



**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ  
ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ  
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ &  
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ  
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΕ ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΙΟΥ»**

Επιμέλεια: Χαλβατσιώτη Χριστίνα

Επιβλέπων καθηγητής: Βαμβακάς Σωτήρης



Καλαμάτα, 2015

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1	Εισαγωγή .....	5
1.1	ΓΕΝΙΚΑ .....	6
1.2	Χαρακτηριστικά αντιοξειδωτικών ουσιών .....	7
1.2.1	Ορισμός αντιοξειδωτικών ουσιών .....	7
1.2.2	Ταξινόμηση αντιοξειδωτικών ουσιών στις παρακάτω κατηγορίες: .....	8
1.2.3	Ο ρόλος- δράση των αντιοξειδωτικών ουσιών στην υγεία του ανθρώπου.....	9
1.2.4	Τρόφιμα που θεωρούνται πηγές αντιοξειδωτικών ουσιών. ....	11
1.3	Τα αντιοξειδωτικά του ελαιολάδου .....	13
1.4	Γενικά χαρακτηριστικά υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου .....	15
1.4.1	Περιβαλλοντικές επιπτώσεις αποβλήτων .....	23
2	Σκοπός .....	24
3	Μέθοδοι Ανίχνευσης και απομόνωσης .....	26
3.1	Μέθοδοι ανίχνευσης αντιοξειδωτικών ουσιών .....	27
3.1.1	Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδοFolin-Ciocalteu.....	27
3.1.1.1	Προσδιορισμός υδροξυτυροσόλης- τυροσόλης και ελαιρωπαΐνης. ....	28
3.1.1.2	Χρωματογραφική καταγραφή πολυφαινολών και άλλων αντιοξειδωτικών 29	
3.1.1.2.1	Προσδιορισμός Τοκοφερολών με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Επίδοσης (HPLC).....	29
3.1.1.3	Βιταμίνη C- Τοκοφερόλες- Σκουαλένιο- Τερπενικών Οξέων .....	29
3.1.2	Κύρια στάδια των τεχνολογιών προς απομόνωση των φαινολικών ενώσεων. 30	
3.1.2.1	Πέρασμα από φίλτρο .....	31
3.1.2.2	Ανάκτηση φαινολικών ενώσεων με τη μέθοδο της ψυχόμενης κρυστάλλωσης. .....	32
3.1.2.2	Τεχνικές διαχείρισης των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων με μεμβράνες .....	33
3.1.2.2.1	Τεχνολογία μεμβρανών.....	34
3.1.2.2.1.1	Μέθοδοι τεχνολογίας μεμβρανών.....	35
3.1.2.3	Δέσμευση φαινολών από προσροφητική ρητίνη .....	36
3.1.2.3.1	Αρχή Μεθόδου .....	37

3.1.2.3.2	Ανάκτηση πολυφαινολών με οργανικό διαλύτη .....	38
4	<i>Συζήτηση - Συμπεράσματα</i> .....	40
5	<i>Βιβλιογραφία</i> .....	43

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων είναι το παραπροϊόν της παραγωγικής διαδικασίας του ελαιολάδου. Η γεωργική αυτή δραστηριότητα έχει ιδιαίτερη κοινωνική και οικονομική σημασία για το πληθυσμό των ελαιοπαραγωγικών χωρών, που βρίσκονται κυρίως στη περιοχή της Μεσογείου όπου παράγεται το 95% περίπου της παγκόσμιας παραγωγής. Τεράστιες ποσότητες αποβλήτων παράγονται κάθε ελαιοκομική περίοδο και σε συνδυασμό με τα χαρακτηριστικά τους (υψηλή συγκέντρωση σε οργανικό φορτίο και φαινολικές ενώσεις), καθιστούν τα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείου ένα δυσεπίλυτο πρόβλημα επικίνδυνο κατά την απευθείας διάθεσής τους στο περιβάλλον.

Στόχος της παρούσας μελέτης, ήταν η αναφορά συνδυασμένων μεθόδων επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου καθώς και μεθόδων προσδιορισμού της συγκέντρωσης του περιεχομένου τους.

Κατά την κατεργασία του ελαιοκάρπου στα ελαιουργεία, παράλληλα με το ελαιόλαδο παράγεται και μία σειρά αποβλήτων. Αυτά είναι ο ελαιοπυρήνας, που αποτελείται από τα αλεσμένα στερεά συστατικά του καρπού (κυρίως του κουκουτσιού), τα ελαιόφυλλα που έχουν μεταφερθεί με τον ελαιοκάρπο και μια σημαντική σε όγκο και οργανικό φορτίο ποσότητα υγρών αποβλήτων, που είναι γνωστά ως "λιοζούμι", "κατσίγαρος" ή "μούργα".

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 κασίγαρος δεν περιέχει άλλες ουσίες που είναι ιδιαίτερα τοξικές, όπως τα βαρέα μέταλλα και οι συνθετικές οργανικές ενώσεις.

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

## **ABSTRACT**

The liquid wastes of the oil-presses are the by-product of the generating procedure for olive oil. This agricultural activity has particular social and economical matter for the population of the olive oil productive countries that are mostly at the Mediterranean area that produces almost 95% of the global production. Huge amounts of wastes are being produced every olive oil product period and in combination with their features (high massing of organic loads and phenolic chemical substances), settle the liquid wastes of oil press as a critical situation that have to be addressed, due to its catastrophic effect to the environment.

The purpose of the current study was to highlight and analyze the methods of determination of olive oil waste chemical substances, as well as, the combined methods of oil-press liquid waste processing.

During the treatment of olive-crop at oil-factories, aside from olive oil, a range of waste is also produced. These are, oil stone, which is composed of ground solid ingredients of the seed (mainly the pit's), the olive leaves that have been transferred with the olive seed and an important volume and organic substances load of liquid wastes that are known as "dregs".

The immediate effect of oil-press waste in the environment is the aesthetic downgrading that it causes due to its unpleasant odor and color. At the same time because of the high organic load it contains, it can possibly cause eutrophic phenomenon in cases where it ends up in receivers with small water recycling (closed sea bay, lakes e.t.c). Of all the ingredients that are included in "katsigaros" (a Greek name for oil-press waste), polyphenols are of great interest because they are toxic for the plants and are deconstructed at a relatively slow rate by specific microorganisms, while on the other hand they are responsible for the preservation of the oil quality in time (low acidity) as a natural preservative. Because the production of olive oil is a natural process, it should be noted that "katsigaros" doesn't contain any other substances that are especially toxic, like heavy metals and synthetic organic compounds. Taking into consideration all the above, "katsigaros" have to

be processed prior releasing it to the environment. For the processing and distribution of “katsigaros” many methods have been tried in both lab and real state. Unfortunately, no complete solution has been proposed, but a few different techniques have been implemented that present disadvantages of a technical or financial nature and haven’t satisfactorily solve the issue.

# *1 Εισαγωγή*



## 1.1 ΓΕΝΙΚΑ

Η Ελλάδα μετά την Ισπανία και την Ιταλία, είναι η τρίτη ελαιοπαραγωγός χώρα τον κόσμο. Περίπου 3.500 ελαιοτριβεία λειτουργούν στην Ελλάδα διασκορπισμένα κυρίως σε επαρχίες της Κρήτης, της Πελοποννήσου των Ιονίων νησιών και της Λέσβου. Η λειτουργία των ελαιοτριβείων είναι εποχιακή από τον Νοέμβριο ως τον Μάρτιο και κάποιες φορές ως τον Ιούνιο. Από την λειτουργία τους παράγονται ετησίως περίπου 1.500.000 τόνοι υγρών αποβλήτων τα οποία μπορούν να προκαλέσουν σοβαρά περιβαλλοντικά προβλήματα κυρίως λόγω των φαινολικών ουσιών που περιέχουν.[1]

Η λύση του προβλήματος απαιτεί την ολική διαχείριση των αποβλήτων των ελαιοτριβείων με αξιοποίηση τους για την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας όπως: (1) Αντιοξειδωτικών για χρήση σε τρόφιμα, καλλυντικά, ζωοτροφές, και συμπληρώματα διατροφής (τα φύλλα της ελιάς αποτελούν το 35% του ελαιοκάρπου και αν συλλεχθούν αποτελούν πολύτιμη πηγή αντιοξειδωτικών). (2) Παραγωγή ζωοτροφών με ενσωμάτωση των υγρών αποβλήτων με άλλα γεωργικά απόβλητα/παραπροϊόντα/υποπροϊόντα. (3) Παραγωγή υδρολιπασμάτων. (4) Παραγωγή κεραμικών υψηλής ποιότητας με υποκατάσταση του χρησιμοποιημένου νερού με επεξεργασμένο φυτοπροστατευτικών προϊόντων με αξιοποίηση του αποβλήτου. (5) Παραγωγή φυτοπροστατευτικών προϊόντων με χρήση των αποβλήτων.[2]

## 1.2 Χαρακτηριστικά αντιοξειδωτικών ουσιών

### 1.2.1 Ορισμός αντιοξειδωτικών ουσιών

Τα αντιοξειδωτικά είναι ουσίες οι οποίες έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν και να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, (ROS (Reactive Oxygen Species) μετατρέποντας αυτές σε μη τοξικές άρα και ακίνδυνες για τον ανθρώπινο οργανισμό. Έχουν την ικανότητα να:

- Αναστέλλουν την μεταφορά ηλεκτρονίων από το O<sub>2</sub> σε οργανικά μόρια
- Σταθεροποιούν τις ελεύθερες ρίζες
- Τερματίζουν τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών

Κύριες αντιοξειδωτικές ουσίες είναι οι βιταμίνες A,C και E, τα φλαβονοειδή, το σελήνιο, το β-καροτένιο, ο ψευδάργυρος, τα διάφορα είδη λυκοπενίων που περιέχονται στην ώριμη ντομάτα, καθώς και άλλες ουσίες που περιέχονται στο κόκκινο σταφύλι, στα σταυρανθή, στο σκόρδο, στο χαμομήλι και σε άλλα τρόφιμα. [3]

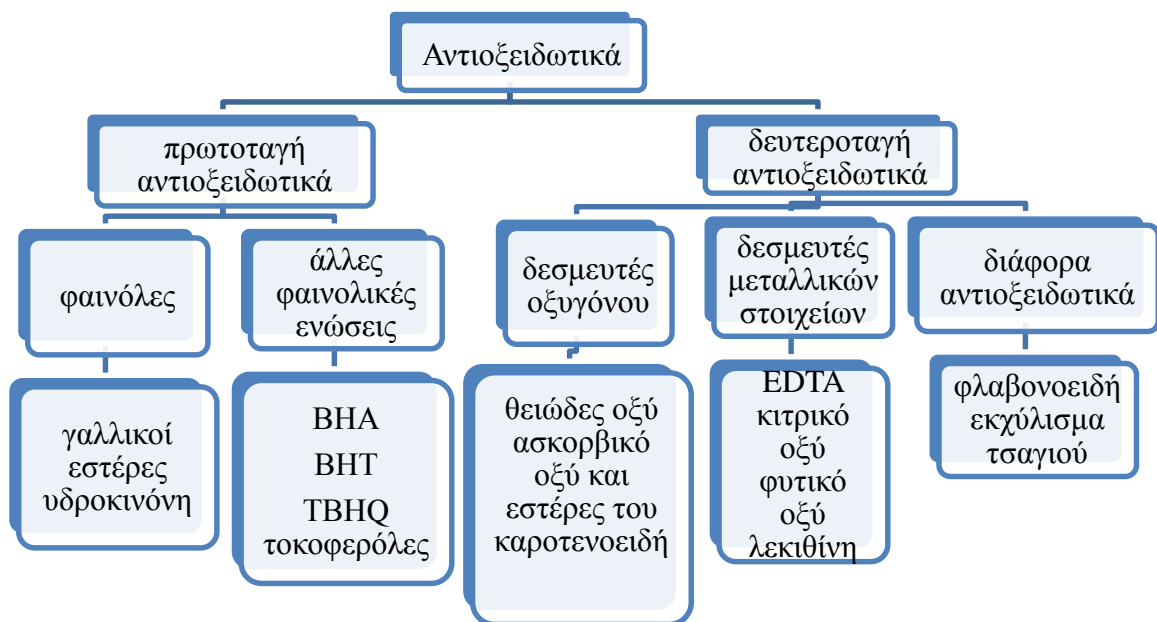
Βασικά δομικά χαρακτηριστικά των αντιοξειδωτικών ουσιών:

