



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΦΥΤΙΚΗΣ  
ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ  
ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΤΙΘΕΜΕΝΗΣ ΑΞΙΑΣ-  
ΚΛΑΣΙΚΕΣ ΚΑΙ ΚΑΙΝΟΤΟΜΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ**

**ΕΙΣΗΓΗΤΕΣ: ΑΣΗΜΟΜΥΤΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ (71616010)**

**ΒΛΑΧΑΚΗ ΔΕΣΠΟΙΝΑ (71616014)**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΜΑΡΙΑ ΓΙΑΝΝΑΚΟΥΡΟΥ**

**ΑΘΗΝΑ 2021**

ΓΙΑΝΝΑΚΟΥΡΟΥ ΜΑΡΙΑ

ΣΤΡΑΤΗ ΕΙΡΗΝΗ

ΤΡΙΑΝΤΗ ΜΥΡΤΩ

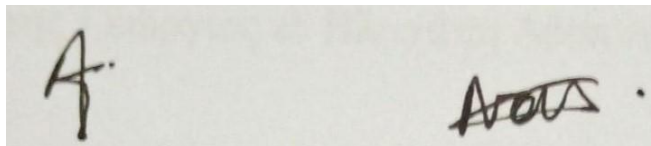
## ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένοι Ασημομύτης Γεώργιος του Δημητρίου, με αριθμό μητρώου 71616010 και η Βλαχάκη Δέσποινα του Αλέξανδρου με αριθμό μητρώου 71616014, φοιτητές του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνουν υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας της παρούσας πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο/Η Δηλών/ούσα

Ασημομύτης Γεώργιος & Βλαχάκη Δέσποινα

The image shows two handwritten signatures in black ink on a light-colored background. On the left is the signature of George Asimomitis, which appears to be 'Γ. Ασημομύτης'. On the right is the signature of Despina Vlachaki, which appears to be 'Δ. Βλαχάκη'.

## Περίληψη

Η βιομηχανία τροφίμων δημιουργεί μεγάλες ποσότητες απορριμμάτων που απαιτούν προσεκτική διαχείριση ώστε η απόρριψή τους να πραγματοποιείται με τρόπο βιώσιμο και ασφαλής για τους ανθρώπους και το οικοσύστημα. Συγκεκριμένα, οι μονάδες επεξεργασίας φρούτων και λαχανικών παράγουν τον μεγαλύτερο όγκο αποβλήτων από κάθε άλλο κλάδο της βιομηχανίας τροφίμων. Το κόστος διαχείρισης των αποβλήτων αυτών επιβαρύνει τις επιχειρήσεις σε ένα κλάδο με μικρά περιθώρια κέρδους. Συνεπώς, η σωστή αξιοποίηση των παραπροϊόντων που παράγονται μπορεί να περιορίσει το κόστος διαχείρισης ή ακόμα και να προσφέρει μια νέα πηγή εσόδων. Η σύσταση των παραπροϊόντων φρούτων και λαχανικών τα καθιστά συμφέρουσες πρώτες ύλες για την ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών ή τη μικροβιακή παραγωγή συστατικών ενδιαφέροντος. Η φύση των ανακτώμενων προϊόντων παρουσιάζει ευρεία ποικιλία, από πλαστικά και βιοκαύσιμα έως πρόσθετα τροφίμων. Σκοπός της παρούσας εργασίας αποτελεί η μελέτη των δυνατοτήτων αξιοποίησης αυτής της ανεκμετάλλευτης -σε μεγάλο βαθμό- βιομάζας. Επιπλέον, έμφαση δόθηκε σε ελληνικά προϊόντα όπως ελιές, τομάτες, εσπεριδοειδή κ.α. Ο τομέας της αξιοποίησης φυτικών παραπροϊόντων κερδίζει έδαφος στη σύγχρονη βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών, κλπ λόγω της αυξανόμενης ζήτησης των καταναλωτών για φυσικά προϊόντα τα οποία έχουν παραχθεί με βιώσιμες και φιλικές για το περιβάλλον πρακτικές.

Λέξεις κλειδιά: αξιοποίηση παραπροϊόντων φρούτων και λαχανικών, βιοκαύσιμα, καινοτόμες εκχυλίσσεις, μικροβιακή παραγωγή, διαχείριση αποβλήτων

## **Abstract**

Current food industry is producing large quantities of waste and their disposal requires special treatments in order to be sustainable and safe for humans and the ecosystem. Especially fruit and vegetable processing plants are producing the largest volume of waste compared to any other sector of the food industry. The treatment and proper disposal of the waste is an economic burden for the producer in a field where the profit margins are slim. Therefore, valorization and sustainable exploitation of the byproducts produced can minimize the cost of disposal or even provide an alternative income source. The composition of fruit and vegetables byproducts makes them a suitable raw material for the recovery of bioactive compounds or the microbial production of valuable compounds. The produced compounds can vary greatly from plastics and biofuels to food additives. The aim of this thesis is to conduct a profound investigation of the valorization capabilities of this biomass, a huge percentage of which remains un- or under-exploited. An attempt has been made to mainly focus on Greek products such as olives, tomatoes, citrus products, etc. The valorization of fruit and vegetable waste is gaining ground in the food industry mainly due to the increasing demand of consumers for natural products that have been produced with sustainable and ecofriendly practices.

Key words: fruit and vegetable waste valorization, biofuels, novel extraction techniques, microbial production, waste treatment

## Περιεχόμενα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ.....	10
1.1 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ .....	10
1.1.1 Υγειονομική Ταφή.....	10
1.1.2 Ζωοτροφές.....	12
1.1.3 Κομποστοποίηση.....	13
1.1.4 Θερμική Επεξεργασία .....	28
1.2 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ .....	32
1.2.1 Επεξεργασία Υγρών Αποβλήτων .....	36
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΑΠΟΡΙΜΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ: ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ ΚΑΙ ΚΟΜΠΟΣΤΟΠΟΙΗΣΗ.....	40
2.1 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ .....	40
2.1.1 Βιομεθάνιο.....	40
2.1.2 Βιοαιθανόλη .....	44
2.1.3 Βιοϋδρογόνο .....	49
2.2 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗ ΚΟΜΠΟΣΤΟΠΟΙΗΣΗ .....	52
2.2.1 Κομποστοποίηση με γαιοσκώληκες-Vermicomposting .....	52
2.2.2 Προεπεξεργασία της οργανικής ύλης με υδροθερμική επεξεργασία-Hydrothermal pretreatment.....	55
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΝΑΚΤΗΣΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ .....	56
3.1 ΚΛΑΣΣΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ .....	56
3.1.1 Εκχύλιση με χρήση διαλυτών - Maceration .....	56
3.1.2 Εκχύλιση με τη μέθοδο Soxhlet .....	58
3.2 ΚΑΙΝΟΤΟΜΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ.....	60
3.2.1 Εκχύλιση με μικροκύματα – Microwave Assisted Extraction .....	60
3.2.2 Εκχύλιση με υπερήχους – Ultrasound Assisted Extraction.....	64
3.2.3 Εκχύλιση με υπεγκρίσιμα ρευστά – Supercritical Fluid Extraction.....	68
3.2.4 Εκχύλιση με ρευστό υπό πίεση – Pressurized Liquid Extraction.....	70
3.2.5 Εκχύλιση με υψηλή υδροστατική πίεση – High Hydrostatic Pressure Extraction .....	74
3.2.6 Εκχύλιση με παλμικά ηλεκτρικά πεδία – Extraction by Pulsed Electric Fields .....	76
3.2.7 Ωμική θέρμανση – Ohmic Heating.....	80
3.2.8 Εκχύλιση με χρήση ηλεκτρικών εκκενώσεων υψηλής τάσης – Extraction by High Voltage Electrical Discharges .....	80
3.2.9 Ενζυμικά υποβοηθούμενη εκχύλιση - Enzyme Assisted Extraction .....	82

