



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Ανάκτηση πολυφαινολικών αντιοξειδωτικών από υποπροϊόντα
επεξεργασίας καφέ με χρήση οργανικού διαλύτη και όξινης
κατάλυσης**

ΣΜΥΡΝΑΚΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΑΜ: 2819122

ΣΤΑΜΟΥΛΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΑΜ: 2819134

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΜΑΚΡΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

ΚΑΡΔΙΤΣΑ 2024

Πρόλογος – Ευχαριστίες

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία εκπονήθηκε κατά τη χειμερινή περίοδο του Ακαδημαϊκού Έτους 2022 - 2023, στα πλαίσια του Διατμηματικού Προγράμματος Προπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Αντικείμενο της εργασίας αποτελεί η ανάκτηση πολυφαινολικών αντιοξειδωτικών από υποπροϊόντα επεξεργασίας καφέ με χρήση οργανικού διαλύτη και όξινης κατάλυσης

Επιπλέον, θεωρούμε υποχρέωσή μας να ευχαριστήσουμε τον συνεπιβλέποντα καθηγητή κ. Θ. Χατζημητάκο και τους υποψήφιους διδάκτορες κα. Κ. Κωτσού, κ. Ι. Μακρυγιάννη και κ. Δ. Καλομπάτσιο για την πολύτιμη καθοδήγησή τους. Τέλος, οφείλουμε να αφιερώσουμε την πτυχιακή μας εργασία στους γονείς μας που μας συμπαραστάθηκαν όλα τα χρόνια της φοίτησης μας στο τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στην Καρδίτσα.

Συντομογραφίες

CAE: Ισοδύναμο καφεϊκού οξέος ($\text{mg g}^{-1} \text{ DM}$)

COxAc: Συγκέντρωση οξαλικού οξέος (% w/v)

CSS: Φλούδες κόκκων καφέ

CSF: Συνδυαστικός παράγοντας δριμύτητας (χωρίς μονάδες)

CSF': Εναλλακτικός συνδυαστικός παράγοντας δριμύτητας (χωρίς μονάδες)

CSuAc: Συγκέντρωση θειικού οξέος (% w/v)

SF: Παράγοντας δριμύτητας (χωρίς μονάδες)

T: Θερμοκρασία ($^{\circ}\text{C}$)

t: Χρόνος (λεπτά)

Περιεχόμενα

Περίληψη	7
Abstract	8
Βιβλιογραφική Ανασκόπηση	9
1.1 Εισαγωγή.....	9
1.1.1 Καλλιέργεια και Παραγωγή Καφέ	9
1.1.2 Διαδικασίες Επεξεργασίας	10
1.2 Απόβλητα Επεξεργασίας Καφέ	11
1.2.1 Φλούδες Κόκκων Καφέ	11
1.2.2 Υπολείμματα Καφέ από Άλεση	11
1.2.3 Υπολείμματα Καφέ από Παρασκευή Ροφημάτων	12
1.3 Προβλήματα Περιβαλλοντικής Διαχείρισης Αποβλήτων Καφέ	12
1.3.1 Ρύπανση Εδάφους	12
1.3.2 Ρύπανση Υδάτων	12
1.3.3 Εκπομπές Αερίων	12
1.4 Προβλήματα Διαχείρισης Αποβλήτων	13
1.4.1 Δυσκολίες Ανακύκλωσης	13
1.4.2 Οικονομικές και Λογιστικές Προκλήσεις	13
1.4.3 Περιβαλλοντική Πολιτική και Κανονιστική Συμμόρφωση	13
1.5 Σημασία της Αξιοποίησης των Αγροδιατροφικών Υποπροϊόντων και Ειδικότερα των Υπολειμμάτων Καφέ	13
1.5.1 Ορισμός και Προέλευση των Αποβλήτων Τροφίμων	13
1.5.2 Περιβαλλοντικές, Οικονομικές και Κοινωνικές Επιπτώσεις των Αποβλήτων Τροφίμων	14
1.5.3 Μείωση και Αξιοποίηση Αποβλήτων Τροφίμων – Κυκλική Οικονομία ..	15
1.5.4 Οφέλη Αξιοποίησης Αγροδιατροφικών Υποπροϊόντων	16
1.5.5 Περιβαλλοντικά και Οικονομικά Οφέλη Επαναχρησιμοποίησης Υπολειμμάτων Καφέ	17
1.6 Σημασία των Πολυφαινολικών Αντιοξειδωτικών και η Χρησιμότητά Τους ..	17

1.6.1 Αντιοξειδωτικές Ιδιότητες και Μηχανισμοί Δράσης	17
1.6.2 Οφέλη για την Υγεία	18
1.6.3 Χρήσεις στη Διατροφή και στη Βιομηχανία Τροφίμων	19
1.6.4 Χρήσεις στην Βιομηχανία Καλλυντικών	19
1.7 Πολυφαινολικά Αντιοξειδωτικά από Υπολείμματα Καφέ: Σημασία και Δυνατότητες Αξιοποίησης	20
1.7.1 Περιεχόμενο Πολυφαινολικών Αντιοξειδωτικών στα Υπολείμματα Καφέ	20
1.7.2 Αντιοξειδωτικές Ιδιότητες και Υγειονομικά Οφέλη	21
1.7.3 Δυνατότητες Αξιοποίησης Υπολειμμάτων Καφέ	21
1.8 Υφιστάμενες Μέθοδοι Ανάκτησης Πολυφαινολών και οι Περιορισμοί τους	22
1.8.1 Κλασικές Μέθοδοι Ανάκτησης	22
1.8.2 Εκχύλιση με Υπερήχους (Ultrasound-Assisted Extraction, UAE)	22
1.8.3 Εκχύλιση με Μικροκύματα (Microwave-Assisted Extraction, MAE) ...	23
1.8.4 Εκχύλιση με Ένζυμα (Enzyme-Assisted Extraction)	24
1.8.5 Όξινη Υδρόλυση για την Παραλαβή Πολυφαινολικών Συστατικών	24
1.9 Σκοπός	26
2. Υλικά και Μέθοδοι	27
2.1 Χημικές Ουσίες και Αντιδραστήρια	27
2.2 Φλούδες Κόκκων Καφέ	27
2.3 Δοκιμές με Διαλύτες Νερό-Αιθανόλη και Επεξεργασίες με Οργανικούς Διαλύτες	27
2.4 Καθορισμός Δριμύτητας Επεξεργασίας	28
2.5 Βελτιστοποίηση Επιφάνειας Απόκρισης	29
2.6 Υπολογισμός Ολικών Πολυφαινολών και Μελέτη Αντιοξειδωτικής Δράσης	30
2.7 Αναλυτικός Προσδιορισμός Σύνθεσης των Πολυφαινολών	31
2.8 Στατιστική Ανάλυση	31
3. Αποτελέσματα και Συζήτηση	31

3.1 Αποτέλεσμα της Συγκέντρωσης της Αιθανόλης	31
3.2 Αποτέλεσμα Χρήσης του Όξινου Καταλύτη – Δριμύτητα Επεξεργασίας	32
3.3 Βελτιστοποίηση της Επεξεργασίας Μέσω της Επιφάνειας Απόκρισης ..	36
3.4 Σύνθεση Εκχυλίσματος και Αντιοξειδωτικά Χαρακτηριστικά	41
4. Συμπεράσματα	44
Βιβλιογραφία	45

Λίστα Εικόνων

Εικόνα 1.1: Διαφορές ανάμεσα σε Arabica και Robusta	9
Εικόνα 1.2: Καρποί καφέ	10
Εικόνα 1.3: Καβουρδισμένοι κόκκοι καφέ	11
Εικόνα 1.4: Απόβλητα βιομηχανικών επεξεργασιών	14
Εικόνα 1.5: Θρεπτικά συστατικά από την αξιοποίηση υπολειμμάτων καφέ	15
Εικόνα 1.6: Δομές πολυφαινόλων που εντοπίζονται στον καφέ	20
Εικόνα 1.7: Αναπαράσταση διαδικασίας της UAE	23
Εικόνα 2.1: Εκχύλιση δείγματος κονιορτοποιημένων φλουδών καφέ με αιθανόλη ..	28
Εικόνα 3.1: Το αποτέλεσμα της συγκέντρωσης αιθανόλης (C_{EtOH}) των μιγμάτων νερού/αιθανόλης στην ανάκτηση των ολικών πολυφαινόλων από φλούδες κόκκων καφέ. Οι εκχυλίσσεις έγιναν στους 80 °C για 180 min	32
Εικόνα 3.2: Γραμμική παλινδρόμηση μεταξύ του CSF (A) και του CSF' (B) με το YTP. Οι μπάρες υποδεικνύουν την τυπική απόκλιση. Ορισμοί: SuAc, κατεργασία με καταλύτη θειικό οξύ· OxAc, κατεργασία με καταλύτη οξαλικό οξύ	35
Εικόνα 3.3: Δεδομένα που προκύπτουν από την εφαρμογή της μεθοδολογίας επιφανειακής απόκρισης για τη βελτιστοποίηση της κατεργασίας οργανικού διαλύτη - αιθανόλης με καταλύτη θειικό οξύ στο CSS. (A) Γράφημα που δείχνει τη συσχέτιση μεταξύ προβλεπόμενων και μετρημένων (πραγματικών) τιμών YTP. (B) Γράφημα επιθυμητότητας με προβλεπόμενη μέγιστη τιμή YTP και βέλτιστες τιμές CSuAc και t. Τιμές με αστερίσκο και διαφορετικό χρώμα είναι στατιστικά σημαντικές	37
Εικόνα 3.4: Δεδομένα που προκύπτουν από την εφαρμογή της μεθοδολογίας επιφανειακής απόκρισης για τη βελτιστοποίηση της κατεργασίας οργανικού διαλύτη - αιθανόλης με καταλύτη οξαλικό οξύ στο CSS. (A) Γράφημα που δείχνει τη συσχέτιση μεταξύ προβλεπόμενων και μετρημένων (πραγματικών) τιμών YTP. (B) Γράφημα επιθυμητότητας με προβλεπόμενη μέγιστη τιμή YTP και βέλτιστες τιμές COxAc και t. Τιμές με αστερίσκο και διαφορετικό χρώμα είναι στατιστικά σημαντικές	38
Εικόνα 3.5: Τρισδιάστατα διαγράμματα που παρουσιάζουν την επίδραση της μεταβολής τόσο της συγκέντρωσης του οξέος (C) όσο και του χρόνου κατεργασίας (t) στην απόδοση των συνολικών πολυφαινόλων: (A) κατεργασία με καταλύτη θειικό οξύ· (B) κατεργασία με καταλύτη οξαλικό οξύ	40
Εικόνα 3.6: Χρωματογραφήματα εκχυλισμάτων CSS, που ελήφθησαν με κατεργασίες οργανικού διαλύτη αιθανόλης καταλυόμενες από θειικό οξύ (SuAc) και οξαλικό οξύ (OxAc), υπό βέλτιστες συνθήκες. Οι καταγραφές HPLC πραγματοποιήθηκαν στα 320 nm. Ανάθεση κορυφών: 1, νεοχλωρογενικό οξύ; 2, χλωρογενικό οξύ	43

Περίληψη

Η έρευνα που παρουσιάζεται στο παρόν κείμενο αποσκοπεί στην διαπίστωση μιας καινοτόμου μεθοδολογίας για την αποτελεσματική ανάκτηση πολυφαινολικών αντιοξειδωτικών από υπολείμματα επεξεργασίας καφέ και πιο συγκεκριμένα φλούδες κόκκων καφέ. Η διαδικασία που αναπτύχθηκε, ήταν μια υδατοδιαλυτική μέθοδος με χρήση αιθανόλης, υποβοηθούμενη από όξινη κατάλυση, χρησιμοποιώντας θειικό οξύ και οξαλικό οξύ ως καταλύτες. Η πρώτη προσέγγιση ήταν η μοντελοποίηση τις διαδικασίας βάσει της δριμύτητας, όπου διαπιστώθηκε ότι η συσχέτιση τις διαδικασίας με τον χρόνο και τη θερμοκρασία μπορεί να περιγραφεί καλώς από γραμμικές σχέσεις. Στη συνέχεια, εφαρμόστηκε η μεθοδολογία απόκρισης επιφάνειας, για τη βελτιστοποίηση των διαδικασιών, όσον αφορά τη συγκέντρωση του καταλύτη και το χρόνο επαφής. Σε αυτήν την περίπτωση, και πάλι, τα γραμμικά μοντέλα μπορούσαν αποτελεσματικά να προβλέψουν την απόδοση ανάκτησης πολυφαινολών (YTP). Για την επεξεργασία με καταλύτη το θειικό οξύ, βρέθηκε ότι η μέγιστη θεωρητική απόδοση ανάκτησης πολυφαινολών (YTP) ήταν $10,95 \pm 0,44$ mg ισοδύναμα καφεϊκού οξέος (CAE) g^{-1} ξηρής μάζας (DM), και επιτεύχθηκε σε $C_{\text{SuAc}} = 1.5\%$ και $t = 300$ min. Από την άλλη πλευρά, η μέγιστη YTP των $10,30 \pm 0,53$ μπορούσε να επιτευχθεί στο $C_{\text{OxAc}} = 4\%$, και $t = 300$ min. Λαμβάνοντας υπόψη τη δριμύτητα τις διαδικασίας, προέκυψε το συμπέρασμα ότι η χρήση οξαλικού οξέος, ενός βρώσιμου οργανικού οξέος, αντί για το θειικό οξύ, ένα διαβρωτικό οξύ, θα παρείχε ισοδύναμα αποτελέσματα με χαμηλότερη δριμύτητα. Οι αναλύσεις υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης έδειξαν ότι το εκχύλισμα που παρήχθη μέσω τις επεξεργασίας με καταλύτη το οξαλικό οξύ ήταν πιο εμπλουτισμένο σε νεοχλωρογενικό και χλωρογενικό οξύ, και επέδειξε ισχυρότερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα, αλλά ασθενέστερη δράση αναγωγής του σιδήρου. Προτείνεται ότι η μεθοδολογία που αναπτύχθηκε μπορεί να συμβάλει στη χρήση των αποβλήτων επεξεργασίας καφέ ως δυνητικών πηγών βιοενεργών συστατικών και στο σχεδιασμό νέων λειτουργικών προϊόντων, εντάσσοντάς τα σε μια πιο βιώσιμη στρατηγική για τις εταιρείες επεξεργασίας καφέ.

Abstract

The examination presented herein sought to establish a novel methodology for the efficient recovery of polyphenolic antioxidants from coffee processing residues, namely coffee silverskin (CSS). The process developed was an ethanol-based organosolv treatment, assisted by acid catalysis, using sulfuric acid or oxalic acid as the catalyst. The first approach was modeling treatment based on severity, where it was found that treatment dependence on time and temperature may well be described by linear relationships. Response surface methodology was then deployed as a consecutive stage, to optimize treatments with regard to catalyst concentration and resident time. In this case, again, linear models could effectively predict polyphenol recovery yield (Y_{TP}). For the sulfuric-acid-catalyzed treatment, the maximum theoretic Y_{TP} was found to be 10.95 ± 0.44 mg caffeic acid equivalent (CAE) g^{-1} DM, achieved at $C_{SuAc} = 1.5\%$ and $t = 300$ min. On the other hand, the maximum Y_{TP} of 10.30 ± 0.53 could be attained at $C_{OxAc} = 4\%$, and $t = 300$ min. Considering treatment severity, it was concluded that the use of oxalic acid, a food-grade organic acid, instead of sulfuric acid, a corrosive acid, would afford equivalent effects at lower severity. The high-performance liquid chromatography analyses also revealed that the extract produced through the oxalic-acid-catalyzed treatment was more enriched in neochlorogenic and chlorogenic acids, and it exhibited stronger antiradical activity, but weaker ferric-reducing effects. It is proposed that the methodology developed may contribute towards the use of coffee processing wastes as potential sources of bioactive ingredients and the design of novel functional products, in the frame of a more sustainable strategy for coffee processing companies.

1. Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

1.1 Εισαγωγή

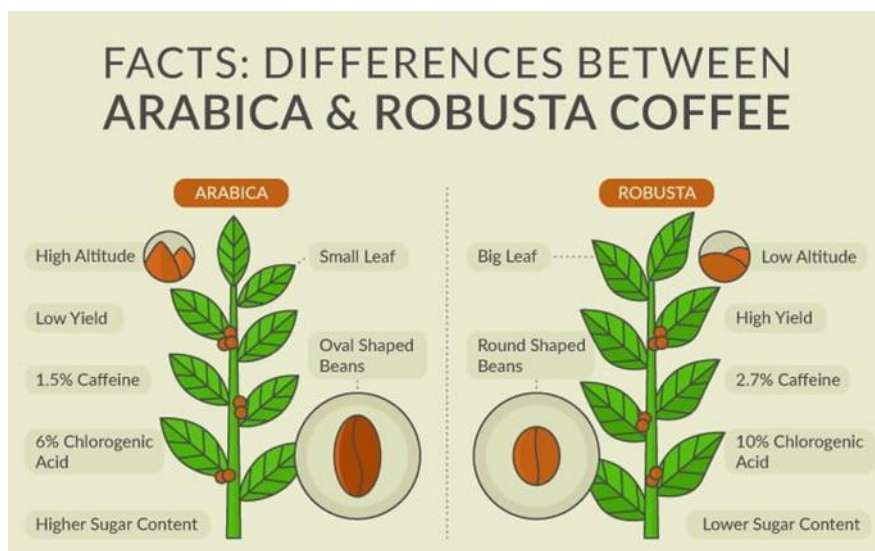
1.1.1 Καλλιέργεια και Παραγωγή Καφέ

Φυτά Καφέ

Ο καφές προέρχεται από δύο κύριες ποικιλίες φυτών: το *Coffea arabica* (Αραβικός καφές) και το *Coffea canephora* (Ρομποστά καφές ή Robusta) (Εικόνα 1.1).

Coffea arabica: Αποτελεί το 60-70% της παγκόσμιας παραγωγής καφέ. Είναι γνωστός για την ευαίσθητη γεύση του και τις λεπτές αρωματικές του νότες. Το φυτό του Αραβικού καφέ απαιτεί συγκεκριμένες συνθήκες καλλιέργειας: υψηλή υγρασία, σταθερές θερμοκρασίες και αναγκαία η παρουσία ορεινών περιοχών για την ανάπτυξή του [2].

Coffea canephora (Robusta): Αποτελεί το υπόλοιπο 30-40% της παραγωγής καφέ και είναι γνωστός για τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητα του σε ασθένειες και πιο σκληρές κλιματικές συνθήκες. Ο Robusta είναι επίσης πλουσιότερος σε καφεΐνη και έχει πιο πικρή γεύση σε σύγκριση με τον Αραβικό καφέ [1].



Εικόνα 1.1: Διαφορές ανάμεσα σε Arabica και Robusta

Περιοχές Καλλιέργειας

Οι κύριες περιοχές καλλιέργειας του καφέ περιλαμβάνουν τροπικές και υποτροπικές ζώνες (Εικόνα 1.2):

Βραζιλία: Η μεγαλύτερη παραγωγός χώρα καφέ στον κόσμο, υπεύθυνη για περίπου το 35% της παγκόσμιας παραγωγής. Η χώρα παράγει κυρίως Αραβικό καφέ, αλλά και Robusta σε μικρότερο ποσοστό [3].

Κολομβία: Δεύτερη μεγαλύτερη παραγωγός χώρα, με έμφαση στον Αραβικό καφέ. Η ποικιλία των κλιματικών συνθηκών στην Κολομβία ευνοεί την παραγωγή υψηλής ποιότητας καφέ [4].

Βιετνάμ: Ο μεγαλύτερος παραγωγός Robusta, συνεισφέροντας περίπου το 20% της παγκόσμιας παραγωγής. Η χώρα έχει επενδύσει σημαντικά στην ανάπτυξη της καλλιέργειας Robusta για να καλύψει τη ζήτηση της αγοράς [5].

Ινδονησία και Αιθιοπία: Άλλες σημαντικές χώρες παραγωγής με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που επηρεάζουν τη γεύση του καφέ, όπως η ποικιλία και οι μέθοδοι επεξεργασίας [6].



Εικόνα 1.2: Καρποί καφέ

1.1.2 Διαδικασίες Επεξεργασίας

Η διαδικασία επεξεργασίας του καφέ περιλαμβάνει αρκετά στάδια:

Αφαίρεση Πολτού (Pulping): Ο καρπός του καφέ, μετά τη συγκομιδή, αφαιρείται από τον πολτό του χρησιμοποιώντας ειδικές μηχανές. Η διαδικασία αυτή μπορεί να γίνει είτε μέσω ξηρής επεξεργασίας (αποξηραίνοντας τον καρπό με τη φλούδα του) είτε μέσω υγρής επεξεργασίας (αφαιρώντας τον πολτό πριν την ξήρανση) [8].

