

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ

ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

***ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΟΥ ΚΑΙ Ο
ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΥΣ ΡΟΛΟΣ***

ΓΚΟΥΜΑΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

ΛΑΡΙΣΑ 2008



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 6584/1

Ημερ. Εισ.: 17-03-2009

Δωρεά: Π.Θ.

Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ - ΒΒ

2008

ΓΚΟ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000087346

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

- Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή μου κ. Κουρέτα Δημήτριο, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα.
- Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ Αλέξιο-Λέανδρο Σκαλτσούνη για την πολύτιμη βοήθεια του κατά την εκπόνηση του πειράματος στο εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας φυσικών προϊόντων του Πανεπιστημίου Αθηνών.
- Ιδιαίτερος ευχαριστώ τα μέλη της Τριμελούς Επιτροπής της διπλωματικής εργασίας , τον καθηγητή μου κ. Κουρέτα Δημήτριο, τον καθηγητή κ. Αλέξιο-Λέανδρο Σκαλτσούνη και τον καθηγητή κ. Κομμιώτη Δημήτριο.
- Ευχαριστώ το Λέκτορα κ. Νεκτάριο Αληγιάννη για τις πολύτιμες συμβουλές του στη χρήση της τεχνικής FCPC, DPPH ,ολικά φαινολικά και στην αμέριστη βοήθειά του στη χρήση της τεχνικής NMR.
- Ευχαριστώ τον διδάκτορα κ. Αγάλια Αποστόλη για την υπομονή του και την απεριόριστη βοήθεια του καθ' όλη την διάρκεια της παρούσας εργασίας.
- Ευχαριστώ τον Υπ. Διδάκτορα κ. Ελευθέριο Καλπουτζάκη για τις πολύτιμες συμβουλές του για την δημιουργία των γραφικών παραστάσεων.
- Ευχαριστώ τον Υπ. Διδάκτορα κ. Μαυράκη Τίτο για την βοήθεια του στη συλλογή κλασμάτων με τη χρήση της τεχνικής FCPC.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	2
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	3
<i>Βοτανικά γνωρίσματα του δένδρου της ελιάς.....</i>	3
<i>Ελληνικές ποικιλίες ελιάς.....</i>	4
<i>Εξαγωγή ελαιολάδου από τον ελαιόκαρπο.....</i>	5
<i>Είδη ελαιοτριβείων - Διαφορές.....</i>	8
<i>Τα είδη των αποβλήτων των ελαιουργείων.....</i>	10
ΧΗΜΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΑΠΟΜΟΝΩΘΕΙ ΑΠΟ ΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΗΣ ΟΛΕΑ ΕΥΡΟΡΑΕΑ ΚΑΙ ΤΑ ΥΓΡΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΩΝ	12
ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΕΛΙΑΣ.....	18
<i>Εισαγωγή.....</i>	18
<i>Φαρμακολογικές χρήσεις στην σύγχρονη ιστορία.....</i>	19
<i>Φύλλα της ελιάς.....</i>	19
<i>Υγρά Απόβλητα ελαιοτριβείων.....</i>	21
<i>Εισαγωγή.....</i>	21
<i>Περιγραφή του προβλήματος.....</i>	22
<i>Τεχνική λύση.....</i>	23
ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΟΥ ΜΕ ΡΗΤΙΝΕΣ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΕΩΣ .	24
<i>ΡΗΤΙΝΕΣ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΕΩΣ</i>	25
<i>Ρητίνες προσρόφησης.....</i>	26
<i>Τεχνικές χρήσης ρητινών προσρόφησης.....</i>	28
<i>Φιλτράρισμα.....</i>	28
<i>Δέσμευση σε προσροφητικές ρητίνες.....</i>	30
<i>Εξάτμιση με θέρμανση.....</i>	34
<i>Απομόνωση συστατικών από το υπόλειμμα Β.....</i>	35
ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΟΥ ΜΕ ΡΗΤΙΝΕΣ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΕΩΣ .	37
<i>Τεχνικές χρήσης ρητινών προσρόφησης.....</i>	37
<i>CPC (Centrifugal Partition Chromatography).....</i>	38
ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ (ΑΝΑΓΩΓΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ) ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ DPPH.....	41
<i>Πειραματικό μέρος για τη μέθοδο DPPH.....</i>	41
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ – ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ.....	42
<i>ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</i>	43
<i>ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ – ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ.....</i>	48
Βιβλιογραφία	55

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η διπλωματική αυτή εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος σπουδών του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Λάρισα).

Αρχικά αναφέρονται τα βοτανικά στοιχεία του είδους, του γένους και της οικογένειας και γίνεται αναφορά στις κυριότερες ποικιλίες της ελιάς στην Ελλάδα. Αναφέρονται οι ουσίες που έχουν απομονωθεί σε προηγούμενες φυτοχημικές μελέτες από φυτά της οικογένειας Oleaceae και έγινε προσπάθεια συγκέντρωσης και καταγραφής των χημικών και φαρμακολογικών ιδιοτήτων που εμφανίζουν.

Στο κεφάλαιο της κατεργασίας των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου με ρητίνες παρουσιάζεται αναλυτικά η εφαρμογή της μεθόδου σε εργαστηριακή και ημιβιομηχανική κλίμακα. Τα απόβλητα αυτά αποτελούν πηγή πολυφαινολών αλλά και σημαντικότερο περιβαλλοντολογικό πρόβλημα. Στόχος μας ήταν συνέχιση του ερευνητικού έργου που είχε πραγματοποιηθεί στο εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας φυσικών προϊόντων του Πανεπιστημίου Αθηνών μέσω της συνεργασίας με το Εργαστήριο Φυσιολογίας ζωικών οργανισμών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Λάρισας) και η εκμετάλλευση των βιολογικά δραστικών προϊόντων που περιέχονται στα απόβλητα. Έτσι στο τελευταίο μέρος της παρούσας διπλωματικής εργασίας διερευνήθηκε η αντιοξειδωτική δράση των ουσιών που απομονώθηκαν καθώς και προσδιορίστηκε το ολικό φαινολικό φορτίο των αποβλήτων.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το δένδρο της ελιάς, που καλλιεργείται από τα πανάρχαια χρόνια, κυρίως στις χώρες γύρω από την λεκάνη της Μεσογείου, προσέφερε και προσφέρει ένα από τα βασικότερα είδη διατροφής του ανθρώπου και συνδέθηκε με όλους τους πολιτισμούς που αναπτύχθηκαν σ' αυτές.

Το ελαιόλαδο, με την γνωστή μας χρυσοπράσινη όψη, χρησιμοποιήθηκε σε ποικίλες χρήσεις πέρα από τη διατροφή. Αποτέλεσε τη βασική καύσιμη ύλη και ήταν από τα λίγα γνωστά φαρμακευτικά μέσα για πολλούς αιώνες.

Είναι γνωστά και έχουν μουσειακό πια χαρακτήρα τα γραφικά λυχνάρια που σκόρπιζαν το απαλό τους φως τις σκοτεινές νύχτες. Τροφοδότησε τροφοδοτεί, ακόμη και σήμερα, τα καντήλια στα γραφικά ξωκλήσια και τις γωνίες στα ελληνικά σπίτια. Χρησιμοποιήθηκε σαν γιατρικό σε πληγωμένους και σαν βάλσαμο σε πονεμένους.

Η ελιά αποτελεί σύμβολο ειρήνης και φιλίας των λαών. Ο κότινος της εποχής εκείνης, ήταν εξαιρετική διάκριση για τους νικητές των Ολυμπιακών αγώνων της αρχαιότητας, αντικαταστάθηκε όμως στις μέρες μας με υλιστικά έπαθλα (Κυριτσάκη Α. Κ., 1993)

Η τεχνολογική εξέλιξη, με την εμφάνιση του πετρελαίου και την ανακάλυψη του ηλεκτρισμού και της ποικιλίας των ιατρικών φαρμάκων, περιόρισαν τις δευτερεύουσες χρήσεις του ελαιολάδου.

Σε παγκόσμια κλίμακα η Ελλάδα έχει εξέχουσα θέση αφού είναι τρίτη στην παραγωγή ελαιολάδου και δεύτερη σε παραγωγή βρώσιμης ελιάς. Οι Έλληνες, συνηθισμένοι επί αιώνες στη χρήση του ελαιολάδου, διατηρούν και σήμερα την πρώτη θέση σε παγκόσμια κλίμακα στην κατ' άτομο κατανάλωση.

Βοτανικά γνωρίσματα του δένδρου της ελιάς

Η ονομασία της ελιάς στη βοτανική είναι *Olea europaea*. Η προέλευση του όρου olea είναι Ελληνική – το έλαιον έγινε oleum στα Λατινικά.

Η ελιά υπάγεται στην οικογένεια των ελαιδών (oleaceae) η οποία περιλαμβάνει γύρω στα 30 είδη. Τα κυριότερα γνωστά γένη της οικογένειας αυτής είναι : Fraximous (ash), Syringa (lilac), Igustrum (privet), Forsythia (golden Bell), Jasminium (the jasmynes) και Forestiera (*Forestiera neomexicana* – The California “wild olive”).

Το κύριο χαρακτηριστικό του γένους olea είναι η μακροζωία και η διατήρηση της παραγωγικότητας. Υπάρχουν δένδρα στην περιοχή της Μεσογείου πολλών εκατοντάδων ετών, τα οποία παράγουν ακόμη καρπό. Πολλά μάλιστα ξεπερνούν τη χιλιετηρίδα, όπως η ελιά του Πλάτωνα. Αξιοσημείωτο επίσης είναι, ότι στην περιοχή της Καλαμάτας σώζεται μέχρι σήμερα ένα ελαιόδενδρο, ηλικίας 800 περίπου ετών, με εντυπωσιακές διαστάσεις και μεγάλη παραγωγικότητα. Έχει περίμετρο κορμού 8 μέτρα, ύψος 8 μέτρα και διάμετρο κόμης 9 μέτρα. Είναι ποικιλίας Καλαμάτας και έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς μοσχεύματα, από το δένδρο αυτό, για τον εμβολιασμό ελαιοδένδρων σε άλλες περιοχές τις χώρας. Διασώθηκε σε ελαιώνα που

είχε πυρποληθεί από τα στρατεύματα του Ιμπραήμ Πασά (1821-1829) και είχε χαρακτηριστεί σαν «διατηρητέο μνημείο της φύσης».

Το ελαιόδενδρο έχει την ικανότητα να βλαστάνει ξανά και αν ακόμη τραυματιστεί ή καταστραφεί το υπέργειο τμήμα του.

Η ελιά είναι δένδρο που ευδοκιμεί σε ξηροθερμικές περιοχές ακόμη και σε πετρώδη και άγονα εδάφη και μπορεί να παράγει καρπό. Στα εδάφη αυτά το ριζικό σύστημα φθάνει σε αρκετό βάθος και απλώνεται σε πολύ μεγάλη έκταση.

Σε περιοχές γόνιμες και αρδευόμενες η ελιά αποδίδει πολύ και παρουσιάζει γρήγορη και έντονη ανάπτυξη.

Η ελιά για ν' αναπτυχθεί κανονικά και να καρποφορήσει, χρειάζεται ιδιαίτερες κλιματολογικές συνθήκες. Δεν ευδοκιμεί σε περιοχές όπου οι θερμοκρασίες του χειμώνα πέφτουν κάτω από -9°C . Τόσο χαμηλές θερμοκρασίες μπορεί να νεκρώσουν ακόμα και τα δένδρα (Hartmann and Bougas, 1970). Παρόλα αυτά όμως, χρειάζεται την επίδραση χαμηλών θερμοκρασιών, που ποικίλουν ανάλογα με το είδος της ελιάς, κατά την διάρκεια του χειμώνα, για να ανθοφορήσει και να καρποφορήσει κανονικά την επόμενη χρονιά (Hartmann and Porlingis, 1957).

Είναι δένδρο αειθαλές που μπορεί να φθάσει και τα 20 μέτρα. Ο κορμός είναι κυλινδρικός και ανώμαλος με άφθονα εξογκώματα. Ο φλοιός είναι τεφροπράσινος στα νεαρά δένδρα, ενώ στα ηλικιωμένα έχει χρώμα τεφρό ή σκοτεινό. Τα φύλλα της είναι δερματώδη, ακέραια, βραχύμισχα, λογχοειδή. Τα άνθη είναι μικρά, κιτρινοπράσινα, με μικρό κάλυκα τεσσάρων οδόντων και αναπτύσσονται στις μασχάλες των φύλλων σε βοτρυώδη ταξιανθία. Υπάρχουν δυο ειδών, τα τέλεια άνθη με κανονικά αναπτυγμένους τους στήμονες και τον ύπερο και τα άνθη που περιέχουν μόνο στήμονες, ενώ ο ύπερος είναι ατροφικός. Η ατροφία του ύπερου αποδίδεται στην έλλειψη νερού ή θρεπτικών συστατικών κατά την περίοδο ανάπτυξης.

Η ελαιοπαραγωγή ακολουθεί συνήθως ένα κύκλο δυο ετών. Μία καλή απόδοση ακολουθείται από μια μέση ή φτωχή παραγωγή. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό σαν *Παρενιαυτοφορία* και είναι ένα σοβαρό πρόβλημα της ελαιοκομίας. Η παρενιαυτοφορία εξαρτάται από πολλούς παράγοντες με κυριότερο την ποικιλία.

Ελληνικές ποικιλίες ελιάς

Στην Ελλάδα ο καθηγητής Π. Αναγνωστόπουλος (Παπαναστασίου Δ., 1966) ταξινόμησε 38 ποικιλίες με κριτήριο το μέγεθος του καρπού τους σε μικρόκαρπες (καρπός $>2\text{g}$), μεσόκαρπες ($2 < \text{καρπός} < 3,5\text{g}$) και αδρόκαρπες ($3,5 \text{ g} < \text{καρπός}$). Αργότερα ο Λύχνος (Λύχνος Ν., 1948), με βάση τα χαρακτηριστικά του πυρήνα και των φύλλων, που επηρεάζονται ελάχιστα από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες και μένουν πρακτικά σταθερά, ταξινόμησε 42 ποικιλίες σε μικροπύρηνες, μεσοπύρηνες και μακροπύρηνες. Το 1980-1981 ο Ποντίκης Κ. και ο Λουκάς Μ. ξεκίνησαν μελέτη βιοχημικών χαρακτήρων, που ελέγχονταν από την κληρονομικότητα, σαν νέο κριτήριο ταξινόμησης των ποικιλιών της ελιάς στην Ελλάδα (Ποντίκης Κ., 1992).

Από πλευράς χρήσης, οι κυριότερες ποικιλίες ελιάς μπορούν να διακριθούν σε

- ο *Επιτραπέζιες ή βρώσιμες* : ο καρπός χρησιμοποιείται για επιτραπέζια κατανάλωση. Μερικές από τις πιο εμπορικές ποικιλίες είναι η Κονσερβολιά, που είναι η κυριότερη ενχώρια επιτραπέζια ελιά με ποσοστό στην ολική παραγωγή 80-85%, η Νυχάτη Καλαμών με περιορισμένη διάδοση και η Χαλκιδικής ή Γαιδουρολιά, που καλλιεργείται σχεδόν αποκλειστικά στην Χαλκιδική.

- Ελαιοποιήσιμες : ο καρπός χρησιμοποιείται για την παραγωγή ελαιολάδου. Οι πιο γνωστές είναι η Κορωνέικη, η Λιανολιά Κέρκυρας(ή Λαδολιά, Πρεβεζάνα, Νερολιά κλπ.), η οποία καλλιεργείται κυρίως στους Παξούς και την Κέρκυρα και είναι απαιτητική σε υγρασία, αλλά δίνει καλής ποιότητας ελαιόλαδο, η Αγουρομανακολιά, που δίνει εξαιρετικής ποιότητας λάδι και είναι πολύ ανθεκτική στο ψύχος, η Βαλανολιά, καλλιεργείται κυρίως στην Μυτιλήνη και πρόκειται για μία από τις καλύτερες ελαιοποιήσιμες ποικιλίες και η Τσανάτη, που παράγει αρκετό λάδι υψηλής ποιότητας, είναι ανθεκτική στο ψύχος και καλλιεργείται κυρίως στην Λακωνία και την Κρήτη.
- Διπλής χρήσης : ο καρπός έχει και τις δυο χρησιμότητες. Οι πιο γνωστές εμπορικές ποικιλίες είναι η Μεγαρείτικη, που είναι η πιο ανθεκτική στην ξηρασία ποικιλία και αποδίδει πολύ καλά στην Αττική και την Βοιωτία, η Κοθρευική, η οποία καλλιεργείται κυρίως στη Φωκίδα και δίνει τελικό προϊόν εξαιρετικό σε χρώμα και οργανοληπτικές ιδιότητες, η Καρυδολιά, που θεωρείται κλώνος της Κονσερβολιάς και σχεδόν αποκλειστικά καλλιεργείται στη Εύβοια και τέλος η Θρουμπολιά, με το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό να ξεπικρίζει αυτόματα ο καρπός πάνω στο δένδρο κατά το στάδιο της ωρίμανσης (Μπαλατσούρας Γ., 1994, Ποντίκης Κ., 1992).

Εξαγωγή ελαιολάδου από τον ελαιόκαρπο

Οποιαδήποτε και αν είναι η μέθοδος εξαγωγής του ελαιολάδου, από τον ελαιόκαρπο, τα βασικά στάδια επεξεργασίας του είναι σχεδόν τα ίδια. Δηλαδή το σπάσιμο του ελαιοκάρπου και η μάλαξη της ελαιοζύμης. Τα άλλα στάδια διαφοροποιούνται ανάλογα με τον τύπο του ελαιουργείου.

Μέσα στην ελαιοζύμη υπάρχουν τεμαχίδια από το ξυλώδες ενδοκάρπιο, ελαιώδης χυμός από την συνένωση των μικρών σταγονιδίων του ελαιολάδου, που είναι διάσπαρτα στο μεσοκάρπιο, φυτικά υγρά και ορισμένα άλλα συστατικά του καρπού. Επίσης, μέσα στην ελαιοζύμη συναντώνται και μικρές φυσαλίδες αέρα που προέρχονται είτε από τον καρπό είτε ενσωματώθηκαν κατά την μάλαξη. Η μάλαξη είναι μια διαδικασία μέγιστης σημασίας, για όλα τα χρησιμοποιούμενα σήμερα, συστήματα εξαγωγής ελαιολάδου. Ο ρόλος της είναι η συνένωση των μικρών ελαιοσταγονιδίων του μεσοκαρπίου σε μεγαλύτερες σταγόνες και ανάλογα του τρόπου που γίνεται και του τύπου των μηχανημάτων που χρησιμοποιούνται επηρεάζεται σημαντικά η απόδοση και η ποιότητα του τελικού λαδιού.

Τα στάδια επεξεργασίας του ελαιοκάρπου στο ελαιουργείο περιγράφονται συνοπτικά παρακάτω :

- Παραλαβή ελαιοκάρπου : Μεταφέρεται στο ελαιουργείο, ζυγίζεται και παίρνει σειρά για επεξεργασία
- Τροφοδοσία – αποφύλλωση : Ο ελαιόκαρπος τοποθετείται στην λεκάνη τροφοδοσίας και από εκεί οδηγείται στο αποφυλλωτήριο. Η απομάκρυνση των φύλλων της ελιάς είναι επιβεβλημένη γιατί η παραμονή τους και η σύνθλιψη τους μαζί με τον καρπό έχει σαν αποτέλεσμα να αποκτά το ελαιόλαδο πικρίζουσα γεύση.
- Πλόσιμο : Είναι απαραίτητη διεργασία γιατί απομακρύνει τις ξένες ύλες που μεταφέρει ο καρπός (σκόνη, χώμα κλπ.) και εμποδίζει έτσι το σχηματισμό αλκαλογαϊωδών μιγμάτων, κατά τον διαχωρισμό.

- Σπάσιμο – άλεση ελαιοκάρπου : Ο ελαιοκάρπος μεταφέρεται στη λεκάνη υποδοχής πλυμένου ελαιοκάρπου και από εκεί με τη βοήθεια μεταφορικού κοχλία σε ελαιόμυλο ή σπαστήρα.
Το σπάσιμο ή η άλεση του ελαιοκάρπου αποτελεί το πρώτο κύριο στάδιο της εξαγωγής του λαδιού. Το σπάσιμο στα κλασσικού τύπου ελαιουργεία (πιεστήρια), τα οποία αποτελούν τα παραδοσιακά συστήματα εξαγωγής λαδιού, γίνεται στους ελαιόμυλους.

Ο ελαιόμυλος αποτελείται από μία, δύο ή και τρεις μεγάλες πέτρες κυλινδρικού ή κωνικού σχήματος οι οποίες είναι από γρανίτη και περιστρέφονται γύρω από έναν ξύλινο ή μεταλλικό άξονα πάνω σε μια, όμοιας σύστασης, σταθερή βάση. Το όλο σύστημα διαθέτει, συνήθως, ένα μεταλλικής κατασκευής περίβλημα για τη συγκράτηση του ελαιοκάρπου και της ελαιοζύμης ενώ με ειδικό μεταλλικό ή ξύλινο εξάρτημα κατευθύνεται ο καρπός κάτω από τις περιστρεφόμενες πέτρες.

Η περιστροφή γίνεται με πολύ αργό ρυθμό και επιτυγχάνεται ταυτόχρονα σπάσιμο του ελαιοκάρπου και μερική μάλαξη της ελαιοζύμης. Στα νέου τύπου ελαιουργικά συγκροτήματα (φυγοκεντρικά, μεικτά) και στα βελτιωμένου τύπου κλασσικά, χρησιμοποιούνται οι μεταλλικοί σπαστήρες που είναι κυρίως σφυρόμυλοι, ή σπαστήρες με αντίθετα περιστρεφόμενους δίσκους.