3.3. ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΙ ΔΙΑΛΥΤΕΣ.....	86
3.3.1 Ιοντικοί Διαλύτες - Ionic Liquids .....	86
3.3.2 Βαθέως ευτηκτικοί Διαλύτες – Deep Eutectic Solvents.....	87
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ.....	89
4.1 ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΠΡΩΤΕΙΝΗ .....	89
4.2 ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ .....	92
4.2.1 Κιτρικό οξύ.....	92
4.2.2 Γαλακτικό οξύ .....	96
4.3 ΠΟΛΥ(ΥΔΡΟΞΥ ΑΛΚΑΝΟΪΚΟΙ) ΕΣΤΕΡΕΣ ΡΗΑ.....	98
4.4 ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΚΥΤΤΑΡΙΝΗ .....	100
4.5 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΝΖΥΜΩΝ ΑΠΟ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ.....	102
4.6 ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ .....	106
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΚΑΙ ΟΙ ΚΥΡΙΟΤΕΡΕΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΟΥΣ.....	108
5.1 ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ .....	108
5.1.1 Φαινολικά συστατικά .....	108
5.1.2 Καροτενοειδή .....	110
5.1.3 Διαιτητικές ίνες .....	110
5.1.4 Πηκτίνες .....	111
5.1.5 Τοκοφερόλες .....	111
5.1.6 Τερπένια .....	113
5.1.7 Στιλβένια .....	113
5.2 ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΕΣ ΠΟΥ ΕΝΤΟΠΙΖΟΝΤΑΙ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ.....	114
5.2.1 Παραπροϊόντα ελαιουργίας .....	114
5.2.2 Παραπροϊόντα τομάτας .....	119
5.2.3 Παραπροϊόντα πορτοκαλιών .....	124
5.2.4 Παραπροϊόντα μήλου .....	128
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	132

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ετησίως, 1,3 δισεκατομμύρια τόνοι των παραγόμενων τροφίμων παγκοσμίως απορρίπτεται, με το 14% των απωλειών να πραγματοποιείται σε στάδιο πριν το εμπόριο όπως στη συγκομιδή [2]. Ως τρόφιμο μπορεί να χαρακτηριστεί κάθε ουσία επεξεργασμένη ή μη η οποία προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση (FAO,2019). Απόβλητα και απορρίμματα τροφίμων ορίζονται τα υλικά τα οποία η μόνη βιομηχανική τους χρήση είναι η απόρριψη (και ανάκτηση) και παράγονται κατά την παραγωγή, συγκομιδή, αποθήκευση, επεξεργασία, διανομή και κατανάλωση (αλυσίδα εφοδιασμού τροφίμων). Τα συνηθέστερα αίτια για την σπατάλη και απόρριψη τροφίμων περιλαμβάνουν την καθυστερημένη ή και τη μη ορθή συγκομιδή των φρούτων και λαχανικών, τις ακατάλληλες συνθήκες αποθήκευσής τους, την επεξεργασία τους, την περιορισμένη διάρκεια ζωής τους σε επίπεδο εμπορίου καθώς και την μη ικανοποίηση ορισμένων αισθητικών προτύπων που πρέπει να τηρούνται και, τέλος, την αγορά από τους καταναλωτές μεγαλύτερης ποσότητας τροφίμων από αυτή που μπορούν να καταναλώσουν (FAO,2019). Τα απόβλητα τροφίμων, σύμφωνα με την ευρωπαϊκή επιτροπή μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις κατηγορίες [1]: απώλειες κατά την παραγωγή, αναπόφευκτες απώλειες κατά την κατανάλωση πχ φλούδες, κοτσάνια και αποφευκτές απώλειες όπως προϊόντα που θα μπορούσαν να είχαν καταναλωθεί. Η Διεθνής Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας το 2019 προσπάθησε να ορίσει και να διαχωρίσει τους όρους απώλεια και σπατάλη τροφίμων. Έτσι, η απώλεια τροφίμων (food loss) πραγματοποιείται σε όλη την έκταση της αλυσίδας εφοδιασμού τροφίμων από τη συλλογή μέχρι το εμπόριο, χωρίς όμως αυτό να περιλαμβάνεται. Η σπατάλη τροφίμων (food waste) συμβαίνει στο επίπεδο του εμπορίου και της κατανάλωσης των προϊόντων. Σημαντικό είναι να αναφερθεί πως τα μη εδώδιμα κομμάτια δεν μπορούν να χαρακτηριστούν ούτε απώλεια αλλά ούτε σπατάλη (FAO,2019). Τα απορρίμματα φυτικής προέλευσης περιλαμβάνουν κυρίως φλούδες, κοτσάνια, σπόρους, πούλπα, υπολείμματα των προς επεξεργασία φρούτων και λαχανικών. Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή έχει εκδώσει οδηγίες (Οδηγία 2008/98/ΕΚ) σχετικά με την απόρριψη και ορθή διαχείριση των αποβλήτων και απορριμμάτων τροφίμων και βασίζεται στην ιεραρχία [2]: μείωση, επαναχρησιμοποίηση και επαναδιάθεση, χρήση ως ζωοτροφή, κομποστοποίηση, χρήση για παραγωγή ενέργειας και απόρριψη σε χωματερές. Η οδηγία ορίζει πως η διαχείριση των αποβλήτων πρέπει να πραγματοποιείται με τεχνικές τέτοιες ώστε να μη δημιουργούνται κίνδυνοι για το φυσικό περιβάλλον (νερό, αέρας, έδαφος, χλωρίδα,



πανίδα) και παράλληλα να μη δημιουργούνται οσμές και θόρυβοι που προκαλούν ενόχληση. Οι συνηθέστερες τεχνικές διαχείρισης των απορριμμάτων είναι: (α) η απόρριψη σε χωματερές/υγειονομική ταφή η οποία διέπεται από ξεχωριστή νομοθεσία, (β) η χρήση των απορριμμάτων ως ζωοτροφές, (γ) η κομποστοποίηση και η κομποστοποίηση με χρήση γαιοσκωλήκων, (δ) η θερμική επεξεργασία (αποτέφρωση, πυρόλυση, αεριοποίηση) (ε) παραγωγή βιοκαυσίμων (βιομεθάνιο, βιοαιθανόλη, βιοϋδρογόνο). Εκτός των τεχνικών διαχείρισης και δεδομένου πως αυτά τα παραπροϊόντα είναι πλούσια σε βιοδραστικά συστατικά υπάρχουν και τεχνικές με τις οποίες τα συστατικά αυτά μπορούν να ανακτηθούν και να εφαρμοστούν στη σύγχρονη βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών, φαρμάκων. Ως παραπροϊόν ή υποπροϊόν ορίζεται κάθε ουσία ή αντικείμενο που προκύπτει από διαδικασία παραγωγής, πρωταρχικός σκοπός της οποίας δεν είναι η παραγωγή της εν λόγω ουσίας ή του εν λόγω αντικειμένου και δε θεωρείται απόβλητο. Ως βιοδραστικά ονομάζονται τα συστατικά εκείνα που συχνά εμφανίζονται ως δευτερογενής μεταβολίτες σε φυτά και παρουσιάζουν στον ανθρώπινο οργανισμό φαρμακευτικές δράσεις. Η ανάκτηση αυτών των συστατικών μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με κλασικές τεχνικές εκχύλισης (με διαλύτες, Soxhlet) είτε με καινοτόμες τεχνικές (χρήση μικροκυμάτων, υπερήχων, υπερκρίσιμων ρευστών, ρευστών υπό πίεση, υψηλής υδροστατικής πίεσης, παλμικών ηλεκτρικών πεδίων, ωμικής θέρμανσης, ηλεκτρικών εκκενώσεων υψηλής τάσης, ενζύμων). Πολύτιμα για τη βιομηχανία όμως δεν είναι μόνο όταν πρόκειται να εκχυλιστούν για παραλαβή συστατικών αλλά και ως πρώτη ύλη για μικροβιακή παραγωγή διάφορων συστατικών όπως πρωτεϊνών, οργανικών οξέων, βιοπλαστικών και ενζύμων. Τελικά, και εφόσον απόβλητα και απορρίμματα πλούσια σε βιοδραστικά συστατικά εντοπίζονται σε όλες τις σύγχρονες βιομηχανίες επεξεργασίας φρούτων και λαχανικών, μπορούν επιτυχώς, μετά από κατάλληλη επεξεργασία, να εφαρμοστούν στη σύγχρονη βιομηχανία τροφίμων προς δημιουργία λειτουργικών τροφίμων, τροφίμων δηλαδή εμπλουτισμένων με τα βιοδραστικά συστατικά. Η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια Τροφίμων όρισε ως λειτουργικά τρόφιμα τα τρόφιμα που αποδεικνύεται επιτυχώς ότι εκτός από την επαρκή κάλυψη των διατροφικών αναγκών, επιδρούν θετικά σε έναν ή περισσότερους λειτουργικούς στόχους του οργανισμού, για τη βελτίωση της υγείας είτε τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης ασθενειών [5].