Ξήρανση: Τα αφαιρεθέντα φρούτα ή οι καρποί ξηραίνονται είτε σε ανοικτό χώρο κάτω από τον ήλιο είτε σε μηχανές ξήρανσης. Η ξήρανση είναι κρίσιμη για τη μείωση της υγρασίας του κόκκου και την αποφυγή ανάπτυξης μούχλας.

Αποφλοιώση: Αφού ξηραθούν, οι κόκκοι καφέ αφαιρούνται από τη φλούδα τους μέσω αποφλοιώσης. Το προϊόν της αποφλοιώσης, το οποίο ονομάζεται πράσινος καφές, είναι έτοιμο για καβούρδισμα.

Καβούρδισμα: Το καβούρδισμα είναι η διαδικασία κατά την οποία οι πράσινοι κόκκοι καφέ θερμαίνονται σε υψηλές θερμοκρασίες για να αναπτυχθούν τα χαρακτηριστικά τους αρώματα και γεύσεις. Οι θερμοκρασίες και οι χρόνοι καβουρδίσματος επηρεάζουν την τελική γεύση του καφέ (Εικόνα 1.3).

Άλεση: Μετά το καβούρδισμα, οι κόκκοι καφέ αλέθονται σε διάφορους βαθμούς κόκκων, ανάλογα με τη μέθοδο παρασκευής (π.χ., espresso, φίλτρου κλπ.) [7].



Εικόνα 1.3: Καβουρδισμένοι κόκκοι καφέ

1.2 Αποβλήτα Επεξεργασίας Καφέ

Η επεξεργασία του καφέ παράγει διάφορους τύπους αποβλήτων, τα οποία μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής:

1.2.1 Φλούδες Κόκκων Καφέ

Οι φλούδες κόκκων καφέ προέρχονται από την εξωτερική κάλυψη του καρπού του καφέ, η οποία απομακρύνεται κατά τη διαδικασία αποφλοιώσης. Το εξωτερικό κέλυφος παραμένει ως απόβλητο μετά την αφαίρεση του πολτού και ξηραίνεται μαζί με τον κόκκο. Οι φλούδες περιέχουν μια ποικιλία από βιοενεργά συστατικά, όπως πολυφαινόλες, χλωρογενικά οξέα, και άλλες φαινολικές ενώσεις. Αυτές οι ουσίες έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες και είναι χρήσιμες σε διάφορες βιομηχανικές εφαρμογές. Με βάση την παγκόσμια παραγωγή καφέ, εκτιμάται ότι παράγονται περίπου 6-7 εκατομμύρια τόνοι αποβλήτων φλούδας καφέ ετησίως. Αυτό αντιστοιχεί σε περίπου 10-15% του συνολικού βάρους του καφέ που επεξεργάζεται, ανάλογα με τις μεθόδους επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται [9].

1.2.2 Υπολείμματα Καφέ από Άλεση

Τα υπολείμματα καφέ περιλαμβάνουν τα υλικά που παραμένουν μετά την άλεση του καφέ και τη χρήση του στην παρασκευή ροφημάτων. Αυτά τα υπολείμματα είναι κυρίως αλεσμένοι κόκκοι και υλικά που δεν χρησιμοποιούνται περαιτέρω. Περιέχουν, εκτός από τις πολυφαινόλες και τα χλωρογενικά οξέα, και ίχνη καφεΐνης και λιπαρών οξέων. Η χημική σύσταση μπορεί να επηρεάσει την χρήση τους σε βιομηχανικές εφαρμογές. Οι ποσότητες υπολειμμάτων καφέ είναι δύσκολο να εκτιμηθούν ακριβώς, αλλά με βάση την παγκόσμια παραγωγή, εκτιμάται ότι παράγονται περίπου 2-3 εκατομμύρια τόνοι υπολειμμάτων καφέ ετησίως. Αυτά τα υπολείμματα προέρχονται κυρίως από την αλεσμένη μορφή του καφέ που χρησιμοποιείται σε καφετέριες και βιομηχανίες επεξεργασίας [10].

1.2.3 Υπολείμματα Καφέ από Παρασκευή Ροφημάτων

Περιλαμβάνει τα υπολείμματα καφέ που προκύπτουν από τις καθημερινές διαδικασίες παρασκευής καφέ στις καφετέριες και τα σπίτια. Αυτά περιλαμβάνουν χρησιμοποιημένα καψάκια καφέ, χρησιμοποιημένα φίλτρα και κατακάθια καφέ. Η χημική σύσταση αυτών των υπολειμμάτων είναι παρόμοια με τα υπολείμματα καφέ, περιέχοντας καφεΐνη, πολυφαινόλες και άλλες οργανικές ενώσεις. Το παγκόσμιο ποσό των αποβλήτων καφέ από οικιακή και εμπορική χρήση ανέρχεται σε περίπου 4-5 εκατομμύρια τόνους ετησίως. Αυτό περιλαμβάνει τα απόβλητα που προκύπτουν από την καθημερινή παρασκευή και κατανάλωση καφέ [11].

1.3 Προβλήματα Περιβαλλοντικής Διαχείρισης Αποβλήτων Καφέ

1.3.1 Ρύπανση Εδάφους και Υδάτων

Τα απόβλητα καφέ περιέχουν μεγάλες ποσότητες οργανικών υλικών που αποσυντίθενται σε χώρους υγειονομικής ταφής. Κατά τη διαδικασία αποσύνθεσης, μπορεί να απελευθερωθούν ρύποι και θρεπτικά συστατικά, όπως νιτρικά και φωσφορικά άλατα, τα οποία μπορούν να μολύνουν το έδαφος και να διαταράξουν την ισορροπία των θρεπτικών ουσιών. Η αποθήκευση αποβλήτων καφέ σε μη ελεγχόμενες περιοχές μπορεί να προκαλέσει διαρροές ρυπαντικών ουσιών στο έδαφος, επηρεάζοντας την ποιότητά του και ενδεχομένως τη βιοποικιλότητα των τοπικών οικοσυστημάτων [12].

1.3.2 Ρύπανση Υδάτων

Η απόρριψη των αποβλήτων καφέ σε υδάτινους πόρους μπορεί να προκαλέσει ευτροφισμό, δηλαδή τη υπερβολική ανάπτυξη φυκιών και άλλων φυτικών οργανισμών λόγω της αύξησης θρεπτικών ουσιών (κυρίως νιτρικών και φωσφορικών). Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε πτώση των επιπέδων οξυγόνου και θανάτωση της υδρόβιας ζωής. Οι απορρίψεις αποβλήτων καφέ που περιέχουν οργανικές ουσίες μπορεί να καταλήξουν στα υπόγεια ύδατα, επηρεάζοντας τη χημική τους σύνθεση και την ποιότητά τους. Η μόλυνση μπορεί να καταστήσει το νερό ακατάλληλο για ανθρώπινη κατανάλωση και άλλες χρήσεις [13].

1.3.3 Εκπομπές Αερίων

Τα οργανικά απόβλητα, όπως τα υπολείμματα καφέ, αποσυντίθενται σε συνθήκες αναερόβιες (χωρίς οξυγόνο) στους χώρους υγειονομικής ταφής. Η διαδικασία αυτή παράγει μεθάνιο (CH_4), ένα αέριο του θερμοκηπίου με ρυθμό παγκόσμιας θέρμανσης περίπου 25 φορές μεγαλύτερο από το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2). Η απελευθέρωση μεθανίου από τους χώρους υγειονομικής ταφής μπορεί να συμβάλει στην κλιματική αλλαγή και τις επιπτώσεις της, όπως η αύξηση της θερμοκρασίας και οι μεταβολές του κλίματος.

Όταν τα οργανικά απόβλητα αποσυντίθενται σε συνθήκες αερόβιες (με παρουσία οξυγόνου), παράγεται διοξείδιο του άνθρακα (CO₂). Αν και το CO₂ έχει μικρότερο αντίκτυπο από το μεθάνιο στην κλιματική αλλαγή, οι μεγάλες ποσότητες παραγωγής μπορούν να έχουν σημαντικές συνέπειες. Η αποσύνθεση των αποβλήτων καφέ οδηγεί στην παραγωγή CO₂, το οποίο συμβάλλει στο φαινόμενο του θερμοκηπίου και την κλιματική αλλαγή [14].

1.4 Προβλήματα Διαχείρισης Αποβλήτων

1.4.1 Δυσκολίες Ανακύκλωσης

Τα απόβλητα καφέ περιλαμβάνουν ποικιλία υλικών (φλούδες, υπολείμματα, σκόνη) με διαφορετική χημική σύνθεση και φυσική κατάσταση. Αυτή η πολυμορφία καθιστά δύσκολη τη διαδικασία ανακύκλωσης και επαναχρησιμοποίησης, απαιτώντας ειδικές τεχνολογίες και υποδομές. Η επεξεργασία και ανακύκλωση των αποβλήτων απαιτούν εξειδικευμένα συστήματα διαχείρισης που δεν είναι πάντα διαθέσιμα ή οικονομικά βιώσιμα, ιδιαίτερα σε περιοχές με χαμηλές υποδομές [15].

1.4.2 Οικονομικές και Λογιστικές Προκλήσεις

Η διαχείριση και επεξεργασία των αποβλήτων καφέ μπορεί να απαιτεί σημαντικά οικονομικά έξοδα, ιδίως για τις μικρές επιχειρήσεις. Τα κόστη περιλαμβάνουν την αποδοχή των αποβλήτων, την επεξεργασία και την αποκομιδή τους. Ελλείψει κατάλληλων οικονομικών κινήτρων ή επιδοτήσεων, πολλές επιχειρήσεις μπορεί να προτιμήσουν την απόρριψη των αποβλήτων αντί για την επαναχρησιμοποίησή τους, επηρεάζοντας την περιβαλλοντική διαχείριση [16].

1.4.3 Περιβαλλοντική Πολιτική και Κανονιστική Συμμόρφωση

Οι πολιτικές και οι κανονισμοί για την διαχείριση των αποβλήτων καφέ ποικίλλουν ανά περιοχή και χώρα. Η έλλειψη ενοποιημένων κανονισμών και οδηγιών μπορεί να δημιουργήσει σύγχυση και να δυσχεράνει την εφαρμογή αποτελεσματικών πρακτικών διαχείρισης. Η εφαρμογή και η επιβολή των κανονισμών μπορεί να είναι δύσκολη, ειδικά σε περιοχές με περιορισμένες πηγές ή έλλειψη υποδομών, επηρεάζοντας την αποτελεσματικότητα των στρατηγικών διαχείρισης αποβλήτων [17].

1.5 Σημασία της Αξιοποίησης των Αγροδιατροφικών Υποπροϊόντων και Ειδικότερα των Υπολειμμάτων Καφέ

1.5.1 Ορισμός και Προέλευση των Αποβλήτων Τροφίμων

Γενικά τα απόβλητα αναφέρονται στην βιβλιογραφία σαν υλικά που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση αλλά έχουν χρησιμοποιηθεί, χαθεί, υποβαθμιστεί ή μολυνθεί. Ο FAO ορίζει τις απώλειες τροφίμων (food loss) ως κάθε αλλαγή στην διαθεσιμότητα, την εδωδιμότητα, την ευεργετικότητα ή την ποιότητα του εδωδιμου υλικού που το αποτρέπει να καταναλωθεί από τον άνθρωπο. Τα απόβλητα τροφίμων δημιουργούνται καθ' όλη την εφοδιαστική αλυσίδα και ξεκινούν με την παραγωγή των πρώτων υλών από τον αγροτικό τομέα (γεωργία και κτηνοτροφία), από όπου προκύπτουν οργανικά

απόβλητα (π.χ. μίσχος καλαμποκιού και κοπριά), απώλειες τροφίμων (φρούτα και λαχανικά χαμηλής ποιότητας), ελαττωματικές παραγωγές στο χωράφι-ύπαιθρο και προϊόντα με χαμηλή ή χωρίς εμπορική αξία. Επιπροσθέτως, η βιομηχανική επεξεργασία των τροφίμων δημιουργεί απώλειες καθ' όλη την παραγωγική φάση λόγω καταστροφής κατά την μεταφορά, ακατάλληλα συστήματα μεταφοράς, προβλήματα κατά την αποθήκευση, απωλειών κατά την επεξεργασία ή μόλυνση και ακατάλληλης συσκευασίας (Εικόνα 1.5).

Το φαινόμενο αυτό εντείνεται με την δομή του υπάρχοντος συστήματος λιανικού εμπορίου λόγω προβλημάτων στην διατήρηση και στην διαχείριση και λόγω έλλειψης ψυχρής αποθήκευσης. Από την πλευρά του καταναλωτή, η παραγωγή αποβλήτων προκύπτει από μη κατάλληλες ή υπερβολικές αγορές, υπερβολική προετοιμασία και σύγχυση των όρων : «κατανάλωση καλύτερα πριν» ή «έως» [18].



Εικόνα 1.4: Απόβλητα βιομηχανικών επεξεργασιών

1.5.2 Περιβαλλοντικές, Οικονομικές και Κοινωνικές Επιπτώσεις των Αποβλήτων Τροφίμων

Η απώλεια τροφίμων και τα απόβλητα τροφίμων έχουν περιβαλλοντικό, κοινωνικό και οικονομικό αντίκτυπο. Όσον αφορά στο περιβάλλον συμβάλλουν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου λόγω απόρριψης στην ύπαιθρο και ανεξέλεγκτης παραγωγής μεθανίου, λόγω δραστηριοτήτων που περιλαμβάνουν την παραγωγή και επεξεργασία τροφίμων και εξάντλησης φυσικών πόρων και συγκεκριμένα το έδαφος, τα θρεπτικά συστατικά, το νερό και την ενέργεια. Όσον αφορά στην οικονομία, λόγω του κόστους απόρριψης τροφίμων και της επιρροής του στο εισόδημα των αγροτών και των καταναλωτών. Ο FAO υπολόγισε ότι το 32% των συνολικών τροφίμων που παράγονται παγκοσμίως χάνονται ή απορρίπτονται το 2009. Την ίδια στιγμή που 870 εκατομμύρια άνθρωποι έχουν καταγραφεί ως υποσιτισμένοι, περίπου 1,3 δισεκατομμύρια τόνοι το χρόνο δηλαδή το 1/3 των τροφίμων που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση απορρίπτονται. Στις ΗΠΑ περίπου 61 εκατομμύρια τόνοι αποβλήτων παράγονται κάθε χρόνο, ενώ στην Ευρώπη τα απόβλητα τροφίμων έχουν υπολογιστεί στα 90

εκατομμύρια τόνους τον χρόνο. Το κόστος των τροφίμων που απορρίπτονται ανέρχεται σε 98 δισεκατομμύρια ευρώ στην Κίνα, 85 δισεκατομμύρια ευρώ στις ΗΠΑ και 40 δισεκατομμύρια ευρώ στην Ευρώπη και 27,8 δισεκατομμύρια ευρώ στην Αυστραλία [18].

1.5.3 Μείωση και Αξιοποίηση Αποβλήτων Τροφίμων – Κυκλική Οικονομία

Τα πρώτα βήματα για τη μείωση παραγωγής αποβλήτων τροφίμων αρχίζουν με την αντιμετώπιση του ανεπιθύμητου πλεονάσματος τροφής και την πρόληψη υπερπαραγωγής και υπερπρομήθειας φαγητού. Τα επόμενα βήματα είναι η αξιοποίηση των αποβλήτων των τροφίμων ως ζωοτροφή ή στη βιομηχανία. Αρκετές επιλογές υπάρχουν για τη βιομηχανική τους αξιοποίηση που εκτείνονται από την παραγωγή ενέργειας μέσω αναερόβιας χώνευσης έως και την παραγωγή προϊόντων χημικών ενώσεων για την σύνθεση πλαστικών υλικών, χημικές και φαρμακευτικές χρήσεις. Η κομποστοποίηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ανάκτηση θρεπτικών ουσιών και στα υπολείμματα της επεξεργασίας από την βιομηχανία τροφίμων. Η χρήση ως λίπασμα είναι η τελευταία και λιγότερο επιθυμητή επιλογή, διότι ελλοχεύει κινδύνους για το περιβάλλον. Η παραδοσιακή νοοτροπία της παραγωγής και της κατανάλωσης βασίζεται σε ένα γραμμικό μοντέλο μιας κατεύθυνσης, δηλαδή, της συλλογής πρώτων υλών, της παραγωγής και της απόρριψης στην οποία τα βιομηχανικώς παραγόμενα προϊόντα και υποπροϊόντα χωρίς περεταίρω χρήση συνήθως αντιμετωπίζονται ως μία αναπόφευκτη επίπτωση. Μία υποσχόμενη εναλλακτική πρόταση είναι η εφαρμογή της κυκλικής οικονομίας, η οποία μπορεί να περιγραφεί ως ένα οικονομικό σύστημα το οποίο αντικαθιστά την νοοτροπία της απόρριψης ενός προϊόντος με την μείωση, την εναλλακτική επαναχρησιμοποίηση, την ανακύκλωση και την ανάκτηση χρήσιμων συστατικών.

Ενδεικτικοί τρόποι αξιοποίησης περιλαμβάνουν: την μετεστεροποίηση ελαίων και λιπών για παραγωγή βιοντίζελ, την ζύμωση υδατανθράκων για παραγωγή βιοαιθανόλης και αιθανόλης, την αναερόβια χώνευση για παραγωγή βιοαερίου, την ζύμωση για παραγωγή υδρογόνου, την πυρόλυση και απαέρωση, την υδροθερμική καρβοξυλίωση και αποτέφρωση [19].



Εικόνα 1.5: Θρεπτικά συστατικά από την αξιοποίηση υπολειμμάτων καφέ

1.5.4 Οφέλη Αξιοποίησης Αγροδιατροφικών Υποπροϊόντων

Η αξιοποίηση των αγροδιατροφικών υποπροϊόντων έχει αποκτήσει ιδιαίτερη σημασία στις σύγχρονες γεωργικές και βιομηχανικές πρακτικές, κυρίως λόγω των αυξανόμενων προκλήσεων στον τομέα της ασφάλειας τροφίμων, της βιωσιμότητας και της περιβαλλοντικής προστασίας. Τα αγροδιατροφικά υποπροϊόντα περιλαμβάνουν όλα τα υλικά που προκύπτουν κατά τη διαδικασία παραγωγής τροφίμων, τα οποία δεν καταναλώνονται άμεσα, αλλά μπορούν να έχουν σημαντική αξία εάν αξιοποιηθούν κατάλληλα. Η διαχείριση και αξιοποίηση αυτών των υποπροϊόντων προσφέρει πολλαπλά οφέλη, τόσο για το περιβάλλον όσο και για την οικονομία.

Αρχικά, η αξιοποίηση των αγροδιατροφικών υποπροϊόντων συμβάλλει στην ελαχιστοποίηση της ποσότητας των αποβλήτων που καταλήγουν στους χώρους υγειονομικής ταφής. Πολλά από αυτά τα υποπροϊόντα, εάν δεν επαναχρησιμοποιηθούν ή ανακυκλωθούν, μπορεί να οδηγήσουν σε περιβαλλοντική ρύπανση μέσω της αποσύνθεσης τους, η οποία εκλύει αέρια θερμοκηπίου όπως το μεθάνιο και το διοξείδιο του άνθρακα. Η κατάλληλη αξιοποίηση αυτών των υποπροϊόντων μειώνει την ποσότητα των αποβλήτων που παράγονται και περιορίζει τις αρνητικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις, συνεισφέροντας στη διατήρηση των φυσικών πόρων και στη μείωση της περιβαλλοντικής επιβάρυνσης [19].

Επιπλέον, η αξιοποίηση των αγροδιατροφικών υποπροϊόντων έχει σημαντική οικονομική διάσταση. Η μετατροπή των υποπροϊόντων σε νέα προϊόντα ή η χρήση τους για την παραγωγή ενέργειας δημιουργεί νέες πηγές εσόδων για τις επιχειρήσεις. Η αξιοποίηση των υποπροϊόντων επιτρέπει την ανάπτυξη νέων αγορών και εφαρμογών, προσφέροντας έτσι νέα οικονομικά οφέλη. Επίσης, μειώνει τα κόστη που σχετίζονται με τη διαχείριση και την αποκομιδή αποβλήτων, καθώς η επαναχρησιμοποίηση ή ανακύκλωση των υποπροϊόντων περιορίζει την ανάγκη για απορριπτικά μέσα και διαδικασίες.

Η αξιοποίηση των υποπροϊόντων έχει επίσης σημαντικές επιπτώσεις στην ασφάλεια τροφίμων και στη διατροφική υποστήριξη. Πολλά αγροδιατροφικά υποπροϊόντα περιέχουν θρεπτικά συστατικά και βιοενεργά στοιχεία που μπορούν να συμβάλλουν

στην ενίσχυση της διατροφικής αξίας των προϊόντων. Για παράδειγμα, η επεξεργασία και χρήση υποπροϊόντων όπως τα υπολείμματα καφέ μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων προϊόντων που ενισχύουν την διατροφή με αντιοξειδωτικά και άλλα ευεργετικά συστατικά. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για περιοχές που αντιμετωπίζουν διατροφικές ελλείψεις ή προβλήματα υγείας που σχετίζονται με την έλλειψη συγκεκριμένων θρεπτικών ουσιών.