Οι σπαστήρες αυτοί είναι μικρών διαστάσεων και λειτουργούν με μεγάλο αριθμό στροφών, που προκαλούν σπάσιμο του καρπού κατά την πτώση του από την χοάνη τροφοδοσίας. Οι μεταλλικοί σπαστήρες καθημερινά εκτοπίζουν τους ελαιόμυλους εξαιτίας του μεγάλου όγκου τους, της μικρής απόδοσης και του μεγάλου κόστους προμήθειας. Ένα σημαντικό μειονέκτημα των μεταλλικών σπαστήρων είναι ότι εμπλουτίζουν το ελαιόλαδο με ίχνη μετάλλου που προέρχονται από την απόσταση απόσπαση μικρών τεμαχιδίων σιδήρου από την επιφάνεια τους.

- Μάλαξη : Η μάλαξη της ελαιοζύμης η οποία προκύπτει από το σπάσιμο-άλεση του ελαιοκάρπου αποτελεί το πιο βασικό στάδιο της επεξεργασίας του ελαιοκάρπου, σ' όλα ανεξαρτήτως τα συστήματα παραλαβής του ελαιολάδου γιατί, συντελεί στη συνένωση των μικρών ελαιοσταγονιδίων σε μεγαλύτερες σταγόνες λαδιού. Η συνένωση αυτή είναι απαραίτητη προϋπόθεση για το διαχωρισμό του λαδιού από τα φυτικά υγρά. Η διεργασία της μάλαξης γίνεται σε ειδικούς μαλακτήρες, οι οποίοι αποτελούνται από μια λεκάνη διαφορετικού σχήματος και χωρητικότητας ανάλογα με τον τύπο του ελαιουργείου. Κατά κανόνα τα τοιχώματα των μαλακτήρων είναι διπλά και μεταξύ αυτών κυκλοφορεί ζεστό νερό για τη θέρμανση της ελαιοζύμης. Η ανάμειξη της ελαιοζύμης επιτυγχάνεται με περιστρεφόμενο έλικα ο οποίος φέρει μικρό αριθμό πτερυγίων κινείται δε με πολύ αργό ρυθμό. Ο μαλακτήρας για να είναι καλός θα πρέπει να διαθέτει μηχανισμό ρύθμισης της ταχύτητας περιστροφής του έλικα ώστε ανάλογα με τη φύση της ελαιοζύμης να ρυθμίζονται και οι στροφές του. Σε μια κανονική ελαιοζύμη η ταχύτητα κίνησης των πτερυγίων του μαλακτήρα θα πρέπει να είναι 18-20 στροφές/λεπτό. Παράταση του χρόνου μάλαξης συντελεί στη δημιουργία γαλακτωμάτων τα οποία δυσκολεύουν το διαχωρισμό του λαδιού και υποβαθμίζουν την ποιότητα του, γι' αυτό θα πρέπει να προσέχουμε τα ελαιοσταγονίδια να έχουν την μεγαλύτερη δυνατή επαφή.

Επίσης, θα πρέπει να αποφεύγεται, κατά το δυνατόν, η επαφή της ελαιοζύμης με τον ατμοσφαιρικό αέρα γιατί έχουμε απώλειες στα αρωματικά συστατικά του λαδιού και έναρξη οξειδωτικής τάγγισης. Οι μαλακτήρες φυγοκεντρικού τύπου κάθετης

διάταξης φαίνεται να εξασφαλίζουν καλύτερη προστασία από τον αέρα συγκριτικά με τους οριζόντιας διάταξης.

Τέλος σημαντικός παράγοντας είναι και η θέρμανση κατά την μάλαξη που διευκολύνει την έξοδο του ελαιόλαδου από τα φυτικά κύτταρα, γιατί η υψηλή θερμοκρασία μειώνει το ιξώδες και τα ελαιοσταγονίδια κινούνται και ενώνονται γρηγορότερα. Βασικό όμως είναι, να μην ξεπεραστεί η οριακή θερμοκρασία των 25°C, γιατί θα έχει δυσμενή αποτελέσματα στην ποιότητα του λαδιού, λόγω του ότι καταστρέφονται τα πτητικά συστατικά του ελαιόλαδου στα οποία οφείλεται το χαρακτηριστικό άρωμα.

Το υλικό κατασκευής των επιφανειών του μαλακτήρα πρέπει να είναι ανοξείδωτο μέταλλο για να αποφεύγεται ο εμπλουτισμός του ελαιόλαδου με ίχνη μετάλλου, τα οποία καταλύουν τις οξειδωτικές αντιδράσεις και επιταχύνουν την αλλοίωση το λαδιού κατά τη αποθήκευση.

- ο Παραλαβή ελαιολάδου από την ελαιοζύμη : Γίνεται με πίεση ή φυγοκέντριση ή εκλεκτική διήθηση (συνάφεια).

Πίεση : Η εφαρμογή της πίεσης για την εξαγωγή του ελαιόλαδου χρονολογείται από τότε που άρχισε η καλλιέργεια της ελιάς. Στα πολύ παλιά ελαιουργεία τόσο το σπάσιμο του ελαιοκάρπου όσο και η πίεση που χρειαζόταν, για την εξαγωγή του λαδιού, εφαρμόζονταν από τον ίδιο τον άνθρωπο ή τα ζώα σε κατάλληλους κατασκευασμένους μηχανισμούς. Η εφεύρεση της υδραυλικής πίεσης αποτέλεσε επανάσταση στη λειτουργία των παλαιών ελαιουργείων και χρησιμοποιείται μέχρι και σήμερα στα βελτιωμένου τύπου κλασικά ελαιουργεία. Κατά την εξαγωγή ελαιόλαδου, με πίεση, η ελαιοζύμη μετά την μάλαξη που δέχεται τοποθετείται σε λεπτά στρώματα, στα ελαιοδιαφράγματα ομοιόμορφα με ειδικό δοσοδότη, ο οποίος είναι το βασικό μηχανήμα ενός ελαιουργείου βελτιωμένου κλασικού τύπου. Τα ελαιοδιαφράγματα τοποθετούνται εν συνεχεία, σε ειδική κινητή λεκάνη φόρτωσης, η οποία φέρει στο μέσο της διάτρητο κύλινδρο πάχους ίσου περίπου με το άνοιγμα των διαφραγμάτων. Ο κύλινδρος αποτελεί οδηγό για την ομοιόμορφη τοποθέτηση των ελαιοδιαφραγμάτων και την στήριξη τους, ώστε να μην εκτρέπεται η στήλη κατά την εφαρμογή της πίεσης. Κάθε 3-4 διαφράγματα γεμάτα με ελαιοζύμη τοποθετείται ένα κενό και ένας μεταλλικός δίσκος των ίδιων διαστάσεων με αυτά. Ο ρόλος του δίσκου είναι να εξασφαλίζει ομοιομορφία στην κατανομή της ασκούμενης υδραυλικής πίεσης, με την παρεμβολή του, και να αποφεύγεται η εκτροπή του φορτίου ώστε να επιτυγχάνεται καλύτερη εξαγωγή λαδιού από όλο το ύψος της στήλης. Η κινητή λεκάνη με το φορτίο που δημιουργείται από την τοποθέτηση των ελαιοδιαφραγμάτων της ελαιοζύμης και των μεταλλικών δίσκων μεταφέρεται και τοποθετείται στην κατάλληλη υποδοχή του υδραυλικού πιεστηρίου. Τα διαφράγματα διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στην εξαγωγή του ελαιόλαδου. Πιο συγκεκριμένα, κατά την εφαρμογή της υδραυλικής πίεσης, βοηθούν στην καλύτερη διασπορά της ελαιοζύμης σε λεπτότερα στρώματα και δρουν σαν διηθητικά μέσα εμποδίζοντας το πέρασμα της στερεής φάσης, ενώ επιτρέπουν την έξοδο της υγρής. Για να γίνει ο διαχωρισμός της ελαιοζύμης θα πρέπει η στερεή φάση να συναντά αντίσταση στην μετατόπιση της, μεγαλύτερη απ' όση αυτή η ίδια προβάλλει στο πέρασμα της υγρής φάσης, κάτι που επιτυγχάνουν τα διαφράγματα.

Φυγοκέντριση : Αποτελεί μια πιο νέα τεχνική διαχωρισμού του ελαιόλαδου από την ελαιοζύμη και βασίζεται στη διαφορά του ειδικού βάρους που παρουσιάζουν τα συστατικά της ελαιοζύμης (ελαιόλαδο, νερό και στερεά συστατικά). Στα ελαιουργεία φυγοκεντρικού τύπου, η ελαιοζύμη μετά την μάλαξη σε μαλακτήρα οριζόντιας ή κάθετης διάταξης, αραιώνεται με αρκετό νερό και στη συνέχεια φυγοκεντρείται δια μέσου του φυγοκεντρίτη (Decanter), όπου γίνεται ο διαχωρισμός της σε τρεις φάσεις.

Υπάρχουν και των δυο φάσεων, όπως ο τύπος του φυγοκεντρικού ελαιουργείου, από το οποίο παραλάβαμε το στερεό υπόλειμμα, με το οποίο κάναμε την μελέτη μας και στο οποίο δεν γίνεται αραιώση της ελαιοζύμης.

Μετά την μάλαξη όπως έχει ήδη αναφερθεί το ελαιόλαδο βρίσκεται είτε εντελώς ελεύθερο είτε κλεισμένο σε μορφή μικρών σταγονιδίων στο εσωτερικό μικροπηγμάτων, είτε τέλος σαν γαλάκτωμα ανάμεσα στα φυτικά υγρά. Όσο μεγαλύτερη είναι η ποσότητα του ελεύθερου λαδιού και όσο λιγότερα είναι τα μικροπήγματα, τόσο ευκολότερη γίνεται η εξαγωγή του ελαιολάδου με τη φυγοκέντριση (Mendoza, 1975). Για το διαχωρισμό του λαδιού που είναι ελεύθερο στην ελαιοζύμη, αρκεί μόνο η φυγόκεντρος δύναμη. Αντίθετα, όταν είναι κλεισμένο σε μικροπήγματα, επιτυγχάνεται μόνο με την προσθήκη μεγάλης ποσότητας νερού, το οποίο τροποποιεί τα κολλοειδή συστατικά και διευκολύνει το διαχωρισμό του.

Συνάφεια : Το μηχάνημα του ελαιουργείου που εφαρμόζεται η συνάφεια για την παραλαβή του ελαιολάδου, είναι γνωστό με το όνομα Sinolea. Βασικά εξαρτήματα αποτελούν τα 6.000 περίπου μεταλλικά ελάσματα από ειδικό κράμα μετάλλου που παρουσιάζει μεγάλη εκλεκτική συνάφεια με το ελαιόλαδο. Εξαιτίας αυτής της εξαιρετικής ιδιότητας κατά την επαφή της ελαιοζύμης με τα ελάσματα, συγκρατείται ποσότητα λαδιού, που συγκεντρώνεται σε ειδική λεκάνη. Τα φυτικά υγρά και μέρος του λαδιού που δεν συγκρατήθηκε από τα ελάσματα παραμένουν στην ελαιοζύμη. Με τον τρόπο αυτό παραλαμβάνεται η μεγαλύτερη ποσότητα του ελαιολάδου, ενώ το υπόλοιπο εξάγεται με την βοήθεια ενός φυγοκεντρίτη.

- **Τελικός διαχωρισμός :** Οποιαδήποτε μέθοδος και αν εφαρμοστεί για την παραλαβή του λαδιού, είναι αναγκαίο, για τον τελικό διαχωρισμό του να περάσει και από τον ελαιοδιαχωριστήρα, του ελαιουργικού συγκροτήματος. Ο ελαιοδιαχωριστήρας αποτελείται από τον σταθερό κορμό και το κινητό τύμπανο το οποίο περιστρέφεται με μεγάλο αριθμό στροφών. Έχει κατάλληλα προσαρμοσμένους μεγάλο αριθμό κωνικών δίσκων. Η υγρή φάση κατανέμεται σε λεπτά στρώματα πάνω στην περιμετρική επιφάνεια κάθε δίσκου και έτσι γίνεται πιο αποτελεσματική η φυγόκεντρος δύναμη, με την οποία διαχωρίζεται τελικά το ελαιόλαδο από τα απόνερα και τις ξένες ύλες. Ο τελικός διαχωρισμός επηρεάζεται από το ειδικό βάρος, το σχήμα και τις διαστάσεις των σταγονιδίων, το ιξώδες και την θερμοκρασία.

Είδη ελαιοτριβείων - Διαφορές

Σύμφωνα με όσα έχουν αναφερθεί στην προηγούμενη ενότητα, ανάλογα του συστήματος που χρησιμοποιείται για την εξαγωγή του ελαιολάδου από την ελαιομάζα, λειτουργούν επίσημα στις μέρες μας οι ακόλουθοι τρεις τύποι ελαιοτριβείων (Ποντίκης, 1981; Μπαλατσούρας, 1992; Ψιλάκης *et al.*, 2003):

A. Κλασικά

Ο διαχωρισμός του ελαιολάδου και των φυτικών υγρών επιτυγχάνεται με την εφαρμογή υδραυλικής πίεσης. Με την πίεση που ασκείται διαχωρίζεται η χυμώδης φάση (ελαιόλαδο-νερό) από τη στερεή φάση, τον ελαιοπυρήνα. Ο τελικός διαχωρισμός του ελαιολάδου από το νερό και τις ξένες ύλες γίνεται με φυγοκέντριση σε κάθετο διαχωριστήρα. Η ελαιοπυρήνη που παράγεται από τα κλασικά ελαιουργεία έχει μικρό ποσοστό υγρασίας (25-30%), σε σχέση με του φυγοκεντρικού τύπου που η υγρασία ξεπερνάει το 45%.

B. Φυγοκεντρικά τριών φάσεων ή τριφασικά decanters

Η παραλαβή του ελαιολάδου από την ελαιομάζα γίνεται με φυγοκέντριση σε ειδικούς οριζόντιους φυγοκεντρικούς διαχωριστήρες (decanters) τριών φάσεων και βασίζεται στη διαφορά του ειδικού βάρους που παρουσιάζουν τα συστατικά της ελαιομάζας (ελαιόλαδο, νερό, στερεά συστατικά) και προκύπτουν τρία κλάσματα: το ελαιόλαδο, που περιέχει και λίγα φυτικά υγρά, οπότε και οδηγείται στον τελικό φυγοκεντρικό διαχωρισμό για να διαυγάσει, η ελαιοπυρήνη και τα υγρά απόβλητα. Το ελαιόλαδο που προκύπτει είναι θολό και περνάει από δεύτερο διαχωριστήρα ώστε να διαυγασθεί. Τα ελαιοτριβεία αυτού του τύπου εγκαταστάθηκαν στη χώρα μας το 1972 και από τότε εκτοπίζουν συνεχώς τα κλασσικού τύπου ελαιουργεία.

Γ. Φυγοκεντρικά δυο φάσεων ή οικολογικά decanters

Η παραλαβή του ελαιολάδου από την ελαιομάζα γίνεται πάλι με φυγοκέντριση, αλλά λαμβάνονται δυο φάσεις, το ελαιόλαδο και η ελαιοπυρήνη, που περιέχει και το σύνολο των φυτικών υγρών του καρπού. Η βασική διαφορά τους από τα τριφασικά είναι ότι δεν γίνεται αραίωση της ελαιοζύμης πριν τη φυγοκέντριση. Εμφανίστηκαν με στόχο να δώσουν μια λύση στο πρόβλημα των υγρών απόβλητων των τριφασικών φυγοκεντρικών ελαιουργείων, όμως η παραγόμενη από αυτά ελαιοπυρήνη, είναι επίσης ένα προϊόν με ποσοστό υγρασίας πάνω από 60%. Αυτός είναι και ο βασικός λόγος που τα διφασικά συστήματα δεν έχουν εδραιωθεί στην αγορά, αφού η ελαιοπυρήνη που παράγουν έχει μεγάλο ποσοστό υγρασίας και τα πυρηνελαιουργεία δεν μπορούν να επεξεργαστούν ένα τόσο υδαρές προϊόν. Είναι φανερό πως, ενώ τα διφασικά φυγοκεντρικά ελαιοτριβεία δίνουν μια προοπτική στο πρόβλημα του τεράστιου όγκου των υγρών αποβλήτων των τριφασικών, αμφισβητείται η αξία τους λόγω της έλλειψης κατάλληλων πυρηνελαιουργείων.

Τεχνολογία repasso

Αναπτύχθηκε στην Ισπανία με σκοπό να ακολουθεί τα διφασικά decanters. Η ελαιοπυρήνη (υγρασία 63%-67%) που παράγεται στα διφασικά ελαιοτριβεία οδηγείται σε κεντρικές μονάδες επεξεργασίας για περαιτέρω διαχωρισμό του ελαιολάδου που εμπεριέχει. Οι μονάδες αυτές λειτουργούν και σε αυτή την περίπτωση με βάση την αρχή του φυγοκεντρικού διαχωρισμού, όπου ο πρωτογενής ελαιοπυρήνας των διφασικών ελαιουργείων ξαναπερνά (“repasso” στα ισπανικά) από φυγοκεντρικό διαχωριστή. Το κύριο προϊόν είναι το ελαιόλαδο και τα υποπροϊόντα είναι ο εξαντλημένος δευτερογενής ελαιοπυρήνας και το πυρηνόξυλο (υγρασία περίπου 10%).

Συγκεντρώνοντας τα τεχνολογικά γνωρίσματα των παραπάνω τύπων ελαιοτριβείων, που χρησιμοποιούνται σήμερα, μπορούμε να πούμε ότι τα φυγοκεντρικά ελαιοτριβεία έχουν αντικαταστήσει και συνεχίζουν να κερδίζουν έδαφος έναντι των κλασσικών. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι τα κλασσικά μειονεκτούν έναντι των φυγοκεντρικών στο ότι, απαιτούν μεγάλο χώρο στο ελαιοτριβείο, πρέπει να χρησιμοποιούνται ειδικά φίλτρα τα οποία έχουν μεγάλο κόστος και πολλές φορές δύναται να υποβαθμίσουν την ποιότητα του λαδιού, αφού μπορεί να είναι μεγάλης οξύτητας λόγω υπολειμμάτων ελαιοζύμης και βέβαια απαιτούν το διπλάσιο εργατικό προσωπικό. Από την άλλη πλευρά όμως, καταναλώνουν την μισή ηλεκτρική ενέργεια και το κόστος συντήρησης τους είναι πολύ μικρότερο. Επιπλέον, χρησιμοποιούν μόλις το 1/3-1/4 του νερού που χρησιμοποιούν τα τριφασικά φυγοκεντρικά ελαιουργεία και το λάδι που παράγεται είναι πιο πλούσιο σε πολυφαινόλες και αρωματικές ουσίες.

Τα διφασικά φυγοκεντρικά ελαιοτριβεία πλεονεκτούν έναντι των τριφασικών κυρίως γιατί λειτουργούν χωρίς προηγούμενη αραίωση της ελαιομάζας με χλιαρό νερό, οπότε εξοικονομούν νερό και δεν παράγουν τον μεγάλο όγκο των υγρών αποβλήτων. Σημαντικό είναι, και ότι το παραγόμενο ελαιόλαδο περιέχει το φαινολικό

κλάσμα και τα αρωματικά συστατικά του καρπού, αφού δεν απομακρύνονται στο νερό όπως στα τριφασικά ελαιουργία, κάνοντας το περισσότερο εύγευστο, υγιεινό και ανθεκτικό στην οξείδωση.

Παρά το γεγονός ότι τα διφασικά ελαιοτριβεία έδωσαν λύση στο τεράστιο πρόβλημα των υγρών αποβλήτων, αμφισβητείται η πλεονεκτική θέση τους, επειδή η ελαιοπυρήνη τους θα πρέπει πρώτα να αφυδατωθεί μέχρι 8-11% υγρασία, σε σχέση με το 60% περίπου που περιείχε, ώστε όταν οδηγηθεί στο πυρηνελαιουργείο να είναι ευκολότερη η επεξεργασία της. Η διαδικασία αυτή έχει υψηλό ενεργειακό κόστος. Ένας ακόμα λόγος είναι, όπως πιστεύουν κάποιοι ερευνητές, ότι το ελαιόλαδο των τριφασικών είναι καλύτερο λόγω του μικρότερου ποσοστού φαινολών, οι οποίες δρουν παρεμποδιστικά στην δράση των ενζύμων του πεπτικού συστήματος των θηλαστικών.

Τέλος η τεχνολογία των *repasso* μειώνει ακόμα περισσότερο τη χρήση του νερού και σταματάει τη χρήση διαλυτών, όπως εξανίου, για την εκχύλιση του ελαιόλαδου από την πρωτογενή ελαιοπυρήνη στα πυρηνελαιουργεία, οπότε και προκύπτει καλύτερο πυρηνόξυλο. Στην Ελλάδα υπάρχει μια μονάδα στην Μεσσηνία.