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Στις επόμενες παραγράφους θα αναλυθούν συνοπτικά οι συμβατικές τεχνικές διαχείρισης στερεών απορριμμάτων (υγειονομική ταφή, χρήση τους ως ζωοτροφές, κομποστοποίηση και θερμική επεξεργασία) και υγρών αποβλήτων που χρησιμοποιούνται εκτενώς στις μέρες μας.

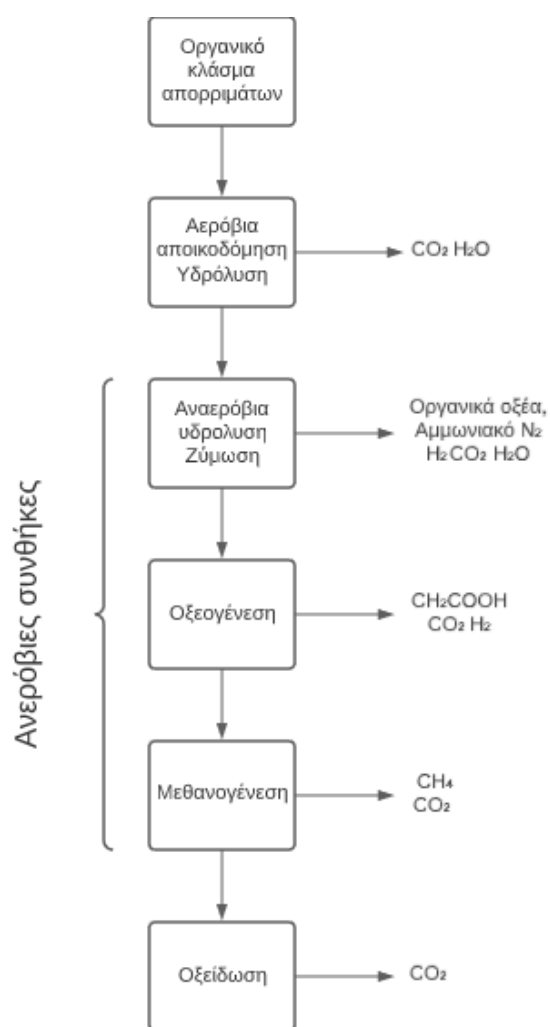
### 1.1 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

#### 1.1.1 Υγειονομική Ταφή

Η απόρριψη σε χωματερές είναι από τις πιο συνήθεις μεθόδους διαχείρισης στέρεων απορριμμάτων. Τα στερεά απορρίμματα απορρίπτονται σε φυσικούς ή τεχνητούς χώρους και στην συνέχεια αποικοδομούνται από μικροοργανισμούς [2]. Παλαιότερα η απόρριψη σε χωματερές γινόταν ανεξέλεγκτα, πλέον όμως έχει ως επί το πλείστον αντικατασταθεί από την υγειονομική ταφή η οποία θεσπίζει συγκεκριμένους ποσοτικούς στόχους για την μείωση της ποσότητας των βιοαποικοδομήσιμων αποβλήτων που οδηγούνται προς ταφή. Στους χώρους υγειονομικής ταφής η απόρριψη γίνεται σε ειδικά διαμορφωμένες εκτάσεις γης [6].

Η διαδικασία αποικοδόμησης στους χώρους απόρριψης αποτελείται από 5 στάδια (Σχήμα 1.1) [5]:

- 1) Υδρόλυση/αερόβια χώνευση
- 2) Υδρόλυση και ζύμωση
- 3) Οξεογένεση
- 4) Μεθανογένεση



Σχήμα 1.1: Στάδιο αποικοδόμησης

## 5) Οξείδωση

Οι οργανικές ενώσεις υδρολύονται και διασπώνται από αναερόβιους μικροοργανισμούς με αποτέλεσμα την παραγωγή μεθανίου και διοξειδίου του άνθρακα. Τα αέρια αυτά απελευθερώνονται στην ατμόσφαιρα και συμβάλουν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου. Μια λύση είναι η συλλογή του παραγόμενου αερίου και η χρήση του ως καύσιμη ύλη για την παραγωγή ενέργειας. Ωστόσο η απόδοση είναι μικρότερη σε σύγκριση με την ελεγχόμενη μεθανογένεση διότι: (α) οι συνθήκες παραγωγής είναι ανεξέλεγκτες και (β) τα λιγνοκυτταρικά συστατικά των αποβλήτων δε χωνεύονται σε αναερόβιες συνθήκες δίχως προεπεξεργασία [4].

Ένα ακόμα πρόβλημα είναι ο σχηματισμός διασταλαγμάτων (leachates): το νερό της βροχής διαπερνάει τα απορρίμματα παρασύροντας οργανική ύλη, ανόργανα άλατα, βαρέα μέταλλα και άλλους ρυπογόνους παράγοντες, τα οποία συσσωρεύονται στη βάση του χώρου απόρριψης και πιθανώς θα περάσουν στον υδροφόρο ορίζοντα. Τα διασταλάγματα αυτά θα πρέπει να διαχειρίζονται σε κατάλληλες υποδομές. Ανάλογα με τη σύσταση των διασταλαγμάτων, η οποία καθορίζεται από πληθώρα παραγόντων, η επεξεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί σε μονάδες διαχείρισης αστικών λυμάτων. Σε αντίθετη περίπτωση είναι αναγκαία η επεξεργασία σε ειδικές εγκαταστάσεις [1,2].

Οι βασικές παράμετροι των διασταλαγμάτων είναι το απαιτούμενο βιοχημικά και χημικά οξυγόνο (BOD και COD αντίστοιχα), θρεπτικά άλατα αζώτου και φωσφόρου, το pH και αιωρούμενα σωματίδια [3]. Αναγκαία πριν από την απόθεση των διασταλαγμάτων σε φυσικούς αποδέκτες είναι η αφαίρεση οργανικών ουσιών με βάση το BOD, COD και τα θρεπτικά άλατα. Σε γενικές γραμμές παρατηρούνται υψηλές τιμές COD, pH και αζώτου στα διασταλάγματα αποβλήτων τροφίμων, όμως, υπάρχει μεγάλη διακύμανση των χαρακτηριστικών παραμέτρων κάνοντας την επεξεργασία περίπλοκη [4].