Η καινοτομία και η ανάπτυξη νέων προϊόντων είναι ένα άλλο σημαντικό όφελος της αξιοποίησης των αγροδιατροφικών υποπροϊόντων. Η δημιουργία νέων προϊόντων από υποπροϊόντα, όπως τα συμπληρώματα διατροφής, τα βιοενεργά συστατικά και τα καλλυντικά, ενισχύει την καινοτομία στον τομέα των τροφίμων και των βιομηχανικών προϊόντων. Η υιοθέτηση αυτών των καινοτόμων πρακτικών μπορεί να προσφέρει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στις επιχειρήσεις, βελτιώνοντας τη θέση τους στην αγορά και την ελκυστικότητα τους για τους καταναλωτές.

1.5.5 Περιβαλλοντικά και Οικονομικά Οφέλη Επαναχρησιμοποίησης Υπολειμμάτων Καφέ

Σε αυτό το ευρύτερο πλαίσιο, η αξιοποίηση των υπολειμμάτων καφέ αναδεικνύεται ως ένα ιδιαίτερα σημαντικό παράδειγμα της εφαρμογής των παραπάνω αρχών. Τα υπολείμματα καφέ αποτελούν περίπου το 40% της συνολικής μάζας του καφέ που επεξεργάζεται παγκοσμίως, και η συντριπτική τους πλειονότητα καταλήγει συνήθως σε χώρους υγειονομικής ταφής. Η αναγνώριση της αξίας αυτών των αποβλήτων και η ανάπτυξη μεθόδων αξιοποίησης τους προσφέρει σημαντικά περιβαλλοντικά και οικονομικά οφέλη.

Η επαναχρησιμοποίηση των υπολειμμάτων καφέ μπορεί να συμβάλλει στην μείωση της ποσότητας των αποβλήτων που καταλήγουν σε χώρους υγειονομικής ταφής, μειώνοντας έτσι την περιβαλλοντική επιβάρυνση. Η διαδικασία αυτή περιορίζει την παραγωγή μεθανίου και διοξειδίου του άνθρακα, αερίων που συμβάλλουν στην κλιματική αλλαγή. Επιπλέον, η αξιοποίηση των υπολειμμάτων καφέ για την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας, όπως βιοενεργά συστατικά, συμπληρώματα διατροφής και καλλυντικά, δημιουργεί νέες οικονομικές ευκαιρίες και ενισχύει την οικονομική βιωσιμότητα των επιχειρήσεων.

Η επαναχρησιμοποίηση των υπολειμμάτων καφέ συνεισφέρει επίσης στην ενίσχυση της διατροφικής αξίας των προϊόντων, μέσω της αξιοποίησης των πολυφαινόλων και άλλων ευεργετικών συστατικών που περιέχονται σε αυτά. Τα υπολείμματα καφέ μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη νέων προϊόντων που προσφέρουν σημαντικά οφέλη για την υγεία και τη διατροφή [20].

Συνολικά, η αξιοποίηση των αγροδιατροφικών υποπροϊόντων, και συγκεκριμένα των υπολειμμάτων καφέ, προάγει την αειφορία και προσφέρει σημαντικά οφέλη τόσο για το περιβάλλον όσο και για την οικονομία. Η εφαρμογή καινοτόμων μεθόδων και στρατηγικών αξιοποίησης συμβάλλει στη βελτίωση της διαχείρισης των αποβλήτων, στη μείωση της περιβαλλοντικής επιβάρυνσης, και στη δημιουργία νέων οικονομικών και διατροφικών ευκαιριών.

1.6 Σημασία των Πολυφαινολικών Αντιοξειδωτικών και η Χρησιμότητά τους

Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά είναι μια κατηγορία φυσικών ενώσεων που βρίσκονται ευρέως σε φυτικά τρόφιμα και ποτά, όπως φρούτα, λαχανικά, καφές, τσάι και κόκκινο κρασί. Αυτές οι ενώσεις είναι γνωστές για τις ισχυρές αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες, οι οποίες σχετίζονται με πολλαπλά οφέλη για την υγεία και την ευεξία. Η σημασία τους αναγνωρίζεται σε διάφορους τομείς της υγειονομικής και διατροφικής επιστήμης, καθώς και της βιομηχανίας τροφίμων και καλλυντικών [21].

1.6.1 Αντιοξειδωτικές Ιδιότητες και Μηχανισμοί Δράσης

Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά λειτουργούν κυρίως ως δεσμευτές ελευθέρων ριζών. Ελεύθερες ρίζες είναι ασταθή μόρια που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια φυσιολογικών μεταβολικών διαδικασιών, αλλά και μέσω εξωτερικών παραγόντων όπως η ρύπανση και οι ακτίνες UV. Η υπερβολική συγκέντρωση ελευθέρων ριζών στο σώμα μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες, που σχετίζεται με τη γήρανση και την εμφάνιση πολλών χρόνιων ασθενειών.

Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά συμβάλλουν στη σταθεροποίηση αυτών των ασταθών μορίων μέσω διάφορων μηχανισμών, όπως [22]:

1. **Προσφορά Ηλεκτρονίων:** Οι πολυφαινόλες μπορούν να δωρίσουν ηλεκτρόνια στις ελεύθερες ρίζες, εξουδετερώνοντάς τις και αποτρέποντας τη βλάβη των κυττάρων.
2. **Αναστολή Ενζύμων:** Ορισμένα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά αναστέλλουν την ενζυμική δράση που ενδέχεται να παράγει ελεύθερες ρίζες, όπως η υπεροξειδάση και η υδρολάση.
3. **Διαμόρφωση Συμπλοκών:** Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά μπορούν να σχηματίσουν συμπλέγματα με μέταλλα που καταλύουν την παραγωγή ελευθέρων ριζών, όπως ο σίδηρος και ο χαλκός.

1.6.2 Οφέλη για την Υγεία

Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά έχουν συνδεθεί με μια ποικιλία ευεργετικών επιδράσεων στην υγεία:

1. **Καρκίνος:** Έχουν καταγραφεί ενδείξεις ότι τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου μέσω της αναστολής της ανάπτυξης καρκινικών κυττάρων και της πρόληψης της διάδοσης του όγκου. Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά, όπως τα φλαβονοειδή και τα φαινολικά οξέα, έχουν δείξει αντικαρκινικές ιδιότητες σε μελέτες *in vitro* και *in vivo* [23].
2. **Καρδιοαγγειακή Υγεία:** Η κατανάλωση πολυφαινολών συνδέεται με μειωμένο κίνδυνο καρδιοαγγειακών παθήσεων, όπως υπέρταση, αθηροσκλήρωση και στεφανιαία νόσος. Οι πολυφαινόλες ενδέχεται να βελτιώσουν την υγεία των αγγείων, να μειώσουν την αρτηριακή πίεση και να μειώσουν τη συσσώρευση λιπιδίων στο αίμα [24].

3. **Νευροπροστασία:** Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά μπορούν να προστατεύσουν το νευρικό σύστημα από εκφυλιστικές παθήσεις, όπως η νόσος του Alzheimer και η νόσος του Parkinson. Αυτές οι ουσίες μπορούν να μειώσουν τη φλεγμονή και την οξειδωτική βλάβη των νευρώνων [25].
4. **Αντιφλεγμονώδης Δράση:** Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά έχουν αποδειχθεί ότι μειώνουν τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις στον οργανισμό, βοηθώντας στη διαχείριση χρόνιων φλεγμονωδών καταστάσεων όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η ασθένεια Crohn [26].
5. **Αντιγηραντική Δράση:** Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των πολυφαινολών συμβάλλουν στη μείωση της γήρανσης των κυττάρων, προλαμβάνοντας τη βλάβη του DNA και την απώλεια των κυτταρικών λειτουργιών [27].

1.6.3 Χρήσεις Στη Διατροφή και Στη Βιομηχανία Τροφίμων

Η χρήση πολυφαινολικών αντιοξειδωτικών στη βιομηχανία τροφίμων είναι ευρεία και ποικιλόμορφη. Αυτά τα συστατικά χρησιμοποιούνται για να βελτιώσουν τη διατροφική αξία των τροφίμων, καθώς και για την ανάπτυξη νέων προϊόντων με πρόσθετα υγιεινοομικά οφέλη [28].

1. **Προϊόντα Διατροφής:** Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά ενσωματώνονται σε διάφορα τρόφιμα και ποτά για να ενισχύσουν την αντιοξειδωτική ικανότητά τους. Για παράδειγμα, προϊόντα όπως οι χυμοί φρούτων, τα δημητριακά πρωινού, και τα συμπληρώματα διατροφής συχνά περιέχουν εκχυλίσματα πλούσια σε πολυφαινόλες [29].
2. **Συντηρητικά Τροφίμων:** Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται επίσης ως φυσικά συντηρητικά στα τρόφιμα για να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής τους και να αποτρέψουν την οξείδωση των λιπιδίων και των βιταμινών [30].
3. **Ανάπτυξη Νέων Τροφίμων:** Η έρευνα συνεχίζει να εξετάζει τη χρήση πολυφαινολών στην ανάπτυξη νέων τύπων τροφίμων με αναγνωρίσιμα διατροφικά και λειτουργικά οφέλη, συμπεριλαμβανομένων των προϊόντων με υψηλή περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες που προσφέρουν συνδυασμένα οφέλη για την υγεία [31].

1.6.4 Χρήσεις Στην Βιομηχανία Καλλυντικών

Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά έχουν βρει επίσης εφαρμογή στη βιομηχανία καλλυντικών λόγω των ευεργετικών τους επιδράσεων στην επιδερμίδα. Οι κύριες χρήσεις περιλαμβάνουν:

1. **Αντιγήρανση:** Η εφαρμογή πολυφαινολών σε καλλυντικά προϊόντα προάγει τη μείωση των ρυτίδων και τη βελτίωση της ελαστικότητας του δέρματος μέσω

της μείωσης της οξειδωτικής βλάβης και της ενίσχυσης της κυτταρικής αναγέννησης [32].

2. **Αντιφλεγμονώδης Δράση:** Πολυφαινόλες όπως τα φλαβονοειδή χρησιμοποιούνται σε προϊόντα για την ανακούφιση από φλεγμονές και ερεθισμούς του δέρματος, βελτιώνοντας τη συνολική υγεία του δέρματος [33].
3. **Προστασία Από Περιβαλλοντικούς Παράγοντες:** Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά προστατεύουν το δέρμα από τις βλαβερές επιδράσεις των εξωτερικών παραγόντων όπως η UV ακτινοβολία και η ρύπανση, προσφέροντας προστασία από τη φωτογήρανση και άλλες περιβαλλοντικές πιέσεις [34].

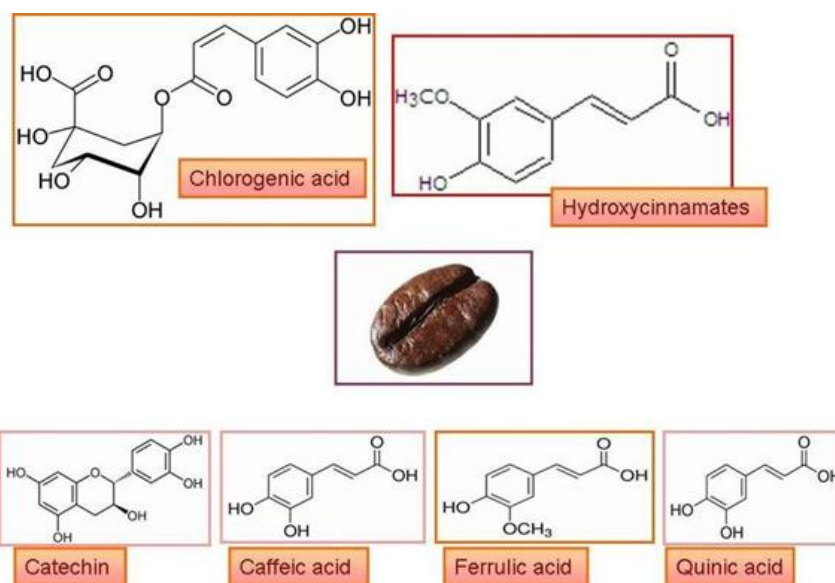
1.7 Πολυφαινολικά Αντιοξειδωτικά από Υπολείμματα Καφέ: Σημασία και Δυνατότητες Αξιοποίησης

Τα υπολείμματα καφέ, τα οποία προκύπτουν από την επεξεργασία του καφέ, περιέχουν μια πλούσια ποικιλία πολυφαινολικών αντιοξειδωτικών, τα οποία προσφέρουν σημαντικά διατροφικά και υγειονομικά οφέλη. Η αξιοποίηση αυτών των υπολειμμάτων για την εξαγωγή και χρήση πολυφαινολών δεν είναι μόνο περιβαλλοντικά βιώσιμη αλλά και οικονομικά επωφέλης.

1.7.1 Περιεχόμενο Πολυφαινολικών Αντιοξειδωτικών στα Υπολείμματα Καφέ

Τα υπολείμματα καφέ περιέχουν διάφορες πολυφαινολικές ενώσεις, οι οποίες είναι γνωστές για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Οι κυριότεροι τύποι πολυφαινολών που εντοπίζονται σε αυτά τα υπολείμματα περιλαμβάνουν:

1. **Χλωρογενικά Οξέα:** Αυτά τα οξέα είναι από τα πιο άφθονα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά στα υπολείμματα καφέ. Περιλαμβάνουν το χλωρογενικό οξύ, το οποίο έχει δείξει ισχυρές αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Το χλωρογενικό οξύ έχει συνδεθεί με την προστασία κατά της καρδιοαγγειακής νόσου και του διαβήτη τύπου 2 [35].
2. **Καφεϊκό Οξύ:** Το καφεϊκό οξύ είναι άλλο ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό που απαντάται στα υπολείμματα καφέ. Συνδέεται με τη μείωση της οξειδωτικής βλάβης και της φλεγμονής, καθώς και με την πρόληψη ορισμένων τύπων καρκίνου [36].
3. **Φλαβονοειδή:** Τα φλαβονοειδή, αν και λιγότερο συχνά σε σύγκριση με τα χλωρογενικά οξέα, εντοπίζονται επίσης στα υπολείμματα καφέ. Αυτές οι ενώσεις προσφέρουν προστασία κατά των καρδιοαγγειακών παθήσεων και συμβάλλουν στη γενική αντιοξειδωτική δράση των υπολειμμάτων [37].



Εικόνα 1.6: Δομές πολυφαινολών που εντοπίζονται στον καφέ

1.7.2 Αντιοξειδωτικές Ιδιότητες και Υγειονομικά Οφέλη

Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά που περιέχονται στα υπολείμματα καφέ προσφέρουν πολυάριθμα οφέλη για την υγεία, κυρίως λόγω της ικανότητάς τους να εξουδετερώνουν ελεύθερες ρίζες και να μειώνουν την οξειδωτική βλάβη. Τα κύρια οφέλη περιλαμβάνουν:

1. **Αντιφλεγμονώδη Δράση:** Οι πολυφαινόλες στα υπολείμματα καφέ έχουν την ικανότητα να μειώνουν τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις στον οργανισμό. Η φλεγμονή συνδέεται με πολλές χρόνιες ασθένειες, και η μείωση της μπορεί να συμβάλλει στη βελτίωση της γενικής υγείας [38].
2. **Προστασία Καρδιοαγγειακού Συστήματος:** Τα αντιοξειδωτικά από υπολείμματα καφέ μπορούν να βοηθήσουν στη βελτίωση της καρδιοαγγειακής υγείας μέσω της μείωσης της αρτηριακής πίεσης και της αποφυγής της συγκέντρωσης λιπιδίων στο αίμα. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι πολυφαινόλες μπορούν να μειώσουν τη συσσώρευση πλάκας στις αρτηρίες και να βελτιώσουν την υγεία των αιμοφόρων αγγείων [39].
3. **Αντιγηραντική Δράση:** Η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών συμβάλλει στην προστασία των κυττάρων από την οξειδωτική βλάβη, η οποία σχετίζεται με τη γήρανση και τις σχετικές παθήσεις. Η τακτική κατανάλωση προϊόντων πλούσιων σε πολυφαινόλες μπορεί να προάγει την υγιή γήρανση και να μειώσει τις ρυτίδες [40].
4. **Προστασία από Καρκίνο:** Οι πολυφαινόλες έχουν συνδεθεί με την προστασία κατά του καρκίνου, κυρίως μέσω της αναστολής της ανάπτυξης καρκινικών κυττάρων και της πρόληψης της μετάστασης. Οι μηχανισμοί που συμβάλλουν σε αυτήν την προστασία περιλαμβάνουν τη μείωση της οξειδωτικής βλάβης και τη ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης [41].

1.7.3 Δυνατότητες Αξιοποίησης Υπολειμμάτων Καφέ

Η αξιοποίηση των πολυφαινολικών αντιοξειδωτικών από τα υπολείμματα καφέ παρουσιάζει σημαντικές δυνατότητες για την ανάπτυξη νέων προϊόντων και την επίλυση περιβαλλοντικών προκλήσεων:

1. **Δημιουργία Συμπληρωμάτων Διατροφής:** Τα εκχυλίσματα από υπολείμματα καφέ πλούσια σε πολυφαινόλες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη συμπληρωμάτων διατροφής. Αυτά τα συμπληρώματα μπορούν να προσφέρουν τα υγειονομικά οφέλη των πολυφαινολών σε συγκεντρωμένη μορφή, βελτιώνοντας τη διατροφή των καταναλωτών [42].
2. **Παραγωγή Καλλυντικών Προϊόντων:** Πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά από υπολείμματα καφέ μπορούν να ενσωματωθούν σε καλλυντικά προϊόντα, όπως κρέμες και λοσιόν, για την προσφορά αντιγηραντικών και αντιφλεγμονωδών ωφελειών. Τα προϊόντα αυτά μπορούν να αξιοποιήσουν τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες για τη βελτίωση της υγείας του δέρματος [43].
3. **Βιομηχανία Τροφίμων και Ποτών:** Τα εκχυλίσματα πολυφαινολών μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φυσικά συντηρητικά σε τρόφιμα και ποτά. Η ενσωμάτωσή τους σε τρόφιμα μπορεί να βελτιώσει την αντιοξειδωτική ικανότητα των προϊόντων και να επεκτείνει τη διάρκεια ζωής τους [44].

1.8 Υφιστάμενες Μέθοδοι Ανάκτησης Πολυφαινολών και οι Περιορισμοί τους

Η ανάκτηση πολυφαινολών από αγροδιατροφικά υποπροϊόντα, όπως τα υπολείμματα καφέ, αποτελεί ένα ερευνητικό πεδίο με σημαντική βιομηχανική και επιστημονική σημασία. Παρά τη σημασία τους, οι υφιστάμενες μέθοδοι ανάκτησης πολυφαινολών από υπολείμματα καφέ και άλλα υλικά παρουσιάζουν περιορισμούς που μειώνουν την αποδοτικότητα και την οικονομική βιωσιμότητά τους.

1.8.1 Κλασικές Μέθοδοι Ανάκτησης

Οι κλασικές μέθοδοι ανάκτησης πολυφαινολών περιλαμβάνουν την εκχύλιση με χρήση οργανικών διαλυτών, όπως αιθανόλη, μεθανόλη, ακετόνη και νερό. Αυτές οι μέθοδοι βασίζονται στη διαλυτοποίηση των πολυφαινολών στον διαλύτη και στη συνέχεια στον διαχωρισμό του εκχυλίσματος από την αρχική ύλη. Αν και αυτές οι τεχνικές είναι αποτελεσματικές για την εκχύλιση πολυφαινολών, έχουν αρκετούς περιορισμούς:

- **Χαμηλή Εκλεκτικότητα:** Η εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες είναι συχνά μη εκλεκτική, με αποτέλεσμα την ταυτόχρονη εξαγωγή και άλλων συστατικών, όπως πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες, λιπίδια και άλλες ανεπιθύμητες ενώσεις. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε ένα ακαθάριστο εκχύλισμα που απαιτεί περαιτέρω καθαρισμό [45].

- **Απώλειες Πολυφαινολών:** Η χρήση υψηλών θερμοκρασιών και παρατεταμένων χρόνων εκχύλισης μπορεί να οδηγήσει σε αποικοδόμηση των πολυφαινολών και σε απώλειες της βιοδραστικότητάς τους [46].
- **Περιβαλλοντικές και Οικονομικές Επιδράσεις:** Η χρήση μεγάλων ποσοτήτων οργανικών διαλυτών συνδέεται με περιβαλλοντικούς κινδύνους, λόγω των τοξικών αποβλήτων που παράγονται. Επίσης, το κόστος αγοράς, αποθήκευσης και απόρριψης αυτών των διαλυτών αυξάνει το συνολικό κόστος της διαδικασίας [47].