Τα είδη των αποβλήτων των ελαιουργείων

Τύποι αποβλήτων: Γενική περιγραφή

Η αύξηση της παραγωγής ελαιοκάρπου συμβαδίζει με την αύξηση του όγκου των αποβλήτων και των υποπροϊόντων, προκαλώντας σημαντική υποβάθμιση του περιβάλλοντος. Οι ποσότητες και η σύνθεση των αποβλήτων ποικίλλουν αρκετά και επηρεάζονται από τους ακόλουθους παράγοντες (Επιτροπή των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων, 1992):

- Το είδος της επεξεργασίας
- Την ποικιλία των καρπών
- Το μέγεθος της καλλιεργούμενης έκτασης
- Τη χρήση φυτοφαρμάκων και λιπασμάτων
- Το χρόνο συγκομιδής και το στάδιο ωριμότητας
- Το κλίμα και τις καιρικές συνθήκες

Ένα μεσαίου μεγέθους ελαιοτριβείο έχει δυναμικότητα περίπου 10 – 20 τόνους ελαιόκαρπου/ημέρα και η παραγωγή υγρών αποβλήτων υπολογίζεται σε 0,4 m³/τόνο επεξεργασμένου καρπού περίπου. Ο μέσος όρος του όγκου των υγρών αποβλήτων στην Ιταλία σε ημερήσια βάση ανέρχεται μέχρι 8 m³ (Visioli *et al.*, 1995a). Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα υγρά απόβλητα είναι το κύριο μέρος των αποβλήτων κατά την επεξεργασία του ελαιοκάρπου (Salvador *et al.*, 2001). Στις περιοχές επεξεργασίας της επιτραπέζιας ελιάς και του ελαιόλαδου, τα απόβλητα που προέρχονται από την βιομηχανία αντιπροσωπεύουν σχεδόν τα ¾ της συνολικής παραγωγής αποβλήτων (Mulinacci *et al.*, 2001). Αυτό οφείλεται στις μεγάλες ποσότητες νερού που είναι απαραίτητες στα διάφορα στάδια επεξεργασίας του καρπού, καθώς επίσης και για την πλύση του εξοπλισμού της μονάδας, ο οποίος πλένεται μέχρι 3 φορές ημερησίως. Για ένα μέσης δυναμικότητας ελαιοτριβείο η μέση απαίτηση νερού για την πλύση του εξοπλισμού υπολογίζεται σε 0,07 λίτρα/kg καρπού περίπου. Αυτό σημαίνει ότι για μία ποσότητα 100.000 kg καρπών την ημέρα, η μέση ζήτηση νερού μόνο για το πλύσιμο του εξοπλισμού είναι 7000 λίτρα.

Τα απόβλητα περιέχουν στερεά και υγρά συστατικά. Η αναλογία μεταξύ ελαίου, ύδατος και στερεών συστατικών εξαρτάται κυρίως από την πρώτη ύλη, την τεχνολογία επεξεργασίας και τον τύπο του τελικού προϊόντος. Το στάδιο ωριμότητας επηρεάζει τη σύνθεση του προϊόντος και των αποβλήτων. Ένας καρπός με μέσο βάρος 8,4 g, περιέχει 7 g νερό, 0,57 g έλαιο, 0,47 g υδατάνθρακες, 0,2 g φυτικές ίνες, 0,08 g πρωτεΐνες, 0,083 g ανόργανα άλατα και 0,03 g βιταμίνες. Η περιεκτικότητα σε νερό μειώνεται με την ωρίμανση (από πράσινη σε μαύρη ελιά) μέχρι 2 g ενώ αυξάνεται η περιεκτικότητα του ελαίου (Mulinacci *et al.*, 2001).

Το νερό του αλεσμένου ελαιοκάρπου περιέχει μέταλλα όπως άζωτο, σίδηρο, κάλιο και επίσης οργανικά συστατικά όπως σάκχαρα, οργανικά οξέα, πηκτίνη και πολυφαινόλες. Όλα αυτά τα συστατικά αυξάνουν το οργανικό φορτίο των αποβλήτων και οι απλές εγκαταστάσεις βιολογικού καθαρισμού δεν είναι σε θέση να απομακρύνουν τα ρυπογόνα αυτά συστατικά από τα υγρά απόβλητα. Τιμές COD (χημική απαίτηση οξυγόνου, chemical oxygen demand) 80-200 g/L και BOD₅ (βιολογική απαίτηση οξυγόνου, biological oxygen demand) 50-100 g/L δεν είναι σπάνιες σε υγρά απόβλητα από την επεξεργασία του ελαιοκάρπου. Είναι χαρακτηριστικό ότι σε μια μέση μονάδα βιολογικού καθαρισμού αστικών λυμάτων οι τιμές COD και BOD₅ κυμαίνονται μεταξύ 400 και 800 mg/L (Boari *et al.*, 1984). Επιπλέον, το κύριο φορτίο των αποβλήτων από την επεξεργασία του ελαιοκάρπου επικεντρώνεται σε μια μικρή χρονική περίοδο κατά τη διάρκεια του έτους (από Νοέμβριο μέχρι Φεβρουάριο).

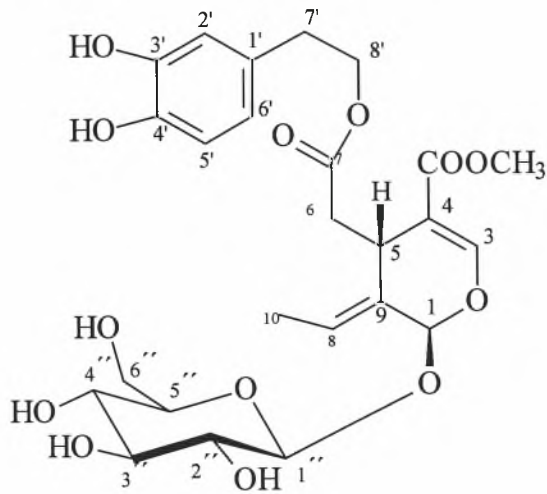
ΧΗΜΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΑΠΟΜΟΝΩΘΕΙ ΑΠΟ ΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΗΣ OLEA EUROPAEA ΚΑΙ ΤΑ ΥΓΡΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΩΝ

Η *Olea europaea* αποτελεί μία από τις πλουσιότερες πηγές δευτερογενών μεταβολιτών. Η ποικιλία των χημικών ουσιών που διαθέτει και ο ρόλος της στην μεσογειακή διατροφή την έχει καταστήσει αντικείμενο φυτοχημικών μελετών τόσο κατά το παρελθόν όσο και σήμερα. Στον Πίνακα 1 περιγράφονται οι κυριότερες δημοσιεύσεις για τις χημικές κατηγορίες των ουσιών που έχουν απομονωθεί από τα φύλλα της και από τα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων.

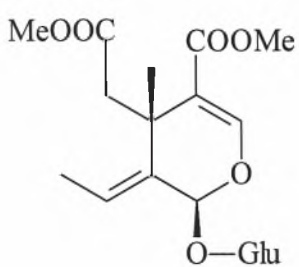
Πίνακας 1. Χημικές κατηγορίες ουσιών από τα φύλλα και τα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων

Χημική κατηγορία	Αναφορά
Φύλλα	
Ιριδοειδή	(Gariboldi <i>et al.</i> , 1986; Kuwajima <i>et al.</i> , 1988; Paiva-Martins and Gordon, 2001)
Φλαβονοειδή	(Le Tutour and Guedon, 1992; Meirinhos <i>et al.</i> , 2005)
Τριτερπένια	(Caputo <i>et al.</i> , 1974; Somova <i>et al.</i> , 2003)
Υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων	
Φαινολικά παράγωγα-πολυφαινόλες	(DellaGreca <i>et al.</i> , 2004; Obied <i>et al.</i> , 2005; Bianco <i>et al.</i> , 2006)
Φλαβονοειδή	(Obied <i>et al.</i> , 2005)
Ιριδοειδή	(DellaGreca <i>et al.</i> , 2000; Mulinacci <i>et al.</i> , 2001)
Λιγνάνια	(DellaGreca <i>et al.</i> , 2004)

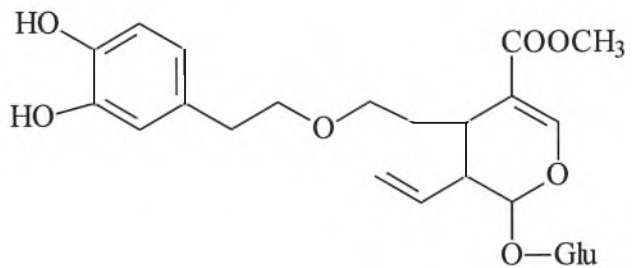
Φύλλα



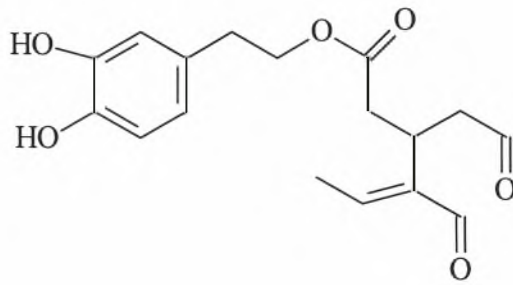
R_1	R_2	
OH	Me	Ολευρωπέϊνη
OH	H	Δεμεθυλ-ολευρωπέϊνη
H	Me	Λιγκστροσίδης



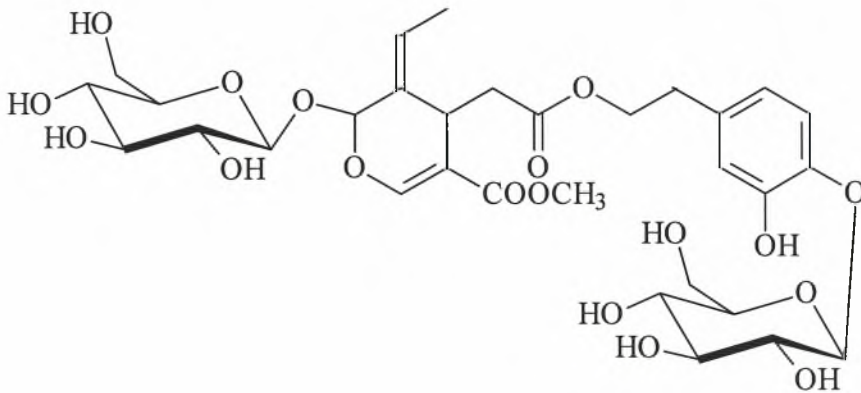
Διμεθυλεστέρας



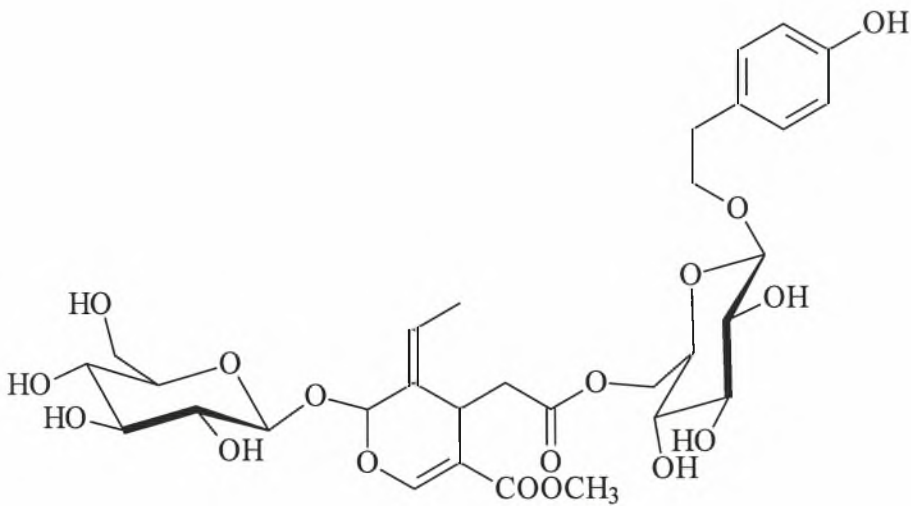
Ολευροσίδης



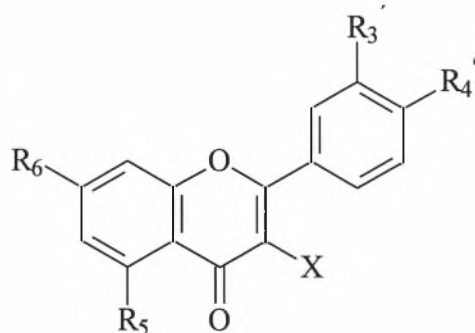
3,4-διϋδροϕαινυλαιθυλελενολικό οξύ



Αγκουστιφολιοσίδης

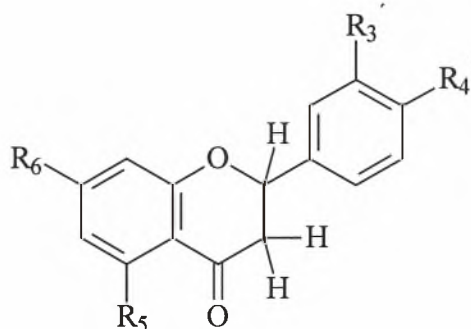


Νενγενίδης



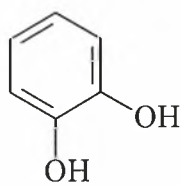
X = H ΦΛΑΒΟΝΕΣ
 X = OH ΦΛΑΒΟΒΟΛΕΣ

Ένωση		R ₃ '	R ₄ '	R ₅	R ₆
Φλαβόνες	Απιγενίνη	H	OH	OH	OH
	Απιγενίνη-7-O-Glu	H	OH	OH	O-Glu
	Λουτεολίνη-7-O-Glu	OH	OH	OH	O-Glu
Φλαβονόλες	Κεμπφερόλη	H	OH	OH	OH
	Κερκετίνη	OH	OH	OH	OH
	Ρουτίνη (X = O-Rha-Glu)	OH	OH	OH	OH
Φλαβανόνη	Εσπεριδίνη	OH	OCH ₃	OH	O-Glu-Rha

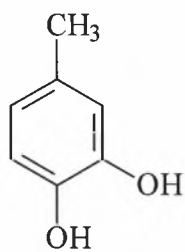


ΦΛΑΒΑΝΟΝΕΣ

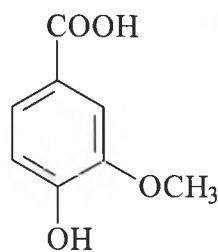
Υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων



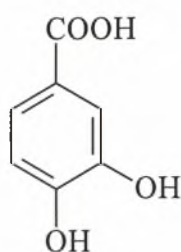
Κατεχόλη



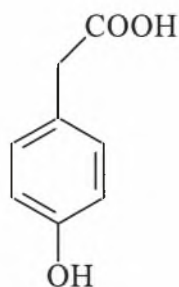
4-μεθυλο-κατεχόλη



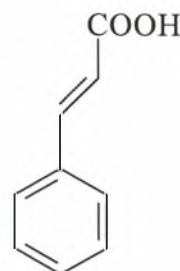
Βανιλλικό οξύ



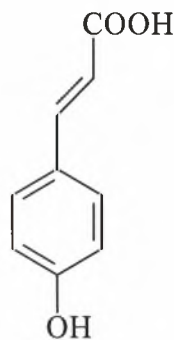
Πρωτοκατεχικό οξύ



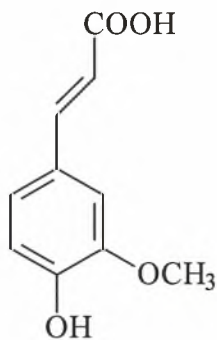
4-υδροξυφαινυλ-οξικό οξύ



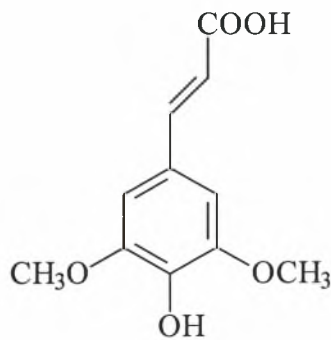
trans-κινναμωμικό οξύ



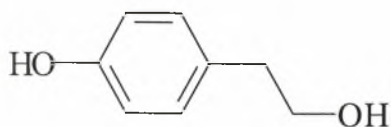
trans-π-κουμαρικό οξύ



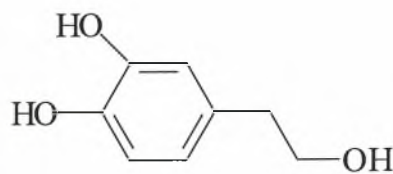
trans-φερουλικό οξύ



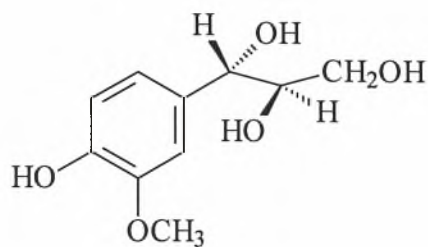
trans-σιναπικό οξύ



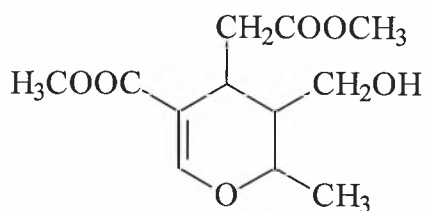
Τυροσόλη



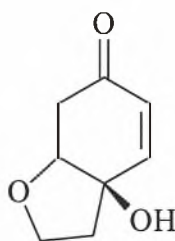
Υδροξυτυροσόλη



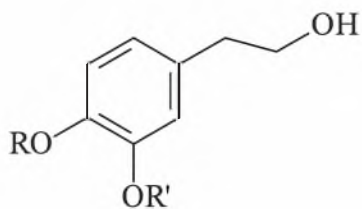
D(+)-ερυθρο-1-(4-υδροξυ-3-μεθοξυ)-φαινυλ-1,2,3 προπανοτριόλη



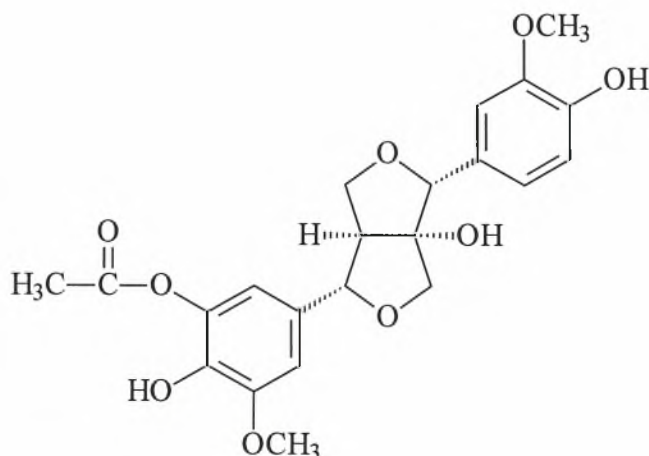
Μεθυλεστέρας του 2H-πυραν-3-υδροξυμεθυλ-2,3-διϋδρο-(μεθοξυκαρβονυλ)-2-μεθυλο οξικού οξέος



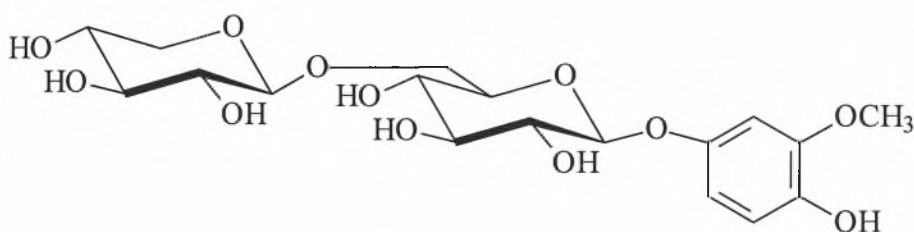
Halleridone



R	R'	
H	H	3β-D-γλυκοκυρανοσίδης της 2-(3,4-διϋδροξυφαινυλο)-αιθανόλης
Glu	Glu	4β-D-γλυκοκυρανοσίδης της 2-(3,4-διϋδροξυφαινυλο)-αιθανόλης



1-υδροξυ-2-(4-υδροξυ-3μεθοξυφαινυλ)-6-(3-ακετυλ-4-υδροξυ-5μεθοξυφαινυλ)-3,7-διοξακυκλο[3.3.0]οκτάνιο



4-[β-D-ξυλοπυρανοσυλο-(1->6)]-β-D-γλυκοπυρανοσυλο-1,4-διϋδροξυ-2-μεθοξυβενζόλιο

ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΕΛΙΑΣ

Εισαγωγή

Τα φύλλα της ελιάς έχουν χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή ιατρική ως αντιυπερτασικά, αγγειοδιασταλτικά, αντιρρευματικά, διουρητικά, αντιπυρετικά και υπογλυκαιμικά. Σύγχρονες φαρμακολογικές μελέτες έχουν δείξει την αντιχοληστερινική, αγγειοδιασταλτική, υποτασική και αντιμικροβιακή δράση ενώ οι μελέτες για πιθανές νέες δράσεις συνεχίζονται.

Στα φύλλα, τον καρπό και το λάδι της ελιάς περιέχονται αρκετές φαινολικές ενώσεις και παράγωγα όπως η ολευρωπεΐνη, η τυροσόλη, η υδροξυτυροσόλη, οι εστέρες τους και ορισμένα φαινολικά οξέα όπως το καφεϊκό και το βανιλικό. Οι ιδιότητες των φύλλων έχουν αποδοθεί κατά κύριο λόγο στα ιριδοειδή και ειδικότερα στα σεκοΐριδοειδή ολευρωπεΐνη (oleuropein) και υδροξυτυροσόλη (3,4-διυδροξυφαινυλαιθανόλη) (Le Tutour and Guedon, 1992; Ghisalberti, 1998). Η ολευρωπεΐνη είναι το πικρό συστατικό της ελιάς και εξουδετερώνεται με την κατεργασία του ελαιοκάρπου. Οι δύο αυτές ουσίες είναι γνωστές για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες (Owen *et al.*, 2000a), ενώ θεωρείται ότι δίνουν στο δέντρο της ελιάς αντοχή κατά των βλαβών από έντομα και βακτήρια. Πάντως, το συνολικό εκχύλισμα των

φύλλων εμφανίζει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τα δύο αυτά συστατικά μεμονωμένα (Le Tutour and Guedon, 1992).