- Φαινολικό –OH
- Αρωματικός πυρήνας, συχνά ετεροκυκλικός
- Ετεροκυκλικό οξυγόνο
- Συζευγμένο σάκχαρο (γλυκόζη, γαλακτόζη, ραμνόζη, ξυλόζη, γλυκουρονικά ή γαλακτουρονικά οξέα)

### 1.2.2 Ταξινόμηση αντιοξειδωτικών ουσιών στις παρακάτω κατηγορίες:

- I. Ενδογενή αντιοξειδωτικά συστήματα π.χ. GSH γλουταθειόνη, καταλάση ή δισμουτάση του ανιόντος υπεροξειδίου (S.O.D.)
- II. Άλλες ενδογενείς αντιοξειδωτικές ουσίες π.χ. αλβουμίνη, ουρικό οξύ, χολερυθρίνη.
- III. Αντιοξειδωτικές βιταμίνες (π.χ. βιτ. E, C, A, καροτενοειδή)
- IV. Άλλα αντιοξειδωτικά που προσλαμβάνονται με την διατροφή π.χ. συνένζυμοQ10, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, κυστεΐνη, σελήνιο, ψευδάργυρος, φλαβονοειδή.[3]

Στο παρακάτω διάγραμμα εμφανίζεται η κατάταξη αντιοξειδωτικών ουσιών [4] :

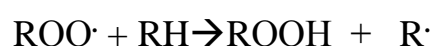


Σχήμα 1.1: Κατάταξη αντιοξειδωτικών ουσιών

### 1.2.3 Ο ρόλος- δράση των αντιοξειδωτικών ουσιών στην υγεία του ανθρώπου.

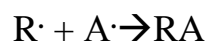
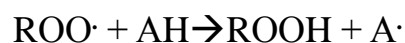
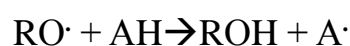
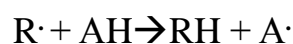
Η δράση των φαινολικών αντιοξειδωτικών οφείλεται στην εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών του τύπου R· και ROO· που δημιουργούνται από την αυτοξείδωση των λιπαρών ουσιών :

Αυτοξείδωση λιπών



\* RH: υδρογονάνθρακας, κορεσμένα λιπαρά οξέα, εστέρας, αλδεΐδες.

Δράση αντιοξειδωτικών :



\*Τα αντιοξειδωτικά AH (φαινολικά) δίνουν άτομα υδρογόνου στις ελεύθερες ρίζες (τις ανάγουν) και τις μετατρέπουν σε αδρανείς ενώσεις. Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά μιμούνται την δράση του φυσικού αντιοξειδωτικού βιταμίνη E ή τοκοφερόλη. [5]

Οι ευεργετικές δράσεις των αντιοξειδωτικών στην υγεία του ανθρώπου εμφανίζονται ως εξής:

- ✓ Προστατεύουν τις διπλές ημιδιαπερατές κυτταρικές μεμβράνες, εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, αλλά και εκείνες των μετάλλων, που πολλοί αγνοούν την ύπαρξη τους.
- ✓ Δρουν καρδιοπροστατευτικά: Αυξάνουν την ανθεκτικότητα των αγγείων, περιορίζουν τους φλεγμονώδεις παράγοντες, αποτρέπουν την οξείδωση της LDL χοληστερίνης και συμβάλλουν στον έλεγχο των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης και της ομοκυστεΐνης.
- ✓ Εμφανίζουν αντικαρκινική δράση αδρανοποιώντας καρκινογόνες ουσίες που προκαλούν μεταλλάξεις επιβραδύνοντας τους μηχανισμούς καρκινογένεσης.
- ✓ Βελτιώνουν τις πνευματικές ικανότητες και την ψυχική διάθεση, προστατεύοντας τους νευροδιαβιβαστές από την οξείδωση και βελτιώνοντας την εγκεφαλική μικροκυκλοφορία.
- ✓ Διατηρούν το δέρμα ελαστικό και το προφυλάσσουν από την πρόωγη γήρανση, περιορίζοντας τη διάσπαση του κολλαγόνου.
- ✓ Προστατεύουν οστά και αρθρώσεις, περιορίζοντας οιδήματα, φλεγμονές και εκφυλιστικές αλλοιώσεις.
- ✓ Βελτιώνουν τη λειτουργική κατάσταση του αμφιβληστροειδούς χιτώνα και ενισχύουν την όραση.
- ✓ Δρουν αντιαλλεργικά σε ευρύφάσμα αλλεργιών.
- ✓ Διαφυλάσσουν τα αποθέματα άλλων απαραίτητων θρεπτικών ουσιών στον οργανισμό, αποτρέπουν την καταστροφή τους και, σε ορισμένες περιπτώσεις, ενισχύουν τη δράση τους. [3]

#### ***1.2.4 Τρόφιμα που θεωρούνται πηγές αντιοξειδωτικών ουσιών.***

- Η βιταμίνη Α (ρετινόλη) συντίθενται στο σώμα από το β-καροτένιο. Τα καρότα, κολοκύθες, μπρόκολα, γλυκοπατάτες, ντομάτες (που κερδίζουν το χρώμα τους από την ένωση λυκοπένιο), το κατσαρό λάχανο, μάνγκο, πορτοκάλια, ιπποφαές μούρα, Goji berries, λάχανα, το πεπόνι, τα ροδάκινα και τα βερίκοκα είναι ιδιαίτερα πλούσιες πηγές βήτα-καροτίνης .
- Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) είναι μία υδατοδιαλυτή ένωση που εκπληρώνει διάφορους ρόλους σε ζωντανά συστήματα. Σημαντικές πηγές είναι τα εσπεριδοειδή (πορτοκάλια, γλυκό λάιμ , κλπ), πράσινες πιπεριές, το μπρόκολο, τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, μαύρες σταφίδες, φράουλες, βατόμουρα, ωμά λαχανικά και ντομάτες.
- Η βιταμίνη Ε, τοκοτριενόλη συμπεριλαμβανομένων και τοκοφερόλη, είναι διαλυτό λίπος και προστατεύει λιπίδια. Πηγές περιλαμβάνουν φύτρο σιταριού, ξηροί καρποί, σπόροι, δημητριακά ολικής αλέσεως, τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, ακτινίδια, φυτικό έλαιο, και λάδι από συκώτι ψαριού. Α-τοκοφερόλη είναι η κύρια μορφή της βιταμίνη Ε που καταναλώνεται. [6-7]
- Μπαχαρικά, βότανα και αιθέρια έλαια είναι πλούσια σε πολυφαινόλες στο ίδιο το φυτό και εμφανίζεται με αντιοξειδωτικό δυναμικό in vitro. Μπαχαρικά υψηλής περιεκτικότητας σε πολυφαινόλες (επιβεβαιώθηκε in vitro) είναι γαρίφαλο, κανέλα, ρίγανη, κουρκούμας, κύμινο, μαϊντανός, βασιλικός, σκόνη κάρυ, σπόρους μουστάρδας, το τζίντζερ, το πιπέρι, σκόνη τσίλι, πάπρικα, σκόρδο, κόλιανδρο, κρεμμύδι και κάρδαμο. Βότανα υψηλής περιεκτικότητας είναι φασκόμηλο, θυμάρι, μαντζουράνα, μέντα, ρίγανη, θρούμπι, βασιλικό και άνηθο ζιζανίων.

- Αποξηραμένα φρούτα είναι μια καλή πηγή πολυφαινολών κατά βάρος καθώς το νερό έχει αφαιρεθεί καθιστώντας την αναλογία των πολυφαινολών υψηλότερο. Πηγές πολυφαινολών σε αποξηραμένα φρούτα είναι τα αχλάδια, τα μήλα, δαμάσκηνα, ροδάκινα, σταφίδες, σύκα.
- Βαθιά χρωματισμένα φρούτα όπως τα μούρα, τα βατόμουρα, τα δαμάσκηνα, τα βατόμουρα, σμέουρα, φράουλες, φραγκοστάφυλα, τα σύκα, τα κεράσια, γκουάβα, τα πορτοκάλια, μάνγκο, χυμό σταφυλιών και χυμός ροδιού έχει επίσης σημαντική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες.
- Τυπικές μαγειρεμένα λαχανικά πλούσια σε αντιοξειδωτικά είναι αγκινάρες, λάχανο, μπρόκολο, σπαράγγια, αβοκάντο, παντζάρια και σπανάκι.
- Οι ξηροί καρποί είναι μια μέτρια πηγή αντιοξειδωτικών πολυφαινολών. Πηγές ξηρών καρπών είναι πεκάν, τα καρύδια, φουντούκια, φιστίκι Αιγίνης, αμύγδαλα, κάσιους, μακαντάμια και το φυστικοβούτυρο.[8-9]
- Τα τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή περιλαμβάνουν μαϊντανό, τα κρεμμύδια, βατόμουρα και άλλα μούρα, το μαύρο τσάι, το πράσινο τσάι, μπανάνες, όλα τα εσπεριδοειδή, κόκκινο κρασί, και μαύρη σοκολάτα (με περιεκτικότητα σε κακάο 70% ή περισσότερο). [10]

### 1.3 Τα αντιοξειδωτικά του ελαιολάδου

Η βιταμίνη E( α-τοκοφερόλη), τα καροτενοειδή και οι φαινολικές ενώσεις (απλές φαινόλες όπως η υδροξυτυροσόλη και η τυροσόλη και πολυπλοκες όπως η ελευρωπαΐνη) είναι όλα τα αντιοξειδωτικά, των οποίων η δράση έχει αποδειχτεί και εργαστηριακά αλλά και μέσω κλινικών δοκιμών πιο πρόσφατα, αποκαλύπτοντας περαιτέρω πλεονεκτήματα στην πρόληψη ορισμένων ασθενιών καθώς και της γήρανσης.

Το περιεχόμενο των ελαιολάδων ποικίλλει ανάλογα με τις κλιματικές συνθήκες στην περιοχή παραγωγής, με το χρόνο συγκομιδής των ελαιοκάρπων, αλλά και με το βαθμό ωριμότητας τους κατά την συλλογή τους. Οι μέθοδοι αποθήκευσης του ελαιολάδου διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στη διατήρηση του αντιοξειδωτικού του περιεχομένου.

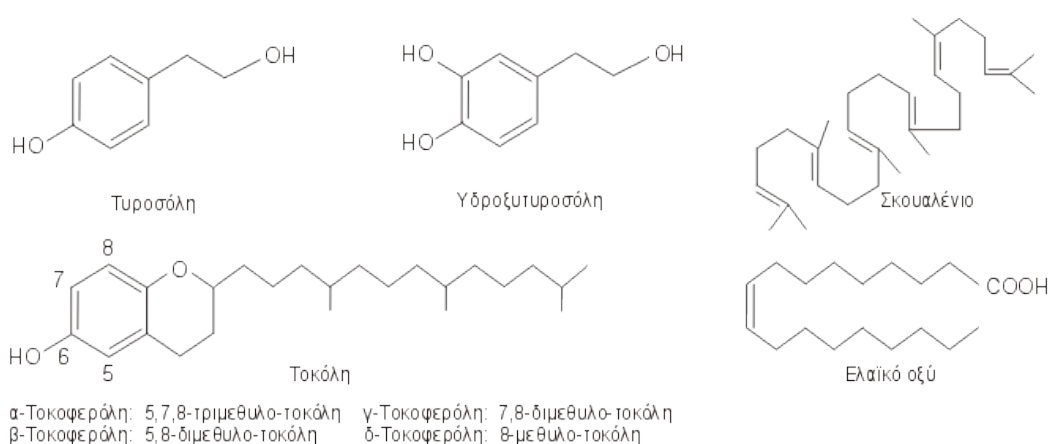
Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά του ελαιολάδου εμφανίζουν αναρίθμητες βιολογικές ιδιότητες. Για παράδειγμα, Η υδροξυτυροσόλη παρουσιάζει αντιθρομβωτική και αντιφλεγμονώδη δράση, καθώς και η ελευρωπαΐνη, η οποία ενισχύει την δημιουργία του οξειδίου του αζώτου (NO), όπου το τελευταίο εμφανίζει τόσο αγγειοδιασταλτικές ικανότητες όσο και ισχυρή αντιβακτηριακή δράση.