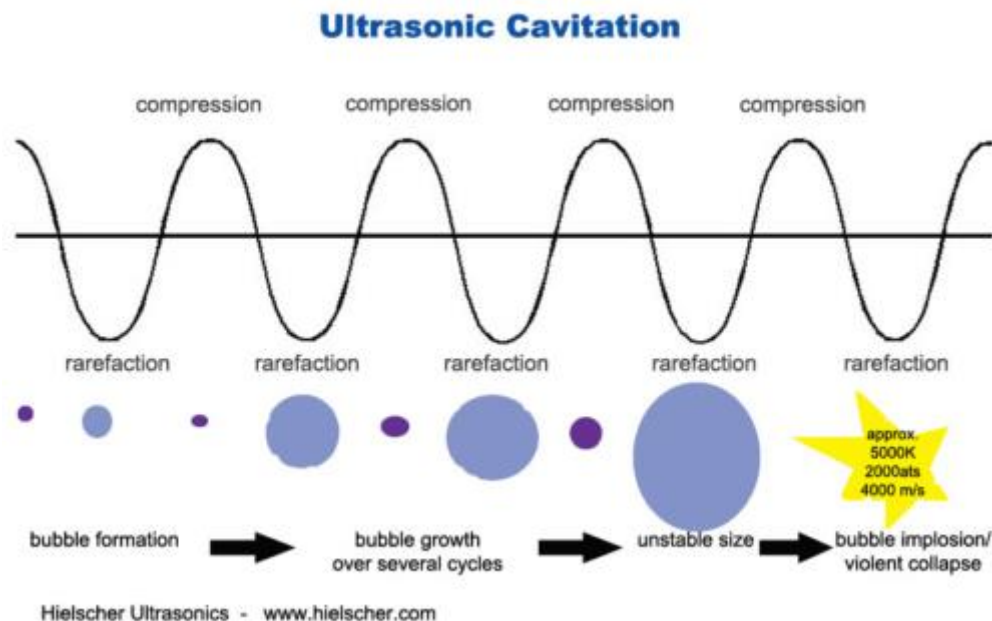
1.8.2 Εκχύλιση με Υπερήχους (Ultrasound-Assisted Extraction, UAE)

Η εκχύλιση με υπερήχους (UAE) είναι μια καινοτόμος μέθοδος που χρησιμοποιεί ακουστικά κύματα για να προκαλέσει διάτρηση των κυτταρικών τοιχωμάτων και να αυξήσει τη διαλυτοποίηση των πολυφαινολών. Αυτή η τεχνική έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει την απόδοση εκχύλισης και μειώνει το χρόνο επεξεργασίας. Ωστόσο, η UAE αντιμετωπίζει επίσης περιορισμούς:

Περιορισμένη Κλίμακα: Η εφαρμογή της UAE σε βιομηχανική κλίμακα είναι περιορισμένη λόγω της ανάγκης για εξειδικευμένο εξοπλισμό και ελέγχου της θερμοκρασίας για την αποφυγή της υποβάθμισης των πολυφαινολών [48].

Κόστος Ενέργειας: Η χρήση υπερήχων απαιτεί σημαντική κατανάλωση ενέργειας, γεγονός που μπορεί να αυξήσει το συνολικό κόστος της διαδικασίας, καθιστώντας την οικονομικά λιγότερο βιώσιμη για μικρότερες επιχειρήσεις [49].

Απώλεια Βιοδραστικότητας: Η εκτεταμένη έκθεση σε υπερήχους μπορεί να οδηγήσει σε αποικοδόμηση ορισμένων πολυφαινολών, μειώνοντας τη βιολογική τους δραστηριότητα [50].



Εικόνα 1.7: Αναπαράσταση διαδικασίας της UAE

1.8.3 Εκχύλιση με Μικροκύματα (Microwave-Assisted Extraction, MAE)

Η εκχύλιση με μικροκύματα (MAE) χρησιμοποιεί ακτινοβολία μικροκυμάτων για την αύξηση της θερμοκρασίας του διαλύτη και της μήτρας του υλικού, επιτρέποντας την ταχύτερη και πιο αποτελεσματική εξαγωγή πολυφαινόλων. Αυτή η μέθοδος έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει την απόδοση εκχύλισης και μειώνει τη χρήση διαλυτών. Ωστόσο, και αυτή η μέθοδος παρουσιάζει περιορισμούς:

Θερμοευαισθησία των Πολυφαινόλων: Οι υψηλές θερμοκρασίες που προκαλούνται από τα μικροκύματα μπορεί να οδηγήσουν σε αποικοδόμηση των θερμοευαίσθητων πολυφαινόλων, μειώνοντας τη βιολογική τους δραστηριότητα [51].

Περιορισμένη Προσαρμογή σε Μεγάλη Κλίμακα: Η MAE δεν είναι ακόμα εύκολα κλιμακούμενη σε βιομηχανικές εφαρμογές, απαιτώντας σημαντικές επενδύσεις σε εξοπλισμό και έλεγχο διεργασιών [52].

Αυξημένο Κόστος Ενέργειας: Η διαδικασία απαιτεί υψηλή κατανάλωση ενέργειας, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει την οικονομική βιωσιμότητα [53].

1.8.4 Εκχύλιση με Ένζυμα (Enzyme-Assisted Extraction, EAE)

Η ενζυμική εκχύλιση (EAE) χρησιμοποιεί ένζυμα για να διασπάσει τα κυτταρικά τοιχώματα και να απελευθερώσει πολυφαινόλες από τις φυτικές μήτρες. Αυτή η μέθοδος θεωρείται ήπια και φιλική προς το περιβάλλον, καθώς χρησιμοποιεί μικρές ποσότητες χημικών διαλυτών.

Παρόλα αυτά, υπάρχουν συγκεκριμένοι περιορισμοί:

Υψηλό Κόστος Ενζύμων: Η χρήση εξειδικευμένων ενζύμων μπορεί να είναι δαπανηρή, γεγονός που περιορίζει την εφαρμογή της EAE σε βιομηχανική κλίμακα [54].

Αναγκαία Παρακολούθηση Συνθηκών: Οι ενζυμικές αντιδράσεις απαιτούν συγκεκριμένες συνθήκες θερμοκρασίας και pH για να είναι αποτελεσματικές, κάτι που προσθέτει πολυπλοκότητα στη διαδικασία [55].

Χρόνος Επεξεργασίας: Η ενζυμική εκχύλιση μπορεί να απαιτεί περισσότερο χρόνο σε σύγκριση με άλλες μεθόδους, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει την αποδοτικότητα σε βιομηχανικές εφαρμογές [56].

Παρά την ποικιλία των διαθέσιμων μεθόδων για την ανάκτηση πολυφαινολών, κάθε μια από αυτές παρουσιάζει συγκεκριμένους περιορισμούς όσον αφορά την αποδοτικότητα, την οικονομική βιωσιμότητα, την ασφάλεια και την περιβαλλοντική τους επίδραση. Οι περιορισμοί αυτοί καθιστούν αναγκαία την ανάπτυξη νέων μεθόδων που θα υπερβαίνουν τα υφιστάμενα προβλήματα, αυξάνοντας την απόδοση ανάκτησης και μειώνοντας τις περιβαλλοντικές και οικονομικές επιπτώσεις.

1.8.5 Όξινη Υδρόλυση για την Παραλαβή Πολυφαινολικών Συστατικών

Η όξινη υδρόλυση είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται συχνά για την ανάκτηση πολυφαινολικών συστατικών από φυτικά υλικά και αγροδιατροφικά υποπροϊόντα. Αυτή η διαδικασία συνίσταται στη χρήση οξέων για τη διάσπαση των κυτταρικών τοιχωμάτων και των δομών των φυτικών ιστών, απελευθερώνοντας έτσι τις πολυφαινόλες και άλλα βιοενεργά συστατικά. Σε σύγκριση με τις κλασικές μεθόδους εκχύλισης με διαλύτες, η όξινη υδρόλυση μπορεί να επιτύχει υψηλότερη αποδοτικότητα ανάκτησης, καθώς οι όξινες συνθήκες μπορούν να επιταχύνουν τη διάσπαση των φυτικών κυτταρικών δομών και να απελευθερώσουν τα δεσμευμένα πολυφαινολικά συστατικά που μπορεί να βρίσκονται σε σύμπλοκες μορφές με άλλα μακρομόρια όπως οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες [57].

Η όξινη υδρόλυση συνήθως πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας ισχυρά ανόργανα οξέα, όπως το θειικό οξύ (H_2SO_4) ή το υδροχλωρικό οξύ (HCl), ή πιο ήπια οργανικά οξέα, όπως το οξαλικό οξύ ή το κιτρικό οξύ. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, τα οξέα προσβάλλουν τους γλυκοζιτικούς δεσμούς στις κυτταρικές δομές, προκαλώντας την αποδόμηση της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης, της πηκτίνης και άλλων δομών που περιέχουν πολυσακχαρίτες. Αυτό οδηγεί στην απελευθέρωση των δεσμευμένων πολυφαινολών, οι οποίες είναι συχνά συνδεδεμένες με τα κυτταρικά τοιχώματα μέσω εστερικών ή γλυκοζιτικών δεσμών [58].

Η υδρολυτική ικανότητα της μεθόδου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις συνθήκες επεξεργασίας, όπως η συγκέντρωση του οξέος, η θερμοκρασία και ο χρόνος αντίδρασης. Για παράδειγμα, η χρήση υψηλής συγκέντρωσης οξέος και αυξημένων θερμοκρασιών μπορεί να οδηγήσει σε ταχύτερη και πιο ολοκληρωμένη διάσπαση των κυτταρικών δομών, αλλά ενδέχεται επίσης να προκαλέσει την αποικοδόμηση των ευαίσθητων πολυφαινολών, μειώνοντας την απόδοσή τους. Επομένως, η διαδικασία απαιτεί προσεκτικό σχεδιασμό για τη διατήρηση της βιοδραστικότητας των

πολυφαινολών, ενώ ταυτόχρονα επιτυγχάνεται η βέλτιστη απελευθέρωσή τους από την φυτική μήτρα [59].

Η όξινη υδρόλυση μπορεί να αξιοποιηθεί ως προπαρασκευαστικό βήμα για την βελτιστοποίηση της κλασικής εκχύλισης με διαλύτη, συνδυάζοντας τα πλεονεκτήματα και των δύο μεθόδων. Στην κλασική εκχύλιση, η απόδοση συχνά περιορίζεται από τη διαλυτότητα των πολυφαινολών στον εκχυλιστικό διαλύτη και από τη δυσκολία διείσδυσης του διαλύτη στους φυτικούς ιστούς. Η εφαρμογή όξινης υδρόλυσης πριν την εκχύλιση με διαλύτη μπορεί να ενισχύσει τη διαδικασία με τους εξής τρόπους:

1. **Αυξημένη Διάσπαση Κυτταρικών Δομών:** Η όξινη υδρόλυση συμβάλλει στην αποδόμηση των δομών των κυτταρικών τοιχωμάτων και των δεσμών μεταξύ των κυτταρικών συστατικών, απελευθερώνοντας τις πολυφαινόλες από τις φυτικές μήτρες. Αυτό επιτρέπει στον διαλύτη εκχύλισης να έχει ευκολότερη πρόσβαση στα πολυφαινολικά συστατικά, βελτιώνοντας την απόδοση ανάκτησης [60].
2. **Βελτίωση της Διαλυτότητας των Πολυφαινολών:** Οι πολυφαινόλες που απελευθερώνονται από τις κυτταρικές δομές μετά από όξινη υδρόλυση είναι συχνά σε πιο διαλυτή μορφή, γεγονός που διευκολύνει την εκχύλιση τους με οργανικούς διαλύτες. Η απελευθέρωση από σύνθετα ή αδιάλυτα σύμπλοκα με άλλες μακρομοριακές ουσίες (όπως οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες) μπορεί να αυξήσει σημαντικά την απόδοση της κλασικής εκχύλισης [61].
3. **Ελαχιστοποίηση Χρήσης Διαλυτών:** Με τη βελτιστοποίηση της εκχύλισης των πολυφαινολών μέσω της όξινης υδρόλυσης, η ποσότητα των απαιτούμενων διαλυτών μπορεί να μειωθεί σημαντικά. Αυτό έχει σημαντικά οφέλη για την οικονομική βιωσιμότητα και την περιβαλλοντική επίπτωση της διαδικασίας, καθώς μειώνει τα έξοδα προμήθειας, αποθήκευσης και διαχείρισης των διαλυτών, καθώς και τα παραγόμενα απόβλητα [62].
4. **Αποφυγή Θερμοευαίσθητων Απώλειών:** Η συνδυασμένη χρήση όξινης υδρόλυσης με εκχύλιση διαλύτη σε ήπιες συνθήκες θερμοκρασίας μπορεί να μειώσει τις απώλειες βιοδραστικών πολυφαινολών που είναι ευαίσθητες στη θερμότητα. Αυτό επιτρέπει την ανάκτηση μεγαλύτερων ποσοτήτων πολυφαινολών με υψηλή βιολογική δραστικότητα [63].
5. **Μείωση Χρόνου Επεξεργασίας:** Η χρήση της όξινης υδρόλυσης ως προπαρασκευαστικό στάδιο μπορεί να μειώσει τον χρόνο που απαιτείται για την εκχύλιση με διαλύτη, καθώς οι διαλυμένες ή διασπασμένες πολυφαινόλες εξάγονται ταχύτερα από την φυτική μήτρα. Αυτό είναι ιδιαίτερα χρήσιμο σε βιομηχανική κλίμακα, όπου η μείωση του χρόνου επεξεργασίας μπορεί να συμβάλει στη βελτιστοποίηση της παραγωγικής διαδικασίας [64].

Η όξινη υδρόλυση παρουσιάζει μια πολλά υποσχόμενη μέθοδο για την ανάκτηση πολυφαινολών από φυτικά υλικά και αγροδιατροφικά υποπροϊόντα, παρέχοντας βελτιωμένες αποδόσεις σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους εκχύλισης με διαλύτη. Ωστόσο, απαιτεί προσεκτικό σχεδιασμό και έλεγχο των συνθηκών επεξεργασίας για να επιτύχει τα καλύτερα αποτελέσματα, ενώ ταυτόχρονα μειώνει τις αρνητικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις και διασφαλίζει την οικονομική βιωσιμότητα.

της διαδικασίας. Η συνδυαστική χρήση της όξινης υδρόλυσης με παραδοσιακές μεθόδους εκχύλισης μπορεί να ανοίξει νέους δρόμους για την αποτελεσματική αξιοποίηση των πολυφαινολικών συστατικών, με θετικές επιπτώσεις στην βιομηχανία και το περιβάλλον [65].

1.9 Σκοπός

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανάπτυξη και αξιολόγηση μιας καινοτόμου μεθοδολογίας για την ανάκτηση πολυφαινολικών αντιοξειδωτικών από υπολείμματα επεξεργασίας καφέ, με έμφαση στις φλούδες κόκκων καφέ, οι οποίες αποτελούν ένα σημαντικό υποπροϊόν της βιομηχανίας καφέ. Η μελέτη επικεντρώνεται στη βελτιστοποίηση της απόδοσης ανάκτησης πολυφαινολών μέσω μιας υδατοδιαλυτικής μεθόδου εκχύλισης με αιθανόλη, υποβοηθούμενης από όξινη κατάλυση, χρησιμοποιώνταςθειικό οξύ και οξαλικό οξύ ως καταλύτες. Συγκεκριμένα, η εργασία αποσκοπεί στη μοντελοποίηση της διαδικασίας εκχύλισης βάσει της δριμύτητας των παραμέτρων, καθώς και στη χρήση της μεθοδολογίας απόκρισης επιφάνειας για τη βελτιστοποίηση κρίσιμων παραμέτρων, όπως η συγκέντρωση του καταλύτη και ο χρόνος επαφής. Μέσω αυτών των προσεγγίσεων, στόχος είναι να προσδιοριστούν οι βέλτιστες συνθήκες που θα μεγιστοποιήσουν την απόδοση της εκχύλισης πολυφαινολών (Y_{TP}), παρέχοντας παράλληλα σημαντικές πληροφορίες για την εφαρμογή βιομηχανικών διαδικασιών με μειωμένη περιβαλλοντική επιβάρυνση. Παράλληλα, η εργασία επιδιώκει να συγκρίνει την αποτελεσματικότητα διαφορετικών καταλυτών, συγκεκριμένα του θειικού και του οξαλικού οξέος, προκειμένου να διαπιστωθεί η δυνατότητα αντικατάστασης διαβρωτικών χημικών ουσιών με πιο φιλικές προς το περιβάλλον εναλλακτικές λύσεις, όπως το οξαλικό οξύ. Σκοπός είναι να αξιολογηθεί αν η χρήση βρώσιμων οργανικών οξέων μπορεί να παρέχει ισοδύναμα ή βελτιωμένα αποτελέσματα με χαμηλότερη δριμύτητα, ενισχύοντας τη βιωσιμότητα της βιομηχανικής διαδικασίας. Τέλος, η εργασία στοχεύει να αναδείξει τη δυνατότητα χρήσης των αποβλήτων επεξεργασίας καφέ ως πηγών βιοενεργών συστατικών και να υποστηρίξει τον σχεδιασμό νέων λειτουργικών προϊόντων. Μέσα από την ενσωμάτωση αυτών των αποβλήτων σε μια πιο βιώσιμη στρατηγική για τις εταιρείες επεξεργασίας καφέ, η μελέτη επιδιώκει να συμβάλει στην προώθηση πρακτικών κυκλικής οικονομίας και στη μείωση του περιβαλλοντικού αποτυπώματος της βιομηχανίας καφέ.

Κεφάλαιο 2. Υλικά και μέθοδοι

2.1 Χημικές Ουσίες και Αντιδραστήρια

Το L-Ασκορβικό οξύ ήταν από την Carlo Erba (Μιλάνο, Ιταλία). Το άνυδρο ανθρακικό νάτριο ήταν από την Penta (Πράγα, Τσεχία). Το οξαλικό οξύ, το νεοχλωρογενικό οξύ ($\geq 98\%$) και το χλωρογενικό οξύ ($\geq 95\%$) ήταν από τη Sigma-Aldrich (Steinheim, Γερμανία). Ο τρισθενής χλωριούχος σίδηρος ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) ήταν από τη Merck (Darmstadt, Γερμανία). Το μονούδατο γαλλικό οξύ ($\geq 98\%$), το αντιδραστήριο Folin–Ciocalteu και η καθαρή αιθανόλη ήταν από τη Panreac (Βαρκελώνη, Ισπανία). Το

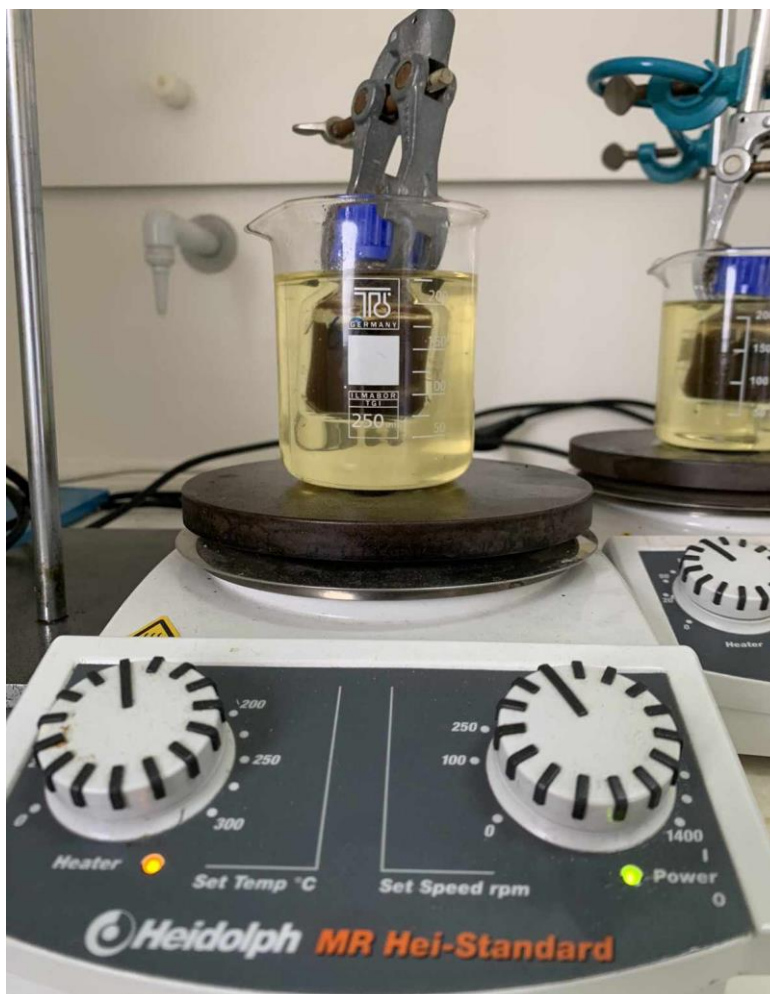
2,4,6-Τρις(2-πυριδυλ)-s-τριαζίνη (TPTZ) ήταν από τη Fluka (Steinheim, Γερμανία). Το 2,2-Διφαινυλ-1-πικρυλοϋδραζίνη (DPPH) ήταν από την Alfa Aesar (Karlsruhe, Γερμανία). Διαλύτες HPLC χρησιμοποιήθηκαν για όλες τις χρωματογραφικές αναλύσεις.