Οι μέθοδοι διαχείρισης μπορούν να διαχωριστούν σε βιολογικές και φυσικοχημικές. Οι βιολογικές μέθοδοι είναι απλές και δεν παρουσιάζουν υψηλά λειτουργικά έξοδα. Η εξουδετέρωση των διασταλαγμάτων μέσω βιοαποικοδόμησης μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε αναερόβια προς  $\text{CO}_2$ , είτε αερόβια προς μίγμα  $\text{CO}_2$  και  $\text{CH}_4$  [3]. Οι φυσικοχημικές μέθοδοι μειώνουν τα αιωρούμενα σωματίδια και τις τοξικές ουσίες με μεθόδους είτε διαχωρισμού όπως εξάτμιση, πήξη, επίπλευση και αντιστροφή ώσμωση είτε μέσω χημικής εξουδετέρωσης, συνήθως οξείδωσης. Καθώς κάποιες ουσίες μπορούν μόνο έτσι να διαχωριστούν και επειδή οι διαδικασίες διαχωρισμού παράγουν συμπύκνωμα ρίπων με

υψηλό κόστος διαχείρισης, συνήθως απαιτείται συνδυασμός μεθόδων διαχωρισμού και εξουδετέρωσης, είτε χημικής είτε βιολογικής. Στις μέρες μας, μεγάλη χρήση παρουσιάζει το υβριδικό σύστημα μεμβρανών αντίστροφης ώσμωσης και βιοαντιδραστήρων μεμβράνης [3,7].

Η απόρριψη σε χωματερές έχει υψηλό αντίκτυπο στο περιβάλλον κυρίως λόγω της μεγάλης συγκέντρωσης σε βιοδιασπώμενες ενώσεις, την παραγωγή του ρυπογόνου διασταλάγματος, της παραγωγής μεθανίου και την πιθανή διασπορά ασθνειών [1]. Αν και η υγειονομική ταφή περιορίζει κάποιες από αυτές τις συνέπειες, αποτελεί μια μη βιώσιμη προσέγγιση.

### **1.1.2 Ζωοτροφές**

Μια από τις πιο συνηθισμένες τεχνικές διαχείρισης οργανικών αποβλήτων αποτελεί η χρήση τους ως ζωοτροφές. Παλαιότερα, δεν πραγματοποιούνταν προ επεξεργασία ενώ στη σημερινή κοινωνία κάτι τέτοιο είναι απαραίτητο προς θανάτωση όλων των παθογόνων και τελικά, χρήση μιας ασφαλούς ζωοτροφής [2]. Η προ επεξεργασία συνήθως περιλαμβάνει τη διαλογή, τον τεμαχισμό, την αφυδάτωση και τελικά ξήρανση των αποβλήτων ενώ θερμική, ενζυμική και χημική επεξεργασία εφαρμόζεται σε απόβλητα που μπορεί να περιέχουν παθογόνα ή δύσπεπτα συστατικά. Είναι σημαντικό να τονίσουμε πως η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει απαγορεύσει την χρήση των οργανικών αποβλήτων και γενικότερα αποβλήτων τροφίμων ως ζωοτροφή [13]. Συγκεκριμένα, από τα περίπου 90 εκατομμύρια τόνους αποβλήτων τροφίμων ετησίως, μόνο τα τρία εκατομμύρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ζωοτροφή [14]. Παρόλα αυτά σε άλλες χώρες όπως το Μεξικό, η Ινδία και η Κίνα, που βασίζονται στην κτηνοτροφία, η τεχνική αυτή όχι μόνο δεν απαγορεύεται αλλά και ενθαρρύνεται από τους τοπικούς νόμους αφού είναι απλή και σχετικά οικονομική. Έτσι, εξοικονομούν πόρους που θα σπαταλούσαν για τη σίτιση των ζώων και συμβάλλουν σε ένα βαθμό στην πρόληψη της κλιματικής αλλαγής, αφού τα απόβλητα δεν απορρίπτονται σε χωματερές με ποικίλες συνέπειες στο περιβάλλον [12]. Συχνά όμως, καθίσταται ως μη βιώσιμη τεχνική καθώς τόσο η μεταφορά, αποθήκευση αλλά και επεξεργασία των αποβλήτων αυξάνουν το κόστος της διαδικασίας. Επίσης, όλα τα ζώα δεν μπορούν να μεταβολίσουν όλων των ειδών τα απόβλητα και πρέπει η χρήση τους να γίνεται με προσοχή καθώς αρκετά από αυτά μπορεί να περιέχουν ακατάλληλα και τοξικά για τα ζώα συστατικά που μπορεί να μεταδώσουν ακόμα και ασθένειες.

Ενδεικτικά, θα αναφερθούμε σε ορισμένα απόβλητα γεωργικής παραγωγής που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ζωοτροφή:

- υγρά απόβλητα χυμού λεμονιού υποβάλλονται σε ενζυμική επεξεργασία με αποτέλεσμα να παράγεται ευκολόπεπτη ζωοτροφή, πλούσια σε πρωτεΐνη [9]
- ωμές αγκινάρες
- στερεά απόβλητα ελαιουργείων (olive cake), πλούσια σε ελαιόλαδο, υδατάνθρακες και πρωτεΐνες αποτελούν εξαιρετική ζωοτροφή. Χημικές επεξεργασίες απαιτούνται προς μείωση συγκέντρωσης φαινολικών και καλίου που δυσκολεύουν την πέψη [10]
- πούλπα μήλων
- πούλπα τομάτας και σπόρων
- φλούδες μπανάνας [11]
- στέμφυλα από οينوποιεία
- στερεά απόβλητα φλούδας ανανά
- ωμό λάχανο
- ωμό κουνουπίδι
- ωμά καρότα
- ωμά παντζάρια
- εξωτερικά φύλλα και πυρήνας λάχανου

Ωστόσο, τα περισσότερα από αυτά τα απόβλητα πλέον χρησιμοποιούνται προς ανάκτηση συστατικών υψηλής προστιθέμενης αξίας και βιοδραστικών ουσιών όπως αντιοξειδωτικά, φαινόλες, διαιτητικές ίνες, καροτενοειδή κλπ., κάτι που θα συζητηθεί εκτενώς σε επόμενη ενότητα.

### **1.1.3 Κομποστοποίηση**

Κομποστοποίηση ονομάζεται η βιολογική αερόβια διαδικασία κατά την οποία οργανικά απόβλητα μετατρέπονται από μικροοργανισμούς υπό κατάλληλες συνθήκες αερισμού και υγρασίας σε μια σταθερή, υψηλής αξίας εδαφοβελτιωτική ουσία που ονομάζεται κομπόστ. Αποτελεί διαδικασία ανακύκλωσης βιοαποικοδομήσιμων αποβλήτων, μάρκο και μικροθρεπτικών συστατικών και οργανικής ύλης. Είναι φιλική προς το περιβάλλον, καθώς μπορεί να αντικαταστήσει την απόρριψη σε χωματερές αφού παράγει μειωμένες εκπομπές μεθανίου που συμβάλλουν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου, λιγότερα εκπλύματα αλλά και ταυτόχρονα μειωμένο όγκο αποβλήτων [19]. Πρόκειται για μέθοδο

διαχείρισης απορριμμάτων με χαμηλό κόστος, εύκολο χειρισμό και αποτελεσματική ανάκτηση θρεπτικών [2]