Στο εκχύλισμα των φύλλων της ελιάς έχουν απομονωθεί επίσης και άλλοι 3,4-διϋδροξυφαινολεστερές και γλυκοζίδια φλαβονοειδών κυρίως της ρουτίνης και της λουτεολίνης (Le Tutour and Guedon, 1992; Ghisalberti, 1998).

Φαρμακολογικές χρήσεις στην σύγχρονη ιστορία

Φύλλα της ελιάς

Η πρώτη επίσημη αναφορά για τη χρήση των φύλλων της ελιάς στην ιατρική χρονολογείται από το 1854, όταν ο Hanbury ανέφερε στην επιθεώρηση *Pharmaceutical Journal* μια απλή συνταγή για τη χρήση του υδατικού εκχυλίσματος των φύλλων της ελιάς ως αντιπυρετικό. Από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα υπάρχουν αναφορές στη βιβλιογραφία για την σύσταση και τη δράση των φύλλων της ελιάς. Ειδικότερα αναφέρονται η αντιοξειδωτική (Le Tutour and Guedon, 1992; Ghisalberti, 1998; Owen *et al.*, 2000a), η αντιμικροβιακή (Ghisalberti, 1998), η αντιυπερτασική (Visioli and Galli, 1994; Ziyat *et al.*, 1997; Ghisalberti, 1998; Visioli and Galli, 1998), η αγγειοδιασταλτική (Pieroni *et al.*, 1996) και η υπογλυκαιμική (Gonzalez *et al.*, 1992) δράση για το εκχύλισμα των φύλλων ή για μεμονωμένα συστατικά του.

Το εκχύλισμα των φύλλων της ελιάς και η ίδια η ολευρωπεΐνη, έχει βρεθεί ότι έχουν ισχυρή μικροβιοκτόνο δράση *in vitro* (Walter *et al.*, 1973; Ghisalberti, 1998). Ειδικότερα το εκχύλισμα έχει βρεθεί ότι είναι αποτελεσματικό *in vitro* έναντι μεγάλου αριθμού μικροοργανισμών, όπως *Staphylococcus aureus* (σε χαμηλές συγκεντρώσεις μειώνει τον ρυθμό ανάπτυξης, σε υψηλότερες συγκεντρώσεις αναστέλλει την ανάπτυξη, ενώ αναστέλλει την παραγωγή εντεροτοξίνης B, ανεξαρτήτως συγκέντρωσης), *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Haemophilus influenza*, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus* (αναστέλλει την εκβλάστηση των σπόρων) κ.α., καθώς και αντιμυκητιακές ιδιότητες. Ωστόσο, δεν έχει επαρκώς αποδειχθεί η δραστηριότητα *in vivo*. Η αντιβακτηριακή δράση της ολευρωπεΐνης πιθανώς να οφείλεται στην ιδιότητα των φαινολικών ουσιών να παρεμποδίζουν το σχηματισμό κυτταρικού τοιχώματος με επακόλουθη διαρροή συστατικών του κυττάρου.

Μελέτες με πειραματόζωα έδειξαν ότι η ολευρωπεΐνη αυξάνει τη στεφανιαία ροή αίματος, ενώ παρατηρήθηκαν σημαντική αντιυπερτασική, αντιαρρυθμική καθώς και σπασμολυτική δράση σε κάποια είδη πειραματοζώων (Petkov and Manolov, 1972).

Ακόμη έχει βρεθεί αντισυμπληρωματική δράση κάποιων φλαβονοειδών των φύλλων της ελιάς όπως η απιγενίνη και η λουτεολίνη (Pieroni *et al.*, 1996). Τα φύλλα της ελιάς, με τη μορφή εκχυλίσματος, έχουν χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή ιατρική ως αντινεοπλασματικά. Η δράση αυτή των φύλλων παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον και αποτελεί τελευταία αντικείμενο περαιτέρω έρευνας (Owen *et al.*, 2000a).

Κλινικά δεδομένα για τη χρήση των φύλλων της ελιάς στην θεραπεία της υπέρτασης, υπάρχουν ήδη από τη δεκαετία του 1950 (Ghisalberti, 1998). Η επίδραση που παρουσιάζουν τα ελάσσονα συστατικά, κυρίως τα φλαβονοειδή της ελιάς, στα

καρδιαγγειακά νοσήματα ανασκοπήθηκε πρόσφατα (Visioli and Galli, 1998). Η ολευρωπεΐνη ως φυσικό αντιοξειδωτικό διατηρεί την ιδιότητά της αυτή *in vivo* παρέχοντας προστασία στον οργανισμό από πολλούς βλαβερούς παράγοντες. Έτσι εμποδίζει την οξείδωση των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL) εμπλουτίζοντας τα ήδη υπάρχοντα αποθέματα τους σε αντιοξειδωτικές ουσίες. Η οξείδωση των LDL έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή κυτταροτοξικών ουσιών, όπως τα λιποϋπεροξειδία και θεωρείται ότι συμβάλλει στην εμφάνιση αθηροσκλήρωσης (Visioli and Galli, 1994). Η ολευρωπεΐνη δεσμεύει ελεύθερες ρίζες, όπως υπεροξειδικά ανιόντα (Visioli *et al.*, 1998a) και εμφανίζει αντι-εικοσανοειδική δράση αναστέλλοντας την παραγωγή 5-λιποξυγενάσης (Puerta *et al.*, 1999). Μειώνει κατά αυτό τον τρόπο τον κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων, όπως η στεφανιαία νόσος, και μερικών μορφών καρκίνου. Το χαμηλό ποσοστό καρδιαγγειακών παθήσεων σε μεσογειακές χώρες, όπου γίνεται μεγάλη κατανάλωση ελαιόλαδου επιβεβαιώνει το σημαντικό ρόλο των φαινολικών συστατικών του στην ανθρώπινη διατροφή (Visioli *et al.*, 1998a).

Επώαση LDL χοληστερόλης με ολευρωπεΐνη και η υδροξυτυροσόλη, βρέθηκε ότι μειώνει την απώλεια βιταμίνης E μετά από προσθήκη CuSO₄ και αναστέλλει το σχηματισμό προϊόντων λιπιδικής υπεροξειδωσης όπως ισοπροστάνια, λιποϋπεροξειδία και μηλονική διαλδεϋδη. Άλλες δράσεις των πολυφαινολών του φύλλου της ελιάς, περιλαμβάνουν την αναστολή της συγκόλλησης των αιμοπεταλίων, ελαττωμένη παραγωγή εικοσανοϊκού οξέος από ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα και αυξημένη παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου (NO) από μακροφάγα ποντικού μετά από επίδραση ενδοτοξίνης. Οι πρώτες δράσεις, πιθανόν να επιδρούν στο σχηματισμό θρόμβων και στη φλεγμονή ενώ η τελευταία πιθανόν να παίζει ρόλο στην προστασία κατά των παρασίτων (Visioli and Galli, 1998).

Δεν έχει ακόμα λυθεί το ζήτημα για το κατά πόσο τα φλαβονοειδή και οι πολυφαινόλες απορροφούνται από τη διαίτα και αν έχουν αυτές τις δράσεις *in vivo*, αν και για το πρώτο ζήτημα πρόσφατα βρέθηκε μια δοσοεξαρτώμενη απορρόφηση. Τα πειραματικά στοιχεία δείχνουν ότι οι φαινόλες που υπάρχουν στο φυτό της ελιάς ελαττώνουν την οξείδωση της LDL χοληστερόλης σε πειραματόζωα (Visioli and Galli, 1998).

Σε μελέτες που έγιναν σε αρουραίους, με διαβήτη που προκλήθηκε από αλοξάνη, βρέθηκε ότι το εκχύλισμα των φύλλων της ελιάς έχει υπογλυκαιμική και αντιδιαβητική δράση (Gonzalez *et al.*, 1992; Ghisalberti, 1998). Η δράση αυτή ήταν διαφορετική ανάλογα με την εποχή που μαζεύτηκαν τα φύλλα με μέγιστη δραστηριότητα κατά την περίοδο του χειμώνα και μάλιστα το Φεβρουάριο (Gonzalez *et al.*, 1992).

Ήδη στην αμερικανική αγορά, αλλά και στο διαδίκτυο, κυκλοφορούν από διάφορες εταιρείες εκχυλίσματα φύλλων της ελιάς (olive leaf extract) ως συμπληρώματα διατροφής, σε μορφή δισκίων. Η συνιστώμενη χρήση τους είναι ως αντιμικροβιακά και ενισχυτικά του ανοσοποιητικού συστήματος. Ειδικότερα η κατανάλωση του εκχυλίσματος των φύλλων της ελιάς, συνιστάται για ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος ή ως φυσικό αντιμικροβιακό σε μυκητιάσεις και σε ιώσεις όπως η γρίπη και ο έρπης και τέλος συνιστάται για τη χρόνια κόπωση.

Τα φύλλα της ελιάς αποτελούν μια άφθονη και φθηνή πρώτη ύλη για την παραλαβή δραστικών συστατικών με φαρμακευτική δράση αφού αποτελούν υποπροϊόν της ελαιουργικής διαδικασίας. Ορισμένες από τις ουσίες αυτές, όπως η ολευρωπεΐνη και η υδροξυτυροσόλη, υπάρχουν σε μικρότερες ποσότητες και στο ελαιόλαδο, το οποίο όμως λόγω της διατροφικής και οικονομικής του αξίας δεν προσφέρεται για την παραλαβή ουσιών. Οι πρώτες ενδείξεις για την δυνατότητα χρήσης των συστατικών των φύλλων της ελιάς για φαρμακευτικούς σκοπούς είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικές.

Υγρά Απόβλητα ελαιοτριβείων

Εισαγωγή

Τα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείου (κατσίγαρος) συνίστανται από το υδατικό κλάσμα του χυμού του ελαιοκάρπου και από το νερό που χρησιμοποιείται στις διάφορες φάσεις παραγωγής του λαδιού στο ελαιουργείο. Ουσιαστικά, όπως αναλύθηκε και στην εισαγωγή της παρούσας εργασίας, πρόκειται για ένα υδατικό φυτικό εκχύλισμα, που περιέχει μία σειρά από ουσίες όπως σάκχαρα, αζωτούχες ενώσεις, οργανικά οξέα, πολυαλκοόλες, πολυφαινόλες και υπολείμματα ελαίου. Η άμεση επίπτωση του κατσίγαρου στο περιβάλλον είναι η αισθητική υποβάθμιση που προκαλεί και η οποία οφείλεται στην έντονη οσμή του και στο σκούρο χρώμα του. Παράλληλα, εξαιτίας του υψηλού οργανικού φορτίου που περιέχει, είναι πιθανόν να δημιουργήσει ευτροφικά φαινόμενα σε περιπτώσεις που καταλήγει σε αποδέκτες με μικρή ανακυκλοφορία νερών (κλειστούς θαλάσσιους κόλπους, λίμνες κ.τ.λ). Από τα συστατικά που περιέχονται στον κατσίγαρο, οι πολυφαινόλες παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον διότι από τη μία πλευρά προσδίδουν στα απόβλητα τοξικές ιδιότητες έναντι των φυτών και αποδομούνται με βραδύ σχετικά ρυθμό από εξειδικευμένες ομάδες μικροοργανισμών, ενώ από την άλλη είναι υπεύθυνες για τη συντήρηση της ποιότητας του λαδιού στο χρόνο (χαμηλή οξύτητα) ως φυσικό συντηρητικό. Επειδή η παραγωγή του ελαιολάδου είναι μία φυσική διαδικασία, πρέπει να σημειωθεί ότι ο κατσίγαρος δεν περιέχει άλλες ουσίες που είναι ιδιαίτερα τοξικές, όπως τα βαρέα μέταλλα και οι συνθετικές οργανικές ενώσεις.

Τα απόβλητα των ελαιοτριβείων αποτελούν ένα σημαντικό παράγοντα μόλυνσης και ένα δυσεπίλυτο πρόβλημα στο χώρο των γεωργικών βιομηχανιών. Το κόστος της εγκατάστασης των μέχρι σήμερα προτεινόμενων συστημάτων αποθαρρύνει τους ελαιοπαραγωγούς να αλλάξουν την πρακτική την οποία ακολουθούν μέχρι σήμερα δηλαδή την απόρριψη σε παρακείμενους εδαφικούς αποδέκτες ή την θάλασσα. Το κυριότερο αίτιο του προβλήματος είναι η χημική σύσταση των αποβλήτων, την οποία εξετάσαμε σε προηγούμενο κεφάλαιο, τα οποία εκτός άλλων περιέχουν μια σειρά από πολυφαινολικές οργανικές ενώσεις των οποίων η τοξικότητα οδηγεί στην ρύπανση και υποβάθμιση της περιοχής (Carasso *et al.*, 1992; Fiorentino *et al.*, 2003; Kotsou *et al.*, 2004). Σήμερα όμως ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει αποδείξει ότι ορισμένες από τις ουσίες αυτές είναι υπεύθυνες για την ιδιαίτερη διατροφική αξία του ελαιολάδου αφού εμφανίζουν αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες (Fleming *et al.*, 1973; Benavente-Garcia *et al.*, 2000; Briante *et al.*, 2002; Fki *et al.*, 2005a). Για τον λόγο αυτό χρησιμοποιούνται για την παραγωγή σκευασμάτων με αξιολογημένη κυκλοφορία και οικονομικό ενδιαφέρον.

Το υψηλό οργανικό φορτίο του κατσίγαρου σε συνάρτηση με την παρουσία των πολυφαινόλων δεν επιτρέπει την απευθείας διάθεση του στο περιβάλλον, αλλά καθιστά αναγκαία την πρότερη επεξεργασία του. Για την επεξεργασία και διάθεση

του κατσίγαρου έχουν δοκιμαστεί διάφορες μέθοδοι σε εργαστηριακή και πραγματική κλίμακα. Παρόλα αυτά, μέχρι σήμερα δεν έχει προταθεί μία ολοκληρωμένη λύση, αλλά έχουν εφαρμοστεί διάφορες τεχνικές κατά περίπτωση που παρουσιάζουν ορισμένα μειονεκτήματα τεχνικής ή οικονομικής φύσεως και δεν έχουν επιλύσει ικανοποιητικά το πρόβλημα.

Συγκεκριμένα, έχει εφαρμοστεί η διάθεση του κατσίγαρου σε λίμνες εξάτμισης (Κρήτη), σε λάκκους (Χίος) ή στο έδαφος (Κύπρος), μέθοδοι που απαιτούν μεγάλες εκτάσεις για τη διάθεση των αποβλήτων και συχνά δημιουργούν αισθητικά προβλήματα εξαιτίας της κακής μελέτης και κατασκευής των συστημάτων αυτών. Έχει εφαρμοστεί η μετατροπή των ελαιουργείων από τριφασικά σε διφασικά (Ισπανία), διαδικασία που μειώνει σημαντικά τον όγκο του απαιτούμενου νερού στο ελαιουργείο και κατά συνέπεια τον όγκο των παραγόμενων υγρών αποβλήτων, αλλά μεταθέτει την αντιμετώπιση του προβλήματος σε ένα μίγμα πυρήνα-κατσίγαρου. Παράλληλα, σε πιλοτική κλίμακα έχει δοκιμαστεί η παραγωγή υγρού εδαφοβελτιωτικού (Καλαμάτα) ή κομπόστας από τον κατσίγαρο (Κρήτη, Καλαμάτα), διαδικασία που προϋποθέτει την ύπαρξη επαρκούς αγοράς για τη διάθεση του παραγόμενου υλικού. Έχουν εφαρμοστεί η χημική οξείδωση (Κρήτη) και η αναερόβια χώνευση του κατσίγαρου (Κρήτη), τεχνικές με υψηλό λειτουργικό και κατασκευαστικό κόστος, αντίστοιχα. Έχει δοκιμαστεί επίσης, η συνεπεξεργασία του κατσίγαρου με αστικά λύματα σε τεχνητούς υγρότοπους ή σε μονάδες ενεργού ιλύος (Κρήτη), τεχνική που προαπαιτεί σημαντική αραίωση του κατσίγαρου. Τέλος, έχει δοκιμαστεί ο διαχωρισμός του κατσίγαρου σε κλάσματα με τη βοήθεια φυσικής καθίζησης (Σάμος), τεχνική που απαιτεί τον συνδυασμό της με κάποια από τις προαναφερθείσες μεθόδους για να δώσει ικανοποιητικό βαθμό καθαρισμού των αποβλήτων.

Κύριος στόχος της προσπάθειάς μας ήταν να δείξουμε ότι είναι δυνατή η απομόνωση των πολυφαινολικών ενώσεων που απομονώσαμε σε εργαστηριακό επίπεδο και σε βιομηχανική κλίμακα. Σχεδιάστηκε, εγκαταστάθηκε και λειτουργήσε πιλοτική μονάδα και πραγματοποιήθηκε η παραγωγή εκχυλίσματος πολυφαινολών όπως η τυροσόλη, η υδροξυτυροσόλη και λακτόνες όπως το 5-(αιθυλιδανο-2-οξο-τετραϋδρο-πυραυλ-4-) και το οξικό οξύ από τα υγρά απόβλητα (κατσίγαρος) και αναπτύχθηκε μέθοδος απομόνωσης ολεωρωπεΐνης από τα φύλλα της ελιάς (στερεά απόβλητα) σε μεγάλη κλίμακα. Η υπολειπόμενη ιλύς από την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου αξιοποιήθηκε με ανάμειξη με στερεά απόβλητα για την παρασκευή υψηλής ενεργότητας βιολογικού λιπάσματος.

Περιγραφή του προβλήματος

Ένα από τα προβλήματα, με σοβαρές περιβαλλοντικές επιπτώσεις στο χώρο των γεωργικών βιομηχανιών είναι η διαχείριση των στερεών και υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων.

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση παράγεται το 78% της παγκόσμιας παραγωγής ελαιολάδου με κυριότερες παραγωγούς χώρες την Ισπανία, την Ιταλία και την Ελλάδα. Για την επεξεργασία του ελαιόκαρπου στα ελαιοτριβεία καταναλώνονται περίπου 20 εκατομμύρια τόνοι νερού ετησίως και παράγονται 30 εκατομμύρια τόνοι υγρών αποβλήτων. Στην Ελλάδα λειτουργεί μεγάλος αριθμός ελαιοτριβείων διαφορετικής δυναμικότητας, τα οποία καλύπτουν τις ανάγκες για την παραγωγή λαδιού. Οι ποσότητες υγρών αποβλήτων που δημιουργούνται κατά την λειτουργία των ελαιοτριβείων είναι εξαιρετικά μεγάλες με μέση ημερήσια τιμή ανά ελαιοτριβείο

15-20 τόνους. Αρκεί να σημειωθεί ότι για κάθε κιλό λαδιού παράγονται κατά μέσο όρο 5 κιλά υγρών αποβλήτων μεγάλου οργανικού φορτίου και ότι στην Ελλάδα παράγονται 300000-440000 τόνοι ελαιόλαδο δηλαδή το 12,5 - 15% της παγκόσμιας παραγωγής.

Η συνήθης πρακτική που εφαρμόζεται σήμερα είναι η απόρριψη τους σε αποδέκτες όπως κοντινοί χείμαρροι, θάλασσες και λίμνες. Το 58% των ελαιουργείων διοχετεύουν τα απόβλητα τους σε ρεματιές με αποτέλεσμα να καταλήγουν σε μεγάλο ποσοστό σε υδάτινους αποδέκτες. Το 11,5% διοχετεύει τα απόβλητα τους κατ' ευθείαν στην θάλασσα και 19,5% σε εδαφικούς αποδέκτες. Η ανεξέλεγκτη διάθεση των υγρών αποβλήτων μπορεί να οδηγήσει σε εκδήλωση έντονων φυτοτοξικών φαινομένων στην βλάστηση των φυτών, στην ρύπανση του υδροφόρου ορίζοντα, στην υποβάθμιση της ποιότητας των επιφανειακών νερών, των ακτών και της θάλασσας.



Εικόνα 1. «Λίμνη» εξάτμισης κατσιγάρου

Επίσης θα πρέπει να αναφερθεί η όχληση που προκαλείται στους κατοίκους των ελαιοπαραγωγικών περιοχών τόσο από τις ανεπιθύμητες οσμές που αναδίδουν υπαίθριες δεξαμενές προσωρινής αποθήκευσης όσο και η ύπαρξη μεγάλου αριθμού εντόμων που συγκεντρώνονται γύρω από αυτές.

Τεχνική λύση

Η κύρια περιβαλλοντική επιβάρυνση που προκύπτει από την λειτουργία των ελαιουργείων κατά την διάρκεια της ελαιοπαραγωγικής περιόδου (Οκτώβριος έως Μάρτιος) σχετίζεται με την διαχείριση (επεξεργασία, τελική διάθεση) του παραγόμενου κατσιγάρου. Ο κατσιγάρος παρουσιάζει ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις οργανικού φορτίου, αιωρούμενων στερεών και ελαίων (Kennedy and Meullenet, 2005). Η ρυπαντική παράμετρος, η οποία κύρια ευθύνεται για τις σημαντικότερες περιβαλλοντικές επιπτώσεις από την τελική διάθεση του κατσιγάρου σε φυσικούς αποδέκτες είναι οι φαινόλες, οι οποίες στις ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις που βρίσκονται στα ελαιουργικά απόβλητα δρουν βιοτοξικά. Ο βιοτοξικός χαρακτήρας των φαινολών που συναντώνται σε ιδιαίτερα υψηλές

συγκεντρώσεις στον παραγόμενο κατσίγαρο αποτελεί σημαντικότερο ανασταλτικό παράγοντα των βιολογικών δράσεων που λαμβάνουν χώρα στις συμβατικές μεθόδους επεξεργασίας αποβλήτων. Υπολογίζεται ότι το φαινολικό φορτίο των υγρών απόβλητων είναι 1000 φορές μεγαλύτερο από αυτό των αστικών λυμάτων. Αυτός είναι και ο κυριότερος λόγος για τον οποίο οι κλασικές μέθοδοι βιολογικής επεξεργασίας αποβλήτων δεν αποδίδουν στον επιθυμητό βαθμό όταν εφαρμόζονται για την επεξεργασία κατσίγαρου.