2.2 Φλούδες Κόκκων Καφέ

Οι φλούδες κόκκων καφέ που αποκτήθηκαν απευθείας μετά από βιομηχανικό καβούρδισμα κόκκων καφέ arabica, παραχωρήθηκαν από την εταιρεία *Coffee Island* (Πάτρα, Ελλάδα). Το υλικό που παραλήφθηκε ήταν σε αεροστεγή συσκευασία και θρυμματίστηκε σε εργαστηριακό επιτραπέζιο μύλο. Οι θρυμματισμένες φλούδες καφέ κοσκινίστηκαν και έγιναν σκόνη και επιλέχθηκαν σωματίδια διαμέτρου $\leq 0,5$ χιλιοστών για τις υδατοδιαλυτικές επεξεργασίες.

2.3 Δοκιμές με Διαλύτες Νερό-Αιθανόλη και Επεξεργασίες με Οργανικούς Διαλύτες

Αρχικά, η αποτελεσματικότητα ανάκτησης πολυφαινόλων από τις φλούδες καφέ δοκιμάστηκε χρησιμοποιώντας διαλύματα νερού/αιθανόλης σε διάφορες αναλογίες. Η σύνθεση των διαλυμάτων που δοκιμάστηκαν ήταν από 20-80% αιθανόλης (v/v), ενώ χρησιμοποιήθηκε νερό και καθαρή αιθανόλη για λόγους σύγκρισης. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε σε ένα δοχείο Duran™ όγκου 25 mL. Για την εκχύλιση, αναμίχθηκαν 2 g κονιορτοποιημένων φλουδών καφέ με 20 mL διαλύματος. Έπειτα, το μίγμα τοποθετήθηκε σε μια θερμαινόμενη πλάκα ανάδευσης ελεγχόμενης θερμοκρασίας (Witeg, Wertheim, Γερμανία), με ταχύτητα ανάδευσης 500 rpm, για 180 min, σε σταθερή θερμοκρασία 80°C. Αυτή η θερμοκρασία ήταν το υψηλότερο ασφαλές όριο, ώστε να αποφευχθεί το σημείο βρασμού του διαλύματος, δεδομένου ότι τα συστήματα που ελέγχθηκαν ήταν μίγματα αιθανόλης. Η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε και με τη χρήση όξινων καταλυτών στα διαλύματα αιθανόλης – νερού. Οι δύο καταλύτες που ελέγχθηκαν ήταν το θειικό οξύ σε συγκεντρώσεις (C_{SuAc}) 0.5, 1, and 1.5% (w/v), και το οξαλικό οξύ σε συγκεντρώσεις (C_{OxAc}) 4, 8, and 12% (w/v). Συνεπώς, ένα πλήθος συνδυασμών συγκέντρωσης όξινων καταλυτών και διάρκειας επεξεργασίας (60, 180, and 300 min), χρησιμοποιήθηκαν για να επιτευχθούν διαφορετικά επίπεδα δριμύτητας.



Εικόνα 2.1: Εκχύλιση δείγματος κονιορτοποιημένων φλουδών καφέ με αιθανόλη

2.4 Καθορισμός Δριμύτητας Επεξεργασίας

Ο καθορισμός της δριμύτητας υπολογίστηκε λαμβάνοντας υπόψιν τον χρόνο εκχύλισης και τη θερμοκρασία της επεξεργασίας, όπως ακολουθεί [66,67]:

$$R_o = t \times e^{\left(\frac{T-100}{14.75}\right)} \quad (1)$$

$$SF = \log R_o \quad (2)$$

Η τιμή SF είναι ο παράγοντας δριμύτητας, η R_o η δριμύτητα, οι 100°C η θερμοκρασία αναφοράς, t ο χρόνος εκχύλισης (min) και T η θερμοκρασία επεξεργασίας ($^\circ\text{C}$). Η τιμή 14.75 αντιπροσωπεύει μια εμπειρική παράμετρο σχετική με τη θερμοκρασία και την ενέργεια ενεργοποίησης. Ο συνδυασμένος παράγοντας δριμύτητας (CSF), ο οποίος είναι μια πιο λεπτομερής μορφή του SF, μπορεί να υπολογιστεί λαμβάνοντας υπόψιν το pH του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε, το οποίο μπορεί επίσης να συμβάλει στη διαλυτοποίηση της βιομάζας που υποβάλλεται σε επεξεργασία (CSS) [68]:

$$R_o' = 10^{-\text{pH}} \times t \times e^{\left(\frac{T-100}{14.75}\right)} \quad (3)$$

$$\text{CSF} = \log R_o' - \text{pH} \quad (4)$$

Μια άλλη μέτρηση της δριμύτητας της επεξεργασίας είναι μία εναλλακτική μορφή της CFS, ορισμένη ως CSF', η οποία παρέχει μία πιο ικανοποιητική τιμή δριμύτητας για επεξεργασίες που έγιναν σε πολύ διαφορετικές τιμές pH [68]:

$$\text{CSF}' = \log R_o + |\text{pH} - 7| \quad (5)$$

2.5 Βελτιστοποίηση Επιφάνειας Απόκρισης

Θεωρώντας τις συγκεντρώσεις των όξινων καταλυτών C_{SuAc} ή C_{OxAc} , και τον χρόνο παραμονής t , ως ανεξάρτητες παραμέτρους (της επεξεργασίας), και την απόδοση σε ολικές πολυφαινόλες ως την απόκριση, η βελτιστοποίηση της επεξεργασίας με υδροαιθανολικά διαλύματα επιτεύχθηκε χρησιμοποιώντας μια μεθοδολογία απόκρισης επιφάνειας στη βάση ενός κεντρικού σύνθετου πειραματικού σχεδιασμού, ο οποίος περιλαμβάνει στο σύνολο 11 σχεδιαστικά σημεία και 3 κεντρικά σημεία. Οι μεταβλητές της επεξεργασίας κωδικοποιήθηκαν σε 3 επίπεδα, -1, 0 και 1, όπως περιεγράφηκε λεπτομερώς προηγουμένως [69]. Τα επίπεδα της μεταβλητής της επεξεργασίας σε πραγματική και κωδικοποιημένη μορφή φαίνονται στον Πίνακα 1. Τα εύρη της μεταβλητής επιλέχθηκαν κάνοντας προκαταρκτικά πειράματα και λαμβάνοντας υπόψη τη σχετική βιβλιογραφία [70]. Η γενική σημασία του μοντέλου (R^2 , p) και η σημασία των ατομικών συντελεστών των παράγωγων μοντέλων αξιολογήθηκαν διενεργώντας lack-of-fit και ANOVA τεστ, θεωρώντας ως ελάχιστο επίπεδο σημαντικότητας το 95%.

Πίνακας 1. Μεταβλητές των επεξεργασιών με οργανικούς διαλύτες, τόσο σε πραγματική όσο και σε κωδικοποιημένη μορφή. Ο όρος C αντιστοιχεί στη συγκέντρωση του όξινου καταλύτη, ο οποίος ήταν είτε θειικό (C_{SuAc}) οξύ είτε οξαλικό οξύ (C_{OxAc}).

Treatment Variables	Codes	Coded Variable Level		
		-1	0	1
t (min)	X_1	60	180	300
C_{SuAc} (% w/v)	X_2	0.5	1.0	1.5
C_{OxAc} (% w/v)		4	8	12

2.6 Υπολογισμός Ολικών Πολυφαινολών και Μελέτη Αντιοξειδωτικής Δράσης

Για τον υπολογισμό των ολικών πολυφαινολών χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο Folin-Ciocalteu [71]. Όλα τα δείγματα αραιώθηκαν 1:100 με νερό πριν τους προσδιορισμούς. Τότε 0,10 mL του αραιωμένου δείγματος μεταφέρθηκαν μαζί με 0,10 mL Folin-Ciocalteu (2M) σε σωλήνα Eppendorf 1,5 mL και η αντίδραση αφέθηκε για να συμβεί 2 min. Ακολούθως, 0.8 mL Na₂CO₃ (5% w/w) προστέθηκαν και το μίγμα θερμάνθηκε σε υδατόλουτρο στους 40°C για 20 min. Η απορρόφηση καταγράφηκε στα 740 nm στο φασματοφωτόμετρο και ο προσδιορισμός της συνολικής συγκέντρωσης C_{TP} πολυφαινολών ολοκληρώθηκε με καμπύλη βαθμονόμησης γαλλικού οξέος (10-100 mg/L σε μεθανόλη). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ισοδύναμα mg καφεϊκού οξέος (CAE) ανά g ξηρής μάζας (DM), χρησιμοποιώντας την εξίσωση:

$$Y_{TP} \text{ (mg CAE/g DM)} = (C_{TP} \cdot V) / w$$

όπου V ο όγκος του μέσου εκχύλισης (L) και w η ξηρή μάζα του δείγματος (g).

Επίσης, χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο αναγωγής του τρισθενούς σιδήρου (P_R), όπου αραιωμένο δείγμα εκχυλίσματος (0,05ml, 1:100) αναμείχθηκε πλήρως με διάλυμα FeCl₃ 0,05 mL και επωάστηκε για 30 min σε υδατόλουτρο στους 37°C. Ακολούθως, 0,90ml διαλύματος TPTZ προστέθηκαν και η απορρόφηση μετρήθηκε στα 620nm μετά από ακριβώς 5 min. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μmol ισοδύναμα ασκορβικού οξέος (AAE) ανά g DM, χρησιμοποιώντας μια καμπύλη βαθμονόμησης ασκορβικού οξέος (50-100 μmol/L σε 0,05M HCl), χρησιμοποιώντας την παρακάτω εξίσωση [72]:

$$P_R \text{ (}\mu\text{mol AAE/g DM)} = (C_{PR} \cdot V) / w$$

Τέλος, χρησιμοποιήθηκε και το πρωτόκολλο για την ανάλυση της αντιοξειδωτικής δράσης (A_{AR}), όπου 0,025ml αραιωμένου δείγματος εκχυλίσματος (1:20) αναμείχθηκε με 0,975 mL διαλύματος DPPH και η απορρόφηση στα 515nm μετρήθηκε αμέσως μετά την ανάμειξη και μετά από 30 min. Το A_{AR} υπολογίστηκε σε μmol DPPH ανά g DM χρησιμοποιώντας την εξής εξίσωση [72]:

$$A_{AR} \text{ (}\mu\text{mol DPPH/g DM)} = [\Delta A / (\epsilon \cdot L \cdot C)] \cdot Y_{TP}$$

$$\text{Όπου } \Delta A = A_{515(i)} - A_{515(f)}$$

$$\epsilon \text{ (DPPH)} = 11,126 \cdot 10^6 \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$$

$$C = C_{TP} \cdot 0,025 \text{ αραιώση (1:50)}$$

$$Y_{TP} = \text{συνολική πολυφαινολική απόδοση του εκχυλίσματος (mg/g)}$$

2.7 Αναλυτικός Προσδιορισμός Σύνθεσης των Πολυφαινολών

Οι χρωματογραφικοί προσδιορισμοί επιτεύχθηκαν όλες δίνεται λεπτομερώς σε προηγούμενη εργασία [73]. Ποσοτικοί προσδιορισμοί έγιναν με χρήση εξωτερικών προτύπων, χρησιμοποιώντας καμπύλες βαθμονόμησης νεοχλωρογενικού οξέος ($R^2 = 0.9990$), στα 320 nm. Τα εύρη των συγκεντρώσεων που χρησιμοποιήθηκαν για όλες τις πολυφαινόλες ήταν από 5 έως 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Τα έτοιμα διαλύματα προετοιμάστηκαν σε μεθανόλη για HPLC και αποθηκεύτηκαν όλες -40°C .

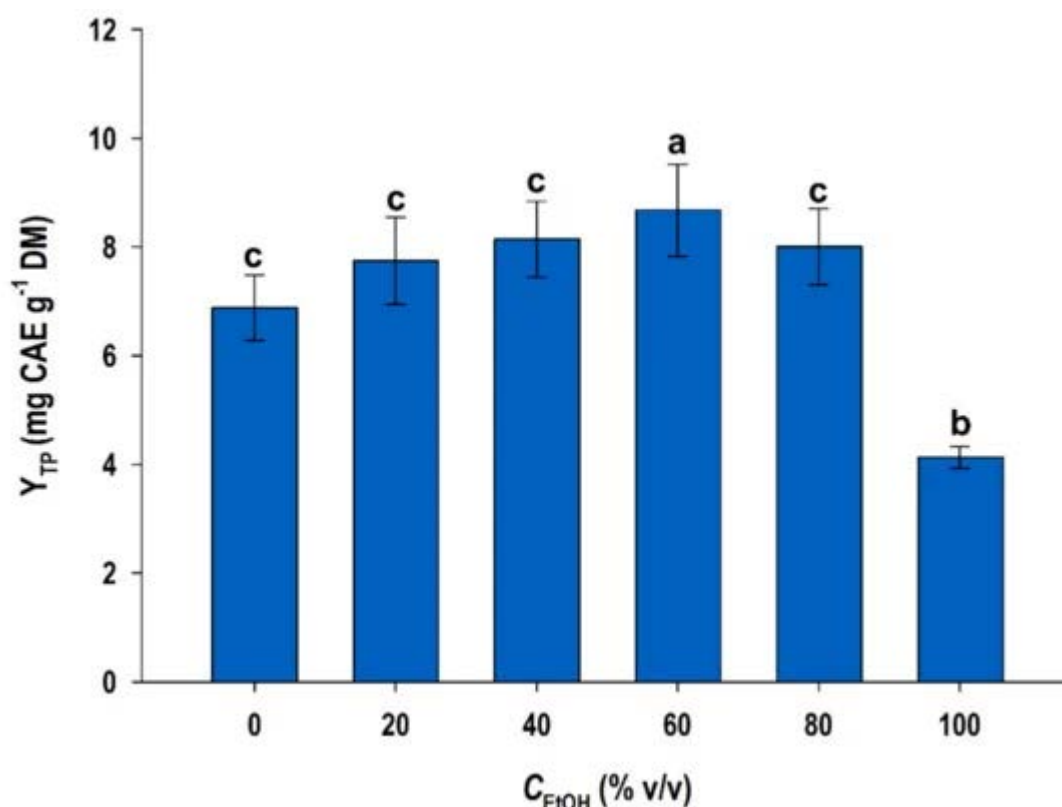
2.8 Στατιστική Ανάλυση

Οι γραμμικές παλινδρομήσεις προέκυψαν με τη χρήση του SigmaPlot™ 12.5 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA). Το λογισμικό JMP™ Pro 13 (SAS, Cary, NC, USA) χρησιμοποιήθηκε για να πραγματοποιήσει ανάλυση κατανομής, να φτιάξει τον σχεδιασμό του πειράματος και να εφαρμόσει τη μεθοδολογία όλες επιφάνειας απόκρισης. Τα στατιστικά που αφορούν στη μεθοδολογία όλες επιφάνειας απόκρισης (ανάλυση όλες απόκλισης, lack of fit) υπολογίστηκαν όλες από το JMP™ Pro 13. Όλες οι επεξεργασίες διενεργήθηκαν τουλάχιστον δύο φορές, και οι αναλυτικές μετρήσεις τρεις φορές. Οι τιμές αναφέρθηκαν ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση.

3. Αποτελέσματα και συζήτηση

3.1 Αποτέλεσμα της Συγκέντρωσης της Αιθανόλης

Αρχικά, έγινε μια ανάλυση για να βρεθεί η βέλτιστη συγκέντρωση αιθανόλης αναφορικά με την ανάκτηση πολυφαινολών από φλούδες κόκκων καφέ. Για αυτό, ελέγχθηκαν υδραλκοολικά διαλύματα με αυξανόμενη συγκέντρωση αιθανόλης και τα αποτελέσματα που συλλέχθηκαν παρουσιάζονται στην Εικόνα 3.1. Ένα διάλυμα 60% αιθανόλης φάνηκε να παρουσιάζει σημαντικά υψηλότερη εκχυλιστική ικανότητα ($p < 0.05$), σε αντίθεση με την 100% αιθανόλη, η οποία ήταν η λιγότερο αποδοτική. Επομένως, η περεταίρω ανάπτυξη της επεξεργασίας βασίστηκε σε μίγμα 60%.



Εικόνα 3.1: Το αποτέλεσμα της συγκέντρωσης αιθανόλης (C_{EtOH}) των μιγμάτων νερού/αιθανόλης στην ανάκτηση των ολικών πολυφαινόλων από φλούδες κόκκων καφέ. Οι εκχυλίσεις έγιναν στους 80 °C για 180 min.

3.2 Αποτέλεσμα Χρήσης του Όξινου Καταλύτη - Δριμύτητα Επεξεργασίας

Δύο οξέα ελέγχθηκαν ως καταλύτες, το θειικό οξύ και το οξαλικό οξύ. Το θειικό οξύ επιλέχθηκε, επειδή είναι ένα ισχυρό ανόργανο οξύ ($pK_a = -10$) με μεγάλο εύρος εφαρμογών και υψηλή αποδοτικότητα σε διάφορες διαδικασίες με οργανικούς διαλύτες [74]. Από την άλλη πλευρά, το οξαλικό οξύ επιλέχθηκε, επειδή είναι ένα οργανικό οξύ που προκύπτει φυσικά, το οποίο κατέχει μία σχετικά χαμηλή σταθερά διάλυσης ($pK_{a1} = 1.27$), και είναι πολύ ισχυρότερο από άλλα κοινά φυσικά οργανικά οξέα, όπως το κιτρικό οξύ ($pK_{a1} = 3.13$) ή το οξικό οξύ ($pK_a = 4.80$). Επιπλέον, το οξαλικό οξύ έχει επίσης χρησιμοποιηθεί ως ένας ήπιος και αποτελεσματικός καταλύτης σε διαδικασίες υδατοδιαλυτικής επεξεργασίας [75]. Για αυτό τον λόγο, οι επεξεργασίες των φλουδών κόκκων καφέ έγιναν με μίγματα 60% αιθανόλης/νερού, τα οποία περιείχαν διάφορες συγκεντρώσεις και των δύο οξέων, όπως παρουσιάζεται στους Πίνακες 2 και 3. Οι επεξεργασίες περιλάμβαναν τη διαχείριση των φλουδών σε διάφορες δριμύτητες, ώστε να ελεγχθεί η ικανότητα των επιλεγμένων διαλυτών να ανακτούν πολυφαινόλες.

Πίνακας 2. Συνδυασμοί συγκέντρωσης θεικού οξέος (C_{SuAc}) και χρόνου παραμονής των επεξεργασιών με οργανικό διαλύτη που δοκιμάστηκαν, μαζί με τις αντίστοιχες δριμύτητες και τις αποδόσεις σε συνολικές πολυφαινόλες. Τα CSF, CSF' και Y_{TP} αντιστοιχούν στον συνδυαστικό παράγοντα δριμύτητας, στον εναλλακτικό συνδυαστικό παράγοντα δριμύτητας και στην απόδοση σε συνολικές πολυφαινόλες.

C_{SuAc} (% w/v)	t (min)	CSF	CSF'	Y_{TP} (mg CAE g ⁻¹ DM)
0.5	60	-0.08 ^a	6.92 ^a	9.31 ^a
	180	0.40 ^c	7.40 ^c	9.60 ^c
	300	0.62 ^c	7.62 ^c	10.02 ^c
1.0	60	0.14 ^a	7.14 ^a	9.59 ^c
	180	0.62 ^c	7.62 ^c	9.80 ^c
	300	0.84 ^b	7.84 ^b	10.29 ^b
1.5	60	0.23 ^a	7.23 ^a	9.71 ^c
	180	0.71 ^c	7.71 ^c	10.33 ^b
	300	0.93 ^b	7.93 ^b	10.84 ^b

Πίνακας 3. Συνδυασμοί συγκέντρωσης οξαλικού οξέος (C_{OxAc}) και χρόνου παραμονής των επεξεργασιών με οργανικό διαλύτη που δοκιμάστηκαν, μαζί με τις αντίστοιχες δριμύτητες και τις αποδόσεις σε συνολικές πολυφαινόλες. Τα CSF, CSF' και Y_{TP} αντιστοιχούν στον συνδυαστικό παράγοντα δριμύτητας, στον εναλλακτικό συνδυαστικό παράγοντα δριμύτητας και στην απόδοση σε συνολικές πολυφαινόλες.