Τα απόβλητα φυτικής παραγωγής μπορούν να παραχθούν σε όλα τα βήματα της αλυσίδας εφοδιασμού τροφίμων περιλαμβάνοντας την παραγωγή, επεξεργασία, διανομή, αποθήκευση, πώληση, προετοιμασία, και μαγείρεμα των προϊόντων [16]. Από άποψη σύστασης τα βιομηχανικά απορρίμματα φρούτων και λαχανικών περιλαμβάνουν τα υπολείμματα συγκομιδής και παραπροϊόντα επεξεργασίας όπως φλούδες, κουκούτσια, κοτσάνια, στέμφυλα τα οποία είναι πλούσια σε άμυλο, κυτταρίνη και ημικυτταρινικές ενώσεις, πρωτεΐνη, σάκχαρα, λιπίδια, διαιτητικές ίνες, βιοδραστικά συστατικά, μεταλλικά στοιχεία, ανόργανα συστατικά, φυτοχημικές ουσίες και, τέλος, έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία [15]. Όλα τα παραπάνω εξασφαλίζουν καλή πρώτη ύλη για τη διαδικασία της κομποστοποίησης έτσι ώστε το παραγόμενο κομπόστ να είναι ασφαλές και θρεπτικό. Οργανικά απόβλητα που περιέχουν πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs), πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAHs), διοξίνες, ζιζανιοκτόνα, βαρέα μέταλλα καθώς και γυαλιά, πλαστικό ή άλλο προϊόν συσκευασίας παράγουν ακατάλληλο κομπόστ το οποίο εν τέλει μολύνει το έδαφος [19].

### *Στάδια*

Γενικά, η διαδικασία της κομποστοποίησης είναι αερόβια και βασίζεται στην εξώθερμη οξείδωση της στερεής οργανικής ύλης από πληθώρα μικροοργανισμών [19]. Διακρίνεται σε δύο στάδια: το στάδιο της αποσύνθεσης που περιλαμβάνει τρεις φάσεις (μεσόφιλη, θερμόφιλη και φάση ηρεμίας) και το στάδιο της ωρίμανσης. Το πρώτο στάδιο χαρακτηρίζεται από μικροβιολογική δραστηριότητα που οδηγεί στην αποσύνθεση των βιοδιασπώμενων συστατικών τα οποία κατά την διάρκεια του δεύτερου σταδίου θα αναδιοργανωθούν και θα σχηματίσουν το χούμους (humification) [18].

Η αρχική μεσόφιλη φάση διαρκεί από μια έως τρεις ημέρες και χαρακτηρίζεται από την αποσύνθεση απλών συστατικών όπως σάκχαρα και πρωτεΐνες από μικροοργανισμούς που αναπτύχθηκαν στη σωρό των αποβλήτων [19]. Η αποσύνθεση αυτή πραγματοποιείται από βακτήρια και μύκητες και έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας στους 40 °C . Επίσης παρατηρείται πτώση του pH λόγω των οργανικών οξέων που απελευθερώνονται [18].

Έπειτα, ανταγωνιστικοί θερμοφιλοι μικροοργανισμοί αντικαθιστούν εντελώς τους μεσόφιλους και συνεχίζουν την αποικοδόμηση συστατικών όπως λίπη, κυτταρίνη ημικυτταρίνη και λιγνίνη με ταχύ ρυθμό και τελικά οδηγούν σε αύξηση της θερμοκρασίας στους 62°C [28]. Παράγεται θερμότητα καθώς η διαδικασία είναι εξώθερμη και μπορεί να παρατηρηθεί αύξηση της θερμοκρασίας μέχρι και τους 80 °C. Ωστόσο, όλη η έκταση της σωρού δεν έχει ταυτόχρονα την ίδια θερμοκρασία για αυτό πρέπει να πραγματοποιείται τακτική ανάδευση και ανακατανομή της σωρού ώστε όλα τα μέρη του υποστρώματος να μετακινούνται προς το κέντρο που έχει την υψηλότερη θερμοκρασία [28]. Η οξειδωση της οργανικής ύλης από τους μικροοργανισμούς παρέχει ενέργεια και άτομα άνθρακα τα οποία συμβάλλουν στην κυτταρική παραγωγή και ανάπτυξη και επίσης παράγει διοξείδιο του άνθρακα, μεθάνιο και νερό. Παρατηρείται αύξηση του pH λόγω της αποικοδόμησης πρωτεϊνικών ενώσεων και απελευθέρωση αμμωνίας αλλά και της μετατροπής των οργανικών οξέων σε διοξείδιο του άνθρακα και μεθάνιο. Οι εκπομπές που συμβάλλουν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου είναι ελάχιστες [19]. Αυτή η φάση παίζει καθοριστικό ρόλο στην καθαρότητα του κομποστ. Κατά τη διάρκεια της, παθογόνα φυτών καταστρέφονται, ζιζάνια, παράσιτα και έντομα σκοτώνονται και παράγονται αντιβιοτικά από συγκεκριμένη ομάδα μικροοργανισμών, τα ακτινοβακτήρια. Η θερμοφιλή φάση είναι ενδεικτική της αποδόμησης αλλά και σταθεροποίησης της αρχικής οργανικής ύλης [28].

Στην συνέχεια, η εξάντληση των αποικοδομήσιμων υποστρωμάτων οδηγεί σε μειωμένη μικροβιακή δραστηριότητα και τελικά πτώση της θερμοκρασίας. Μεσόφιλοι μικροοργανισμοί εμφανίζονται ξανά είτε λόγω σπορίων που είχαν επιβιώσει, είτε μέσω εξωτερικής παρέμβασης (εμβολιασμός). Σε αυτή τη φάση της ηρεμίας τα κύρια συστατικά που αποικοδομούνται είναι τα ανθεκτικά συστατικά όπως άμυλο, λιγνοκυτταρινικά συστατικά, κυτταρίνη και ημικυτταρίνη. Η αυξημένη μικροβιακή δραστηριότητα και ανάπτυξη οδηγεί σε αύξηση της θερμοκρασίας. Σταδιακά, ο διαθέσιμος άνθρακας καταναλώνεται και η αναλογία C/N μειώνεται οπότε το άζωτο δε διαφεύγει υπό τη μορφή αέριων εκπομπών. Σε αυτή τη φάση παρατηρούνται εκπομπές υποξειδίου του αζώτου και μεθανίου [19].

Σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος πραγματοποιείται το τελευταίο στάδιο, αυτό της ωρίμανσης, όπου: δε συμβαίνει αναθέρμανση της σωρού, υπάρχει σταθεροποίηση της μικροβιακής χλωρίδας και τελικά σχηματισμός του χούμους [19]. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης η μικροβιακή δραστηριότητα είναι περιορισμένη όπως περιορισμένα είναι και

τα αποικοδόμησιμα υποστρώματα, με αποτέλεσμα μύκητες να αποικοδομούν με αργό ρυθμό τα πιο ανθεκτικά λιγνοκυτταρικά συστατικά. Εν τέλει το κομπόστ σταθεροποιείται και το περισσότερο από το άζωτο μετατρέπεται σε νιτρικό άλας (nitrate). Κατά την ωρίμανση το ιδανικό ποσοστό υγρασίας είναι 45-50% και διαρκεί τουλάχιστον 4 εβδομάδες. Ωστόσο όσο περισσότερο διαρκεί τόσο πιο πετυχημένη θα είναι η διαδικασία της μετατροπής της οργανικής ύλης σε χούμους [19]

#### *Μικροβιακή χλωρίδα [28]*

Κατά τα πρώτα στάδια της αποσύνθεσης, τα βακτήρια και οι μύκητες ανταγωνίζονται για τα εύκολα αποικοδόμησιμα υποστρώματα, με τους μύκητες να επικρατούν (Πίνακας 1.1). Δεν είναι θερμοανθεκτικοί και απαιτούν υψηλή παροχή οξυγόνου για να επιβιώσουν. Ωστόσο, προς το τέλος της διαδικασίας όπου επιμένει η παρουσία κυτταρίνης και λιγνίνης (δύσκολα αποικοδόμησιμα) οι μύκητες επικρατούν ξανά. Σημαντικό είναι να αναφέρουμε πως αυτό ευνοείται από την πτώση που έχει επέλθει στα επίπεδα της υγρασίας. Οι πιο συχνά εμφανίσιμοι μύκητες είναι των οικογενειών: *Zygomycetes*, *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*.

Σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 60°C, τα βακτήρια καταναλώνουν το 40% των στερεών υποστρωμάτων στις πρώτες επτά ημέρες. Σε θερμοκρασίες από 50-65°C κυριαρχούν τα βακτήρια του γένους *Bacillus*, ενώ σε υψηλότερες το πιο συχνά εμφανίσιμο είναι το *B. Stearothermophilus*.

Στο επόμενο στάδιο της κομποστοποίησης, αφού δηλαδή τα εύκολα αποικοδόμησιμα υποστρώματα έχουν εξαντληθεί εμφανίζονται τα ακτινοβακτήρια (*Actinobacteria*). Οι ιδανικές συνθήκες ανάπτυξής τους περιλαμβάνουν: ουδέτερο έως ελαφρά βασικό pH, θερμοκρασίες από 50-60 °C, ικανοποιητική παροχή οξυγόνου και νωπό υπόστρωμα.

Σε οργανικά υποστρώματα και θερμοκρασίες από 40-80°C (με ιδανικές ανάπτυξης 65-75°C) εμφανίζονται τα βακτήρια της οικογένειας *Thermus/Deinococcus*.



**Πίνακας 1.1: Μικροβιακή Χλωρίδα Κομποστοποίησης [28]**

Μικροοργανισμός	Στάδιο Εμφάνισης	Απαιτούμενο Υπόστρωμα	Ιδανικές συνθήκες
Μύκητες	Αποσύνθεσης	Σάκχαρα, πρωτεΐνες	Μεσόφιλες, υψηλές απαιτήσεις σε O <sub>2</sub>
Μύκητες	Ωρίμανσης	Λιγνίνη, κυτταρίνη	Μεσόφιλες, χαμηλή περιεκτικότητα υγρασίας
Βακτήρια	Αποσύνθεσης	Λίπη, κυτταρίνη, ημικυτταρίνη	Θερμόφιλες

#### *Παράγοντες κομποστοποίησης*

Κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης οι μικροοργανισμοί διασπών τις οργανικές ενώσεις έτσι ώστε να αποκτήσουν την απαιτούμενη ενέργεια για τον μεταβολισμό αλλά και να προσλάβουν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξή τους. Τα πιο σημαντικά από αυτά τα θρεπτικά συστατικά είναι ο άνθρακας ( C ) και το άζωτο ( N ). Ο άνθρακας είναι πηγή ενέργειας, ενώ το άζωτο είναι απαραίτητο για τη σύνθεση αμινοξέων, πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων [18,28]. Ο λόγος C/N αποτελεί μέτρο του βαθμού αποσύνθεσης βασισμένο στη μετατροπή του άνθρακα σε διοξείδιο του άνθρακα [22,27]. Περιορίζοντας τις ποσότητες του αζώτου μειώνεται και ο βαθμός κατανάλωσης του άνθρακα ενώ με περίσσεια αζώτου υπάρχει εκπομπή αέριας αμμωνίας ( NH<sub>3</sub> ). Με άλλα λόγια, μεγάλος λόγος συνδέεται με έλλειψη θρεπτικών για τους μικροοργανισμούς και αργή εξέλιξη αποσύνθεσης της οργανικής ύλης, ενώ μικρός λόγος συνδέεται με φυτοτοξικότητα και απελευθέρωση ανεπιθύμητων ενώσεων όπως οσμές και βασικά άλατα που καθιστούν το έδαφος ακατάλληλο για καλλιέργεια. Καθώς η διαδικασία της κομποστοποίησης προχωράει, ο λόγος C/N μειώνεται αφού ο ρυθμός αποσύνθεσης του άνθρακα είναι ταχύτερος από το βαθμό αποδόμησης/ανοργανοποίησης (mineralization) του αζώτου. Ο βέλτιστος αρχικός λόγος κυμαίνεται από 25-30, συχνά έχει αναφερθεί και λόγος 20-40. Ωστόσο εάν το αρχικό μείγμα έχει χαμηλότερες τιμές από αυτές διορθώνεται με προσθήκη διογκωτικών υλών όπως άχυρο, χαρτί ή και χαρτόνι, πριονίδι, γάστρες ρυζιού, τσόφλια από φιστίκια, ενώ εάν έχει μεγαλύτερες, διορθώνεται με προσθήκη λάσπης λυμάτων [6]. Συνήθως, τα απόβλητα φρούτων έχουν υψηλότερο λόγο

C/N (19-53%) σε σχέση με αυτόν των λαχανικών (10-21%). Τα απόβλητα ελαιουργείων έχουν χαμηλή διαθεσιμότητα σε άζωτο, για αυτό ως διογκωτική ύλη προτείνεται η κοπριά [12].

Η υγρασία είναι μια παράμετρος που επηρεάζει άμεσα τους μικροοργανισμούς που συμμετέχουν στην κομποστοποίηση καθώς όπως όλοι οι ζώντες οργανισμοί χρησιμοποιούν το νερό για τη μεταφορά των απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων για τις φυσιολογικές και μεταβολικές δραστηριότητές τους. Γενικά, μια σωρός με οργανικά απόβλητα παρουσιάζει δύο ειδών υγρασία. Η πρώτη είναι σε μορφή ενός υγρού φιλμ γύρω από τα οργανικά σωματίδια (στερεό κλάσμα) ενώ η δεύτερη πρόκειται για το νερό σε μορφή ατμών εντός των πόρων της σωρού. Οι πόροι αυτοί παίζουν σημαντικό ρόλο στην οξυγόνωση και γενική κυκλοφορία του αέρα εντός της σωρού [18]. Η βέλτιστη περιεκτικότητα υγρασίας για συγκεκριμένο υπόστρωμα καθορίζεται από το ποσοστό των πόρων που δεν παρεμποδίζει τη ροή του αέρα που απαιτείται για τη δραστηριότητα των μικροοργανισμών και συνήθως κυμαίνεται από 30-36%. Ιδανικά, τα αρχικά επίπεδα υγρασίας θα πρέπει να κυμαίνονται από 40-65%. Χαμηλή αρχική υγρασία, λιγότερο του 30%, μπορεί να οδηγήσει σε ταχεία αφυδάτωση της σωρού με αποτέλεσμα την παύση της βιολογικής διεργασίας καθώς μπορεί η οξυγόνωση να είναι ταχεία αλλά ο εφοδιασμός των μικροοργανισμών με θρεπτικά στοιχεία περιορισμένος. Έτσι, ο χρόνος της κομποστοποίησης είναι μεγάλος και το τελικό προϊόν είναι φυσικά σταθερό αλλά βιολογικά μη κατάλληλο για χρήση. Αντιθέτως, υψηλές αρχικές περιεκτικότητες σε υγρασία, πάνω από 80%, οδηγούν σε περιορισμένη διακίνηση οξυγόνου, μικρό βαθμό βιοαποικοδόμησης και τελικά αναερόβιες συνθήκες με παραγωγή δυσάρεστων οσμών. Η σταθεροποίηση της υγρασίας είναι μια απαιτητική διαδικασία ειδικά εάν η κομποστοποίηση πραγματοποιείται σε ανοιχτό περιβάλλον. Έτσι, σε περιπτώσεις που η σωρός δεν έχει εξ αρχής τα απαιτούμενα ποσοστά υγρασίας η ρύθμιση τους επιτυγχάνεται με τους εξής τρόπους: διαβροχή σε περιπτώσεις χαμηλής υγρασίας, ανάμιξη με ξηρό υλικό και αύξηση του αερισμού σε περιπτώσεις υψηλής υγρασίας, κάλυψη της σωρού και προσθήκη διογκωτικών υλών [6]. Για παράδειγμα, στερεά υπολείμματα (pomace) και ιλύς (sludge) που προέρχονται από φρούτα αναμιγνύονται με διογκωτικές ύλες πλούσιες σε άνθρακα (πριονίδι) για μείωση της υγρασίας [17]. Έχει επίσης παρατηρηθεί πως η σχέση μεταξύ της υγρασίας και της θερμοκρασίας είναι αντιστρόφως ανάλογη. Με αυτόν τον τρόπο, με παρακολούθηση της θερμοκρασίας,