Η υψηλή περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικά του ελαιολάδου είναι πιθανόν το αποτέλεσμα της ανάπτυξης ενός μηχανισμού άμυνας του ελαιόδενδρου για την προστασία του καρπού του από την συνεχή έκθεση του τελευταίου στο ατμοσφαιρικό οξυγόνο. [3]

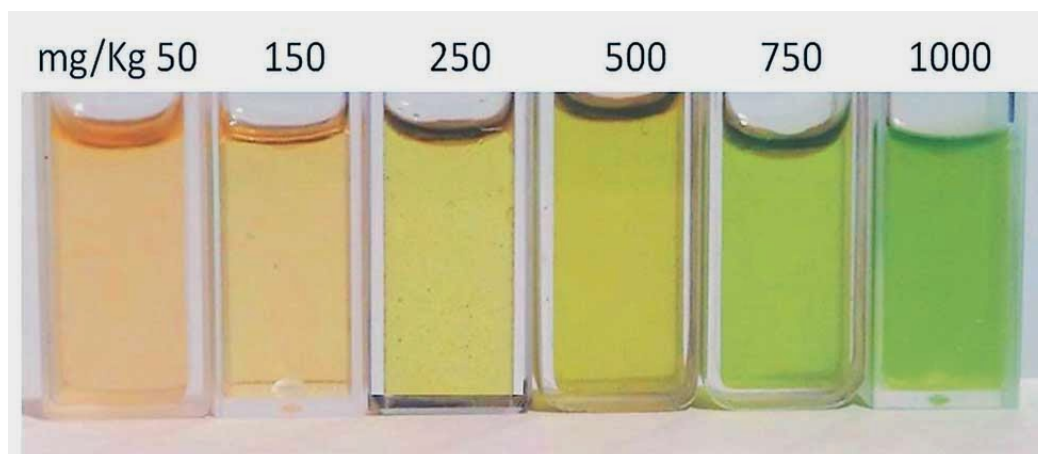
Κατά την κατεργασία του ελαιολάδου μέρος της ελευρωπαΐνης υδρολύεται και έτσι παράγονται αρκετές ενώσεις που προσδίδουν στο ελαιόλαδο τις εκλεκτές οργανοληπτικές ιδιότητες και ιδιαίτερα την πικρή του γεύση. Επίσης οι πολυφαινόλες και ο ακόρεστος υδρογονάνθρακας σκουαλένιο παίζουν σημαντικό ρόλο στον περιορισμό της οξείδωσης των λιπαρών οξέων του ελαιολάδου (τάγγισμα)[11-13]



Οι παραπάνω ενώσεις μαζί με την τοκοφερόλη και άλλες ουσίες που περιέχονται στο ελαιόλαδο αδρανοποιούν και αποδομούν τις ελεύθερες ρίζες, μειώνοντας τις οξειδωτικές βλάβες και το οξειδωτικό stress των αερόβιων οργανισμών. Άλλα συστατικά του ελαιολάδου είναι τα οξέα καφεϊκό, βανιλικό, συριγγικό και κουμαρικό. Άλλες αντιοξειδωτικές ενώσεις που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι διάφορα φλαβονοειδή και οι ανθοκυανίνες.[14-24]



**Σχήμα 1.2:** Οι χημικοί τύποι των κύριων αντιοξειδωτικών ουσιών του ελαιολάδου[25]



**Σχήμα 1.3:** Αύξηση της έντασης του πράσινου χρώματος του ελαιολάδου ανάλογη με την αυξανόμενη συγκέντρωση των φαιολικών ουσιών[26]

## 1.4 Γενικά χαρακτηριστικά υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου

Τα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων αποτελούν ένα σημαντικό παράγοντα ρύπανσης και ένα δυσεπίλυτο πρόβλημα στο χώρο των γεωργικών βιομηχανιών. Χαρακτηρίζονται από τις παρακάτω ιδιότητες :

- Σκούροκαφέχρωμα
- Χαρακτηριστικήδυσάρεστοςμή
- Υψηλόοργανικό φορτίο
- Όξινο pH
- Υψηλή περιεκτικότητα πολυφαινολών
- Υψηλή περιεκτικότητα σε στερεό υλικό [27]

Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν τη διαχείριση τους ένα εξαιρετικά δύσκολο αντικείμενο και ένα από τα πιο ρυπογόνα απόβλητα του αγροτοβιομηχανικού τομέα. Η σύνθεση των αποβλήτων ενός ελαιοτριβείου δεν είναι σταθερή και εξαρτάται από:

1. Τα σύστατικά των αποβλήτων, ποικίλουν σύμφωνα με:

- Την ποικιλία της ελιάς
- Την ωριμότητα του καρπού
- Την ώρα συγκομιδής του καρπού
- Τη περιεκτικότητα του καρπού σε νερό
- Τις εδαφοκλιματικές συνθήκες
- Την παρουσία φυτοπροστατευτικών προϊόντων και λιπασμάτων

2. Τη μέθοδος εξαγωγής ελαιολάδου

Κάθε τύπος ελαιοτριβείου, έχει και διαφορετικές απαιτήσεις σε επιπλέον νερό κατά τη διεργασία.Σαν αποτέλεσμα αυτού, τα φυτικά υγρά που παράγονται από τα ελαιοτριβεία τριών φάσεων, όπου και χρησιμοποιούνται μεγαλύτερες ποσότητες νερού, να υφίστανται κάποια αραίωση.

### 3. Το χρόνο αποθήκευσης

Η αποθήκευση μπορεί να αλλάξει τα βιολογικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του αποβλήτου, καθώς παρατηρείτε έντονη βιολογική δραστηριότητα (αύξηση της οξύτητας), καθώς επίσης και φυσικοχημικές μεταβολές όπως η καθίζηση των στερεών.[28]

Στους (Πίνακες 1,2,3,4) που ακολουθούν φαίνονται τα γενικά χαρακτηριστικά των υγρών αποβλήτων των ελαιουργείων τριών φάσεων

**Πίνακας 1.** Γενικά χαρακτηριστικά υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου. [29]

Παράμετροι	Τιμές
Ph	4.5-6
Βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο, (BOD 5 g/l)	35-100
Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο, (CODg/l)	40-195
Ολικός οργανικός άνθρακας, (TOCg/l)	22-64
Λίπη (g/l)	0.3-23
Ανόργανα στοιχεία (g/l)	5-14
Πολυφαινόλες (g/l)	3-24
N (g/l)	5-15
P (g/l)	0.3-1.1
K (g/l)	2.7-7.2
Ca (g/l)	0.12-0.75
Mg (g/l)	0.10-0.40
Na (g/l)	0.04-0.90
Στερεά %	5.5-17.6

**Πίνακας 2:** Μέση σύσταση των αποβλήτων ελαιουργείων. [27]

Παράμετρος	Τιμή	Οργανικές ουσίες	Τιμή	Ανόργανα στοιχεία	Τιμή
Ph		Ολικάσάκχαρα	1 %	P	96 ppm
BOD(Βιοχημικά απαιτούμενοοξυγόνο)	30.000-40.000 ppm	Αζωτούχεςενώσεις	0.28 %	K	1200 ppm
COD(Χημικά απαιτούμενοοξυγόνο)	45.000-60.000 ppm	Οργανικά οξέα	0.3 %	Ca	120 ppm
Στερεά αιωρούμενα	0.9	Πολυαλκοόλες	1.1 %	Mg	48 ppm
Στερεάολικά	4.0 %	Πολυπηκτίνες, τανίνεςκλπ	1.37 %	Na	245 ppm
Στερεάοργανικά	3.5 %	Πολυφαινόλες	0.5 %	Fe	16 ppm
Στερεά ανόργανα	0.5 %				

**Πίνακας 3:** Κύρια φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των αποβλήτων ελαιοτριβείου.[30]

Παράμετρος	Όρια τιμών
Νερό %	83-94
Οργανικά συστατικά %	4-16
Ανόργανα συστατικά %	1-2
Πυκνότητα (g/cm <sup>3</sup> )	1,024
Αγωγιμότητα (μS/ cm)	8.0000-160000
pH	4,5-6,5
Βιολογικά απαιτούμενα οξυγόνο (BOD5) mg/l	14.000-110.0000
Χημικά απαιτούμενα οξυγόνο (COD) mg/l	41.400-130.000

**Πίνακας 4:** Κύρια συστατικά των αποβλήτων ελαιοτριβείου. [31]

Συστατικό	Συγκέντρωση(%)	Κύρια συστατικά
Νερό	83-92	
Λίπη	0,03-1,00	Υπολείμματα ελαίου
Αζωτούχες ουσίες	1.2-2.4	Γλουταμίνη, Γλυκίνη, Αργινίνη, Ιστιδίνη, Προλίνη, Τυροσίνη, Φαινυλαλανίνη, Λυσίνη, Μεθειονίνη, Γλυκοζαμίνη κ.ά.
Σάκχαρα	2.0 – 8.0	Ραφινόζη, Μανόζη, Σακχαρόζη, Γλυκόζη, Αραβινόζη, Ραμνόζη, Γαλακτόζη, Ξυλόζη,
Οργανικά οξέα	0.5 – 1.5	Γαλακτικό, Μηλικό, Μηλονικό, Οξαλικό, Τρυγικό, Φουμαρικό Γλυκερίνη, Μανιτόλη
Πολυαλκοόλες	0,5-1,5	
Πηκτίνες, Ταννίνες	0,4-1,5	
Φαινολικές ενώσεις	0,3 – 0,8	<b>Φλαβονοειδή:</b> Απεγινίνη, Λουτεολίνη, Κερσετίνη, Λουτεολίνη. <b>Φαινόλες:</b> Καφεϊκό, Κινναμικό, 2,6- διυδροξυβενζοϊκό, π-υδροξυβενζοϊκό, Συριγγικό, Φερουλικό, π-κουμαρικό, Βανιλικό, Βερατρικό, Πρωτοκατεχικό, Υδροξυτυροσολή, Τυροσολή, Πυροκατεχικό. Ελαιοευρωπαϊνή
Ανόργανα συστατικά	0,4 – 1,5	K, P, Na, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Cl, S

Στους πίνακες 5 και 6 που ακολουθούν, παρουσιάζονται ενδεικτικά κάποιες διαφορές μεταξύ των τριών διαδικασιών, μία μέση σύσταση των υγρών αποβλήτων τους, καθώς και διαφορές μεταξύ των σύγχρονων και παλαιών ελαιοτριβείων.