Από την άλλη τα τελευταία είκοσι χρόνια έχουν αναπτυχθεί και δοκιμαστεί διάφορες άλλες μέθοδοι επεξεργασίας, οι οποίες όμως είτε απαιτούν ιδιαίτερα υψηλό κόστος για την προμήθεια του αναγκαίου εξοπλισμού, κόστος το οποίο είναι δυσβάστακτο για το οικονομικό μέγεθος της πλειονότητας των ελαιουργείων του ελλαδικού χώρου, είτε απαιτούν υψηλό λειτουργικό κόστος και κόστος συντήρησης των συστημάτων επεξεργασίας γεγονός το οποίο σε συνδυασμό με την παραγωγή παραπροϊόντων χαμηλής ή μέσης εμπορικής αξίας καθιστά την λειτουργία των συστημάτων αυτών ασύμφορη και μη βιώσιμη (Gharsallah *et al.*, 1999; D'Annibale *et al.*, 2000; Tuck and Hayball, 2002).

Τα τελευταία χρόνια επιστημονικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι πολυφαινόλες είναι ουσίες με ενδιαφέρουσα βιολογική δράση (αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή κ.ά.), και είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν σε πλήθος εφαρμογών στη φαρμακευτική βιομηχανία, βιομηχανία καλλυντικών και τροφίμων (Moure *et al.*, 2001).

ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΟΥ ΜΕ ΡΗΤΙΝΕΣ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΕΩΣ

Τα απόβλητα που επεξεργαστήκαμε και αναλύσαμε ποιοτικά στην παρούσα εργασία προέρχονταν από τριφασικό ελαιοτριβείο της Κρήτης (Γέργερη) στο οποίο είχε επεξεργαστεί ελαιόκαρπος ποικιλίας κορωνέικης.

Η αρχική επεξεργασία τους πραγματοποιήθηκε με μία εντελώς νέα τεχνική για τα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων που ως στόχο είχε την παραλαβή των φαινολικών συστατικών τους, τον αποχρωματισμό τους και τελικά την δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης του νερού είτε για κομποστοποίηση είτε για άρδευση.

Η τεχνική αυτή συνίσταται: α) στην διήθηση των αποβλήτων μέσα από μια σειρά φίλτρων που διαθέτουν διαφορετικό μέγεθος πόρων ώστε να απομακρυνθούν τα στερεά σώματα και τα αιωρούμενα σωματίδια, β) στη διέλευση των υγρών αποβλήτων από περιέκτες πληρωμένους με προσροφητικές ρητίνες (XAD-4, XAD-16, XAD-7HP), γ) την παραλαβή των συστατικών που προσροφήθηκαν στις ρητίνες με χρήση οργανικών διαλυτών, δ) την εξάτμιση του διαλύτη και ε) την μελέτη της χημικής σύστασης του στερεού υπολείμματος. Η συνολική πορεία μελετήθηκε και εφαρμόστηκε σε εργαστηριακή και σε ημιβιομηχανική κλίμακα.

ΡΗΤΙΝΕΣ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΕΩΣ

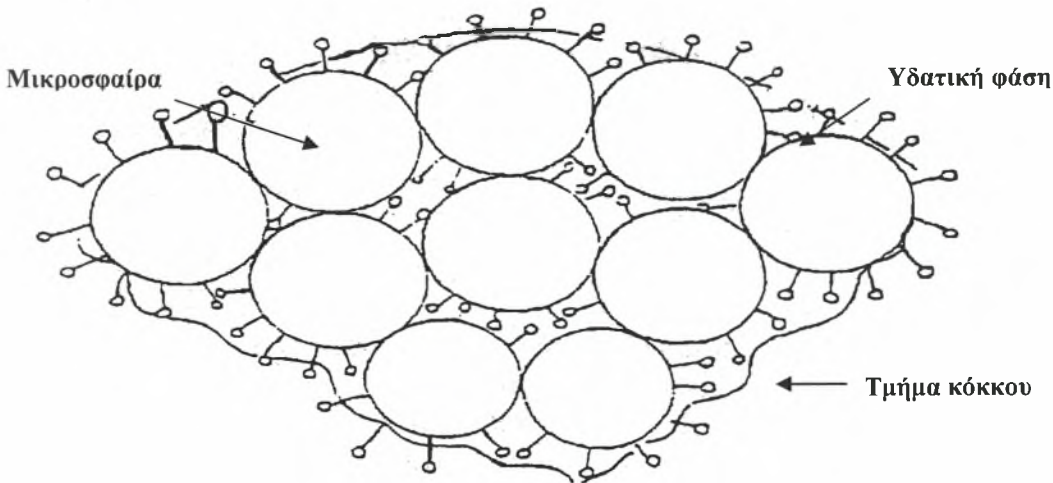
Προσρόφηση

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

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

Μηχανισμός προσρόφησης

Η φυσική δομή ενός κόκκου ρητίνης XAD μπορεί να αποδοθεί με την εικόνα όπου φαίνεται τμήμα κόκκου σε σύνδεση με μόριο (-α)



Εικόνα 2. Φυσική δομή ενός κόκκου ρητίνης XAD

Ένας απλός κόκκος αποτελείται από συσσωματώματα πολύ μικρών σφαιρών. Η δομή του πόρου μοιάζει με ανοικτό κύτταρο και συνεπώς το νερό μπορεί εύκολα να διεισδύει σε αυτόν. Η ρητίνη XAD έχει μια συνεχή gel φάση και μια συνεχή πορώδη φάση. Κατά την προσρόφηση το υδρόφοβο τμήμα του μορίου προσροφάται στην υδρόφοβη επιφάνεια της ρητίνης ενώ το υδρόφιλο προσανατολίζεται προς την υδατική φάση.

Συνήθως τα προσροφημένα μόρια δεν εισχωρούν σημαντικά στη φάση των μικροσφαιρών αλλά συγκρατούνται στην επιφάνεια. Με αυτό τον τρόπο διευκολύνεται η εκρόφηση και οι τεχνικές αναγέννησης. Η εκλεκτικότητα και η έκταση της προσρόφησης οργανικών ουσιών στις ρητίνες αυξάνει με την αύξηση της υδροφοβικότητας του οργανικού μορίου. Οι δυνάμεις που κυριαρχούν είναι του τύπου Van der Waals.

Ρητίνες προσροφήσεως

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

Το μέγεθος των κόκκων της ρητίνης πρέπει να είναι αρκετά μικρό, ώστε η επιφάνεια επαφής να είναι μεγάλη, όχι όμως και πολύ μικρό, ώστε η ταχύτητα ροής, στην περίπτωση χρησιμοποιήσεως στήλης, να μην είναι πολύ μικρή. Οι διακλαδώσεις στο συμπολυμερές μόριο της ρητίνης συνήθως συνίστανται από διβινυλοβενζόλιο ή φορμαλδεΰδη. Ο αριθμός διακλαδώσεων (degree of cross-linkage) εκφράζεται ως εκατοστιαία περιεκτικότητα σε διβινυλοβενζόλιο και είναι συνήθως 8-10. Ο αριθμός διακλαδώσεων μιας ρητίνης επηρεάζει δραστικά την συμπεριφορά της. Αύξησή του συνεπάγεται αύξηση της συνεκτικότητας της ρητίνης και συνεπώς μείωση της διογκώσεώς της κατά την επαφή με νερό, μείωση του πορώδους και της διαλυτότητας, μείωση της ταχύτητας ροής δια μέσου της στήλης, αύξηση της ανταλλακτικής χωρητικότητας και μείωση της ταχύτητας προσροφήσεως. Ουσιαδεις χαρακτηριστικό γνώρισμα των ρητινών είναι η αντιστρεπτότητα, εξαιτίας της οποίας είναι δυνατή η αναγέννηση και συνεπώς η επαναχρησιμοποίησή τους.

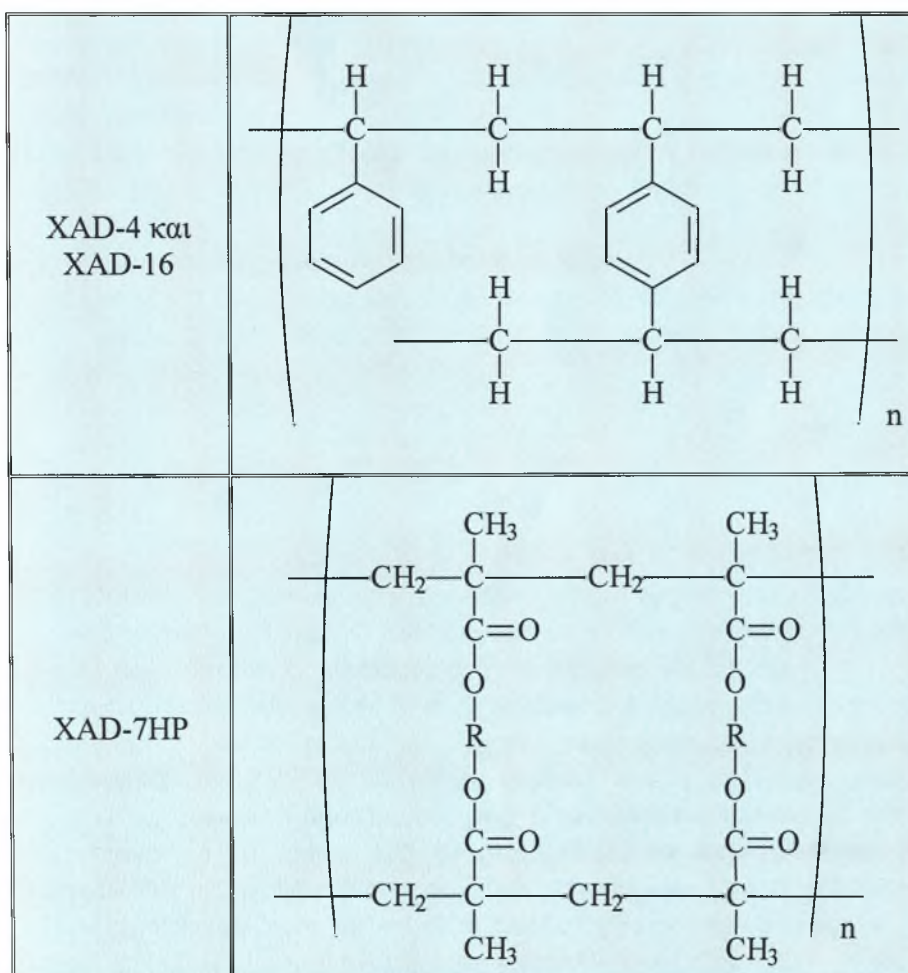
Η προσρόφηση σε ρητίνες είναι σήμερα η πλέον χρησιμοποιούμενη μέθοδος καθαρισμού των υγρών αποβλήτων βιομηχανιών που περιέχουν οργανικές ουσίες καθώς παρουσιάζουν πολύ μεγάλη προσροφητική ικανότητα και με αυτό τον τρόπο πλεονεκτούν σε σχέση με τα υπόλοιπα προσροφητικά μέσα (γέλη πυριτίου, αλουμίνα, ενεργός άνθρακας) (Li *et al.*, 2001). Οι ρητίνες αυτές είναι μακροπορώδεις πολυμερικοί προσροφητές και κάθε τύπος ρητίνης διαθέτει ξεχωριστά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (Πίνακας 2) με αποτέλεσμα να προσφροφά και διαφορετικά συστατικά. Στην επιφάνεια των ρητινών XAD-4 και XAD-16 προσροφούνται τα φαινολικά συστατικά σχετικά μικρού μοριακού βάρους ενώ η ρητίνη XAD-7HP έχει την ικανότητα δέσμευσης συστατικών μεγαλύτερου μοριακού βάρους.

Πίνακας 2. Φυσιχοχημικά χαρακτηριστικά ρητινών XAD-4, XAD-16 και XAD-7HP

Ρητίνη	XAD-4	XAD-16	XAD-7HP
Συμπολυμερισμός	Στυρολίου- διβινυλβενζολίου	Στυρολίου- διβινυλβενζολίου	Ακρυλαμιδίου- διβινυλβενζολίου
Ειδική επιφάνεια, m ² g ⁻¹	750	450	750
Πορώδες, cm cm ⁻³	0.65-0.70	0.55	0.58-0.63
Ολική πυκνότητα, g cm ⁻³	0.62-0.63	0.62	0.61
Μέγεθος κόκκων mm	0.3-1.2	0.3-1.2	0.3-1.2

Οι πολυμερικοί προσροφητές (ρητίνες) Amberlite XAD χρησιμοποιούνται ευρύτατα για την απομάκρυνση και επανάκτηση φαινολών, αντιβιοτικών, φυτοφαρμάκων που περιέχουν χλώριο και διάφορων άλλων αρωματικών και αζωτούχων ενώσεων από υδατικά διαλύματα. Οι ρητίνες XAD-4 και XAD-16 είναι μη πολικές και χρησιμοποιούνται σε ευαίσθητες αναλυτικές διαδικασίες για τον εντοπισμό και αναγνώριση ναρκωτικών και οργανικών περιβαλλοντικών ρύπων. Η ρητίνη XAD-7HP είναι ενδιάμεσης πολικότητας και έχει την δυνατότητα προσρόφησης υδρόφοβων συστατικών από το νερό και υδρόφιλων συστατικών από άνυδρα συστήματα. Χρησιμοποιείται στον καθαρισμό ενζύμων και πεπτιδίων ενώ προσροφά φαινόλες από το νερό.

Πίνακας 3. Χημική δομή ρητινών ρητινών XAD-4, XAD-16 και XAD-7HP



Τεχνικές χρήσης ρητινών προσρόφησης

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

Κατά την τεχνική στήλης, η ρητίνη τοποθετείται σε κατακόρυφο σωλήνα με πορώδη πυθμένα και τα υγρά τροφοδοτήσεως και αναγεννήσεως της στήλης ρέουν από πάνω προς τα κάτω. Στην τεχνική στήλης συμβαίνουν πολυάριθμες τεχνικές λουτρού στα επάλληλα στρώματα της ρητίνης και έτσι η προσροφητική ικανότητα της ρητίνης μπορεί να καταστεί ποσοτική, αρκεί να μην υπερβούμε την προσροφητική χωρητικότητα της στήλης. Τα στάδια διαχωρισμού με την τεχνική στήλης είναι τα εξής: 1) Διαβίβαση του διαλύματος μέσα από την στήλη, οπότε οι χημικές ουσίες προσροφούνται από την ρητίνη της στήλης ενώ οι ουσίες που δεν προσροφούνται διέρχονται από την στήλη, 2) Έκλυση της στήλης με κατάλληλο διαλύτη για την σταδιακή εκτόπιση των προσροφημένων ουσιών και την έξοδό τους από την στήλη σε ξεχωριστά κατά το δυνατόν κλάσματα..

Τα κύρια στάδια της αναπτυχθείσας τεχνολογίας είναι τα ακόλουθα:

- Διαδοχικά φιλτραρίσματα του κατσίγαρου
- Δέσμευση των περιεχόμενων πολυφαινολών από εξειδικευμένη προσροφητική ρητίνη
- Ανάκτηση των πολυφαινολών από την ρητίνη με χρήση οργανικού διαλύτη
- Παραλαβή του μίγματος πολυφαινολών μέσω θερμικής ανάκτησης του οργανικού διαλύτη
- Χρωματογραφικός διαχωρισμός των πολυφαινολών
- Λιπασματοποίηση της λάσπης που παράγεται κατά τα στάδια φιλτραρίσματος και των φύλλων ελιάς που απορρίπτονται σαν στερεά απόβλητα από τα ελαιουργεία.

Φιλτράρισμα

Η διαδικασία επεξεργασίας υγρών αποβλήτων αρχικά περιλαμβάνει τρία διαδοχικά στάδια φιλτραρίσματος που αποσκοπούν στην σταδιακή μείωση του μεγέθους των αιωρούμενων σωματιδίων του κατσίγαρου στα 25 μm.

Οι πρώτες προσπάθειες που πραγματοποιήσαμε περιλάμβαναν την χρήση σακόφιλτρων για το φιλτράρισμα των υγρών αποβλήτων. Η παρουσία όμως αιωρούμενων στερεών μεγάλου μεγέθους καθώς και η κολλώδης υφή του αποβλήτου δυσκόλευαν την προσπάθειά μας. Η διαδικασία έπρεπε να σταματά μετά την διέλευση 5 Lt υγρού και το σακόφιλτρο να αντικαθίσταται ή να καθαρίζεται. Γίνεται κατανοητό ότι σε βιομηχανική κλίμακα κάτι τέτοιο δεν είναι εφικτό καθώς η διαδικασία πρέπει να είναι αποδοτική και όσο το δυνατόν απλή. Στραφήκαμε τότε στα περιστρεφόμενα μεταλλικά φίλτρα, τα οποία και

κατασκευάστηκαν ειδικά για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου και αναπτύξαμε την διαδικασία που περιγράφεται στις επόμενες παραγράφους και αποτελείται από τρία στάδια.

Το πρώτο φιλτράρισμα πραγματοποιήθηκε με χρήση περιστρεφόμενου μεταλλικού φίλτρου το οποίο είναι κατασκευασμένο από ανοξείδωτο ατσάλι (stainless steel (304) WATERSCREEN). Το μήκος του είναι 120 cm, η διάμετρός του 60 cm και έχει οπές μεγέθους 250 μm (Εικόνα 3). Είναι αυτοκαθαριζόμενο, καθώς με ανοξείδωτο ξέστρο απομακρύνει από την επιφάνειά του τα στερεά σώματα και την λάσπη. Η ταχύτητα περιστροφής ρυθμίζεται σε 2 έως 3 rpm. Η αποθηκευτική του δεξαμενή τροφοδοτείται με υγρά απόβλητα μέσω αγωγού από πολυαιθυλένιο (διάμετρος: 1 ίντσα) με χρήση καταδύομενης αντλίας (Vortex) η οποία βυθίζεται μέσα στην δεξαμενή των αποβλήτων. Η ροή τροφοδοσίας ρυθμίζεται σε 1.5 m^3/h .

Στην συνέχεια το φιλτραρισμένο υγρό διοχετεύεται μέσω φυγοκεντρικής αντλίας σε δεύτερο περιστρεφόμενο μεταλλικό φίλτρο κατασκευασμένο από ανοξείδωτο ατσάλι το οποίο είναι ίδιο σε μέγεθος με το προηγούμενο αλλά διαθέτει οπές μεγέθους 120 μm .



Εικόνα 3. Περιστρεφόμενου μεταλλικό φίλτρο

Το απόβλητο που έχει περάσει από τα δύο διαδοχικά στάδια φιλτραρίσματος με φυγοκεντρική αντλία περνά από σακόφιλτρο (PALL) το οποίο διαθέτει πόρους 25 μm . Το σακόφιλτρο αυτό είναι τοποθετημένο σε περιέκτη από ανοξείδωτο ατσάλι χωρητικότητας 27 Lt (εικόνα 4).



Εικόνα 4. Περιέκτης από ανοξείδωτο ασάλι με σακόφιλτρο που διαθέτει πόρους 25 μm

Στην συνέχεια το διηθημένο υγρό, με μέγεθος αιωρούμενων σωματιδίων μικρότερο των 25 μm συλλέχθηκε σε δεξαμενή 1 m^3 και ήταν έτοιμο για το δεύτερο στάδιο.

Δέσμευση σε προσροφητικές ρητίνες

Στο στάδιο αυτό το φιλτραρισμένο απόβλητο πέρασε μέσα από δύο προσροφητικές ρητίνες (XAD-16, XAD-7HP) με σκοπό την απομάκρυνση της άσχημης μυρωδιάς, τον αποχρωματισμό του και την απομάκρυνση/κατακράτηση των ουσιών που μας ενδιαφέρουν (πολυφαινόλες, λακτόνες). Η διαδικασία προσρόφησης ολοκληρώνεται σε δύο φάσεις και περιγράφεται στην συνέχεια για ποσότητα 1.5 m^3 αποβλήτου.

Πρώτη φάση: Στόχος μας είναι η κατακράτηση των πολυφαινολών που περιέχονται στα απόβλητα.

Το φιλτραρισμένο απόβλητο περνά από δεύτερη στήλη ύψους 160 cm και διαμέτρου 40 cm η οποία έχει πληρωθεί με 100 Lt προσροφητικής ρητίνης Amberlite-XAD-16 (εικόνα 5). Η τροφοδοσία επιτυγχάνεται με χρήση υδροπνευματικής αντλίας (WILDEN) η οποία είναι συνδεδεμένη με κομπρεσέρ που παρέχει αέρα πίεσης 2.5 bar. Η ροή τροφοδοσίας ήταν 125 Lt/h και η διαδικασία ολοκληρώθηκε σε 4 ώρες. Το απόβλητο συλλέγεται σε δεξαμενή και περνά για δεύτερη φορά από την στήλη με σκοπό να επιτευχθεί η μέγιστη δυνατή προσρόφηση.

Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία η ρητίνη πρέπει αρχικά να ξεπλυθεί με διαλύτη για την παραλαβή των συστατικών που έχει προσροφήσει και στην συνέχεια αναγεννάται ώστε να είναι έτοιμη για να ξαναχρησιμοποιηθεί. Η διαδικασία αναγέννησης περιλαμβάνει τα παρακάτω στάδια:

- Η στήλη τροφοδοτείται με νερό για 15 λεπτά ώστε να απομακρυνθούν τα σωματίδια που κατακάθισαν στην επιφάνεια της ρητίνης. Η

τροφοδοσία συνεχίζεται μέχρι το νερό που παραλαμβάνουμε να είναι τελείως διάφανο.

- Η στήλη τροφοδοτείται με νερό από την κάτω πλευρά της (έξοδο) για 5 λεπτά ώστε να αναδιαταχθούν οι κόκκοι της ρητίνης μέσα στην στήλη
- Αναγέννηση ρητίνης με «πέραςμα» μίγματος 50/50 (v/v) αιθανόλης/ισοπροπανόλης με ροή 250 Lt/h για περίπου 35 λεπτά
- Έκπλυση της ρητίνης με νερό για την απομάκρυνση των διαλυτών



Εικόνα 5. Στήλη ύψους 160 cm και διαμέτρου 40 cm η οποία έχει πληρωθεί με 100 Lt προσροφητικής ρητίνης.

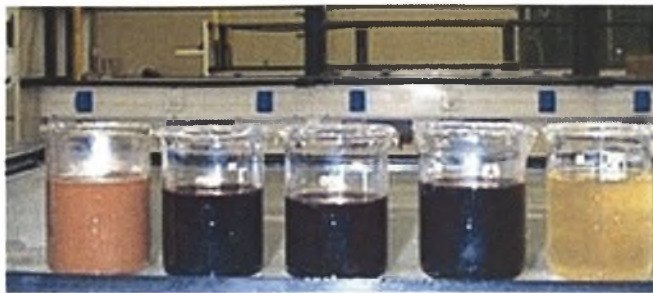
Δεύτερη φάση: Χρησιμοποιείται η ρητίνη Amberlite-XAD7HP η οποία παρουσιάζει εξειδίκευση στην κατακράτηση διαφόρων οργανικών οξέων (π.χ. βουτυρικό οξύ) τα οποία προκαλούν την άσχημη μυρωδιά του κατσίγαρου και κατακρατά και πολυμερή τα οποία δίνουν το έντονο σκούρο χρώμα.

Το φιλτραρισμένο απόβλητο περνά από στήλη ύψους 160 cm και διαμέτρου 40 cm η οποία έχει πληρωθεί με 100 Lt προσροφητικής ρητίνης Amberlite-XAD7HP (εικόνα 5). Η τροφοδοσία επιτυγχάνεται με χρήση υδροπνευματικής αντλίας (WILDEN) η οποία είναι συνδεδεμένη με κομπρεσέρ που παρέχει αέρα πίεσης 2.5 bar. Η ροή τροφοδοσίας ήταν 500 Lt/h. Το απόβλητο συλλέγεται σε δεξαμενή και περνά για δεύτερη φορά από την στήλη με σκοπό να επιτευχθεί η μέγιστη δυνατή προσρόφηση.

Ακολουθεί η διαδικασία αναγέννησης της ρητίνης όπως περιγράφηκε στην προηγούμενη φάση και η ρητίνη είναι έτοιμη να ξαναχρησιμοποιηθεί.

Το υγρό απόβλητο που παραλαμβάνουμε μετά τις δύο αυτές φάσεις είναι ένα άοσμο, ελαφρώς κίτρινο υγρό (εικόνα 20) το οποίο όπως διαπιστώσαμε με χρήση υγρής χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC) δεν περιέχει πολυφαινολικές ή λακτονικές ενώσεις (εικόνα). Πραγματοποιήθηκε και ανάλυση με αέριο χρωματογράφο μάζας και διαπιστώθηκε ότι το τελικό υγρό μετά την επεξεργασία με

τις ρητίνες προσροφήσεως δεν περιέχει αλειφατικά οξέα (C3-C7) π.χ. προπιονικό, βουτυρικό κ.α., τα οποία θεωρούνται υπεύθυνα για την άσχημη οσμή του αρχικού υλικού



Εικόνα 6. Δείγματα του αποβλήτου κατά τα διάφορα στάδια της επεξεργασίας

Με χρήση υγρή χρωματογραφίας υψηλής πίεσης διαπιστώσαμε ότι κατά την επεξεργασία με την ρητίνη XAD-16 κατακρατείται το 87% της υδροξυτυροσόλης και το 100% της τυροσόλης που περιέχει το μη επεξεργασμένο υγρό απόβλητο και κατά την επεξεργασία με την ρητίνη XAD-7HP επιτυγχάνεται η πλήρης κατακράτηση και της εναπομένουσας ποσότητας υδροξυτυροσόλης (Σχήμα 1).

Στην υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC) χρησιμοποιήθηκε σύστημα βαθμιδωτής έκλουσης το οποίο περιγράφεται στον παρακάτω πίνακα:

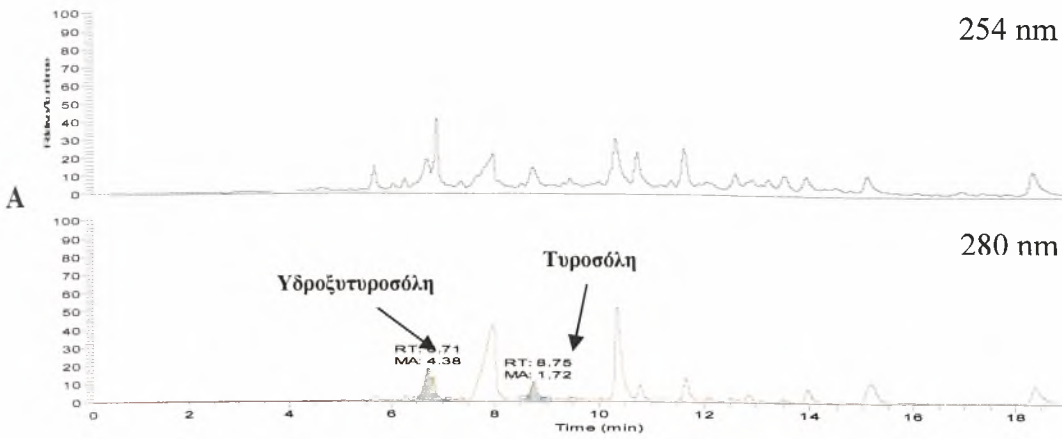
Πίνακας 4. Σύστημα βαθμιδωτής έκλουση που χρησιμοποιήθηκε στην HPLC

Χρόνος	Οξικό αμμώνιο 0,05M	CH ₃ CN
0	90	10
10	70	30
15	60	40
20	90	10

Η διάρκεια της ένεσης ήταν 20 min και η ροή 1ml/min. Χρησιμοποιήθηκε στήλη Pinnacle ODS 3μm 150x4,6 mm και για την πραγματοποίηση της ανάλυσης διαλύονταν 5 mg δείγματος σε 500 μl MeOH + 500 μl H₂O και γινόταν ένεση 100 μl.

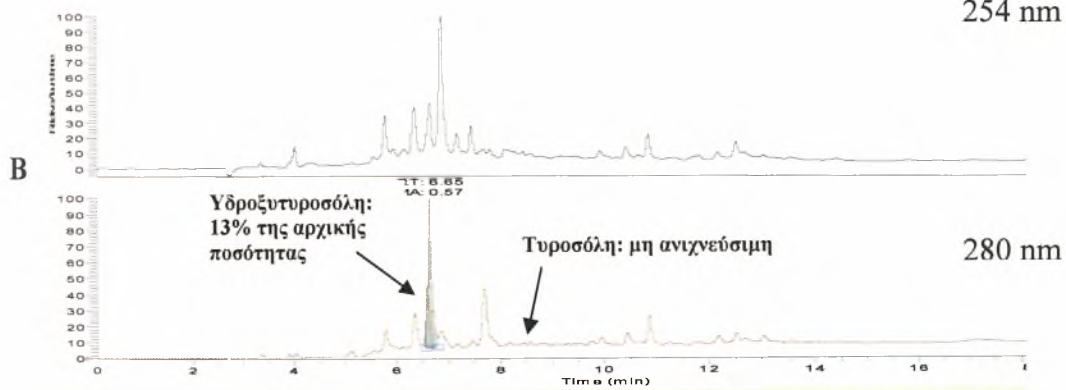
Μη επεξεργασμένο απόβλητο

RT: 0.00 - 19.99 SM: 15B

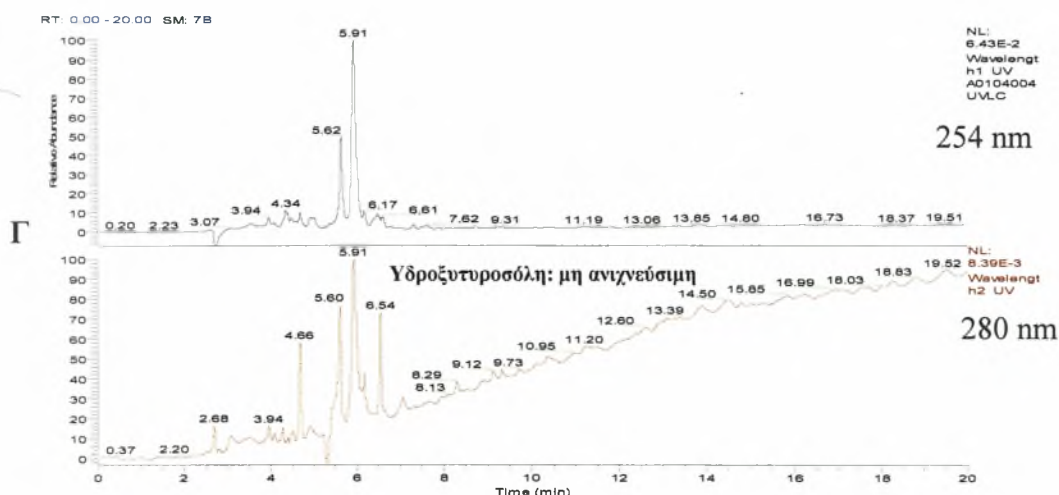


Υγρό απόβλητο μετά την επεξεργασία με την πρώτη ρητίνη

RT: 0.00 - 20.00 SM: 7B



Υγρό αποβλήτο μετά την επεξεργασία και με την δεύτερη ρητίνη



Σχήμα 1. Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης του αποβλήτου (Α), μετά την επεξεργασία με την πρώτη ρητίνη (Β) και έπειτα από την επεξεργασία με την δεύτερη ρητίνη (Γ)

Εξάτμιση με θέρμανση

Το τρίτο στάδιο της διαδικασίας είχε σαν στόχο την ανάκτηση του μίγματος των διαλυτών που συλλέξαμε κατά το δεύτερο στάδιο όπου πραγματοποιήθηκε η αναγέννηση των ρητινών, η εξάτμισή του με θέρμανση και ο διαχωρισμός και απομόνωση των πολυφαινολικών συστατικών με χρωματογραφικές μεθόδους.

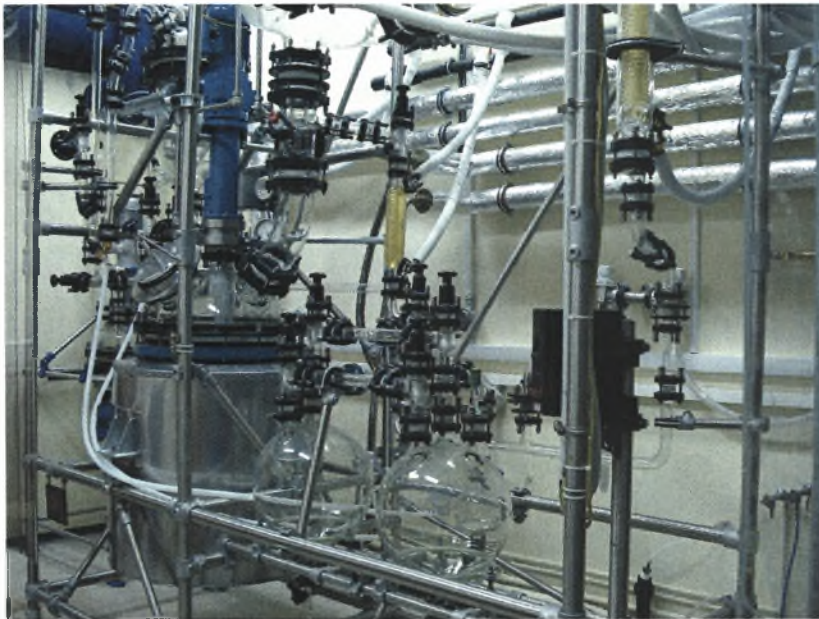
Το κάθε μίγμα διαλυτών που είχε χρησιμοποιηθεί και στην συνέχεια συλλεχθεί κατά το πρώτο και δεύτερο στάδιο της διαδικασίας δέσμευσης σε προσροφητικές ρητίνες εξεταμίστηκε σε Rotavapors BUCHI με χωρητικότητα σφαιρικής φιάλης 20 Lt. Η εξάτμιση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία 45°C υπό κενό (100 mbar). Η ψύξη και υγροποίηση των ατμών του διαλύτη επιτυγχάνεται με την χρήση ψυκτήρα στον οποίο περνούσε γλυκόλη σε θερμοκρασία -7 °C. Η ταυτόχρονη χρήση τριών Rotavapors μας εξασφάλισε την εξάτμιση 12 λίτρων διαλυτών ανά ώρα.

Το υπόλειμμα (Α) που προερχόταν από την επεξεργασία της πρώτης ρητίνης ήταν κολλώδες παχύρευστο υγρό (πάστα) με χρώμα ανοικτό καφέ και απουσίαζε κάθε είδους οσμή. Το υπόλειμμα (Β) το οποίο παρέμεινε στην σφαιρική μετά την εξάτμιση του μίγματος διαλυτών από την δεύτερη ρητίνη είχε την ίδια υφή, αλλά παρουσίαζε σκούρο καφεκόκκινο χρώμα και όξινη οσμή. Η επεξεργασία 500 Lt αποβλήτου έδωσε 1.5 Kgr από το κάθε υπόλειμμα.



Εικόνα 7. Rotavapor BUCHI με χωρητικότητα σφαιρικής φιάλης 20 Lt

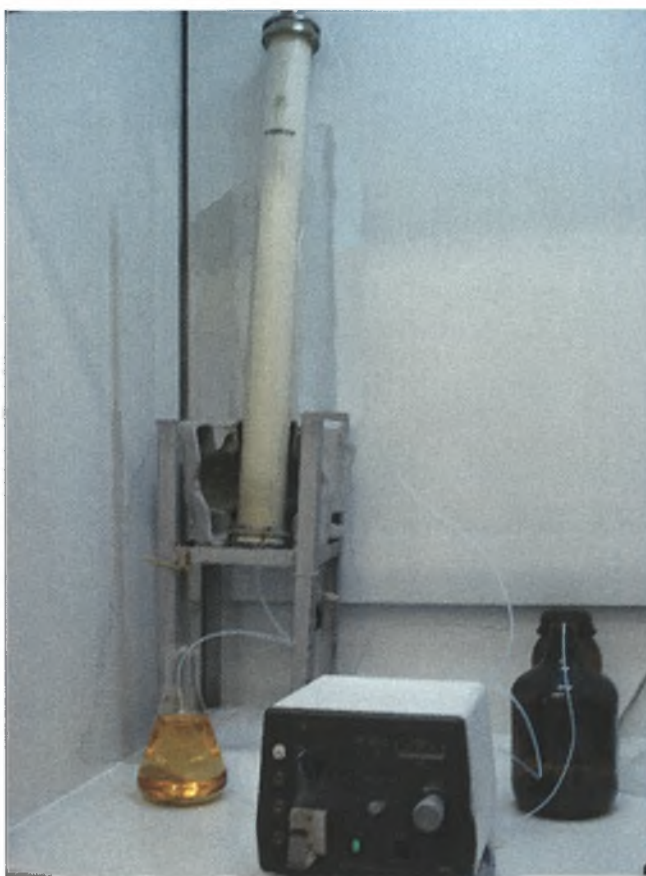
Ο χρόνος εξάτμισης μειώθηκε ακόμα περισσότερο με τη χρήση ενός σύγχρονου συστήματος εξάτμισης χωρητικότητας 200 L, (εταιρεία QVF - Εικόνα 8) το οποίο παρέχει τη δυνατότητα της εξάτμισης του διαλύτη με ρυθμό 50 L/h.



Εικόνα 8. Σύστημα εξάτμισης διαλύτη QVF

Απομόνωση συστατικών από το υπόλειμμα Β

Ποσότητα 200 g του υπολείμματος Β υποβλήθηκε σε κλασμάτωση με την τεχνική της γρήρης χρωματογραφίας μέσης πίεσης. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε είχε 100 cm ύψος και διάμετρο 8 cm.



Εικόνα 9. Υγρή χρωματογραφία μέσης πίεσης υπολείμματος Β

Σαν στατική φάση χρησιμοποιήθηκε γέλη πυριτίου (silica gel 60H) και σαν κινητή φάση σύστημα διαλυτών $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ σε αναλογίες αυξανόμενης πολικότητας. Συνολικά παραλήφθηκαν 30 κλάσματα, όγκου 1000 ml το καθένα, τα οποία εξετάστηκαν με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας. Απομονώθηκαν σε καθαρή μορφή υδροξυτυροσώλη, λακτόνη και τυροσώλη σε ποσότητες 11,8, 3,72 και 4,06 g αντίστοιχα (Πίνακας 5)

Πίνακας 5. MPLC στο υπόλειμμα Β

Κλάσμα	Σύστημα έκλουσης (%)	Βάρος (gr)
1	$\text{CH}_2\text{Cl}_2 / 100$	2.9
2	$\text{CH}_2\text{Cl}_2 / 100$	4.2
3	$\text{CH}_2\text{Cl}_2 / 100$	3.5
4	$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} / 99:1$	6.7
5	$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} / 99:1$	3.72
6	$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} / 99:1$	7.9
7	$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} / 99:1$	6.5
8	$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} / 98:2$	11.2
9	$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} / 98:2$	4.06
10	$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} / 98:2$	7.8
11	$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} / 98:2$	8.4
12	$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} / 98:2$	7.3
13	$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} / 98:2$	9.1
14	$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} / 97:3$	7.9

15	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 97:3	4.8
16	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 97:3	7.4
17	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 96:4	4.5
18	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 96:4	2.7
19	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 96:4	5.3
20	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 95:5	7.2
21	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 95:5	7.5
22	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 95:5	3.1
23	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 90:10	4.7
24	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 90:10	8.1
25	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 85:15	3.8
26	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 85:15	7.2
27	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 80:20	6.6
28	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 70:30	5.8
29	CH ₂ Cl ₂ :MeOH / 50:50	6.4
30	MeOH / 100	18.5

ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΟΥ ΜΕ ΡΗΤΙΝΕΣ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΕΩΣ

Η αρχική επεξεργασία τους πραγματοποιήθηκε με μία εντελώς νέα τεχνική για τα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων που ως στόχο είχε την παραλαβή των φαινολικών συστατικών τους, τον αποχρωματισμό τους και τελικά την δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης του νερού είτε για κομποστοποίηση είτε για άρδευση.

Η τεχνική αυτή συνίσταται: α) στην διήθηση των αποβλήτων μέσα από μια σειρά φίλτρων που διαθέτουν διαφορετικό μέγεθος πόρων ώστε να απομακρυνθούν τα στερεά σώματα και τα αιωρούμενα σωματίδια, β) στη διέλευση των υγρών αποβλήτων από περιέκτες πληρωμένους με προσροφητικές ρητίνες (XAD-4, XAD-16, XAD-7HP), γ) την παραλαβή των συστατικών που προσροφήθηκαν στις ρητίνες με χρήση οργανικών διαλυτών, δ) την εξάτμιση του διαλύτη και ε) την μελέτη της χημικής σύστασης του στερεού υπολείμματος. Η συνολική πορεία μελετήθηκε και εφαρμόστηκε σε εργαστηριακή και σε ημιβιομηχανική κλίμακα.

Τεχνικές χρήσης ρητινών προσρόφησης

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

Κατά την τεχνική στήλης, η ρητίνη τοποθετείται σε κατακόρυφο σωλήνα με πορώδη πυθμένα και τα υγρά τροφοδοτήσεις και αναγεννήσεως της στήλης ρέουν

από πάνω προς τα κάτω. Στην τεχνική στήλης συμβαίνουν πολυάριθμες τεχνικές λουτρού στα επάλληλα στρώματα της ρητίνης και έτσι η προσροφητική ικανότητα της ρητίνης μπορεί να καταστεί ποσοτική, αρκεί να μην υπερβούμε την προσροφητική χωρητικότητα της στήλης. Τα στάδια διαχωρισμού με την τεχνική στήλης είναι τα εξής: 1) Διαβίβαση του διαλύματος μέσα από την στήλη, οπότε οι χημικές ουσίες προσροφούνται από την ρητίνη της στήλης ενώ οι ουσίες που δεν προσροφούνται διέρχονται από την στήλη, 2) Έκλυση της στήλης με κατάλληλο διαλύτη για την σταδιακή εκτόπιση των προσροφημένων ουσιών και την έξοδό τους από την στήλη σε ξεχωριστά κατά το δυνατόν κλάσματα..