C_{OxAc} (% w/v)	t (min)	CSF	CSF'	Y_{TP} (mg CAE g ⁻¹ DM)
4	60	-0.09 ^a	6.91 ^a	7.80 ^a
	180	0.39 ^c	7.39 ^c	9.25 ^c
	300	0.61 ^c	7.61 ^c	10.16 ^b
8	60	0.07 ^a	7.07 ^a	8.20 ^a
	180	0.55 ^c	7.55 ^c	9.06 ^c
	300	0.77 ^b	7.77 ^b	9.98 ^b
12	60	0.17 ^a	7.17 ^a	9.20 ^c
	180	0.65 ^c	7.65 ^c	9.70 ^c
	300	0.87 ^b	7.87 ^b	10.30 ^b

Για την επεξεργασία με θεικό οξύ, διαπιστώθηκε ότι η επίτευξη σημαντικά υψηλότερου Y_{TP} ($p < 0.05$) απαιτούσε ένα CSF τουλάχιστον 0.71 και ένα CSF' του 7.71, το οποίο αντιστοιχούσε σε μια επεξεργασία με $C_{SuAc} = 1,5\%$ για 180 λεπτά. Σε αυτές τις συνθήκες, το Y_{TP} που βρέθηκε ήταν 10,33 mg CAE g⁻¹ DM (Πίνακας 2). Προηγούμενες μελέτες σε παρόμοιο υλικό (απόβλητα καφέ), έδειξαν ότι η βέλτιστη συγκέντρωση θεικού οξέος ήταν πράγματι 1,5%, αλλά το μέγιστο Y_{TP} επετεύχθη στους 51 °C για 45 λεπτά, χρησιμοποιώντας ένα υδραλκοολικό διάλυμα 68% [11]. Επιπλέον, η οργανική επεξεργασία πίτουρου σιταριού έδωσε μέγιστο Y_{TP} στα επίπεδα CSF και CSF' του 0,93 και 7,93, αντίστοιχα, τα οποία αντιστοιχούσαν σε 1,5% θεικό οξύ και χρόνο παραμονής 300 λεπτών [76].

Στην περίπτωση της επεξεργασίας με οξαλικό οξύ, μπορούσε να επιτευχθεί σημαντικά υψηλότερο Y_{TP} ($p < 0,05$) των 10,16 mg CAE g^{-1} DM σε ένα CSF του 0,61 και ένα CSF' του 7,61 (Πίνακας 3). Αυτά τα δεδομένα υποδήλωναν ότι όταν χρησιμοποιείται ένα αβλαβές φυσικό χημικό, όπως το οξαλικό οξύ, αντί για το διαβρωτικό θειικό οξύ, μπορεί να επιτευχθεί σχεδόν ίση απόδοση σε συνολικές πολυφαινόλες, ακόμη και σε ελαφρώς χαμηλότερη δριμύτητα.

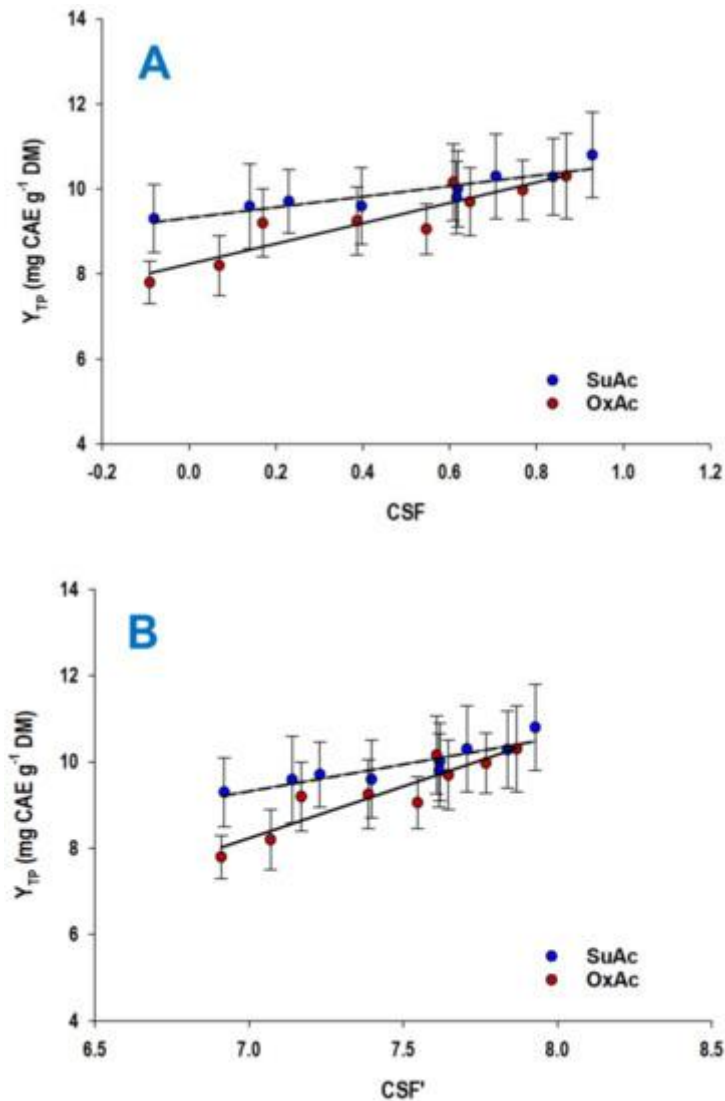
Για την ανίχνευση οποιασδήποτε δυνατής συσχέτισης μεταξύ της δριμύτητας και του Y_{TP} , πραγματοποιήθηκαν παλινδρομήσεις μεταξύ των τιμών CSF και CSF' με το Y_{TP} . Από αυτήν την ανάλυση, διαπιστώθηκε ότι γραμμικά μοντέλα μπορούν να περιγράψουν καλά τις σχετικές συσχετίσεις (Εικόνα 3.2). Αυτά τα μοντέλα ήταν τα ακόλουθα:

$$Y_{TP(SuAc)} = 1.25CSF_{SuAc} + 9.32 \quad (R^2 = 0.83, p = 0.0006) \quad (6)$$

$$Y_{TP(SuAc)} = 1.25CSF'_{SuAc} + 0.60 \quad (R^2 = 0.83, p = 0.0006) \quad (7)$$

$$Y_{TP(OxAc)} = 2.40CSF_{OxAc} + 8.23 \quad (R^2 = 0.85, p = 0.0004) \quad (8)$$

$$Y_{TP(OxAc)} = 2.40CSF'_{OxAc} - 8.58 \quad (R^2 = 0.85, p = 0.0004) \quad (9)$$



Εικόνα 3.2: Γραμμική παλινδρόμηση μεταξύ του CSF (A) και του CSF' (B) με το Y_{TP} . Οι μπάρες υποδεικνύουν την τυπική απόκλιση. Ορισμοί: SuAc, κατεργασία με καταλύτη θειικό οξύ· OxAc, κατεργασία με καταλύτη οξαλικό οξύ.

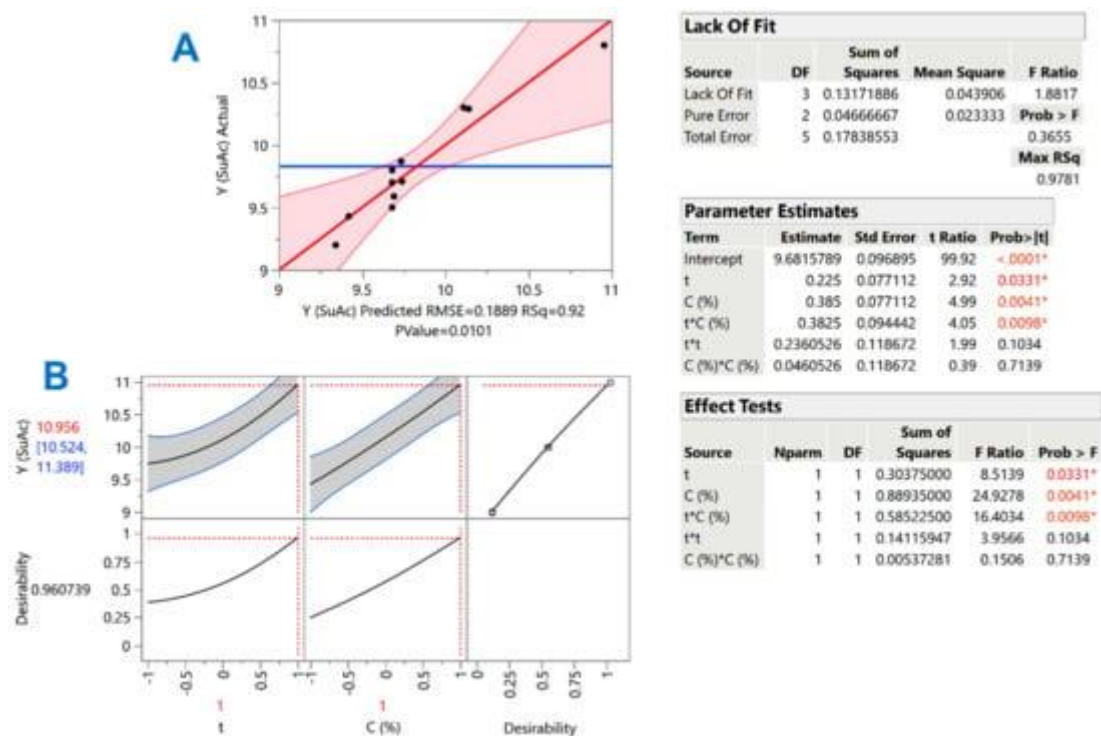
Με βάση τα παραπάνω μοντέλα, ήταν εμφανές ότι μπορεί να επιτευχθεί αυξημένη απόδοση σε συνολικές πολυφαινόλες αυξάνοντας τη δριμύτητα, και αυτό θα μπορούσε να επιτευχθεί είτε αλλάζοντας τη συγκέντρωση του καταλύτη είτε το χρόνο παραμονής. Έτσι, αυτές οι δύο παράμετροι μπορούν να προσαρμοστούν εναλλάξιμα κατά το επιθυμητό. Η άμεση συσχέτιση μεταξύ δριμύτητας και συνολικής απόδοσης πολυφαινολών έχει πρόσφατα αναφερθεί για την εξαγωγή πολυφαινολών από πίτουρο σίτου χρησιμοποιώντας μείγματα νερού/αιθανόλης υπό πίεση [77]. Οι εν λόγω μελέτες σχετικά με το πίτουρο σίτου συμφώνησαν με τα παρόντα αποτελέσματα, δείχνοντας ένα άμεσο αποτέλεσμα της δριμύτητας της όξινης/αλκαλικής οργανικής επεξεργασίας με αιθανόλη στη συνολική απόδοση πολυφαινολών [76]. Το ίδιο συμπέρασμα

προέκυψε από την υδατοδιαλυτική επεξεργασία στερεών αποβλήτων κρεμμυδιού με διάλυμα γλυκερίνης και βαθέως εύτηκτων διαλυτών, όπου η συνολική απόδοση πολυφαινολών ήταν απευθείας ανάλογη του CSF [78].

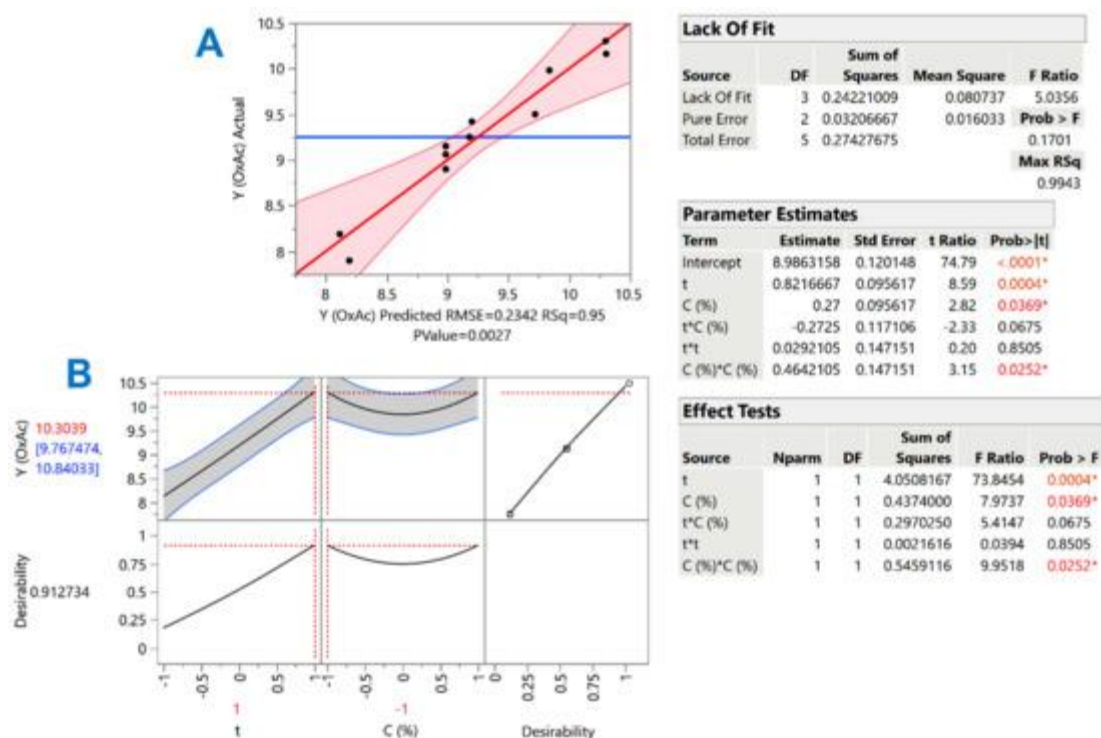
Η απόδοση συνολικών πολυφαινολών (Y_{TP}) των περίπου 10 mg CAE g^{-1} DM που επιτεύχθηκε και με τους δύο τρόπους όξινης κατάλυσης ήταν συγκρίσιμη με 12 mg ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE) g^{-1} DM τα οποία επιτεύχθηκαν με συμβατική εκχύλιση χρησιμοποιώντας 50% αιθανόλη [79] και με 13.72 mg GAE g^{-1} DM που επιτεύχθηκαν με εκχύλιση με υπέρηχους χρησιμοποιώντας νερό/αιθανόλη ως διαλύτη [80]. Η συμβατική εκχύλιση φλουδών κόκκων καφέ με νερό/αιθανόλη έδωσε επίσης βέλτιστη απόδοση 13 mg GAE g^{-1} DM [81]. Ωστόσο, άλλες έρευνες που χρησιμοποίησαν ως διαλύτη νερό/αιθανόλη ανέφεραν επίπεδα Y_{TP} της τάξης των 7.22 mg GAE g^{-1} DM [82]. Η εκχύλιση με υπέρηχους χρησιμοποιώντας μείγματα νερού/μεθανόλης παρείχε αποδόσεις εντός του εύρους 5.80–8.94 mg GAE g^{-1} DM [83], αλλά επίπεδα 19.17 mg GAE g^{-1} DM μπορούσαν να επιτευχθούν με ήπια υδροθερμική επεξεργασία των CSS [84]. Από την άλλη, σημαντικά υψηλότερη απόδοση 35 mg GAE g^{-1} DM [85] και πολύ μεγαλύτερα επίπεδα 93.83 mg GAE g^{-1} DM [86] έχουν αναφερθεί για την υποκρίσιμη εκχύλιση CSS με νερό. Παρόμοια απόδοση των 93.55 mg GAE g^{-1} DM θα μπορούσε να αποκτηθεί χρησιμοποιώντας μείγματα νερού/αιθανόλης και υπέρηχους σε θερμοκρασία δωματίου [87].

3.3 Βελτιστοποίηση της Επεξεργασίας Μέσω της Επιφάνειας Απόκρισης

Τα στοιχεία από τα μοντέλα που βασίζονται στη δριμύτητα υποδήλωναν ότι ίσες αποδόσεις μπορούν να επιτευχθούν από διάφορους συνδυασμούς συγκέντρωσης οξέος και χρόνου παραμονής. Επομένως, προκειμένου να προσδιοριστούν οι βέλτιστες συνθήκες που θα παρέχουν μια μεγιστοποιημένη απόκριση (Y_{TP}), σχεδιάστηκε και εφαρμόστηκε βελτιστοποίηση με μέθοδο επιφάνειας απόκρισης. Ο σκοπός ήταν επίσης να ανιχνευθούν πιθανές διασταυρωμένες (συνεργιστικές) επιδράσεις μεταξύ των ανεξάρτητων μεταβλητών (συγκέντρωση καταλύτη οξέος, C, και χρόνος παραμονής, t) και να αναπτυχθεί ένα πιο αξιόπιστο μοντέλο για την επεξεργασία. Η αξιολόγηση των μοντέλων (μαθηματικές εξισώσεις) που προέκυψαν από τη μεθοδολογία απόκρισης επιφάνειας βασίστηκε σε ένα τεστ έλλειψης προσαρμογής και σε ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA) (Εικόνα 3.3 και Εικόνα 3.4), με βάση την εγγύτητα των προβλεπόμενων και μετρημένων τιμών Y_{TP} (Πίνακας 4).



Εικόνα 3.3: Δεδομένα που προκύπτουν από την εφαρμογή της μεθοδολογίας επιφανειακής απόκρισης για τη βελτιστοποίηση της κατεργασίας οργανικού διαλύτη - αιθανόλης με καταλύτη θειικό οξύ στο CSS. (Α) Γράφημα που δείχνει τη συσχέτιση μεταξύ προβλεπόμενων και μετρημένων (πραγματικών) τιμών Y_{TP} . (Β) Γράφημα επιθυμητότητας με προβλεπόμενη μέγιστη τιμή Y_{TP} και βέλτιστες τιμές CSuAc και t. Τιμές με αστερίσκο και διαφορετικό χρώμα είναι στατιστικά σημαντικές.



Εικόνα 3.4: Δεδομένα που προκύπτουν από την εφαρμογή της μεθοδολογίας επιφανειακής απόκρισης για τη βελτιστοποίηση της κατεργασίας οργανικού διαλύτη - αιθανόλης με καταλύτη οξαλικό οξύ στο CSS. (Α) Γράφημα που δείχνει τη συσχέτιση μεταξύ προβλεπόμενων και μετρημένων (πραγματικών) τιμών Y_{TP} . (Β) Γράφημα επιθυμητότητας με προβλεπόμενη μέγιστη τιμή Y_{TP} και βέλτιστες τιμές COxAc και t. Τιμές με αστερίσκο και διαφορετικό χρώμα είναι στατιστικά σημαντικές.

Πίνακας 4. Παρουσίαση των σημείων σχεδιασμού που χρησιμοποιήθηκαν για τη μεθοδολογία επιφανειακής απόκρισης, των κωδικοποιημένων επίπεδων των ανεξάρτητων μεταβλητών και των μετρημένων και προβλεπόμενων τιμών απόκρισης για τις κατεργασίες οργανικού διαλύτη με καταλύτη θειικό οξύ και οξαλικό

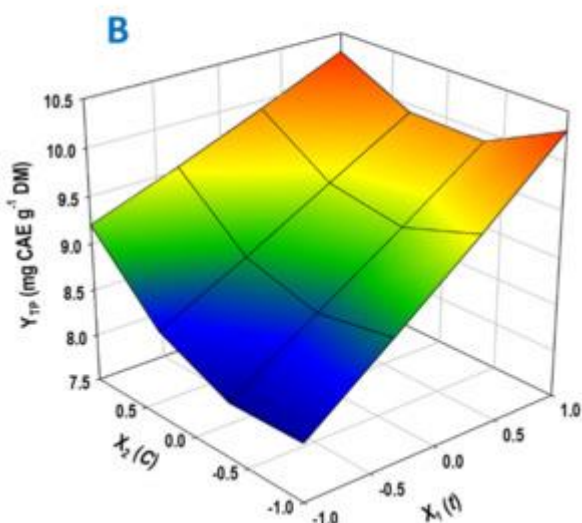
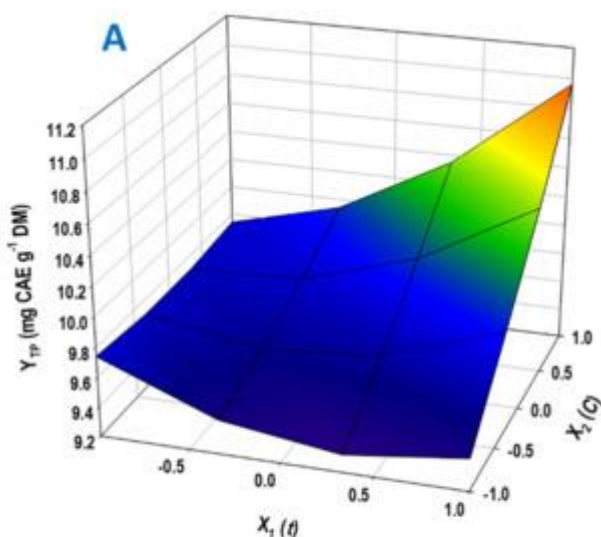
Design Point	Independent Variables		Response (Y _{TP} , mg CAE g ⁻¹ DM)			
	X ₁ (t)	X ₂ (C)	SuAc		OxAc	
			Measured	Predicted	Measured	Predicted
1	-1	-1	9.87	9.74	8.19	8.12
2	-1	1	9.71	9.74	9.42	9.20
3	1	-1	9.43	9.42	10.16	10.30
4	1	1	10.81	10.96	10.31	10.30
5	-1	0	9.59	9.69	7.90	8.19
6	1	0	10.29	10.14	9.98	9.84
7	0	-1	9.20	9.34	9.25	9.18
8	0	1	10.32	10.11	9.52	9.72
9	0	0	9.80	9.68	9.06	8.99
10	0	0	9.51	9.68	8.90	8.99
11	0	0	9.72	9.68	9.15	8.99

Τα μοντέλα εκπροσωπήθηκαν από εξισώσεις που αποτελούνται μόνο από σημαντικούς όρους (Εικόνα 3.3 και Εικόνα 3.4, ένθετος πίνακας "Εκτιμήσεις παραμέτρων"), ενώ οι μη σημαντικοί όροι αποκλείστηκαν. Οι τετραγωνικοί συντελεστές συσχέτισης των μοντέλων, καθώς και οι συνοδευτικές στατιστικές πληροφορίες για κάθε επιμέρους όρο, φαίνονται στην Εικόνα 3.3Α και Εικόνα 3.4Α και στους ένθετους πίνακες που παρέχονται. Η τελική μορφή των μοντέλων ήταν ως εξής:

$$Y_{TP(SuAc)} = 9.68 + 0.23X_1 + 0.39X_2 + 0.38X_1X_2 \quad (10)$$

$$Y_{TP(OxAc)} = 8.99 + 0.82X_1 + 0.27X_2 + 0.46X_2^2 \quad (11)$$

Και τα δύο μοντέλα παρουσίασαν R^2 ίσο ή μεγαλύτερο από 0.92, και, βάσει διαστήματος εμπιστοσύνης τουλάχιστον 95%, οι τιμές p για την έλλειψη προσαρμογής ήταν σημαντικές (Εικόνα 3.3B και Εικόνα 3.4B). Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι και τα δύο μοντέλα εμφάνισαν καλή προσαρμογή στις πειραματικά καθορισμένες τιμές. Τα τρισδιάστατα γραφήματα που προέκυψαν από τα μοντέλα απεικόνισαν την επίδραση των ανεξάρτητων μεταβλητών στην απόκριση (Y_{TP}) και ανέδειξαν τις διαφορές μεταξύ των δύο καταλυτών οξέος που χρησιμοποιήθηκαν (Εικόνα 3.5).