**Πίνακας 5.** Γενική εικόνα σύγκρισης των τριών τύπων. [32]

Τύπος ελαιοτριβείου	Είσοδος	Αποτέλεσμα	Έξοδος	Αποτέλεσμα
Κλασικού Τύπου	Ελιές Νερό Πλυσίματος Ενέργεια	1 τόνος	Λάδι Ελαιοπυρήνα (25% νερό + 6% λάδι) Φυτικά υγρά (88% νερό + στερεά + λάδι)	~200
		0.1-0.12 m <sup>3</sup> 40-63 kWh		~400
				~600
Φυγοκεντρικού τύπου τριών φάσεων	Ελιές Νερό πλυσίματος Νερό για Φυγοκέντριση Νερό για το διαχωρισμό λαδιού με προσμίξεις Ενέργεια	1 τόνος	Λάδι Ελαιοπυρήνα (50% νερό + 4% λάδι) Φυτικά υγρά (94% νερό + 1% λάδι)	200
		0.1-0.12 m <sup>3</sup>		500-600
		0.5-1 m <sup>3</sup>		1000-1200
		~10 l 90-117 kWh		
Φυγοκεντρικού τύπου δύο φάσεων	Ελιές Νερό Ενέργεια	1 τόνος 0.1-0.12 m <sup>3</sup> > 90-117 kWh	Λάδι Υγρός Ελαιοπυρήνας (60% νερό +3% λάδι)	200 800-950

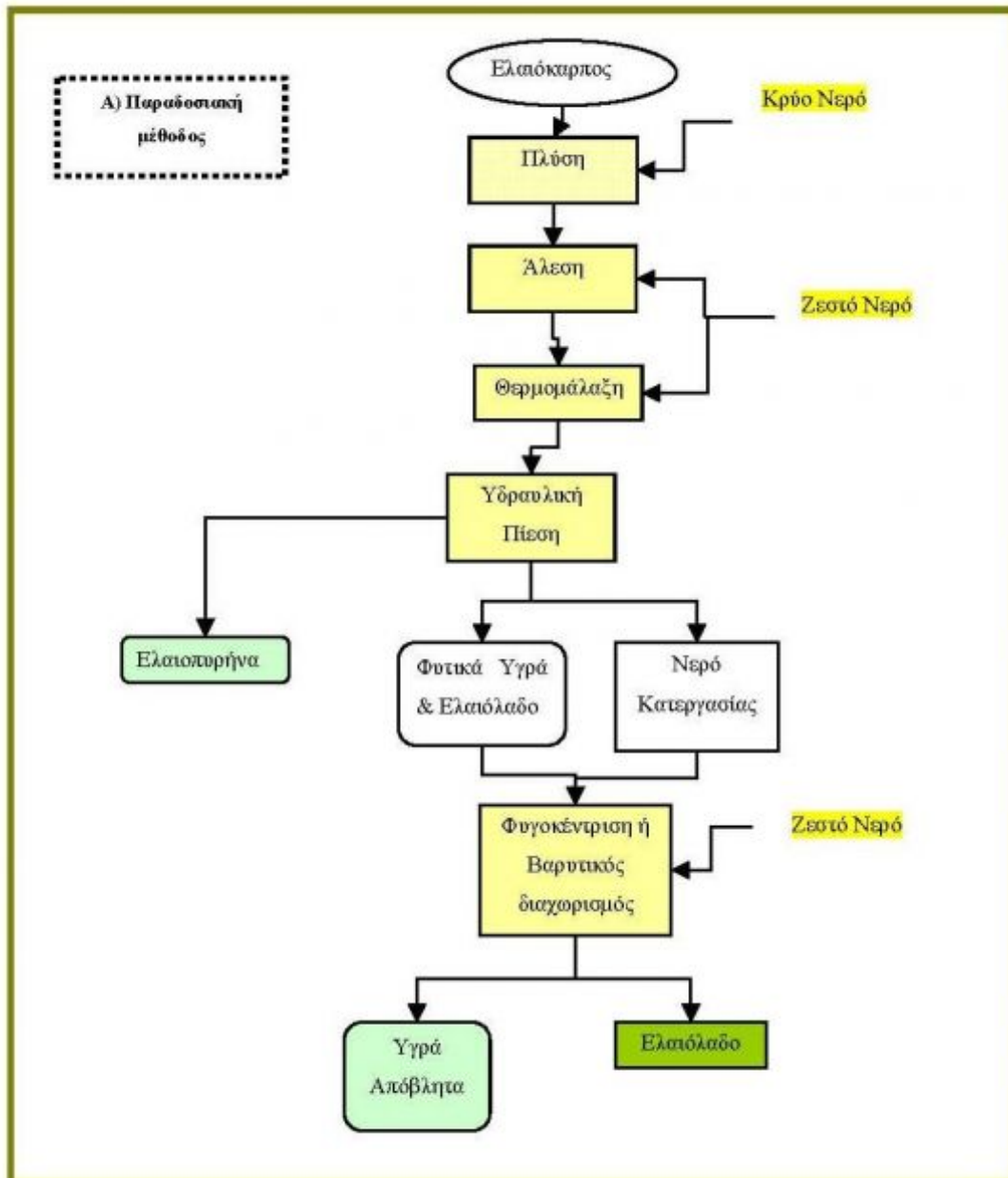
**Πίνακας 6.** Απόβλητων κλασικών φυγοκεντρικών ελαιουργείων[33]

Παράμετροι	Κλασικό	Φυγοκεντρικό τριώνφάσεων
pH	4.5-5.5	4.7-5.2
Ρυπογόνοδυναμικό		
Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο, (XAO g/l)	120-130	60-180
Βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο, (BAO5 g/l)	90-100	20-55
Αιωρούμενα στερεά (%)	0.1	0.9
Ολικάστερεά (%)	12	6
<b>Οργανικές ουσίες (%)</b>		
Ολικάσάκχαρα	2-8	0.5-2.6
Αζωτούχεςενώσεις	0.5-2	0.1-0.3
Οργανικά οξέα	0.1-1.5	0.2-0.4
Πολυαλκοόλες	1-1.5	0.3-0.5
Πηκτίνες, ταννίνες	1-1.5	0.2-0.5
Πολυφαινόλες	2-2.4	0.3-0.8
Λίπη	0.03-1	0.5-2.3
<b>Ανόργανα στοιχεία (%)</b>		
P	0.11	0.03
K	0.72	0.27
Ca	0.07	0.02
Mg	0.04	0.01
Na	0.09	0.03
Cl	0.03	0.01

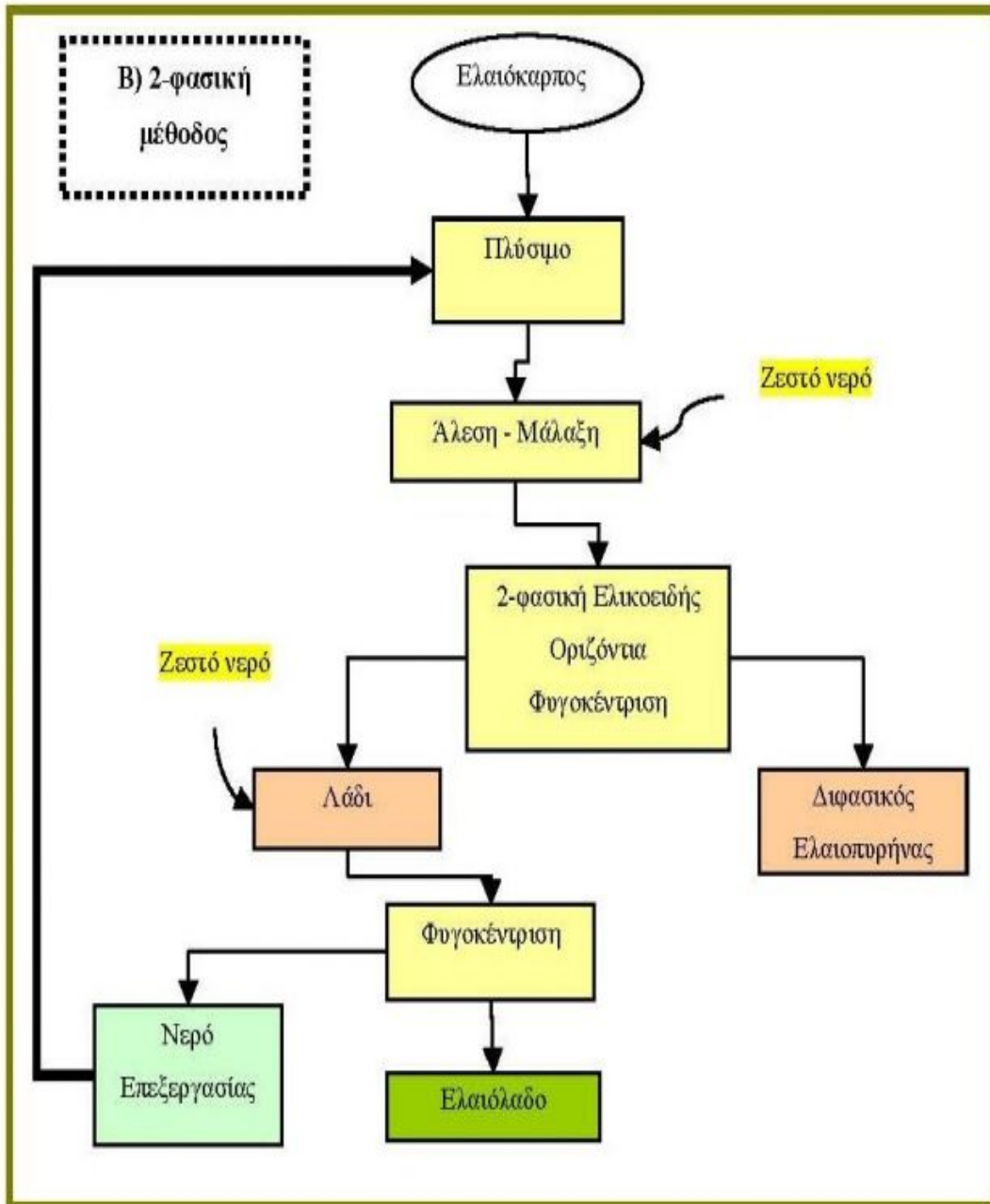
Το διφασικό σύστημα δημιουργεί μεγαλύτερες ποσότητες στερεού υπολείμματος, από τους άλλους δύο τύπους παράγει όμως μικρότερους όγκους υγρών αποβλήτων. Είναι επίσης χαρακτηριστικό, ότι η περιεκτικότητα του αποβλήτου σε πολυφαινόλες είναι μικρότερη στο τριφασικό σύστημα, κάτι που οφείλεται στην επιπλέον προσθήκη νερού. Στην Ισπανία η πλειονότητα των ελαιοτριβείων είναι διφασικά στην Ελλάδα τα περισσότερα ελαιοτριβεία είναι φυγοκεντρικά τριών φάσεων.  
[34]

Αυτό οφείλεται στο γεγονός, ότι ο υγρός ελαιοπυρήνας (σχετικής υγρασίας 55-75%) που παράγουν τα ελαιοτριβεία δύο φάσεων δεν είναι επεξεργάσιμος στα περισσότερα πυρηνελαιουργεία που λειτουργούν.