CPC (Centrifugal Partition Chromatography)

Πρόκειται για μία μέθοδο διαχωρισμού και απομόνωσης που στηρίζεται στις αρχές της υγρής-υγρής εκχύλισης και στη κατανομή μιας ουσίας μεταξύ δύο υγρών φάσεων που δεν αναμιγνύονται μεταξύ τους. Η μία αποτελεί τη σταθερή φάση (στατική) ενώ η δεύτερη την κινητή η οποία διέρχεται γρήγορα διαμέσου της στατικής παρασύροντας τις διαλυμένες σ' αυτή ουσίες.



Εικόνα 10. Συσκευή FCPC

Δοκιμάστηκαν διάφορα συστήματα διαλυτών προκειμένου να βρεθεί το κατάλληλο για την εκτέλεση διαχωρισμού με την τεχνική του CPC. Ένα σύστημα θεωρείται κατάλληλο όταν συγκεντρώνει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- σχηματίζει δύο φάσεις
- οι όγκοι των δύο φάσεων να είναι περίπου ίσοι
- οι δύο φάσεις να χωρίζουν γρήγορα (μέσα σε 60 δευτερόλεπτα περίπου) μετά από έντονη ανατάραξη
- να παραλαμβάνονται τα συστατικά του μίγματος αν είναι δυνατό στο ίδιο ποσοστό και από τις δύο φάσεις

Αρχικά δοκιμάστηκαν πέντε διαφορετικά συστήματα, ο έλεγχος των οποίων περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια:

- παρασκευή 2 ml διφασικού συστήματος
- προσθήκη του συστήματος σε 10 mg του εκχυλίσματος και ισχυρή ανατάραξη
- διαχωρισμός των δύο φάσεων και έλεγχος σε χρωματογραφία λεπτής στιβάδας TLC (ίσος αριθμός σταγόνων και από τις δύο φάσεις και σύγκριση με διάλυμα του εκχυλίσματος σε μεθανόλη)

- παρατήρηση των χρωματογραφημάτων σε λάμπα UV (254 και 365 nm) και εμφάνιση τους με ψεκασμό με μεθανολικό διάλυμα θειϊκής βανιλίνης και θέρμανση.

Τα αποτελέσματα περιλαμβάνονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Πίνακας 6.: Επιλογή διφασικού συστήματος για την εκτέλεση διαχωρισμού με την τεχνική του CPC

<u>ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΙΑΛΥΤΩΝ</u>	<u>ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ</u>
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O 8 : 6 : 4	Γαλάκτωμα
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O 7 : 6 : 3	Γαλάκτωμα
Hexane : EtOAc : MeOH : H ₂ O 4 : 6 : 4 : 6	Διαχωρισμός γρήγορος περίπου ίσοι όγκοι
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O 8 : 6 : 6	Γαλάκτωμα
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O 8 : 10 : 6	Γαλάκτωμα

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, δοκιμάστηκαν πέντε συστήματα από τα οποία κατάλληλο για την εκτέλεση του CPC διαχωρισμού κρίθηκε το Hexane : EtOAc : MeOH : H₂O / 4 : 6 : 4 : 6, καθώς έδινε καλή κατανομή ουσιών και στις δύο φάσεις και δε παρουσίαζε τα μειονεκτήματα των υπολοίπων συστημάτων. Από τις δύο φάσεις του συστήματός μας η κάτω φάση θα είναι η υδατική η οποία θα αποτελεί τη στατική φάση και η άνω φάση θα είναι η οργανική που θα αποτελεί την κινητή φάση. Για την επιλογή αυτή λάβαμε υπόψη μας πρώτον την ευκολία με την οποία απομακρύνεται ο οργανικός διαλύτης κατά τη συμπύκνωση των κλασμάτων και δεύτερον τη μεγαλύτερη διαλυτότητα των μεθανολικών εκχυλισμάτων στο νερό.

Αφού καθορίστηκε το διφασικό σύστημα με βάση το οποίο θα γίνει η μελέτη μας, προχωρήσαμε σε δοκιμασία διάλυσης του δείγματός μας στη στατική φάση. Ως φάση διάλυσης επιλέχθηκε η στατική διότι αρχικά εισάγουμε στη συσκευή τη στατική φάση, μετά το δείγμα διαλυμένο σε αυτή και αμέσως μετά διοχετεύουμε την κινητή φάση.

Έτσι με ροή διοχέτευσης της στατικής φάσης στα 30 ml / min όταν ο διακόπτης ήταν στη θέση 'load' και 15 ml / min όταν ήταν στη θέση 'inject' και χωρίς ο μηχανισμός περιστροφής να είναι σε λειτουργία ακόμη, χρειάστηκαν συνολικά περίπου 1000 ml για την πλήρωση της στήλης με την υδατική φάση.

Το επόμενο βήμα ήταν η εισαγωγή του διαλυμένου στη στατική φάση δείγματος (30 ml διαλυμένο στη στατική φάση). Για το σκοπό αυτό, σταματήσαμε τη λειτουργία της αντλίας και με το διακόπτη σε θέση 'load' διοχετεύσαμε με προσοχή το δείγμα. Η αντλία τέθηκε πάλι σε λειτουργία αλλά ταυτόχρονα και ο μηχανισμός φυγοκέντρησης (900 στροφές το λεπτό), ενώ γυρίζοντας το διακόπτη σε θέση 'inject' άρχισε να γίνεται η διοχέτευση της κινητής φάσης (ροή: 30 ml / min). Επειδή αυτή ήταν ελαφρότερη της στατικής η συσκευή ήταν ρυθμισμένη σε θέση 'ascending'. Μετά από 2-3 λεπτά επαναφέραμε το διακόπτη στη θέση 'load' ενώ η συλλογή των κλασμάτων γινόταν με τη βοήθεια αυτόματου συλλέκτη. Όλα τα κλάσματα ελέγχονταν με TLC και μόλις είδαμε ότι δεν εξέρχονταν άλλες ουσίες με τη κινητή φάση ρυθμίσαμε τη συσκευή σε θέση 'descending' και αρχίσαμε να διοχετεύουμε

κάτω φάση. Ο ρυθμός διοχέτευσης της τελευταίας και ο χρόνος συλλογής παρέμειναν οι ίδιοι.

Όταν σταμάτησαν να εξέρχονται ουσίες και με τη κάτω φάση διοχετεύσαμε μεθανόλη για τον καθαρισμό της συσκευής. Στα κλάσματα που συλλέχθηκαν πραγματοποιήθηκε έλεγχος με TLC και μετά από συνενώσεις πήραμε 13 κλάσματα.

Τα κλάσματα 1, 2, 4, 8 και 12 παρουσίασαν μεγάλο ενδιαφέρον αφού παρουσίαζαν μετά από τον έλεγχο με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας ενδιαφέρουσες κηλίδες.

Στο κλάσμα 1, το οποίο εμφάνιζε απορρόφηση στην λάμπα υπεριώδους, μετά τον ψεκασμό με μεθανολικό διάλυμα θειϊκής βανιλίνης εμφανίστηκε κιτρινοπράσινη κηλίδα. Ακολούθησε έλεγχος με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και διαπιστώθηκε ότι ήταν η **ολευρωπεΐνη**.

Στο κλάσμα 2 εμφανίστηκε κηλίδα που απορροφούσε στο υπεριώδες και μετά τον ψεκασμό με μεθανολικό διάλυμα θειϊκής βανιλίνης χρωματιζόταν κίτρινη. Η φασματοσκοπική ανάλυση οδήγησε στο συμπέρασμα ότι επρόκειτο για την **υδροξυτυροσόλη**.

Το κλάσμα 4 μετά από παρατήρηση στο UV εμφάνισε μια κύρια κηλίδα που απορροφούσε στα δύο μήκη κύματος και μετά τον ψεκασμό χρωματιζόταν καφέ αλλά περιείχε και κάποιες μικρότερες σε ποσότητα ουσίες. Το κλάσμα αυτό μετά από τον έλεγχο με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) διαπιστώθηκε ότι ήταν μείγμα σε αναλογία 3:1:1 των ουσιών υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη και λακτόνη.

Πίνακας 7. Στήλη

Κλάσμα		Βάρος (gr)
1	ascending	0.149
2	ascending	0.23
3	ascending	0.039
4	ascending	0.062
5	ascending	0.045
6	ascending	0.055
7	ascending	0.034
8	ascending	0.023
9	ascending	0.029
10	descending	0.061
11	descending	0.06
12	descending	0.086
13	descending	0.24

ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ (ΑΝΑΓΩΓΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ) ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ DPPH

Τα εκχυλίσματα ελέγχονται ως προς την ικανότητα τους να ανάγουν την ελεύθερη ρίζα DPPH (1,1 - Διφαινύλο - 2 - πικρύλ υδραζύλ) σύμφωνα με το παρακάτω σχήμα:



Σε αυτό το σύστημα δοκιμής, τα αντιοξειδωτικά μπορούν να αντιδράσουν με τη σταθερή ελεύθερη ρίζα DPPH και να παραγάγουν 1,1 - Διφαινύλο - 2 - πικρύλ υδραζίνη. Λόγω του μονήρους ηλεκτρονίου του, το DPPH δίνει μια ισχυρή ζώνη απορρόφησης στα 516 nm (βαθύ ιώδες χρώμα). Μόλις αυτό το ηλεκτρόνιο σχηματίσει ζευγάρι, παρουσία ενός δότη ελεύθερων ριζών, η απορρόφηση εξαφανίζεται, και ο αποχρωματισμός που επακολουθεί είναι στοιχειομετρικός όσον αφορά στον αριθμό των ηλεκτρονίων που προσλαμβάνονται. Η μεταβολή της απορρόφησης που παρατηρείται σε αυτήν την αντίδραση αξιολογείται για να εκτιμήσει την αντιοξειδωτική δυνατότητα των δειγμάτων που ελέγχονται. Αυτή η απλή διαδικασία εξουδετέρωσης ελεύθερων ριζών είναι χρήσιμη, σαν ένα αρχικό σύστημα ελέγχου, για την αξιολόγηση ενός μεγάλου αριθμού δειγμάτων.

Πειραματικό μέρος για τη μέθοδο DPPH.

Διαλύουμε 12,4 mg DPPH ανά 100 ml EtOH και ετοιμάζουμε ένα διάλυμα αρχικής συγκέντρωσης 316 μM. Έπειτα ετοιμάζουμε μητρικά διαλύματα των υπό εξέταση δειγμάτων μας αρχικής συγκέντρωσης 10 mg / ml DMSO περίπου και στη συνέχεια κάνουμε αραιώσεις 2, 4, 6, 8, 10, 20,30,40,50,60,70 φορές.

Παίρνουμε 1,9 ml Αιθανολικού διαλύματος DPPH και το τοποθετούμε σε γυάλινα φιαλίδια και προσθέτουμε 100 μL από τις αρχικές αραιώσεις των δειγμάτων μας σε κάθε φιαλίδιο αντίστοιχα (για κυψελίδες των 2 ml) . Η αναλογία όγκων των αρχικών διαλυμάτων DPPH / Δείγμα είναι 95/5 ή 19/1. Η τελική συγκέντρωση για μεν το DPPH είναι 300 μM για δε τα δείγματα είναι 500 μg/ml, 250 μg/ml, 125 μg/ml κοκ. περίπου. Η έναρξη των επεμβάσεων με τελικές συγκεντρώσεις δειγμάτων της τάξης των 500 μg/ml ή και μεγαλύτερες κρίθηκε απαραίτητη, από τα προκαταρκτικά πειράματα, ώστε να μπορούμε να καθορίσουμε την μέγιστη τιμή μείωσης της απορρόφησης (b_0), που αντιστοιχεί στη δόση κορεσμού ή σε μεγαλύτερες δόσεις. Ο προσδιορισμός της τιμής b_0 , με το πείραμα, μας βοηθά να αντιληφθούμε ποια είναι η μέγιστη δυνατότητα του υλικού που μελετάμε και να έχουμε καθορίσει την παράμετρο αυτή, που υπεισέρχεται σαν μια άγνωστη σταθερά στο μαθηματικό μοντέλο που βρήκαμε να περιγράφει και να ερμηνεύει τα πειράματα μας (βλ. παρακάτω).

Ένα φιαλίδιο, για κάθε ενιαία ενότητα συνθηκών πειραματισμού, έπαιζε το ρόλο του τυφλού και ετοιμαζόταν όπως στα προαναφερόμενα, μόνο που αντί για διάλυμα δείγματος τοποθετούσαμε 100 μ L διαλύτη DMSO.

Τα γυάλινα φιαλίδια με τα παραπάνω διαλύματα, μετά τον πωματισμό τους, ετοποθετούντο σε πάγο και όταν συγκεντρωνόταν ένας ικανός αριθμός ετοποθετούντο για επώαση σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37⁰ C για 30 λεπτά.

Μετρήσεις – Υπολογισμοί

Μετά την επώαση, το περιεχόμενο κάθε φιαλιδίου μεταφερόταν σε κυψελίδα όγκου 2 ml, μιας χρήσεως, και μετρούσαμε την ένταση της απορρόφησης (A) του περιεχομένου, χρησιμοποιώντας ένα φωτόμετρο UNICAM, τύπου Helios γ , 90 - 200 V~, 50/60 Hz, 130 V/A, δέσμης μονής κατεύθυνσης (μονοχρωματικό φως) μήκους κύματος $\lambda = 516$ nm (μήκος κύματος που απορροφά το χρωμοφόρο του οξειδωτικού κέντρου του DPPH).

Η μεταβολή της έντασης της απορρόφησης (μείωση) , που επιτυγχάνονταν με τη συγκεκριμένη τελική συγκέντρωση δείγματος κάθε φορά, υπολογιζόταν σαν ποσοστό % της απορρόφησης του τυφλού (A_T) με τον τύπο:

% Μείωση της Απορρόφησης = $[(A_T - A_\Delta) / A_T] \times 100$. Το ποσοστό αυτό μας δείχνει και το ποσοστό της ελεύθερης ρίζας DPPH που καταστράφηκε (ανάχθηκε) με τη συγκεκριμένη τελική συγκέντρωση δείγματος (C_{ΔT}).

Η τιμές IC₅₀ και IC₈₀ δείχνουν τις τελικές συγκεντρώσεις του δείγματος με τις οποίες επιτυγχάνονταν καταστροφή της ελεύθερης ρίζας DPPH κατά 50% και 80% αντίστοιχα. Η τιμή IC₈₀ είναι καθοριστική για την εκτίμηση της δραστηρότητας των δειγμάτων, δεδομένου ότι το κριτήριο που έχει προταθεί (Pezzuto et al.,1998) προβλέπει ότι δραστικά χαρακτηρίζονται τα δείγματα τα οποία με τελική συγκέντρωση 200 μ g/ml αναστέλλουν τη ρίζα σε ποσοστό > 80%, μέτρια δραστικά αυτά που την αναστέλλουν σε ποσοστό 50-80% και χωρίς δράση αυτά με αναστολή < 50%. Επίσης σημαντικό κριτήριο με το οποίο αποφασίζουμε ποια από τα δραστικά δείγματα πρέπει να μελετηθούν παραπέρα και με περισσότερο εξειδικευμένες μεθόδους αποτελεί η τιμή IC₅₀ < 100 μ g/ml.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Μετράμε την ικανότητα εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών, μετράμε την αντι-οξειδωτική δράση των φυτικών εκχυλισμάτων που έχουμε. Η μεταβολή της απορρόφησης που παρατηρείται σε αυτήν την αντίδραση αξιολογείται για να εκτιμήσει την αντιοξειδωτική δυνατότητα των δειγμάτων μας.

Μετρήσαμε την αντι-οξειδωτική δράση στα εκχυλίσματα από ρητίνες XAD-4, XAD-7 και υδροξυ-τυροσόλης και στο μείγμα με αναλογία 3-1-1 (υδροξυτυροσόλη-τυροσόλη-λακτόνη).

Για όλες τις μετρήσεις πήραμε: 11,4 mg από το διάλυμα της ρίζας με τελικό διάλυμα στα 200 µg/ml

A) XAD-4

Η αναλογία όγκων των αρχικών διαλυμάτων DPPH / XAD-4 είναι 19/1 δηλαδή 0,1 ml από το διάλυμα του εκχυλίσματος XAD-4 και 1,9 ml από το διάλυμα της ρίζας. Η τελική συγκέντρωση για τα δείγματά μας είναι 250 µg/ml, 200 µg/ml, 150 µg/ml, 100 µg/ml και 50 µg/ml. Σε κάθε μια από τις συγκεντρώσεις μετράμε την απορρόφηση στα 517 nm (όπου η ρίζα απορροφά στο ορατό).

Το διάλυμα της ελεύθερης ρίζας έχει μωβ χρώμα, όταν προσθέτουμε στο διάλυμα το δείγμα μετατρέπεται σε άλλο παράγωγο το οποίο έχει κίτρινο χρώμα και η διαφορά της απορρόφησης οφείλεται στην καταστροφή της ρίζας από το εκχύλισμα που ελέγχουμε.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις και οι απορροφήσεις :

C εκχυλίσματος XAD-4	A στα 517 nm
250 µg/ml	0,367
200 µg/ml	0,380
150 µg/ml	0,433
100 µg/ml	0,590
50 µg/ml	1,754

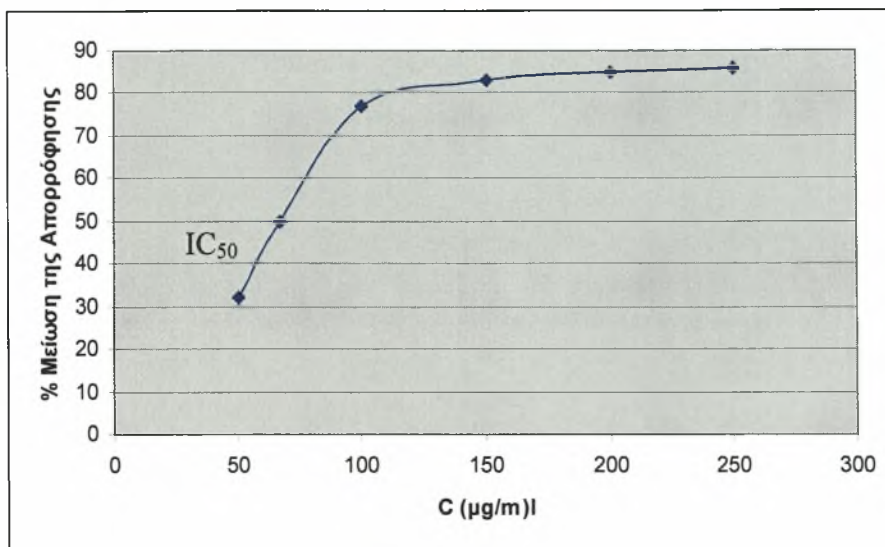
Το τυφλό μετρήθηκε στα 517 nm και είναι: T=2,573

% Μείωση της Απορρόφησης = $[(A_T - A_\Delta) / A_T] \times 100$. Το ποσοστό αυτό μας δείχνει και το ποσοστό της ελεύθερης ρίζας DPPH που καταστράφηκε (ανάχθηκε) με τη συγκεκριμένη τελική συγκέντρωση δείγματος ($C_{\Delta T}$).

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις και το % Μείωση της Απορρόφησης.