Εικόνα 3.5: Τρισδιάστατα διαγράμματα που παρουσιάζουν την επίδραση της μεταβολής τόσο της συγκέντρωσης του οξέος (C) όσο και του χρόνου κατεργασίας (t) στην απόδοση των συνολικών πολυφαινολών: (Α) κατεργασία με καταλύτη θειικό οξύ· (Β) κατεργασία με καταλύτη οξαλικό οξύ.

Η κατεργασία με καταλύτη θειικό οξύ επηρεάστηκε σημαντικά τόσο από τον χρόνο (t, X_1) όσο και από τη συγκέντρωση (C, X_2), αλλά και από τον αλληλεπιδραστικό όρο τους (X_1X_2) (Εικόνα 3.3 ένθετος πίνακας "Εκτιμήσεις παραμέτρων"). Αντίθετα, οι τετραγωνικοί όροι οποιασδήποτε από τις μεταβλητές δεν ήταν σημαντικοί. Στην περίπτωση της κατεργασίας με καταλύτη οξαλικό οξύ, και πάλι, τόσο το X_1 όσο και το X_2 έδειξαν σημαντική επιρροή στην απόδοση των συνολικών πολυφαινολών (Y_{TP}) (Εικόνα 3.4, ένθετος πίνακας "Εκτιμήσεις παραμέτρων"), αλλά και ο τετραγωνικός όρος του X_2 (X_2^2) ήταν επίσης σημαντικός.

Μια τέτοια επίδραση μπορεί να αναγνωριστεί οπτικά από την καμπυλότητα της επιφάνειας απόκρισης (Εικόνα 3.5B). Τόσο ο χρόνος κατεργασίας (t) όσο και η συγκέντρωση (C) ασκούσαν θετικές επιδράσεις ανεξαρτήτως του καταλύτη που χρησιμοποιήθηκε, υποδηλώνοντας ότι η αύξηση της συγκέντρωσης είτε του θειικού οξέος είτε του οξαλικού οξέος, εντός της δοκιμασθείσας περιοχής, θα παρείχε υψηλότερη απόδοση συνολικών πολυφαινολών (Y_{TP}). Το ίδιο ίσχυε και για τους αλληλεπιδραστικούς και τετραγωνικούς όρους των μοντέλων.

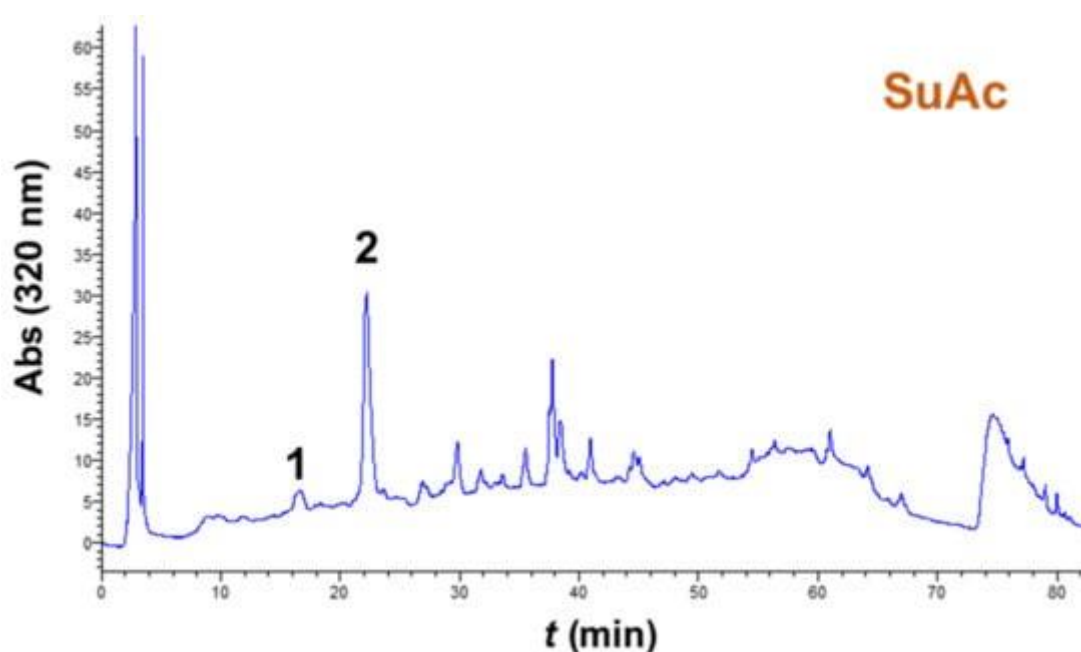
Για τον προσδιορισμό των βέλτιστων τιμών και για τις δύο μεταβλητές της διαδικασίας (t και C), καθώς και της μέγιστης προβλεπόμενης απόδοσης συνολικών πολυφαινολών (Y_{TP}) για την αναπτυγμένη κατεργασία, χρησιμοποιήθηκε η συνάρτηση επιθυμητότητας (Εικόνα 3.3Α και Εικόνα 3.4Α). Για την κατεργασία με καταλύτη θειικό οξύ, η μέγιστη θεωρητική Y_{TP} βρέθηκε να είναι 10.95 ± 0.44 mg CAE g⁻¹ DM, επιτευχθείσα σε $C_{SuAc} = 1.5\%$ και $t = 300$ λεπτά (Εικόνα 3Α). Από την άλλη πλευρά, η μέγιστη Y_{TP} των 10.30 ± 0.53 mg CAE g⁻¹ DM μπορούσε να επιτευχθεί σε $C_{OxAc} = 4\%$ και $t = 300$ λεπτά.

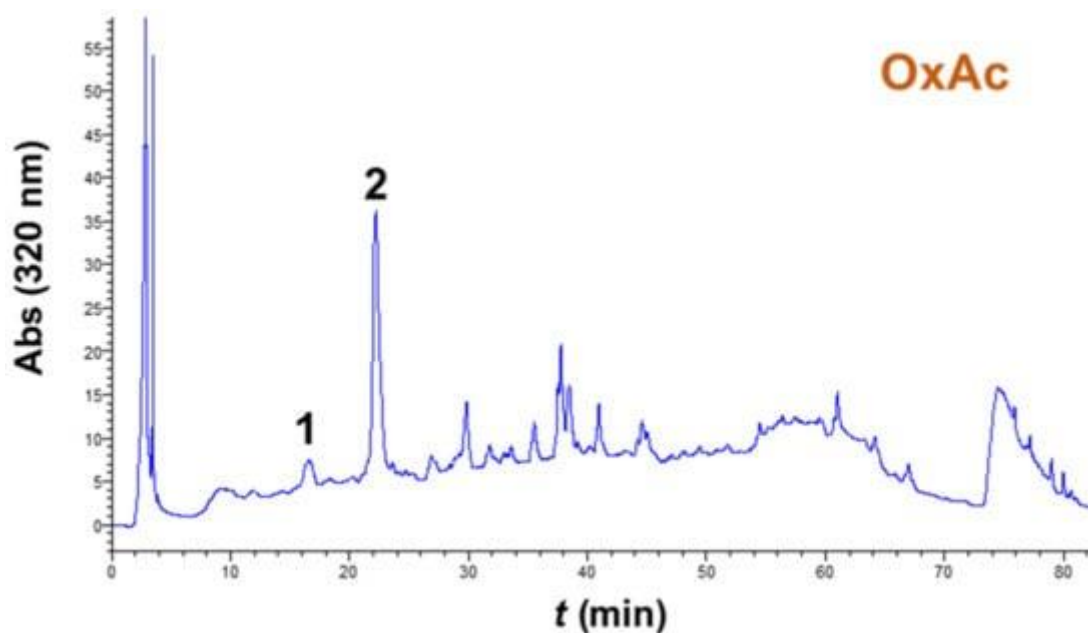
Αυτές οι τιμές ήταν ουσιαστικά ίσες με τις αντίστοιχες που δίνονται στους Πίνακες 2 και 3, και η διαφορά μεταξύ τους δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p > 0.05$). Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψη ότι οι αντίστοιχες τιμές CSF' για την κατεργασία με καταλύτη θειικό οξύ και οξαλικό οξύ ήταν 7.87 και 7.61, θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι η χρήση οξαλικού οξέος, ενός οργανικού οξέος κατάλληλου για τρόφιμα, αντί του θειικού οξέος, ενός διαβρωτικού οξέος, θα παρείχε ισοδύναμα αποτελέσματα με μικρότερη δριμύτητα.

3.4 Σύνθεση Εκχυλίσματος και Αντιοξειδωτικά Χαρακτηριστικά

Εκτός από την αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας με καταλύτη το οξαλικό οξύ όσον αφορά στην ανάκτηση των ολικών πολυφαινολών από τις φλούδες κόκκων καφέ, ένα σημαντικό θέμα ήταν το προφίλ των πολυφαινολών του εκχυλίσματος που παράχθηκε. Έτσι, το εκχύλισμα που λήφθηκε υπό ιδανικές συνθήκες αναλύθηκε χρησιμοποιώντας HPLC για να βρεθεί η σύσταση του. Το εκχύλισμα που παράχθηκε από την επεξεργασία με καταλύτη το θειικό οξύ αναλύθηκε επίσης, ώστε να εντοπιστούν πιθανές διαφορές. Με βάση την ανάλυση που καταγράφηκε στα 320 nm,

δύο βασικά συστατικά αναγνωρίστηκαν, νεοχλωρογενικό οξύ (nCGA) και χλωρογενικό οξύ (CGA) (Εικόνα 3.6). Αυτό ήταν σύμφωνο με προηγούμενες μελέτες, οι οποίες έδειξαν ότι το nCGA (3-καφεοϋλοκινικό οξύ) και το CGA (5-καφεοϋλοκινικό οξύ) ήταν τα κύρια συστατικά των εκχυλισμάτων από φλούδες κόκκων καφέ (CSS), ανεξαρτήτως του διαλύτη εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκε [89,90]. Παρόλα αυτά, άλλοι συγγραφείς ανέφεραν το φερουλοϋλοκινικό οξύ και το 4,5-δικαφεοϋλοκινικό οξύ επίσης ως κύριες πολυφαινόλες των φλουδών κόκκων καφέ [89,90].





Εικόνα 3.6: Χρωματογραφήματα εκχυλισμάτων CSS, που ελήφθησαν με κατεργασίες οργανικού διαλύτη αιθανόλης καταλυόμενες από θειικό οξύ (SuAc) και οξαλικό οξύ (OxAc), υπό βέλτιστες συνθήκες. Οι καταγραφές HPLC πραγματοποιήθηκαν στα 320 nm. Ανάθεση κορυφών: 1, νεοχλωρογενικό οξύ; 2, χλωρογενικό οξύ.

Συνολικά, τα δύο εκχυλίσματα εμφάνισαν ταυτόσημο προφίλ, κάτι που απεικονίζει ξεκάθαρα ότι η φύση του καταλύτη οξέος δεν ήταν καθοριστικός παράγοντας για τις ενώσεις που συναντώνται στα εκχυλίσματα CSS. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο πολυφαινολικό προφίλ όταν έγινε σύγκριση με το εκχύλισμα που λήφθηκε με 60% αιθανόλη (δεδομένα δεν εμφανίζονται). Από την άλλη, η ποσοτική ανάλυση έδειξε ότι το εκχύλισμα που παράχθηκε από την κατεργασία με οξαλικό οξύ ήταν εμπλουτισμένο κατά σχεδόν 16% περισσότερο σε nCGA και 12% σε CGA σε σύγκριση με το εκχύλισμα που ελήφθη με την κατεργασία με θειικό οξύ (Πίνακας 5). Συνολικά, η καταλυτική δράση του οξαλικού οξέος οδήγησε σε ένα εκχύλισμα που περιείχε 13% περισσότερους χλωρογενικούς εστέρες και παρουσίασε περίπου 12% υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα (AAR), αλλά 44% χαμηλότερη αναγωγική ισχύ (PR). Αυτό το αποτέλεσμα υποδηλώνει ότι η πολυφαινολική σύνθεση των εκχυλισμάτων επηρεάζει διαφορετικά τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Ένα τέτοιο αποτέλεσμα μπορεί να υποδεικνύει ότι άλλες ενώσεις θα μπορούσαν να επηρεάσουν τις συνολικές αντιοξειδωτικές ιδιότητες των εκχυλισμάτων CSS. Πρέπει να υπογραμμιστεί ότι μπορεί να εμφανιστούν συνεργιστικές και/ή ανταγωνιστικές επιδράσεις ως συνέπεια συνδυασμών μεμονωμένων πολυφαινολών, όπως έχει παρατηρηθεί για διάφορα μείγματα πολυφαινολών [91].

Πίνακας 5. Ποσοτικά δεδομένα σχετικά με τις αποδόσεις σε νεοχλωρογενικό οξύ (nCGA) και χλωρογενικό οξύ (CGA), που επιτεύχθηκαν με κατεργασίες οργανικού διαλύτη – αιθανόλης καταλυόμενες από θειικό οξύ (SuAc) και οξαλικό οξύ (OxAc) υπό βέλτιστες συνθήκες, μαζί με την αντιοξειδωτική δράση (AAR) και την ικανότητα

μείωσης σιδήρου (PR) των εκχυλισμάτων. Οι τιμές δίνονται ως μέσα όρων τριπλών προσδιορισμών $\pm$ τυπική απόκλιση.

Sample	nCGA ($\mu\text{g g}^{-1}$ DM)	CGA ($\mu\text{g g}^{-1}$ DM)	Total ($\mu\text{g g}^{-1}$ DM)	A _{AR} ($\mu\text{mol DPPH g}^{-1}$ DM)	P _R ($\mu\text{mol AAE g}^{-1}$ DM)
SuAc	37.56 $\pm$ 3.50	157.49 $\pm$ 12.40	195.05	75.93 $\pm$ 5.44	40.94 $\pm$ 2.32
OxAc	44.61 $\pm$ 3.88	179.59 $\pm$ 14.32	224.20	86.14 $\pm$ 6.02	32.02 $\pm$ 2.85

Έτσι, τα επίπεδα της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας και της ικανότητας αναγωγής σιδήρου που βρέθηκαν μπορεί να αντικατοπτρίζουν την εκδήλωση παρόμοιων φαινομένων. Επιπλέον, θα μπορούσε να υποθεθεί ότι το nCGA και το CGA μπορεί να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εξουδετέρωση του DPPH, που είναι μηχανισμός μονοηλεκτρονικής μεταφοράς [92]. Αντίθετα, αντιοξειδωτικά που επιδεικνύουν υψηλή απόδοση σε δοκιμασίες DPPH μπορεί να αντιδρούν με σχετικά χαμηλότερο ρυθμό με το Fe^{3+} , και, επομένως, μπορεί να δίνουν διαφοροποιημένα αποτελέσματα στη δοκιμασία ικανότητας αναγωγής σιδήρου. Επομένως, οι διαφορές που βρέθηκαν μπορεί να σχετίζονται με διαφορές τόσο στην κινητική των αντιδράσεων όσο και στους μηχανισμούς των διαφόρων συστατικών του CSS.

4. Συμπεράσματα

Η μελέτη αυτή είχε ως στόχο την ανάπτυξη μιας οργανοδιαλυτικής μεθόδου για την αποτελεσματική ανάκτηση των πολυφαινολών από φλούδες κόκκων καφέ χρησιμοποιώντας αιθανόλη και θειικό οξύ ή οξαλικό οξύ ως καταλύτη. Τα μοντέλα που βασίστηκαν τόσο στη δριμύτητα όσο και στη βελτιστοποίηση της επιφάνειας απόκρισης έδειξαν ότι η επεξεργασία με καταλύτη το οξαλικό οξύ ήταν εξίσου αποτελεσματική με την επεξεργασία με καταλύτη το θειικό οξύ, αλλά και λιγότερο επιβλαβής. Επιπλέον, η κριτική αξιολόγηση με τα δεδομένα που είναι διαθέσιμα στη βιβλιογραφία υποδήλωνε ότι η μέθοδος που αναπτύχθηκε ήταν μία διαδικασία υψηλής απόδοσης. Με βάση τα στοιχεία που προέκυψαν από αυτήν την έρευνα, θα μπορούσε να συζητηθεί ότι η επεξεργασία των φλουδών κόκκων καφέ με όξινη κατάλυση οξαλικού οξέος, μπορεί να έχει προοπτική ως μία αποτελεσματική διαδικασία για την ανάκτηση συστατικών υψηλής αξίας, όπως το χλωρογενικό οξύ. Μια τέτοια μέθοδος επεξεργασίας θα μπορούσε να ενσωματωθεί σε ευρύτερες στρατηγικές βιο-ραφινάρισματος για την ίδρυση πολιτικών ολοκληρωτικής αξιοποίησης αποβλήτων, οι οποίες θα κατευθύναν την παραγωγή τροφίμων προς πιο βιώσιμες διαδικασίες, σύμφωνα με τις αρχές της κυκλικής οικονομίας.