Παρακάτω βλέπουμε τα διαγράμματα ροής που ακολουθείται για την εξαγωγή του ελαιολάδου με την χρήση συμβατικών πιεστηρίων, 2-φαικου συστήματος καθώς και του 3-φασικού.[35]

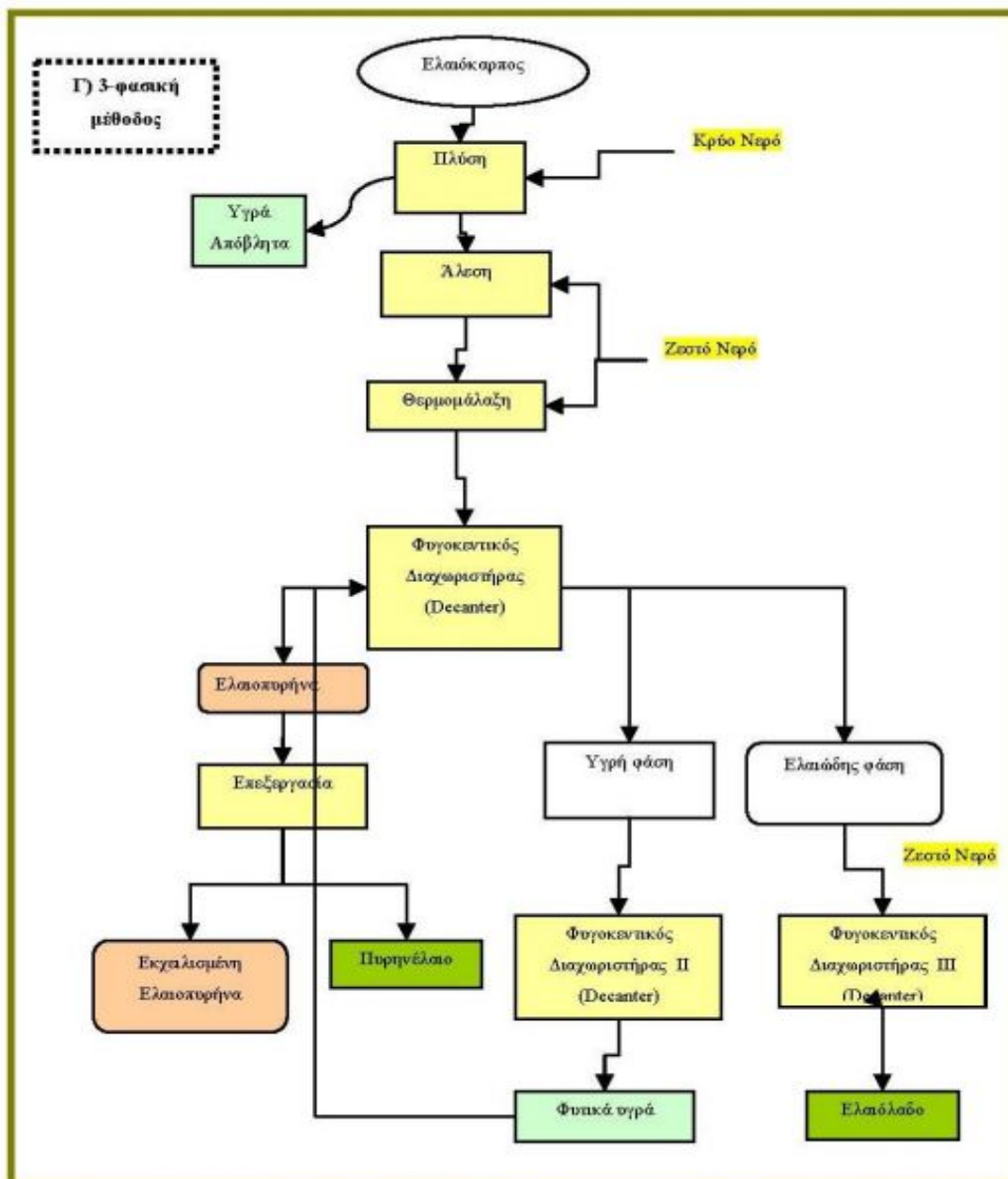


Σχήμα 1.4: Παραδοσιακό σύστημα ελαιοτριβείου.



Σχημα 1.5:Ελαιοτριβείο 2 φάσεων.





Σχήμα 1.6: Ελαιοτριβείο 3 φάσεων.

### **1.4.1 Περιβαλλοντικές επιπτώσεις αποβλήτων**

Η απευθείας διάθεση των αποβλήτων ελαιοτριβείου στο υπάρχον αποχετευτικό δίκτυο είναι απαγορευμένη, καθώς δημιουργεί πολλά προβλήματα. Επίσης σε όλες τις ελαιοπαραγωγικές χώρες, υπάρχει αυστηρή νομοθεσία για την ανεξέλεγκτη διάθεση των αποβλήτων ελαιοτριβείων στους φυσικούς αποδέκτες. Γενικά η διάθεση των αποβλήτων μπορεί να καταστρέψει την ικανότητα αυτοκάθαρσης των συστημάτων και να δημιουργήσει μια σειρά από προβλήματα όπως:

1. Οπτική ρύπανση και προβλήματα δυσοσμίας.
2. Επιπτώσεις στα ύδατα και τους υδρόβιους οργανισμούς.
  - Προβλήματα ευτροφισμού.
  - Δημιουργία ανοξικών συνθηκών.
  - Αδιαπέρατο φιλμ (συσσωρευμένα λίπη στην επιφάνεια των υδάτων που εμποδίζουν τις ακτίνες του ήλιου να εισχωρήσουν στην υδάτινη στήλη).
  - Χρωματισμό φυσικών υδάτων (λόγω της οξείδωσης και του πολυμερισμού των τανινών). [33]
3. Επιπτώσεις στο έδαφος
  - Αλλαγές στο πορώδες του εδάφους. [28]
  - Μικροβιοστατική και μικροβιοκτόνο δράση. [36]
4. Φυτοτοξική δράση.
  - Ύπαρξη πολυφαινολών.
  - Αύξηση αλάτων.
  - Παρουσία οργανικών οξέων (πχ οξικό και φορμικό οξύ). [37]

## **2 Σκοπός**

Η ρύπανση από τα υγρά απόβλητα των ελαιουργείων, Υ.Α.Ε. (κατσίγαρος, λιόζουμακτλ), αποτελεί ένα από τα μεγαλύτερα περιβαλλοντικά προβλήματα στις χώρες της Μεσογείου. Οι καταστροφές, οι οποίες προκαλούνται στα υδάτινα οικοσυστήματα, εξαιτίας της ρύπανσης των επιφανειακών και υπόγειων υδάτων και η γενική υποβάθμιση του περιβάλλοντος είναι μεγάλες. Οι παθητικοί τρόποι προστασίας του περιβάλλοντος, κατά τους οποίους τα απόβλητα θεωρούνται υλικά άχρηστα, πέρα από το γενικά υψηλό οικονομικό κόστος που έχουν, δεν δίνουν ικανοποιητική και μακροπρόθεσμη λύση στην περίπτωση του κατσίγαρου.

Η παρουσία των φαινολικών ενώσεων στα απόβλητα ελαιοτριβείου είναι ίσως το σημαντικότερο εμπόδιο για την αποτοξικοποίηση του αποβλήτου. Ωστόσο πολλές επιστημονικές εργασίες αποδεικνύουν την χρησιμότητα αυτών των ενώσεων στην ανθρώπινη υγεία, αφού παρουσιάζουν αντιοξειδωτική, αντικαρκινική και καρδιοπροστατευτική δράση και θα μπορούσαν κάλλιστα να χρησιμοποιηθούν στις βιομηχανίες τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών

Σκοπός λοιπόν της παρούσας εργασίας είναι να αναφερθούν μέθοδοι με τις οποίες μπορούν να ανιχνευτούν τα αντιοξειδωτικά συστατικά των αποβλήτων και στην συνέχεια να απομονωθούν έτσι ώστε να μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν τα απόβλητα ως εδαφοβελτιωτικά και τα αντιοξειδωτικά να αξιοποιηθούν ως πρόσθετα για την βελτίωση και παραγωγή τροφίμων, φαρμάκων ή καλλυντικών.

## **3 Μέθοδοι Ανίχνευσης και απομόνωσης**

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρουσία των φαινολικών ενώσεων στα απόβλητα ελαιοτριβείου είναι ίσως το σημαντικότερο εμπόδιο για την αποτοξικοποίηση του αποβλήτου. Ωστόσο πολλές επιστημονικές εργασίες αποδεικνύουν την χρησιμότητα αυτών των ενώσεων στην ανθρώπινη υγεία, αφού παρουσιάζουν αντιοξειδωτική, αντικαρκινική και καρδιοπροστατευτική δράση και θα μπορούσαν κάλλιστα να χρησιμοποιηθούν στις βιομηχανίες τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών [38-39]

Οι φαινολικές ενώσεις που υπάρχουν στα απόβλητα ελαιοτριβείου διακρίνονται, α) στις απλές φαινολικές ενώσεις, που περιλαμβάνουν τανίνες μικρού μοριακού βάρους και φλαβονοειδή και β) στις πολυφαινόλες οι οποίες περιλαμβάνουν σκούρου χρώματος πολυμερή και προκύπτουν σαν αποτέλεσμα του πολυμερισμού και της οξείδωσης των απλών φαινολικών ενώσεων. Στα απόβλητα ελαιοτριβείου έχουν ανιχνευτεί πάνω από τριάντα φαινολικές ενώσεις.[40]

### **3.1 Μέθοδοι ανίχνευσης αντιοξειδωτικών ουσιών**

#### ***3.1.1 Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδοFolin-Ciocalteu.***

Η μέθοδος βασίζεται σε οξειδοαναγωγική αντίδραση με την οποία προσδιορίζεται το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο χωρίς διάκριση μεταξύ μονομερών, διμερών και πολυμερών φαινολικών συστατικών. Το αντιδραστήριο Folin - Ciocalteu είναι διάλυμα φωσφομολυβδαινικών και φωσφοβολφραιμικών ιόντων τα οποία οξειδώνουν τα φαινολικά ιόντα.

Το προϊόν της αναγωγής των φωσφομολυβδαινικών και φωσφοβολφραιμικών ιόντων είναι ένα σύμπλοκο μολυβδαινίου-

βολφραμίου (Mo-W) χαρακτηριστικού μπλε χρώματοςόπου εμφανίζει μέγιστο απορρόφησης σε μήκος κύματος 750 nm. Η αντίδραση γίνεται σε αλκαλικό περιβάλλον και το pH ρυθμίζεται με κορεσμένο διάλυμα  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (20% w/v) που δε διαταράσσει την σταθερότητα του Folin-Ciocalteu και του προϊόντος της αντίδρασης, καθώς επίσης αποτελεί την προϋπόθεση παρουσίας φαινολικών ιόντων.

Η πρότυπη καμπύλη κατασκευάζεται με την χρήση προτύπων διαλυμάτων γαλλικού οξέος (GA). Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος. [41]



**Σχήμα 3.1:** Δείγματα λαδιού που έχουν υποστεί επεξεργασία με αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu και είναι έτοιμα για φωτομέτρηση. [42]

### ***3.1.1.1 Προσδιορισμός υδροξυτυροσόλης- τυροσόλης και ελαιρωπαΐνης.***

Η εφαρμογή της μεθόδου της όξινης υδρόλυσης του πολικού κλάσματος έχει ως αποτέλεσμα την ελευθέρωση της υδροξυτυροσόλης και της τυροσόλης από τις δεσμευμένες μορφές. Η μέθοδος αυτή εμφανίζει πολύ μεγάλη ακρίβεια κατά τον ποσοτικό προσδιορισμό των δυο αυτών φαινολικών ενώσεων με υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης (HPLC) προσδιορίζοντας την ποσότητα της τυροσόλης, υδροξυτυροσόλης και της ελαιωευρωπαϊνης φωτομετρικά σε μήκος κύματος 280nm. Πρότυπη υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη και ελαιωευρωπαϊνή κατά την όξινη

υδρόλυση τους με διάλυμα  $H_2SO_4(1M)$  και θέρμανση στους  $80^\circ C$  για 2 ώρες, καθίστανται κατάλληλες καθώς κάτω από αυτές τις συνθήκες η υδροξυτυροσώλη και η τυροσώλη παραμένουν δομικά σταθερές και παράλληλα λαμβάνει χώρα η υδρόλυση του εστερικού δεσμού της ελεωρωπαΐνης. Επιπλέον η συγκριτική μελέτη της προτεινόμενης μεθόδου υδρόλυσης του πολικού κλάσματος του  $H_2SO_4(1M)$  έναντι της απευθείας υδρόλυσης του ελαίου με διάλυμα  $HCl(2M)$  έδειξε ότι πλεονεκτεί λόγω ποσοτικής παραλαβής των φαινολικών ενώσεων, και λόγω της εύκολης αναπαραγωγής των αποτελεσμάτων απο εργαστήριο σε εργαστήριο) [43]

### ***3.1.1.2 Χρωματογραφική καταγραφή πολυφαινολών και άλλων αντιοξειδωτικών***

#### ***3.1.1.2.1 Προσδιορισμός Τοκοφερολών με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Επίδοσης (HPLC)***

Λαμβάνεται ξηρό εκχύλισμα ελαιολάδου προς υπολογισμό λίπους. Το δείγμα διαλύεται σε χλωροφόρμιο/μεθανόλη 1:1. Ο προσδιορισμός των τοκοφερολών γίνεται με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Επίδοσης (HPLC), αφού προηγουμένως έχουν δημιουργηθεί οι κατάλληλες πρότυπες καμπύλες.[41]

#### ***3.1.1.3 Βιταμίνη C- Τοκοφερόλες- Σκουαλένιο- Τερπενικών Οξέων***

Τα ανωτέρω αντιοξειδωτικά αφενός υπάρχουν στο λάδι καθώς και στα προϊόντα του, αφετέρου παρουσιάζονται στα απόβλητα σε απειροελάχιστες ποσότητες υπό την μορφή ιχνών. Η ανίχνευση μπορεί να πραγματοποιηθεί με χρωματογραφική μέθοδο όμως η απομόνωση



αυτών καθίσταται ως μη εφικτή για τα σημερινά δεδομένα λόγω υψηλής χρηματικής δαπάνης.