C εκχυλίσματος XAD-4	% Μείωση της Απορρόφησης
250 µg/ml	85,7
200 µg/ml	85
150 µg/ml	83
100 µg/ml	77
50 µg/ml	32

Παρακάτω βλέπουμε την καμπύλη της



Όπου το $IC_{50} = 67 \text{ mg/ml}$

B) XAD-7

Παίρνουμε 7,4 mg/ml

Η τελική συγκέντρωση για τα δείγματά μας είναι 250 μg/ml, 200 μg/ml, 150 μg/ml, 100 μg/ml και 50 μg/ml. Σε κάθε μια από τις συγκεντρώσεις μετράμε την απορρόφηση στα 517 nm (όπου η ρίζα απορροφά στο ορατό)

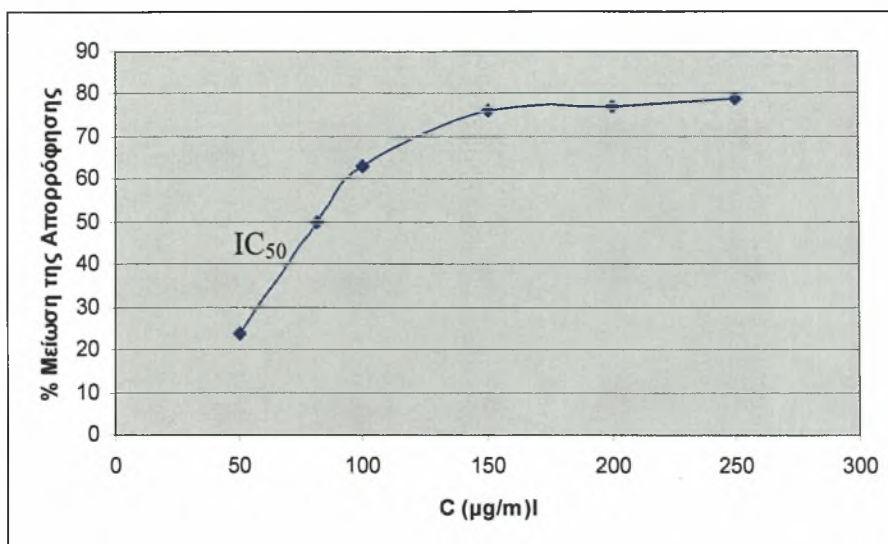
Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις και οι απορροφήσεις :

c XAD-7	A στα 517 nm
250 μg/ml	0,553
200 μg/ml	0,589
150 μg/ml	0,611
100 μg/ml	0,958
50 μg/ml	1,943

Το τυφλό μετρήθηκε στα 517 nm και είναι: $T=2,573$

c XAD-7	% Μείωση της Απορρόφησης
250 μg/ml	79
200 μg/ml	77
150 μg/ml	76
100 μg/ml	63
50 μg/ml	24

Παρακάτω βλέπουμε την καμπύλη της



Όπου το $IC_{50} = 81 \text{ mg/ml}$

Γ) Εκχύλισμα μείγματος 3-1-1 (υδροξυτυροσόλη-τυροσόλη-λακτόνη)

Η τελική συγκέντρωση για τα δείγματά μας είναι 250 μg/ml, 200 μg/ml, 150 μg/ml, 100 μg/ml και 50 μg/ml 40 μg/ml, 30 μg/ml, 20 μg/ml, 10 μg/ml.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις και οι απορροφήσεις

C 3-1-1	A στα 517 nm
250 μg/ml	0,246
200 μg/ml	0,290
150 μg/ml	0,398
100 μg/ml	0,461
50 μg/ml	1,134
40 μg/ml	1,752
30 μg/ml	1,977
20 μg/ml	2,359
10 μg/ml	2,544

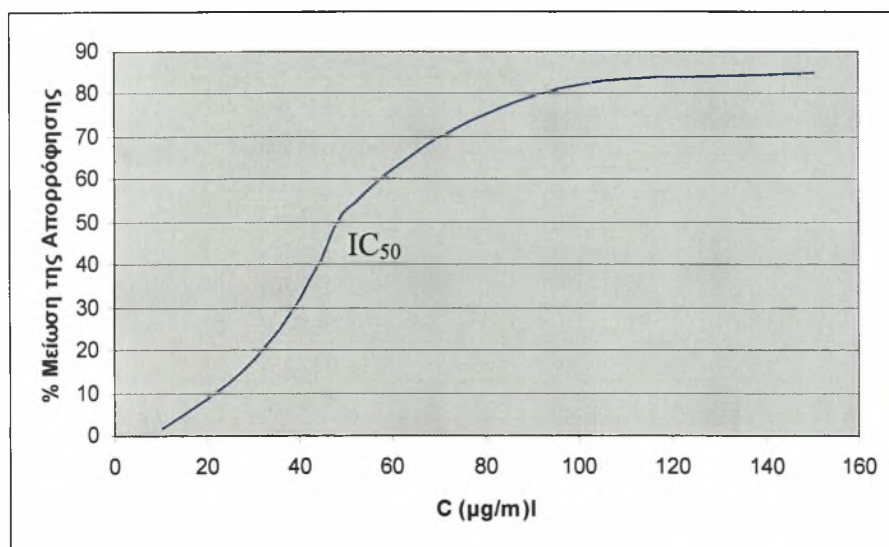
Το τυφλό μετρήθηκε στα 517 nm και είναι: $T = 2,573$

(ΣΗΜ: για τις 4 τελευταίες συγκεντρώσεις το τυφλό είναι $T = 2,587$)

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις και το % Μείωση της Απορρόφησης

C 3-1-1	% Μείωση της Απορρόφησης
250 μg/ml	90
200 μg/ml	89
150 μg/ml	85
100 μg/ml	82
50 μg/ml	56
40 μg/ml	32
30 μg/ml	24
20 μg/ml	9
10 μg/ml	2

Παρακάτω βλέπουμε την καμπύλη της



Όπου το $IC_{50}=48 \text{ mg/ml}$

Δ) Υδροξυτυροσώλη

Η τελική συγκέντρωση για τα δείγματά μας είναι 250 μg/ml, 200 μg/ml, 150 μg/ml, 100 μg/ml και 50 μg/ml 40 μg/ml, 30 μg/ml, 20 μg/ml, 10 μg/ml 8 μg/ml, 6 μg/ml 4 μg/ml.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις και οι απορροφήσεις

OH-TYR	A στα 517 nm
250 μg/ml	0,331
200 μg/ml	0,377
150 μg/ml	0,495
100 μg/ml	0,535
50 μg/ml	0,751
40 μg/ml	0,816
30 μg/ml	0,874
20 μg/ml	1,222
10 μg/ml	1,329
8 μg/ml	2,282
6 μg/ml	2,451
4 μg/ml	2,508

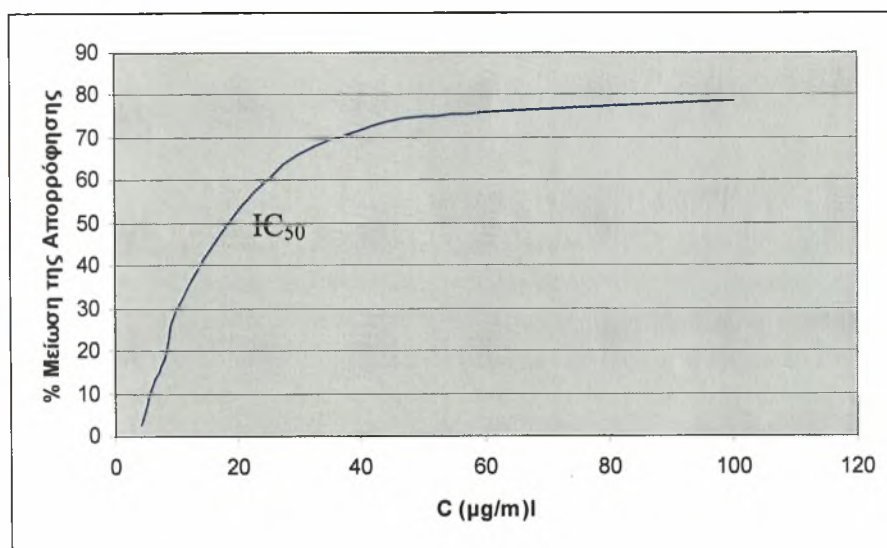
Το τυφλό μετρήθηκε στα 517 nm και είναι: $T=2,573$

(ΣΗΜ: για συγκεντρώσεις 40-10 το τυφλό είναι $T=2,587$, ενώ για τις τελευταίες 3 το τυφλό είναι $T=2,576$)

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις και το% Μείωση της Απορρόφησης

Υδροξυτυροσόλη	% Μείωση της Απορρόφησης
250 $\mu\text{g/ml}$	87
200 $\mu\text{g/ml}$	85
150 $\mu\text{g/ml}$	81
100 $\mu\text{g/ml}$	79
50 $\mu\text{g/ml}$	71
40 $\mu\text{g/ml}$	68
30 $\mu\text{g/ml}$	66
20 $\mu\text{g/ml}$	53
10 $\mu\text{g/ml}$	49
8 $\mu\text{g/ml}$	11
6 $\mu\text{g/ml}$	5
4 $\mu\text{g/ml}$	3

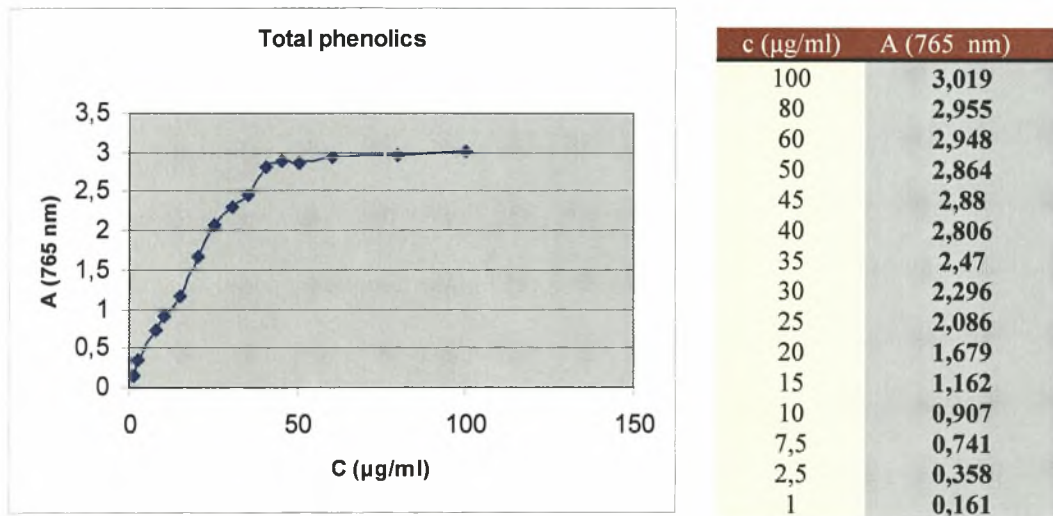
Παρακάτω βλέπουμε την καμπύλη της



Όπου το $IC_{50}=21,8 \text{ mg/ml}$

ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ – ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ

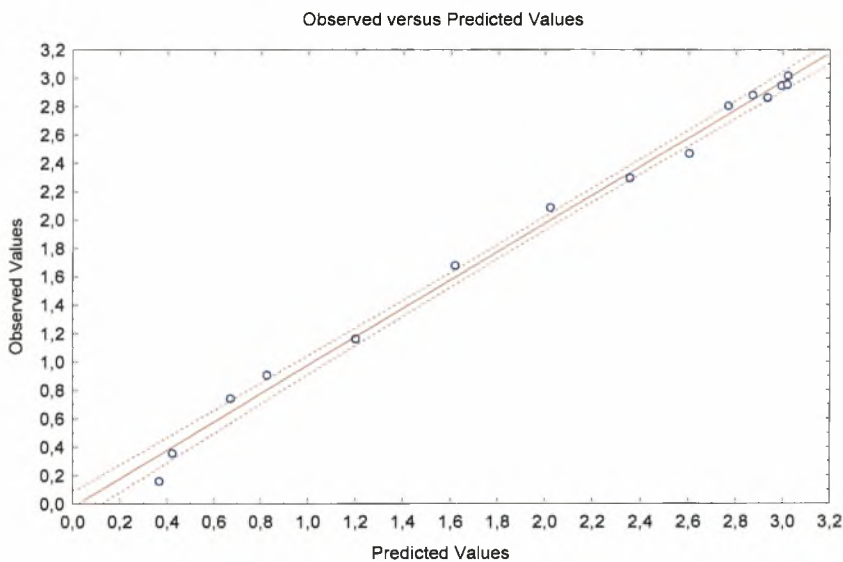
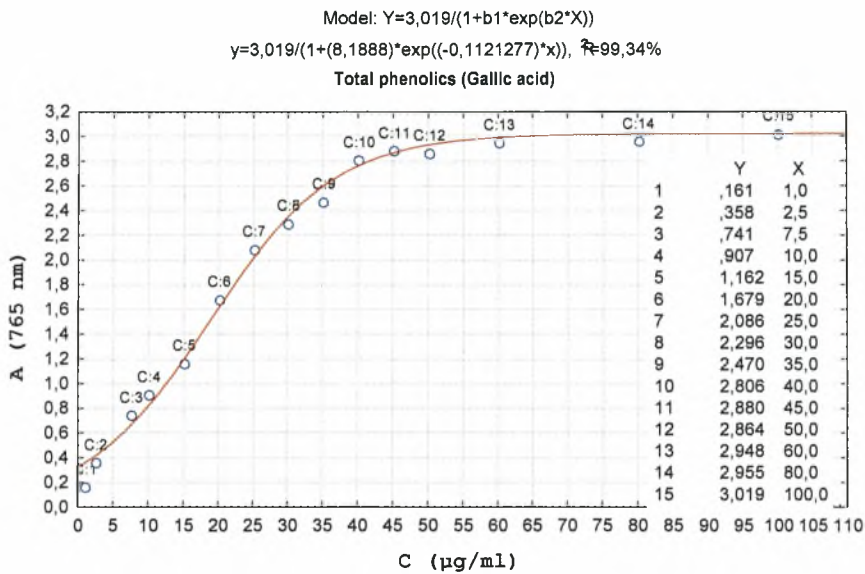
Αρχικά φτιάχνουμε την καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιώντας ως πρότυπη ουσία το γαλλικό οξύ. Παρασκευάζονται μεθανολικά διαλύματα γαλλικού οξέος σε συγκεντρώσεις που φαίνονται στον πίνακα που ακολουθεί. Για καθένα από αυτά τα διαλύματα ακολουθείται η εξής διαδικασία: 0.5 ml διαλύματος αναμιγνύεται με 2.5 ml αραιωμένου διαλύματος Folin-Ciocalteu (2.25 ml H₂O και 0.25 ml διαλύματος Folin-Ciocalteu) και 2 ml υδατικού διαλύματος Na₂CO₃ 7.5 % (w/v). Μετά από 30 λεπτά παραμονής στους 20 °C και στο σκοτάδι μετρήθηκε η απορρόφηση στα 765 nm. Στη συνέχεια φαίνεται η γραφική παράσταση συγκέντρωσης – απορρόφησης.



Από το προαναφερόμενο διάγραμμα φάνηκε ότι δεν πρόκειται για διάγραμμα γραμμικής αλλά καμπυλόγραμμης παλινδρόμησης και πιθανά σιγμοειδούς μορφής “S”. Μερικά από τα πιθανά πρότυπα που θα μπορούσαν να περιγράψουν το πείραμα και δοκιμάστηκαν είναι: η ημιλογαριθμική συνάρτηση της μορφής $Y = a + b \log_{10}(X)$, η υπερβολή της μορφής $Y = a + b(1/X)$ και $Y = X/(a + bX)$, η πολυωνυμική Β' βαθμού $Y = a + b_1X + b_2X^2$, το γενικό πρότυπο αύξησης $Y = b_0 + b_1e^{(b_2X)}$ + λάθος, το γενικό λογιστικό πρότυπο παλινδρόμησης $Y = b_0 / \{1 + b_1e^{(b_2X)}\}$, η συνάρτηση Weibull στη γενική της μορφή $Y = b_0(1 - e^{(-kX)})$ και στη μορφή $Y = b_0\{1 - \exp[-(X/b)^c]\}$ (Langenbucher 1976).

Για τη στατιστική επεξεργασία χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα “Statistica” (έκδοση 1999). Ο συντελεστής R^2 υπολογίζεται αυτόματα από το πρόγραμμα βάση του τύπου $R^2 = 1 - (S^2_{Y\gamma} / S^2_{Y\mu})$, όπου $S^2_{Y\gamma}$ και $S^2_{Y\mu}$ είναι το τυπικό σφάλμα του Y για την καμπύλη ελαχίστων τετραγώνων και την καμπύλη του μέσου αντίστοιχα, έχει τιμές από 0 – 1 και μας δείχνει το πόσο καλά ταυτίζονται τα πειραματικά δεδομένα με τα θεωρητικά που προκύπτουν από το μαθηματική εξίσωση. Τιμή $R^2 = 1$ δείχνει ότι η γραμμή παλινδρόμησης του προτύπου περνά πάνω ακριβώς από όλες τις πειραματικές τιμές. Από τη βιβλιογραφία προκύπτει ότι για τιμές $R^2 > 0,7$ η ταύτιση είναι ικανοποιητική ώστε να θεωρούμε ότι το πείραμα αποδίδεται καλά με το συγκεκριμένο μαθηματικό μοντέλο.

Από τα πρότυπα που ελέγξαμε τα ικανοποιητικότερα αποτελέσματα μας τα έδωσε το γενικό λογιστικό πρότυπο παλινδρόμησης $Y = b_0 / \{1 + b_1e^{(b_2X)}\}$, το οποίο μας έδωσε συντελεστή r^2 99.34. Στη συνέχεια φαίνονται τα διαγράμματα και οι πίνακες τιμών βάση των οποίων υπολογίστηκαν οι παράμετροι b_0 , b_1 και b_2 .



Η μαθηματική εξίσωση που υπολογίσθηκε είναι η ακόλουθη:

$$y = 3.019 / (1 + (8.1888) * \exp((-0.1121277) * x))$$

όπου y είναι η τιμή της απορρόφησης και x η συγκέντρωση του δείγματος σε µg/ml.

Στη συνέχεια λύθηκε η προαναφερόμενη εξίσωση ως προς x, έτσι ώστε μετρώντας την απορρόφηση οποιουδήποτε δείγματος να μπορούμε να υπολογίσουμε τη συγκέντρωσή του.

$$x = \ln((b_0 - A) / (b_1 * A)) / b_2 = \ln((3.019 - A) / (8.1888 * A)) / -0.1121277$$

Για παράδειγμα μετρήθηκε την απορρόφηση πρότυπου διαλύματος γαλλικού οξέος (συγκεντρώσεως 20 µg/ml) στα 765 nm και βρέθηκε ίση με 1.701. Από τη προαναφερόμενη μαθηματική σχέση η συγκέντρωση του διαλύματος υπολογίσθηκε σε 21 µg/ml.

Από τα μεθανολικά εκχυλίσματα των φυτών παρασκευάστησαν διαλύματα συγκεντρώσεως 10 mg/ml (τελική συγκέντρωση 1000 µg/ml). 0.5 ml από τα διαλύματα αυτά αναμιγνύονται με τα προαναφερόμενα αντιδραστήρια και μετριέται η απορρόφηση όπως προηγούμενα. Τα αποτελέσματα περιλαμβάνονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Από την εξίσωση βρίσκουμε τη ισοδύναμη συγκέντρωση σε $\mu\text{g/ml}$ και με τη σχέση που ακολουθεί υπολογίζουμε το ολικό φαινολικό φορτίο του φυτού σε $\mu\text{g/g}$ φυτικού εκχυλίσματος σε γαλλικό οξύ.

$$C = (c * V) / m'$$

C: ολική περιεκτικότητα φαινολικών σε $\mu\text{g/g}$ φυτικού εκχυλίσματος σε γαλλικό οξύ,
c: η συγκέντρωση γαλλικού οξέος που υπολογίζεται από την καμπύλη, **V:** όγκος εκχυλίσματος, **m:** βάρος μεθανολικού εκχυλίσματος.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ζυγίζουμε 3,75 g Na_2CO_3 για να φτιάξουμε το υδατικό διάλυμα Na_2CO_3 7.5 % (w/v). Φτιάχνουμε 10 mg/ml για κάθε ένα από τα δείγματα μας. Στη συνέχεια 0.5 ml διαλύματος αναμιγνύεται με 2.5 ml αραιωμένου διαλύματος Folin-Ciocalteu (2.25 ml H_2O και 0.25 ml διαλύματος Folin-Ciocalteu) και 2 ml υδατικού διαλύματος Na_2CO_3 7.5 % (w/v). Μετά από 30 λεπτά παραμονής στους 20 °C και στο σκοτάδι μετρήθηκε η απορρόφηση στα 765 nm.

Οι τιμές που πήραμε για για κάθε ένα από τα δείγματα μας είναι:”

C εκχυλίσματος XAD-4=34 mg/g

C εκχυλίσματος XAD-7=37,7 mg/g

C 3-1-1=42 mg/g

C υδρόξυ-τυροσόλη=40,2 mg/g

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΙΚΑ

Με την διαδικασία που περιγράψαμε καταφέραμε να παρασκευάσουμε εκχυλίσματα πλούσια σε φαινολικά παράγωγα. Τα εκχυλίσματα αυτά έδειξαν σημαντική ικανότητα εξουδετέρωσης της ρίζας DPPH. Μάλιστα, όσο μεγαλύτερο ήταν το φαινολικό φορτίο τόσο καλύτερη ήταν η αντιοξειδωτική δράση. Συγκεκριμένα το εκχύλισμα μείγματος 3-1-1 είχε καλύτερη αντιοξειδωτική δράση και από το εκχύλισμα XAD-4 και από το εκχύλισμα XAD-7 διότι είχε μικρότερο IC_{50} και από τα δύο εκχυλίσματα. Επίσης το εκχύλισμα XAD-4 είχε καλύτερη αντιοξειδωτική δράση από το εκχύλισμα XAD-7 για τον ίδιο λόγο.

Έτσι, ξεκινώντας από ένα άχρηστο και επιβλαβές για το περιβάλλον υλικό καταφέραμε να πάρουμε μείγματα αυτού με σπουδαία αντιοξειδωτική δράση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Κυριτσάκη Α. Κ., 1993
Hartmann and Bougas, 1970
Hartmann and Porlingis, 1957
Παπαναστασίου Δ., 1966
Ποντίκης Κ., 1992
Μπαλατσούρας Γ., 1994
Mendoza, 1975
Ποντίκης, 1981; Μπαλατσούρας, 1992; Ψιλάκης *et al.*, 2003
Visioli *et al.*, 1995a
Salvador *et al.*, 2001
Mulinacci *et al.*, 2001
Boari *et al.*, 1984
Gariboldi *et al.*, 1986; Kuwajima *et al.*, 1988; Paiva-Martins and Gordon, 2001
Le Tutour and Guedon, 1992; Meirinhos *et al.*, 2005
Caputo *et al.*, 1974; Somova *et al.*, 2003
DellaGreca *et al.*, 2004; Obied *et al.*, 2005; Bianco *et al.*, 2006
Obied *et al.*, 2005
DellaGreca *et al.*, 2000; Mulinacci *et al.*, 2001
Le Tutour and Guedon, 1992; Ghisalberti, 1998
Owen *et al.*, 2000a
Visioli and Galli, 1994; Ziyat *et al.*, 1997
Pieroni *et al.*, 1996
Gonzalez *et al.*, 1992
Walter *et al.*, 1973
Petkov and Manolov, 1972
Puerta *et al.*, 1999
Capasso *et al.*, 1992; Fiorentino *et al.*, 2003; Kotsou *et al.*, 2004
Fleming *et al.*, 1973; Benavente-Garcia *et al.*, 2000; Briante *et al.*, 2002; Fki *et al.*, 2005^o
Kennedy and Meullenet, 2005
Gharsallah *et al.*, 1999; D'Annibale *et al.*, 2000; Tuck and Hayball, 2002
Moure *et al.*, 2001
Li *et al.*, 2001
Langenbucher 1976