μπορεί να επιτευχθεί ρύθμιση και σταθεροποίηση της υγρασίας με διαβροχή, αερισμό ή ανάδευση της σωρού [27].

Η μαζική πυκνότητα του κομπόστ είναι η μέτρηση της μάζας της ύλης σε συγκεκριμένο όγκο και επηρεάζει τη δύναμη, το πορώδες και την ευκολία συμπίεσης του. Σε στερεά υλικά οι τιμές κυμαίνονται από 100 έως 400  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$  ενώ σε υγρά από 500 έως 900  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ . Υψηλές τιμές είναι ενδεικτικές για αυξημένη μάζα και μειωμένο πορώδες. Αντίθετα, χαμηλές τιμές υποδηλώνουν εκτεταμένο αερισμό και μικρότερο κλάσμα νερού. [18]

Το πορώδες μιας σωρού που κομποστοποιείται συσχετίζεται με τη σωστή ροή του αέρα εντός της και πρέπει να επιτρέπει την αποδόμηση σε αερόβιες συνθήκες η οποία πραγματοποιείται όταν το οξυγόνο εντός του πορώδους είναι 5%.

Το περιεχόμενο οξυγόνο και ο αερισμός εξαρτώνται από το πορώδες της σωρού οπότε το μέγεθος, το σχήμα των σωματιδίων καθώς και το νερό εντός των πόρων (άρα και η περιεχόμενη υγρασία) πρέπει να ελέγχονται. Στα πρώτα στάδια της κομποστοποίησης οι απαιτήσεις σε οξυγόνο είναι υψηλές, από 15-20% διότι υπάρχει αυξημένη μικροβιακή ανάπτυξη ενώ στα τελευταία στάδια πέφτουν σε τιμές 5-10%. Επίσης, το μέγεθος των σωματιδίων καθορίζει την ικανότητα συγκράτησης νερού καθώς και την ανταλλαγή



Σχήμα 1.2: Διαδικασία κομποστοποίησης

αέρα/νερού στο τελικό κομπόστ [23]. Μεγάλο μέγεθος σωματιδίων υποστρώματος οδηγούν σε βραδεία αποικοδόμηση του, ενώ μικρό οδηγεί σε σχηματισμό συμπαγούς μάζας και μειώνει το πορώδες του τελικού κομπόστ [27]. Για παράδειγμα, στα απόβλητα τροφίμων που διαθέτουν υψηλά ποσοστά υγρασίας εάν το πορώδες δεν είναι επαρκές, οι πόροι θα γεμίσουν με νερό και τελικά θα οδηγηθεί το σύστημα σε αναερόβια διαδικασία με την απελευθέρωση δυσάρεστων οσμών [22]. Η μέτρηση του πορώδους του μείγματος

πραγματοποιείται με την τεχνική Free Air Space. Αυτά τα χαρακτηριστικά του μείγματος που πρόκειται να κομποστοποιηθεί αλληλοεπιδρούν με υψηλές περιεκτικότητες υγρασίας και τελικά μειώνουν την παροχή και μεταφορά οξυγόνου εντός της σωρού. Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως ο σωστός αερισμός των σωρών παίζει σημαντικό ρόλο στην έκβαση της διαδικασίας [21]. Παρέχει το απαιτούμενο οξυγόνο για την οξειδωση της οργανικής ύλης και συμβάλλει στην εξάτμιση της περίσσειας υγρασίας του υποστρώματος [27]. Επίσης, εξασφαλίζει και τη διατήρηση της θερμοκρασίας στα επιθυμητά επίπεδα. Με περιορισμένη παροχή οξυγόνου η σωρός οδηγείται σε αναερόβιες συνθήκες, ενώ με υπερβολική παροχή πρώτον δεν μπορούν να επιτευχθούν οι απαραίτητες θερμοφιλικές συνθήκες και δεύτερον παρατηρείται γρηγορότερη εξάτμιση υγρασίας και άρα ξήρανση του τελικού κομποστ.

Έχει αποδειχθεί πως η ανάδευση της σωρού αποτελεί αποτελεσματικό τρόπο αερισμού με καλά αποτελέσματα στην τελική ποιότητα του κομποστ, ωστόσο έχει υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις και εκπομπές αερίων [22]. Επηρεάζει επίσης τη μικροβιακή ανάπτυξη και έχει αποδειχθεί πως σε χαμηλούς βαθμούς αερισμού ( $<0.2 \text{ L min}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ OM}$ , όπου  $\text{OM}=\text{organic matter}$ ) το ολικό άζωτο αυξήθηκε, η γενική παραγωγή αμμωνίας μειώθηκε, η θερμοφιλή φάση διήρκησε περισσότερο. Επίσης ο ρυθμός αποσύνθεσης ήταν πιο αργός και υπήρξαν απώλειες σε υγρασία και θερμότητα. Σε επαρκή επίπεδα αερισμού  $0.2\text{-}0.6 \text{ L min}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ OM}$ , τα επίπεδα εκπομπών αμμωνίας και οσμών βελτιώθηκαν, ο λόγος C/N μειώθηκε και οδηγήθηκε το κομποστ σε ωριμότητα [22]. Σε απόβλητα φρούτων και λαχανικών επαρκής ρυθμός αερισμού είναι ίσως με  $0.62 \text{ L min}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ OM}$  [27].

#### *Παράγοντες παρακολούθησης*

Η κομποστοποίηση αποτελεί αυθόρμητη βιολογική διαδικασία πραγματοποιήσιμη από μικροοργανισμούς και επηρεάζεται και από εξωτερικούς περιβαλλοντολογικούς παράγοντες. Έτσι, συνίσταται σε τακτά χρονικά διαστήματα να ελέγχονται οι παράμετροι που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών για να διασφαλίζεται ότι βρίσκονται εντός των επιθυμητών ορίων.

Η θερμοκρασία αποτελεί έναν από τους πιο κρίσιμους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη και την δραστηριότητα των μικροοργανισμών. Παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στην έκβαση της κομποστοποίησης καθώς οι διακυμάνσεις της είναι κρίσιμες για την τελική ποιότητα του παραγόμενου κομποστ. Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω η διαδικασία της κομποστοποίησης διακρίνεται σε δύο στάδια: το στάδιο της αποσύνθεσης

που περιλαμβάνει τρεις φάσεις (μεσόφιλη, θερμοφιλή και φάση ηρεμίας) και το στάδιο της ωρίμανσης τα οποία απαιτούν και αναπτύσσουν διαφορετικές θερμοκρασίες. Η μέτρηση της θερμοκρασίας αποτελεί δείκτη της εξέλιξης της κομποστοποίησης.