### ***3.1.2 Κύρια στάδια των τεχνολογιών προς απομόνωση των φαινολικών ενώσεων.***

Μέχρι στιγμής, η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει χρηματοδοτήσει έργα τα οποία έχουν εστιάσει κυρίως την ανάπτυξη καινοτόμων τεχνολογιών είτε προς την διαχείριση των γεωργικών αποβλήτων είτε προς την βελτίωση των παραγωγικών διεργασιών ώστε να παράγονται «καθαρότερα» απόβλητα με ανάκτηση φυσικών αντιοξειδωτικών.

Στη διεργασία αυτή περιλαμβάνεται η ανάπτυξη της υψηλής τεχνολογίας για την ανάκτηση των φυσικών αντιοξειδωτικών από τα απόβλητα των ελαιοτριβείων με ταυτόχρονη παραγωγή φυσικού οργανικού λιπάσματος μέσω της κομποστοποίησης της λάσπης.

Στα πλαίσια αυτά αποδείχτηκε ότι τα υψηλού ρυπαντικού φορτίου απόβλητα των ελαιοτριβείων μπορούν να φιλτράρονται και να εκχυλίζονται αποτελεσματικά ώστε να ανακτώνται οι πολύτιμες φαινόλες που περιέχουν. Επίσης, τα στέρεα απόβλητα των ελαιοτριβείων μπορούν να αναμιχθούν με οργανικά κατάλοιπα του υγρού αποβλήτου προς παραγωγή ενός πλούσιου εδαφοβελτιωτικού.[44]

Στόχος είναι να βρεθεί λύση στο μέχρι τώρα δυσεπίλυτο πρόβλημα της διαχείρισης των υγρών αποβλήτων που προκύπτουν από τα ελαιουργεία κατά την διαδικασία παραγωγής ελαιολάδου μέσω της ανάπτυξης μιας καινοτόμου μεθόδου, η εφαρμογή της οποίας να είναι δυνατή σε πλήρη (βιομηχανική) κλίμακα και μπορεί να αποτελέσει μια βιώσιμη κερδοφόρα επένδυση υψηλής τεχνολογίας.

Έχει αναπτυχθεί και λειτουργήσει δοκιμαστικά τεχνολογία, η οποία εξασφαλίζει την ολοκληρωμένη διαχείριση του κατσίγαρου, ενώ

ταυτόχρονα οδηγεί στην ανάκτηση ουσιών υψηλής προστιθέμενης αξίας.

Η εφαρμογή της τεχνολογίας αυτής οδηγεί στην παραγωγή:

1. Καθαρού νερού κατάλληλου για άρδευση ή για άλλους παραγωγικούς σκοπούς.
2. Πολυφαινολών σε μορφή και καθαρότητα κατάλληλη για φαρμακευτική χρήση.
3. Εδαφοβελτιωτικού ( κομπόστ)

Τα κύρια στάδια της τεχνολογίας που αναπτύχθηκε είναι:

- Διαδοχικά φιλτραρίσματα του κασιίγαρου
- Δέσμευση των περιεχομένων πολυφαινολών από προσροφητική ρητίνη
- Ανάκτηση των πολυφαινολών μέσω θερμικής ανάκτηση οργανικού διαλύτη
- Χρωματογραφικός διαχωρισμός των πολυφαινολών(ποσοτικός προσδιορισμός)
- Λιπασματοποίηση της λάσπης που παράγεται κατά τα στάδια φιλτραρίσματος και των φύλλων ελιάς που απορρίπτονται σαν στέρεα απόβλητα από τα ελαιουργεία.[45]

### 3.1.2.1 Πέρασμα από φίλτρο



Η μέθοδος, βασίζεται στην εν σειρά διήθηση του κατσίγαρου από ένα σύστημα φίλτρων από φυσικές (τύρφη, πριονίδι, άμμο) και χημικές ουσίες (ιοντοανταλλακτικές ρητίνες) σε συνδυασμό με κροκίδωση και ταυτόχρονη ρύθμιση του pH, η οποία αποφορτίζει τον κατσίγαρο σε ποσοστό άνω του 95%. Το προβιομηχανικό πρότυπο της μεθόδου έχει ήδη ελεγχθεί για περιορισμένη χρονική περίοδο σε ελαιουργείο της Μεσσαράς (Ελαιουργείο Αδελφών Τζωρτζακάκη, Φανερωμένη Ηρακλείου, Κρήτη), με θετικά αποτελέσματα. Η μέθοδος έχει κατοχυρωθεί με Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας.(WO2005003037, GR2003100295). [46]

Συγκεκριμένα, αναπτύσσοντας ένα ειδικό φίλτρο καθαρισμού και άλλες τεχνικές, τα τοξικά απόβλητα των ελαιουργίων γίνονται στο τέλος καθαρό νερό και οι φαινόλες, που είναι σημαντικά αντιοξειδωτικά και μετατρέπονται με την κατάλληλη επεξεργασία και δοσολογία σε ένα καθαρό βιολογικό προϊόν.[2]

### ***3.1.2.2 Ανάκτηση φαινολικών ενώσεων με τη μέθοδο της ψυχόμενης κρυστάλλωσης.***

Στην παρούσα παράγραφο αναφέρεται η διαδικασία διαχωρισμού και ανάκτησης των φαινολικών ενώσεων με την μέθοδο της κρυστάλλωσης με ψύξη. Η πειραματική διαδικασίαπραγματοποιείται σε αντιδραστήρα σταθερής θερμοκρασίας με την βοήθεια θερμοστάτη. Το προς επεξεργασία απόβλητο, εισάγεται στον αντιδραστήρα και θερμαίνεται σε σταθερή θερμοκρασία. Εντός του αντιδραστήρα υπάρχει μια μεταλλική επιφάνεια, η οποία ψύχεται με την βοήθεια δεύτερου κυκλοφοριακού θερμοστάτη σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται στην περιοχή 0-20°C. Δεδομένου ότι, το σημείο τήξης των φαινολικών ενώσεων

διαλυμένες στο νερό είναι στην περιοχή των 30-35°C, αναμένεται η κρυστάλλωση τους στο απόβλητο σε στρώματα, πάνω στην ψυχόμενη μεταλλική επιφάνεια. Η παρακολούθηση της μεταβολής της θερμοκρασίας συναρτήσει του χρόνου, δίνει πληροφορίες για το σημείο έναρξης και για την ολοκλήρωση της διεργασίας της κρυσταλλικής ανάπτυξης. Μετά την ολοκλήρωση της επιλεκτικής κρυστάλλωσης των φαινολών είναι δυνατή η απομάκρυνσή τους, με διάλυση σε νερό.[47]

### ***3.1.2.2 Τεχνικές διαχείρισης των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων με μεμβράνες.***

Προκειμένου να επιτευχθεί ένας διαχωρισμός των “προβληματικών” συστατικών από τη μάζα των υγρών αποβλήτων μελετάται η χρήση της τεχνολογίας μεμβρανών, ιδιαίτερα η εφαρμογή της μεθόδου της διαλυδιήθησης. Γενικότερες μελέτες επάνω στο συγκεκριμένο αντικείμενο έχουν γίνει από τους: Borsani και Ferrando το 1996 [48] οι οποίοι εφάρμοσαν ένα πρόγραμμα επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων των ελαιουργείων με τη μέθοδο της υπερδιήθησης και χρησιμοποιώντας συστοιχίες πολυμερικών μεμβρανών, με σκοπό τα απόβλητα να προωθούνται σε γραμμή βιολογικού καθαρισμού αστικών λυμάτων ως δεύτερο στάδιο επεξεργασίας έτσι ώστε η διαδικασία να είναι σύμφωνη με τα ιταλικά πρότυπα. Ο Sayadi και οι συνεργάτες του το 2000 [49] μελέτησαν τις επιβλαβείς συνέπειες των μεγαλομορίωντων πολυφαινολών στην βιοεπεξεργασία των υγρών αποβλήτων των ελαιουργείων. Αυτή η μελέτη διεξήχθη με σκοπό να μελετηθεί ποιες από τις πολυφαινολικές ενώσεις (μικρο-, μεσο- ή μεγαλο- μοριακές) εμφανίζουν το μεγαλύτερο πρόβλημα στην βιοεπεξεργασία των υγρών αποβλήτων των ελαιουργείων. Για αυτόν τον λόγο, με την μέθοδο της υπερδιήθησης απομονώθηκαν τρία κλάσματα πολυφαινολών από

πρωτογενές υγρό απόβλητο ελαιουργείου και το περιεχόμενο τους ταυτοποιήθηκε με μεθόδους αέριας χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματογράφο μάζας (GC-MS) και χρωματογραφιάς μοριακής διήθησης (gelfiltration analysis). Ο Turano και οι συνεργάτες του το 2002 [50] μελέτησαν ένα ολοκληρωμένο σύστημα φυγοκέντρισης - υπερδιήθησης για επεξεργασία των υγρών αποβλήτων των ελαιουργείων. Με την συγκεκριμένη πειραματική μελέτη κατεύθυναν την ερευνά τους στην μελέτη των ρευστοδυναμικών απαιτήσεων που σχετίζονται με την υπερδιήθηση σε κανονική κλίμακα εφαρμογής σε υγρά απόβλητα ελαιουργείων. Τα αποτελέσματα επετεύχθησαν με την εφαρμογή ενός σχεδίου συνδυασμένης επεξεργασίας, φυγοκέντρωση και υπερδιήθηση με μεμβράνη, επιτυγχάνοντας σημαντική μείωση του ρυπογόνου φορτίου των αποβλήτων περίπου 80% για την τέφρα και τα στερεά και 90% για το Chemical Oxygen Demand (COD). Τα προβλήματα ήταν το παρμένον υψηλό COD στο τέλος της διαδικασίας και επίσης η ανάγκη του καθαρισμού ή αντικατάστασης των μεμβρανών μετά από κάθε επεξεργασία.