Βιβλιογραφία

1. Illy, A., & Viani, R. (Eds.). (2005). Espresso coffee: the science of quality. Academic Press. [Google Scholar]
2. Davis, A. P., Govaerts, R., Bridson, D. M., & Stoffelen, P. (2006). An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 152(4), 465-512. [Google Scholar]
3. Torga, G. N., & Spers, E. E. (2020). Perspectives of global coffee demand. In *Coffee Consumption and Industry Strategies in Brazil* (pp. 21-49). Woodhead Publishing. [Google Scholar]
4. Maya Chacon, J. D. (2023). The coffee: Overview of the global market, the performance and the business strategies in Colombia. [Google Scholar]
5. Byraredy, V., Kouadio, L., Mushtaq, S., Kath, J., & Stone, R. (2021). Coping with drought: Lessons learned from robusta coffee growers in Vietnam. *Climate Services*, 22, 100229. [Google Scholar]
6. Suryana, A. T., & Syaukat, Y. (2023). Geographic scope of the global value chain for Indonesian coffee. *Coffee Science-ISSN 1984-3909*, 18, e182169-e182169. [Google Scholar]
7. Clarke, R. J., & Macrae, R. (1987). *Coffee: Volume 2: Technology*. Springer Science & Business Media. [Google Scholar]
8. Heinze, T. H., & Strong, R. (2021). Method of Technological Change: Experimental methods in coffee post-harvest processing. [Google Scholar]
9. Budžaki, S., Velić, N., Ostojčić, M., Stjepanović, M., Rajs, B. B., Šereš, Z., ... & Strelec, I. (2022). Waste management in the agri-food industry: The conversion of eggshells, spent coffee grounds, and brown onion skins into carriers for lipase immobilization. *Foods*, 11(3), 409. [Google Scholar]
10. Isibika, A., Vinnerås, B., Kibazohi, O., Zurbrugg, C., & Lalander, C. (2019). Pre-treatment of banana peel to improve composting by black soldier fly (*Hermetia illucens* (L.), Diptera: Stratiomyidae) larvae. *Waste Management*, 100, 151-160. [Google Scholar]
11. Saberian, M., Li, J., Donnoli, A., Bonderenko, E., Oliva, P., Gill, B., ... & Siddique, R. (2021). Recycling of spent coffee grounds in construction materials: A review. *Journal of Cleaner Production*, 289, 125837. [Google Scholar]
12. Sulyman, M., Al-Marog, S., Al-Azabi, K., Dawed, E., & Abukrain, A. (2020). Economical and eco-friendly adsorbent derived from coffee waste for efficient adsorption of methylene blue: Characterization, evaluation and optimization studies. *Chem. Sci. Int. J*, 29(10), 16-36. [Google Scholar]
13. Fernandes AS, Mello FVC, Thode Filho S, Carpes RM, Honório JG, Marques MRC, Felzenszwalb I, Ferraz ERA. Impacts of discarded coffee waste on human and environmental health. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2017 Jul;141:30-36. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.03.011. Epub 2017 Apr 10. PMID: 28301808. [Pub Med]

14. Scheutz, C., Duan, Z., Møller, J., & Kjeldsen, P. (2023). Environmental assessment of landfill gas mitigation using biocover and gas collection with energy utilisation at aging landfills. *Waste Management*, 165, 40-50. [Google Scholar]
15. Chakraborty, S., Singh, T., Agrawal, D., Irshath, A. A., & Rajan, A. P. (2023). Sustainable Coffee Waste Management Through Circular Economy. [Google Scholar]
16. Gebreeyessus, G. D. (2022). Towards the sustainable and circular bioeconomy: Insights on spent coffee grounds valorization. *Science of The Total Environment*, 833, 155113. [Google Scholar]
17. Gómez-Salcedo, Y., Oliva-Merencio, D., Rodríguez-Díaz, J. M., & Pereda-Reyes, I. (2021). Contribution of the Environmental Biotechnology to the Sustainability of the Coffee Processing Industry in Developing Countries. *Advances in the Domain of Environmental Biotechnology: Microbiological Developments in Industries, Wastewater Treatment and Agriculture*, 565-589. [Google Scholar]
18. FAO (2011). "Global Food Losses and Food Waste: Extent, Causes and Prevention." Food and Agriculture Organization of the United Nations. [Google Scholar]
19. Larissa Diekmann et al., Circular food economy: A new perspective on food waste. *Projectics*, 2023, 34, 69-85 [Research Gate]
20. Aline Felten Bondam et al., Phenolic compounds from coffee products: Extraction and application in the food and pharmaceutical industries. *Trends in Food Science and Technology*, 2022, 123, 172-186. [Science Direct]
21. Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2073S-2085S. [Google Scholar]
22. Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352. [Google Scholar]
23. Yoshioka, Y., Ohishi, T., Nakamura, Y., Fukutomi, R., & Miyoshi, N. (2022). Anti-cancer effects of dietary polyphenols via ROS-mediated pathway with their modulation of microRNAs. *Molecules*, 27(12), 3816. [Google Scholar]
24. Hertog, M. G. L., et al. (1993). "Dietary Antioxidant Flavonoids and Risk of Coronary Heart Disease: The Zutphen Elderly Study. [Google Scholar]
25. Spencer, J. P. E. (2009). "Flavonoids and brain health: multiple effects underpinned by common mechanisms." *Genes & Nutrition*, 4(4), 243–250. doi:10.1007/s12263-009-0136-3 [Google Scholar]
26. García-Lafuente, A., Guillamón, E., Villares, A., Rostagno, M. A., & Martínez, J. A. (2009). "Flavonoids as anti-inflammatory agents: Implications in cancer and cardiovascular disease." *Inflammation Research*, 58(9), 537-552. doi:10.1007/s00011-009-0037-3 [Google Scholar]

27. Russo, G. L. (2007). "Ins and outs of dietary phytochemicals in cancer chemoprevention." *Biochemical Pharmacology*, 74(4), 533-544. doi:10.1016/j.bcp.2007.04.006 Russo, G. L. (2007). "Ins and outs of dietary phytochemicals in cancer chemoprevention." *Biochemical Pharmacology*, 74(4), 533-544. doi:10.1016/j.bcp.2007.04.006 [Google Scholar]
28. Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, 18, 820-897. [Google Scholar]
29. Finimundy, T. C., Pereira, C., Dias, M. I., Caleja, C., Calhelha, R. C., Sokovic, M., ... & Ferreira, I. C. (2020). Infusions of herbal blends as promising sources of phenolic compounds and bioactive properties. *Molecules*, 25(9), 2151. [Google Scholar]
30. Gould, G. W. (Ed.). (1995). *New methods of food preservation*. Springer Science & Business Media. [Google Scholar]
31. Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A., Corona, G., Oruna-Concha, M. J., & Spencer, J. P. (2010). Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. *Nutrients*, 2(11), 1106-1131. [Google Scholar]
32. Kohen, R., & Gati, I. (2000). Skin low molecular weight antioxidants and their role in aging and in oxidative stress. *Toxicology*, 148(2-3), 149-157. [Google Scholar]
33. Saewan, N., & Jimtaisong, A. (2015). Natural products as photoprotection. *Journal of cosmetic dermatology*, 14(1), 47-63. [Google Scholar]
34. Nichols, J. A., & Katiyar, S. K. (2010). Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Archives of dermatological research*, 302, 71-83. [Google Scholar]
35. Murthy, P. S., & Madhava Naidu, M. (2012). "Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. [Google Scholar]
36. Farah, A., & Donangelo, C. M. (2006). Phenolic compounds in coffee. *Brazilian journal of plant physiology*, 18, 23-36. [Google Scholar]
37. Machado, M., Espírito Santo, L., Machado, S., Lobo, J. C., Costa, A. S., Oliveira, M. B. P., ... & Alves, R. C. (2023). Bioactive potential and chemical composition of coffee by-products: from pulp to silverskin. *Foods*, 12(12), 2354. [Google Scholar]
38. Mussatto, S. I., Ballesteros, L. F., et al. (2011). "Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. [Google Scholar]
39. El-Zaieddi, H., Calín-Sánchez, Á., Nowicka, P., Martínez-Tomé, J., Noguera-Artiaga, L., Burló, F., ... & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2017). Preharvest treatments with malic, oxalic, and acetylsalicylic acids affect the phenolic composition and antioxidant capacity of coriander, dill and parsley. *Food chemistry*, 226, 179-186. [Google Scholar]
40. Esquivel, P., & Jimenez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food research international*, 46(2), 488-495. [Google Scholar]

41. Esquivel, P., & Jimenez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food research international*, 46(2), 488-495. [Google Scholar]
42. Dantas, J., Motta, I. O., Vidal, L. A., Nascimento, E. F., Bilio, J., Pupe, J. M., ... & Albuquerque, É. V. (2021). A comprehensive review of the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae)—A major pest for the coffee crop in Brazil and others Neotropical countries. *Insects*, 12(12), 1130. [Google Scholar]
43. Johnson, K., Liu, Y., & Lu, M. (2022). A review of recent advances in spent coffee grounds upcycle technologies and practices. *Frontiers in Chemical Engineering*, 4, 838605. [Google Scholar]
44. Ivanović, M., Islamčević Razboršek, M., & Kolar, M. (2020). Innovative extraction techniques using deep eutectic solvents and analytical methods for the isolation and characterization of natural bioactive compounds from plant material. *Plants*, 9(11), 1428. [Google Scholar]
45. Mediani, A., Kamal, N., Lee, S. Y., Abas, F., & Farag, M. A. (2023). Green extraction methods for isolation of bioactive substances from coffee seed and spent. *Separation & Purification Reviews*, 52(1), 24-42. [Google Scholar]
46. Lama-Muñoz, A., & Contreras, M. D. M. (2022). Extraction systems and analytical techniques for food phenolic compounds: a review. *Foods*, 11(22), 3671. [Google Scholar]
47. Santos, S. A., Félix, R., Pais, A. C., Rocha, S. M., & Silvestre, A. J. (2019). The quest for phenolic compounds from macroalgae: A review of extraction and identification methodologies. *Biomolecules*, 9(12), 847. [Google Scholar]
48. Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2012). Green extraction of natural products: Concept and principles. *International journal of molecular sciences*, 13(7), 8615-8627. [Google Scholar]
49. Shahidi, F., Danielski, R., & da Silva, G. R. B. (2022). Effect of processing on the preservation of bioactive compounds in traditional and exotic fruits: A review. *Journal of Food Bioactives*, 18. [Journal Of Food Bioactives]
50. Benkacemi, S., & Scher, J. (2020). "Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from agricultural residues: Challenges and solutions. [Google Scholar]
51. Sharma, M., Kohli, D., Soni, N., & Mitra, J. (2021). Microwave assisted extraction of bioactive compounds: A Review. *Octa Journal of Biosciences*, 9(2). [Google Scholar]
52. Rifna, E. J., Misra, N. N., & Dwivedi, M. (2023). Recent advances in extraction technologies for recovery of bioactive compounds derived from fruit and vegetable waste peels: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(6), 719-752. [Google Scholar]
53. Usman, I., Hussain, M., Imran, A., Afzaal, M., Saeed, F., Javed, M., ... & A. Saewan, S. (2022). Traditional and innovative approaches for the extraction of bioactive compounds. *International Journal of Food Properties*, 25(1), 1215-1233. [Google Scholar]

54. Łubek-Nguyen, A., Ziemichód, W., & Olech, M. (2022). Application of enzyme-assisted extraction for the recovery of natural bioactive compounds for nutraceutical and pharmaceutical applications. *Applied Sciences*, 12(7), 3232. [Google Scholar]
55. Domínguez-Rodríguez, G., Marina, M. L., & Plaza, M. (2021). Enzyme-assisted extraction of bioactive non-extractable polyphenols from sweet cherry (*Prunus avium* L.) pomace. *Food chemistry*, 339, 128086. [Google Scholar]
56. Matos, G. S., Pereira, S. G., Genisheva, Z. A., Gomes, A. M., Teixeira, J. A., & Rocha, C. M. (2021). Advances in extraction methods to recover added-value compounds from seaweeds: sustainability and functionality. *Foods*, 10(3), 516. [Google Scholar]
57. Park, J., Cahyadi, H. S., Mushtaq, U., Verma, D., Han, D., Nam, K. W., ... & Kim, J. (2020). Highly efficient reductive catalytic fractionation of lignocellulosic biomass over extremely low-loaded Pd catalysts. *Acs Catalysis*, 10(21), 12487-12506. [Google Scholar]
58. Rossi, Y. E., Vanden Braber, N. L., Díaz Vergara, L. I., & Montenegro, M. A. (2021). Bioactive ingredients obtained from agro-industrial byproducts: recent advances and innovation in micro-and nanoencapsulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(50), 15066-15075. [Google Scholar]
59. Jimenez-Lopez, C., Fraga-Corral, M., Carpena, M., García-Oliveira, P., Echave, J., Pereira, A. G., ... & Simal-Gandara, J. (2020). Agriculture waste valorisation as a source of antioxidant phenolic compounds within a circular and sustainable bioeconomy. *Food & function*, 11(6), 4853-4877. [Google Scholar]
60. Savi, G. D., & Minervini, F. (2019). "Effect of acid hydrolysis on the release and stability of bioactive compounds from plant biomass. [Google Scholar]
61. Martins, C. C., Rodrigues, R. C., Mercali, G. D., & Rodrigues, E. (2022). New insights into non-extractable phenolic compounds analysis. *Food Research International*, 157, 111487. [Google Scholar]
62. Liu, B., Liu, L., Deng, B., Huang, C., Zhu, J., Liang, L., ... & Yao, S. (2022). Application and prospect of organic acid pretreatment in lignocellulosic biomass separation: A review. *International journal of biological macromolecules*, 222, 1400-1413. [Google Scholar]
63. Ashokkumar, V., Venkatkarthick, R., Jayashree, S., Chuetor, S., Dharmaraj, S., Kumar, G., ... & Ngamcharussrivichai, C. (2022). Recent advances in lignocellulosic biomass for biofuels and value-added bioproducts-A critical review. *Bioresource technology*, 344, 126195. [Google Scholar]
64. Bhatia, S. K., Jagtap, S. S., Bedekar, A. A., Bhatia, R. K., Patel, A. K., Pant, D., ... & Yang, Y. H. (2020). Recent developments in pretreatment technologies on lignocellulosic biomass: effect of key parameters, technological improvements, and challenges. *Bioresource technology*, 300, 122724. [Google Scholar]

65. Mankar, A. R., Pandey, A., Modak, A., & Pant, K. K. (2021). Pretreatment of lignocellulosic biomass: A review on recent advances. *Bioresource Technology*, 334, 125235. [Google Scholar]
66. Overend, R.P.; Chornet, E. Fractionation of lignocellulosics by steam-aqueous pretreatments. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. A Math. Phys. Sci.* 1987, 321, 523–536. [Google Scholar]
67. Sidiras, D.; Politi, D.; Giakoumakis, G.; Salapa, I. Simulation and optimization of organosolv based lignocellulosic biomass refinery: A review. *Bioresour. Technol.* 2022, 343, 126158. [Google Scholar]
68. Pedersen, M.; Meyer, A.S. Lignocellulose pretreatment severity–relating pH to biomatrix opening. *New Biotechnol.* 2010, 27, 739–750. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
69. Athanasiadis, V.; Palaogiannis, D.; Bozinou, E.; Lalas, S.I.; Makris, D.P. β -Cyclodextrin-aided aqueous extraction of antioxidant polyphenols from peppermint (*Mentha $\times$ piperita* L.). *Oxygen* 2022, 2, 29. [Google Scholar] [CrossRef]
70. Ravindran, R.; Desmond, C.; Jaiswal, S.; Jaiswal, A.K. Optimisation of organosolv pretreatment for the extraction of polyphenols from spent coffee waste and subsequent recovery of fermentable sugars. *Bioresour. Technol. Rep.* 2018, 3, 7–14. [Google Scholar] [CrossRef]
71. Cicco, N.; Lanorte, M.T.; Paraggio, M.; Viggiano, M.; Lattanzio, V. A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. *Microchem. J.* 2009, 91, 107–110. [Google Scholar] [CrossRef]
72. Lakka, A.; Lalas, S.; Makris, D.P. Development of a low-temperature and high-performance green extraction process for the recovery of polyphenolic phytochemicals from waste potato peels using hydroxypropyl β -cyclodextrin. *Appl. Sci.* 2020, 10, 3611. [Google Scholar] [CrossRef]
73. Kaltsa, O.; Lakka, A.; Grigorakis, S.; Karageorgou, I.; Batra, G.; Bozinou, E.; Lalas, S.; Makris, D.P. A green extraction process for polyphenols from elderberry (*Sambucus nigra*) flowers using deep eutectic solvent and ultrasound-assisted pretreatment. *Molecules* 2020, 25, 921. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
74. Vaidya, A.A.; Murton, K.D.; Smith, D.A.; Dedual, G. A review on organosolv pretreatment of softwood with a focus on enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biomass Convers. Biorefining* 2022, 12, 5427–5442. [Google Scholar] [CrossRef]
75. Woiciechowski, A.L.; Neto, C.J.D.; de Souza Vandenberghe, L.P.; de Carvalho Neto, D.P.; Sydney, A.C.N.; Letti, L.A.J.; Karp, S.G.; Torres, L.A.Z.; Soccol, C.R. Lignocellulosic biomass: Acid and alkaline pretreatments and their effects on biomass recalcitrance—Conventional processing and recent advances. *Bioresour. Technol.* 2020, 304, 122848. [Google Scholar]
76. Papadaki, E.S.; Palaogiannis, D.; Lalas, S.I.; Mitlianga, P.; Makris, D.P. Polyphenol Release from Wheat Bran Using Ethanol-Based Organosolv

- Treatment and Acid/Alkaline Catalysis: Process Modeling Based on Severity and Response Surface Optimization. *Antioxidants* 2022, 11, 2457. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
77. Pazo-Cepeda, V.; Benito-Román, Ó.; Navarrete, A.; Alonso, E. Valorization of wheat bran: Ferulic acid recovery using pressurized aqueous ethanol solutions. *Waste Biomass Valorization* 2020, 11, 4701–4710. [Google Scholar] [CrossRef]
 78. Bozinou, E.; Palaogiannis, D.; Athanasiadis, V.; Chatzilazarou, A.; Lalas, S.I.; Makris, D.P. Glycerol-Based Deep Eutectic Solvents for Simultaneous Organosolv Treatment/Extraction: High-Performance Recovery of Antioxidant Polyphenols from Onion Solid Wastes. *Sustainability* 2022, 14, 15715. [Google Scholar] [CrossRef]
 79. Costa, A.S.; Alves, R.C.; Vinha, A.F.; Barreira, S.V.; Nunes, M.A.; Cunha, L.M.; Oliveira, M.B.P. Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Ind. Crops Prod.* 2014, 53, 350–357. [Google Scholar] [CrossRef]
 80. Barbosa-Pereira, L.; Guglielmetti, A.; Zeppa, G. Pulsed electric field assisted extraction of bioactive compounds from cocoa bean shell and coffee silverskin. *Food Bioprocess Technol.* 2018, 11, 818–835. [Google Scholar] [CrossRef]
 81. Ballesteros, L.F.; Teixeira, J.A.; Mussatto, S.I. Chemical, functional, and structural properties of spent coffee grounds and coffee silverskin. *Food Bioprocess Technol.* 2014, 7, 3493–3503. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
 82. Vimercati, W.C.; da Silva Araújo, C.; Macedo, L.L.; Pimenta, C.J. Optimal extraction condition for the recovery of bioactive compounds and antioxidants from coffee silverskin. *J. Food Process Eng.* 2022, 45, e14009. [Google Scholar] [CrossRef]
 83. Wen, L.; Zhang, Z.; Zhao, M.; Senthamaraikannan, R.; Padamati, R.B.; Sun, D.W.; Tiwari, B.K. Green extraction of soluble dietary fibre from coffee silverskin: Impact of ultrasound/microwave-assisted extraction. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2020, 55, 2242–2250. [Google Scholar] [CrossRef]
 84. Conde, T.; Mussatto, S.I. Isolation of polyphenols from spent coffee grounds and silverskin by mild hydrothermal pretreatment. *Prep. Biochem. Biotechnol.* 2016, 46, 406–409. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
 85. Narita, Y.; Inouye, K. High antioxidant activity of coffee silverskin extracts obtained by the treatment of coffee silverskin with subcritical water. *Food Chem.* 2012, 135, 943–949. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]
 86. Ginting, A.R.; Kit, T.; Mingvanish, W.; Thanasupsin, S.P. Valorization of Coffee Silverskin through Subcritical Water Extraction: An Optimization Based on T-CQA Using Response Surface Methodology. *Sustainability* 2022, 14, 8435. [Google Scholar] [CrossRef]
 87. Zengin, G.; Sinan, K.I.; Mahomoodally, M.F.; Angeloni, S.; Mustafa, A.M.; Vittori, S.; Maggi, F.; Caprioli, G. Chemical composition,

- antioxidant and enzyme inhibitory properties of different extracts obtained from spent coffee ground and coffee silverskin. *Foods* 2020, 9, 713. [Google Scholar] [CrossRef]
88. Nzekoue, F.K.; Angeloni, S.; Navarini, L.; Angeloni, C.; Freschi, M.; Hrelia, S.; Vitali, L.A.; Sagratini, G.; Vittori, S.; Caprioli, G. Coffee silverskin extracts: Quantification of 30 bioactive compounds by a new HPLC-MS/MS method and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. *Food Res. Int.* 2020, 133, 109128. [Google Scholar] [CrossRef]
 89. Regazzoni, L.; Saligari, F.; Marinello, C.; Rossoni, G.; Aldini, G.; Carini, M.; Orioli, M. Coffee silver skin as a source of polyphenols: High resolution mass spectrometric profiling of components and antioxidant activity. *J. Funct. Foods* 2016, 20, 472–485. [Google Scholar] [CrossRef]
 90. Castaldo, L.; Narváez, A.; Izzo, L.; Graziani, G.; Ritieni, A. In vitro bioaccessibility and antioxidant activity of coffee silverskin polyphenolic extract and characterization of bioactive compounds using UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. *Molecules* 2020, 25, 2132. [Google Scholar] [CrossRef]
 91. Choueiri, L.; Chedea, V.S.; Calokerinos, A.; Kefalas, P. Antioxidant/pro-oxidant properties of model phenolic compounds. Part II: Studies on mixtures of polyphenols at different molar ratios by chemiluminescence and LC–MS. *Food Chem.* 2012, 133, 1039–1044. [Google Scholar] [CrossRef]
 92. Magalhães, L.M.; Segundo, M.A.; Reis, S.; Lima, J.L. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Anal. Chim. Acta* 2008, 613, 1–19. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]