#### ***3.1.2.2.1 Τεχνολογία μεμβρανών.***

Η τεχνολογία των μεμβρανών που χρησιμοποιεί λεπτά ημιπερατά υλικά (μεμβράνες) για διήθηση και διαχωρισμό ουσιών που περιέχονται σε υγρά. Η μεμβράνη μπορεί να οριστεί ως ένα μέσον αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο φάσεων. Σε μία διαδικασία διαχωρισμού με μεμβράνη, αυτό το μέσον αλληλεπίδρασης είναι συνήθως ένας φυσικός φραγμός διαπερατός για ορισμένα είδη που υπάρχουν σε ένα από τα δύο ρεύματα. Με σκοπό την ολοκλήρωση της διαδικασίας, μία δύναμη άσκησης πίεσης είναι αναγκαία. [27]

### 3.1.2.2.1.1 Μέθοδοι τεχνολογίας μεμβρανών.

Ουσιαστικά υπάρχουν τέσσερες αλληλεπικαλυπτόμενες εξαναγκασμένης ροής τεχνολογίες μεμβρανών:

- Αντίστροφη Όσμωση - Reverse Osmosis (RO)
- Νανοδιήθηση - Nanofiltration (NF)
- Υπερδιήθηση - Ultrafiltration (UF)
- Μικροδιήθηση - Microfiltration (MF)

Η μέθοδος της Υπερδιήθησης χρησιμοποιεί συμπαγείς μεμβράνες οι οποίες συγκρατούν τα περισσότερα δυσδιάλυτα συστατικά. Η αντίσταση περατότητας της μεμβράνης είναι κυρίως η οσμωτική πίεση του επεξεργάσιμου διαλύματος. Η μέθοδος της Νανοδιήθησης είναι παρόμοια με την αντίστροφη όσμωση, αλλά επιτρέπει μικρά ανόργανα μόρια να διαπεράσουν την μεμβράνη. Η οσμωτική πίεση παραμένει η σημαντικότερη αντίσταση στην ροή του διαλύματος. Οι μεμβράνες της Υπερδιήθησης είναι πορώδεις αλλά το επιφανειακό πορώδες είναι μικρότερο από 5%. Διαχωρίζει δυσδιάλυτα μόρια στα βασικά τους μεγέθη. Οι μεμβράνες της Μικροδιήθησης είναι πραγματικά πορώδεις με επιφανειακό πορώδες σε μερικές περιπτώσεις μεγαλύτερο του 50%. [27]

**Πίνακας 7:** Οι βασικές διαφορές μεταξύ των κατηγοριών της τεχνολογίας Μεμβρανών .[27]

	Αντίστροφη όσμωση (RO)	Νανοδιήθηση (NF)	Υπερδιήθηση (UF)	Μικροδιήθηση (MF)
Πίεση (psi)	450 to 750	300 to 600	75 to 375	15 to 75
Ταχύτητα ροής(ft/s)	6 to 10	6 to 50	10 to 13	10 to 30
Διηθητικότητα (g/ft <sup>2</sup> *day)	3 to 25	12 to 50	2 to 120	30 to 300
Συγκράτηση	>90% NaCl	>95% lacoste <50 NaCl	>4Kd to <500kD	>0.01micron <5micron

Η Διαλυδιήθηση είναι επίσης μια μέθοδος της οποίας αντικειμενικός σκοπός είναι η βελτίωση της ανάκτησης των διαλυτών συστατικών που διαπερνούν τις μεμβράνες της Υπερδιήθησης ή της Μικροδιήθησης. Η διαδικασία αυτή, βασίζεται στην αρχή της διάλυσης του συμπυκνώματος με καθαρό διαλύτη (συνήθως νερό) και συνέχιση της διαδικασίας διαχωρισμού. Αυτό οδηγεί στην επίτευξη ενός ικανού βαθμού διαχωρισμού και αποκαθαρισμού ορισμένων διαλυτών ουσιών που έχουν στοχευθεί.[51]

### 3.1.2.3 Δέσμευση φαινολών από προσροφητική ρητίνη

Οι προσροφητικές ρητίνες είναι δομές υψηλού πορώδουςστυρενικού ή ακρυλικού τύπου που είναι ικανές να προσροφήσουν και στην συνέχεια να απελευθερώσουν μια ποικιλία χημικών συστατικών.Οι ρητίνες που συγκρατούν τις πολυφαινόλες πρέπει να εκπλυθούν με διαλύτη οργανική φύσηςόπως για παράδειγμα αλκοόλη, και δίνουν πυκνό πολυφαινολικό διάλυμα.Στο διάλυμα που λαμβάνεται, οι πολυφαινόλες κατέχουν την συνολική περιεκτικότητα του. Με βάση αυτό το αποτέλεσμα, το διάλυμα που προκύπτει από την έκπλυση των ρητινών υφίσταται μια θερμική επεξεργασία υπό κενό οδηγώντας έτσι σε καθαρό διάλυμα πολυφαινολών και καθαρό διάλυμα αλκοόλης.[52]

**Πίνακας 8:**Παρουσιάζεται το είδος των προσροφητικών υλικών (ρητίνες), τις ιδιότητές τους καθώς και το υλικό που αποτελούνται.[53]

ΕΙΔΟΣ	ΙΔΟΤΗΤΕΣ	ΥΛΙΚΑ
Υλικά που περιέχουν οξυγόνο	Παρουσιάζουν αυξημένη υδροφιλικότητα και πολικότητα	Ζεόλιθοι
Υλικά βασισμένα στον άνθρακα	Παρουσιάζουν αυξημένη υδροφοβικότητα και είναι μη πολικά	Ενεργός άνθρακας Γραφίτης
Υλικά βασισμένα σε πολυμερή	Είναι πολικές ή μη πολικές ενεργές ομάδες σε πολυμερή μήτρα	PEG PTFE XAD

### 3.1.2.3.1 Αρχή Μεθόδου

Τα συστατικά διαχωρίζονται καθώς διέρχονται από την στατική φάση της στήλης, με τη βοήθεια της κινητής φάσης που αποτελείται από διαλύτες κατάλληλης πολικότητας για το διαχωρισμό. Οι ρητίνες ιοντοανταλλαγής είναι εν γένει το υλικό επιλογής για την πλήρωστων στηλών ιοντικής χρωματογραφίας. Μια ιονανταλλακτική ρητίνη αποτελείται από τρία κυρίως τμήματα: (α) ένα μη διαλυτό οργανικό ή ανόργανο υπόστρωμα, (β) δραστικές ιονανταλλακτικές ομάδες (functional groups) και (γ) αντισταθμιστικά ιόντα αντίθετου φορτίου προς τις ιονανταλλακτικές ομάδες (counterions), έτσι ώστε να διατηρείται η ηλεκτρική ουδετερότητα. Οι ρητίνες ιονανταλλαγής πρέπει επίσης να διαθέτουν τα εξής χαρακτηριστικά ποιότητας προκειμένου να είναι κατάλληλες ως υλικό πλήρωσης στηλών ιοντικής χρωματογραφίας:

- Ταχύτητα ανταλλαγής των ιόντων όσο το δυνατόν μεγαλύτερη
- Χημική σταθερότητα σε ευρεία περιοχή pH
- Καλή μηχανική αντοχή και αντίσταση σε μεγάλες μεταβολές της οσμωτικής πίεσης
- Αντίσταση στην αποσύνθεση κατά την πλήρωση και την ροή της κινητής φάσης

Μια ποικιλία υλικών έχει χρησιμοποιηθεί ως υπόστρωμα ιονανταλλακτικών ρητινών. Το υλικό που κυριαρχεί πλέον στις σύγχρονες στήλες ιοντικής χρωματογραφίας είναι τα οργανικά συμπολυμερή του στυρενίου, ενώ χρησιμοποιείται και η πηκτή διοξειδίου του πυριτίου. Η χημική σταθερότητα είναι ένα σημαντικό πλεονέκτημα των οργανικών πολυμερών σε σχέση με την πηκτή διοξειδίου του πυριτίου, που παρουσιάζει ευαισθησία σε αλκαλικό περιβάλλον.[27]



### **3.1.2.3.2 Ανάκτηση πολυφαινολών με οργανικό διαλύτη**

Σε αυτό το στάδιο καταγράφεται η ανάκτηση των φαινολών με οργανικό διαλύτη καθώς και η παραλαβή διαλύματος καθαρών φαινολών και επαναχρησιμοποίηση του οργανικού διαλύτη.

Όπως έχει προαναφερθεί, τα απόβλητα έχουν υποστεί διάφορα στάδια επεξεργασίας έτσι ώστε να φτάσουμε στο σημείο να έχουμε ένα διάλυμα χωρίς περεταίρω προσμίξεις. Το διάλυμα αυτό περνάει από τις ρητίνες με σκοπό να απομονωθούν αποκλειστικά και μόνο οι φαινόλες. Στην συνέχεια ξεπλένουμε με αιθυλική αλκοόλη (αιθανόλη).

Για να υπάρχει όμως δυνατότητα ανάκτησης και παραλαβής διαλύματος καθαρής αλκοόλης και διαλύματος καθαρών φαινολών χρησιμοποιείται ένα σύστημα θερμικής επεξεργασίας υπό κενό ρυθμισμένο περίπου στους 60°C (εφόσον το σημείο ζέσεως της αιθυλικής αλκοόλης είναι 78°C), με την βοήθεια του οποίου εξατμίζεται η αλκοόλη, λαμβάνεται το φαινολικό εκχύλισμα και ανακυκλώνεται η αλκοόλη σε περίπτωση επαναχρησιμοποίησης.



Σχήμα 7: Σύστημα θερμικής εξάτμισης υπό κενό.[56]

## 4 Συζήτηση - Συμπεράσματα

Η διαχείριση των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων παραμένει ένα μεγάλο περιβαλλοντικό κυρίως πρόβλημα, κυρίως λόγω του πλούσιου περιεχομένου τους σε πολυφαινόλες οι οποίες εμφανίζουν πληθώρα περιβαλλοντικών προβλημάτων. Επειδή όμως, οι πολυφαινόλες δρουν ως ισχυρές αντιοξειδωτικές ουσίες με ευεργετικές ιδιότητες στον ανθρώπινο οργανισμό, είναι θεμιτή η κατά το δυνατόν ποσοτική λήψη τους από τα απόβλητα των ελαιοτριβείων και η εν συνεχεία χρησιμοποίησή τους στη βιομηχανία τροφίμων. Το εναπομείνων μέρος των αποβλήτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εδαφοβελτιωτικό.

Η εργασία αυτή είχε ως στόχο να επισημάνει τους τρόπους με τους οποίους μπορούν να επεξεργαστούν τα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων με σκοπό την απομόνωση των φαινολικών ενώσεων από αυτά καθώς και τις κύριες μεθόδους προσδιορισμού τους.

Παρακολουθώντας λοιπόν τις μέχρι σήμερα εξελίξεις πάνω στο συγκεκριμένο πρόβλημα μπορούμε να καταλήξουμε στα παρακάτω συμπεράσματα:

- Η συνεργασία των εκπαιδευτικών ιδρυμάτων με την βιομηχανία είναι πλέον ισχυρή απαίτηση για την εξέλιξη και εν συνεχεία των μεθόδων επεξεργασίας των αποβλήτων.
- Η διαχείριση των υγρών αποβλήτων σε βιομηχανική κλίμακα μπορεί να τεθεί ως έναρξη μιας εξαιρετικά κερδοφόρας επένδυσης στην χώρα μας.
- Η Ευρωπαϊκή Ένωση συνεχίζοντας τα προγράμματα χρηματοδότησης για την διαχείριση των αποβλήτων και για την ανάπτυξη καινοτόμων τεχνολογιών θα οδηγήσουν σε δημιουργία υψηλής τεχνολογίας διεργασιών αφενός για την ανάκτηση

φυσικών αντιοξειδωτικών αφετέρου για την παραγωγή «καθαρότερων» αποβλήτων προς χρήση εδαφοβελτιωτικών.

- Αντιοξειδωτικά όπως η βιταμίνη C, οι τοκοφερόλες, το σκουαλένιο και τα τερπενικά οξέα, επειδή βρίσκονται σε ελάχιστες ποσότητες και η απομόνωση τους καθίσταται αντιοικονομική με τα σημερινά δεδομένα, πιθανότατα στο μέλλον να μπορούν να απομονωθούν ευκολότερα και πιο οικονομικά.

## *5 Βιβλιογραφία*

- [1] Israilides C.J., A.G. Vlyssides V.N Mourafeti and G.Karvouni (1997) 'Olive oil waste water treatment with the use of an electrolysis system', *Bioresource Technology*, Vol 61, pp 163-170)
- [2] «Παρεμβάσεις στον κλάδο του ελαιολάδου» Δημήτρης Κουρέτας - Καθηγητής πανεπιστημίου Θεσσαλίας και Πρόεδρος Συμβουλίου Καινοτομίας της περιφέρειας Θεσσαλίας (Καθημερινή 25/11/2014)
- [3][http://www.efet.gr/images/efet\\_res/docs/nutrition/Hmerida/11\\_Andrikopoulos\\_Olive\\_Oil\\_Antioxidants.pdf](http://www.efet.gr/images/efet_res/docs/nutrition/Hmerida/11_Andrikopoulos_Olive_Oil_Antioxidants.pdf)
- [4] Πτυχιακή μελέτη Χριστίνας Μπαλαμώτη «Προσδιορισμός βιοδιαθεσιμότητας αντιοξειδωτικών ουσιών μετά από κατανάλωση αφεψημάτων βοτάνων της ελληνικής υπαίθρου»
- [5] <http://17lykthess.thess.sch.gr/files/antonakou/files/foodadditives/antioxidants1.htm>
- [6] Guidance for Industry, Food Labeling; Nutrient Content Claims; Definition for "High Potency" and Definition for "Antioxidant" for Use in Nutrient Content Claims for Dietary Supplements and Conventional Foods U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, June 2008
- [7] EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (2010). "Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to various food(s)/food constituent(s) and protection of cells from premature aging, antioxidant activity, antioxidant content and antioxidant properties, and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006". *EFSA Journal* **8** (2): 1489. doi:10.2903/j.efsa.2010.1489
- [8] Lotito, S; Frei, B (2006). "Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon?". *Free Radical Biology and Medicine* 41 (12): 1727–46. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2006.04.033. PMID 17157175.
- [9] David Stauth (5 March 2007). "Studies force new view on biology of flavonoids". *EurekAlert!*; Adapted from a news release issued by Oregon State University.
- [10] USDA's Database on the Flavonoid Content
- [11] Βεκιάρη ΣΑ: "Οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου και η σημασία τους στην ποιότητά του", *Χημικά Χρονικά*, Φεβρ. (2): 45-48, 2001.
- [12] Amiot M-J, Fleuriot A, Macheix J-J: "Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation", *Phytochemistry* **28**:67-69, 1989.

- [13] Brenes M, Rejano L, Garcia P, Sanchez AH, Garrido A: "Biochemical changes in phenolic compounds during Spanish-style green olive processing", *J. Agric. Food Chem.* 43:2702-2706, 1995.
- [14] Visioli F, Bellomo G, Galli C: "Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols", *Biochem. Biophys. Res Comm* **247**:60-64, 1998.
- [15] Le Tutour B, Guedon D: "Antioxidative activities of Oleaeuropeae leaves and related phenolic compounds", *Phytochemistry* **31**:1173-1178, 1992.
- [16] Fleming HP, Walter WM, Etchells JL: "Antimicrobial properties of oleuropein and products of its hydrolysis from green olives", *Appl. Microbiol* **26**:777-782, 1973.
- [17] Bisignano G, Tomaino A, Lo Cascio R, Crisafi G, Uccella N, Saija A: "On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol", *J. Pharm. Pharmacol.* **51**:971-974, 1999.
- [18] Petrov V, Manolov P: "Pharmacological analysis of the iridoidoleuropein", *Arzneim. Forsch (Drug Res.)* 6:123-130, 1972.
- [19] Papadopoulos GK, Boskou D: "Antioxidant effect of natural phenols on olive oil", *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68:669-671, 1991.
- [20] Tuck KL, Hayball PJ: "Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects", *J. Nutr. Biochem.* 13:636-644, 2002.
- [21] Owen RW, Giacosa A, Hull WE *et al*: "Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. Review", *Lancet Oncology* **1**:107-112, 2000.
- [22] Micol V, Caturla N, Perez-Fons L *et al*: "The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV)", *Antiviral Res.* 66:129-136, 2005.
- [23] Somova LI, Shode FO, Ramnanan P, Nadar A: "Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from Oleaeuropaea, subspecies africana leaves", *J Ethnopharmacol.* 84:299-305, 2003.
- [24] Benavente-Garcia O, Castillio J, Lorente J, Alcaraz M: "Radioprotective effects in vivo of phenolics extracted from Oleaeuropaea L. leaves against X-ray-induced chromosomal damage: comparative study versus several flavonoids and sulfur-containing compounds", *J. Med. Food* **5**:125-135, 2002.
- [25] [http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem\\_oleuropein.htm](http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_oleuropein.htm)



[26]

[https://www.google.gr/search?q=%CE%B5%CF%80%CE%B5%CE%B5%CE%B5%CF%81%CE%B3%CE%B1%CF%83%CE%AF%CE%B1+Folin-Ciocalteu.&espv=2&biw=1280&bih=886&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=hrHIVK-GAs3laJe7gJAE&ved=0CAYQ\\_AUoAQ#tbm=isch&q=%CF%86%CE%B1%CE%B9%CE%BD%CE%BF%CE%BB%CE%B5%CF%82+%CF%80%CF%81%CE%B1%CF%83%CE%B9%CE%BD%CE%BF+%CF%87%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%B1%5C&spell=1&imgdii=\\_&imgsrc=D-76693MD80mBM%253A%3B-iMx-yJR3ik2oM%3Bhttp%253A%252F%252Fcontent-mcdn.ethnos.gr%252Ffilesystem%252Fimages%252F20141122%252Flow%252Fassets\\_LARGE\\_t\\_420\\_54426800.JPG%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.ethnos.gr%252Farticle.asp%253Fcatid%253D22768%2526subid%253D2%2526pubid%253D64097485%3B980%3B424](https://www.google.gr/search?q=%CE%B5%CF%80%CE%B5%CE%B5%CE%B5%CF%81%CE%B3%CE%B1%CF%83%CE%AF%CE%B1+Folin-Ciocalteu.&espv=2&biw=1280&bih=886&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=hrHIVK-GAs3laJe7gJAE&ved=0CAYQ_AUoAQ#tbm=isch&q=%CF%86%CE%B1%CE%B9%CE%BD%CE%BF%CE%BB%CE%B5%CF%82+%CF%80%CF%81%CE%B1%CF%83%CE%B9%CE%BD%CE%BF+%CF%87%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%B1%5C&spell=1&imgdii=_&imgsrc=D-76693MD80mBM%253A%3B-iMx-yJR3ik2oM%3Bhttp%253A%252F%252Fcontent-mcdn.ethnos.gr%252Ffilesystem%252Fimages%252F20141122%252Flow%252Fassets_LARGE_t_420_54426800.JPG%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.ethnos.gr%252Farticle.asp%253Fcatid%253D22768%2526subid%253D2%2526pubid%253D64097485%3B980%3B424)

[27] «Παραγωγή Πολυφαινολών Υψηλής Προστιθέμενης Αξίας Από Απόβλητα Ελαιοτριβείου» Δημήτριος Τσακιδίτης&ΣΙΑ Ο.Ε.- Εργαστήριο Μηχανικής Μεταποίησης Αγροτικών Προϊόντων - Τμήμα Μηχανικής Βιοσυστημάτων)

[28] Niaounakis, M. and Halvadakis C.P., Olive Processing Waste Management -Literature Review and Patent Survey, Second Edition, Elsevier, 2006

[29] Sierra, J., Marti, E., Montserrat, G., Cruanas, R., Garau, M.A., Characterisation and evolution of a soil affected by olive oil mill wastewater disposal, *The Science of the Total Environment*, 279, 207-214, 2001.

[30] Fiestas&Borja1992, Hamdi&Ellouz1992. Κύρια φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των αποβλήτων ελαιοτριβείου.

[31] Zervakis G. & Balis C., 1996: Bioremediation of olive mill wastes water through the production of fungal biomass. In: Royse D. (ed.) *Proceedings of the Second International Conference on Mushrooms Biology and Mushrooms Products*, pp. 311-323, Pennsylvania, USA.

[32] Azbar, N., Bayram, A., Filibeli, A., Muezzinoglu, A., Sengul, F., Ozer, A., A Review of Waste Management Options in Olive Oil Production, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 34, 209–247, 2004.

[33] Kappelakis, E.I., Tsagarakis, P.K., Crowther, C.J., Olive oil history, production and by-product management, *Review Environmental Science Biotechnology*, 7, 1–26, 2008.

- [34] Tsagaraki E., Lazarides N.H., Petrotos B.K., Chapter 8, *Olive Mill Wastewater Treatment*. In: *Utilization of By-Products and Treatment of Waste in the Food Industry*, Ed. Oreopoulou, V., Russ, W., Springer, 2007.
- [35] <http://www.prosodol.gr/?q=el/node/470>
- [36] Kotsou, M., Mari, I., Lasaridi, K., Chatzipavlidis, I., Balis, C., Kyriacou, A., The effect of olive oil mill wastewater (OMW) on soil microbial communities and suppressiveness against *Rhizoctonia solani*, *Applied Soil Ecology* 26, 113–121, 2004.
- [37] D'Annibale, A., Casa, R., Pieruccetti, F., Ricci, M., Marabottini, R., *Lentinula edodes removes phenols from olive-mill wastewater: impact on durum wheat (Triticum durum Desf.) germinability*, *Chemosphere* 54, 887–894, 2004.
- [38] Vermerris, W., Nickolson, R., *Phenolic Compound Biochemistry*, Springer 2006.
- [39] Shahidi, F. and Naczki, M., *Phenolics in Food and Nutraceuticals*, CRC Press LLC, 2004.
- [40] Hamdi, M., Toxicity and Biodegradability of Olive Mill Wastewater in Batch Anaerobic Digestion, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 37, 155-163, 1992.
- [41] Μεταπτυχιακή διατριβή Άννας Αρτεμίου με θέμα «Μελέτη αντιοξειδωτικών και in vitro αντιοξειδωτικής δράσης ελαιολάδου κατά την ωρίμανση ελιών ποικιλίας Κορωνέικη»
- [42] Singleton, Vernon L.; Orthofer, Rudolf; Lamuela-Raventós, Rosa M. (1999). "[14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin–ciocalteu reagent" **299**.p. 152. doi:10.1016/S0076-6879(99)99017-1
- [43] «Μέθοδος προσδιορισμού ολικής υδροξυτυροσόλης και τυροσόλης στο παρθένο ελαιόλαδο για την υποστήριξη των απαιτήσεων του ΕΚ 432/2012 «σχετικά με τη θέσπιση καταλόγου επιτρεπόμενων ισχυρισμών υγείας» Μαστραλέξη, Άσπα Δημητρίου (2013) Σχολή Θετικών Επιστημών-Τμήμα Χημείας, Αριστοτελείο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.
- [44] [http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=search.dspPage&n\\_proj\\_id=1931](http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=search.dspPage&n_proj_id=1931)
- [45] <http://minos.pharm.uoa.gr/reportgr.pdf>
- [46] ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΩΝ -Δρ Θάλεια Λαζαρίδου -Δ/νση Περιβάλλοντος & Χωρικού Σχεδιασμού ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΙΟΝΙΩΝ ΝΗΣΩΝ

- [47] Σ. Κοντός, Π. Κουτσούκος, Χ. Παρασκευά -Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πατρών.
- [48] Borsani, R. and Ferrando, B., 1996. Ultrafiltration plant for olive vegetation waters by polymeric membrane batteries. De-salination 108, 281-286.
- [49] Sayadi, S., Allouche, N., Jaoua, M., Aloui, F., 2000. Detrimental effects of high molecular-mass polyphenols on olive mill wastewater bio treatment. Process Biochemistry 35, 725-735.
- [50] Turano, E., Curcio, S., Paola, G., M., Calabrò, V., and Iorio, G., 2002. An integrated centrifugation-ultrafiltration system in the treatment of olive mill wastewater. Journal of Membrane Science, Volume 209, Issue 2, 519-531.
- [51] Πετρωτός, Β. Κ. 1999 «Μελέτη Συμπύκνωσης Τοματοχυμού με τη Μέθοδο της Άμεσης Όσμωσης» Διδακτορική Διατριβή-Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης-Τμήμα Χημικών Μηχανικών. Θεσσαλονίκη
- [52] LIFE ENVIRONMENT PROGRAM No: LIFE 013 ENV/GR/000223-DIONYSOS
- [53] Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών «Αξιοποίηση λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας για την παραγωγή προσροφητικών υλικών κατάλληλων για τον καθαρισμό υγρών αποβλήτων» Αντρέα Καντάρου. Τμήμα Βιομηχανικής Διοίκησης και Τεχνολογίας- Πανεπιστήμιο Πειραιώς και Σχολή Χημικών Μηχανικών Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.
- [54] <http://www.labfreez.com/RE-LA-series-large-capacity>