Οι άριστες θερμοκρασίες είναι εκείνες που θα επιτύχουν τους εξής στόχους: (α) την απαιτούμενη από υγειονομικές υπηρεσίες υγιεινή, (β) την ταχεία αποσύνθεση, (γ) την εξάτμιση νερού και (δ) τη μετατροπή της οργανικής ύλης σε χούμους [18]. Τόσο οι πολύ υψηλές αλλά και οι πολύ χαμηλές θερμοκρασίες πρέπει να αποφεύγονται καθώς οι πρώτες καθυστερούν τη βιολογική δραστηριότητα και προξενούν ανεπιθύμητες χημικές μεταβολές στην οργανική ύλη ενώ οι δεύτερες δεν οδηγούν τελικά την οργανική ύλη σε πλήρη αποσύνθεση και άρα δημιουργία χούμους. Έχει παρατηρηθεί πως η θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης αυξάνεται λόγω της αυξημένης βιοαποικοδόμησης της οργανικής ύλης που είναι αποτέλεσμα της μικροβιακής δραστηριότητας. Ωστόσο, η αποδοτικότητα της διαδικασίας μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας [27].

Κατά τη θερμοφιλή φάση της διαδικασίας, η θερμοκρασία των 55 °C πρέπει να διατηρηθεί για τουλάχιστον τρεις με πέντε ημέρες. Έτσι, εξαλείφονται παράσιτα, παθογόνοι μικροοργανισμοί και ζιζάνια και οι απαραίτητες υγειονομικές απαιτήσεις επιτυγχάνονται. Το βέλτιστο εύρος θερμοκρασιών είναι 40-65 °C. Η παρουσία συγκεκριμένων ομάδων μικροοργανισμών ευνοείται από τις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας. Θερμοκρασίες υψηλότερες των 71°C οδηγούν σε καταστροφή της θερμοφιλής χλωρίδας και θερμοκρασίες άνω των 65°C αδρανοποιούν μύκητες, ακτινομύκητες και όλους τους απαραίτητους για αυτή την φάση μικροοργανισμούς. Επίσης σε υψηλές θερμοκρασίες έγκειται και κίνδυνος πυρκαγιάς.

Συνήθως, σε μια καλώς διαχειριζόμενη διαδικασία κομποστοποίησης, το pH δεν αποτελεί πρόβλημα [6]. Ωστόσο, δεν παύει να παίζει σημαντικό ρόλο στην έκβαση της καθώς επηρεάζει τη μικροβιακή δραστηριότητα. Οι διακυμάνσεις του pH ακολουθούν την εξής πορεία: στην έναρξη της διαδικασίας της κομποστοποίησης τα επίπεδα είναι μειωμένα λόγω της παραγωγής οργανικών οξέων ενώ στη συνέχεια αυξάνονται λόγω της παραγωγής αμμωνίας και τελικά σταθεροποιείται σε τιμές κοντά στο ουδέτερο. Οι μειωμένες τιμές pH οφείλονται επίσης: στην πτητικότητα του  $\text{NH}_4^+$ , στο  $\text{H}^+$  που απελευθερώνεται κατά τη νιτροποίηση από βακτήρια, στις μεγάλες εκπομπές  $\text{CO}_2$  και στην αποσύνθεση της οργανικής ύλης και του αζώτου [27]. Το ιδανικό εύρος των τιμών

του pH για επιτυχημένη κομποστοποίηση είναι 7-8. Σε βιομηχανικό επίπεδο, οι χαμηλές τιμές pH είναι πιθανό να επηρεάσουν αρνητικά τη μετάβαση από τη μεσόφιλη στη θερμοφιλή φάση. Γενικά, τα απόβλητα τροφίμων διαθέτουν υψηλή αναλογία σε οργανική ύλη, οπότε, προτείνεται η χρήση ορισμένων πρόσθετων όπως τέφρα, ή ρυθμιστικά διαλύματα για τη διατήρηση των επιπέδων του pH στα επιθυμητά επίπεδα. Επίσης η χρήση των πρόσθετων επιταχύνει τη διαδικασία της κομποστοποίησης και αυξάνει την αποδοτικότητα [21].

### *Παράγοντες ποιότητας*

Η ποιότητα του κομπόστ καθορίζεται κυρίως από τη σταθερότητα και την ωριμότητά του. Η σταθερότητα σχετίζεται με την αντίσταση της οργανικής ύλης σε περαιτέρω μικροβιακή αποσύνθεση και η ωριμότητα σχετίζεται με τη σταθερότητα αφού ένα ώριμο κομπόστ πρέπει να είναι αρκετά σταθερό [17]. Επίσης η ωριμότητα περιγράφει το βαθμό ολοκλήρωσης της κομποστοποίησης της ύλης καθώς και την καταλληλότητα του παραγόμενου κομπόστ για χρήση. Κατάλληλο για χρήση κομπόστ είναι εκείνο που δεν περιέχει επιβλαβή για το έδαφος, τα φυτά και τον υδροφόρο ορίζοντα στοιχεία και επιπλέον: δεν αναδίδει/εκπέμπει μυρωδιά αμμωνίας, η θερμοκρασία του είναι χαμηλή αλλά το κομπόστ παραμένει νωπό, έχει ευχάριστη γαιάωδη οσμή και σκούρο καφέ χρώμα και, τέλος, είναι αδιάκριτο σε σχέση με την πρώτη ύλη [22,18]. Ένα μη ώριμο κομπόστ έχει αρνητικές συνέπειες στη βλάστηση, την ανάπτυξη και εξέλιξη των φυτών. Για αυτό τον λόγο, ο καλύτερος δείκτης ωριμότητας του λιπάσματος-κομπόστ αποτελεί η φυτοτοξικότητα. Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως μόνο η σταθερότητα ως δείκτης δεν επαρκεί για να χαρακτηριστεί ένα κομπόστ ποιοτικό και άρα κατάλληλο για χρήση [22]. Ένα σταθερό κομπόστ μπορεί να είναι ανώριμο, δηλαδή, να διαθέτει τα εξής χαρακτηριστικά: υψηλά ποσοστά ελεύθερης αμμωνίας, οργανικά οξέα, υδατοδιαλυτά στοιχεία βλαβερά για το έδαφος που επηρεάζουν την βλάστηση, βαρέα μέταλλα, άλατα που αναστέλλουν την ανάπτυξη των φυτών και υπολείμματα συσκευασίας όπως γυαλί ή πλαστικό τα οποία δεν αποδομούνται κατά τη διαδικασία της κομποστοποίησης.

Ένας αποτελεσματικός τρόπος απομάκρυνσης των βλαβερών συστατικών από το κομπόστ είναι αρχικά ο διαχωρισμός των αποβλήτων κατά την έναρξη της κομποστοποίησης καθώς και το κοσκίνισμα του τελικού κομπόστ. Για παράδειγμα κομπόστ με μέγεθος σωματιδίων μεγαλύτερο των 0.8mm ήταν απαλλαγμένα από Pb, Cu, Cd, Cr, και Ni.

### *Τεστ ωριμότητας [18]*

- Μέτρηση της αναπνοής/ Βιολογικά απαιτούμενο οξυγόνο (BOD): βασίζεται στην αναπνευστική δραστηριότητα των μικροοργανισμών. Το μη ώριμο κομπόστ έχει υψηλό ρυθμό κατανάλωσης οξυγόνου και παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα σε αντίθεση με το ώριμο, σταθερό κομπόστ. Έτσι η μέτρηση της κατανάλωσης οξυγόνου μέσω βιολογικών τεστ αποτελεί δείκτη ωριμότητας.
- Μέτρηση ενζυμικής δραστηριότητας: το κομπόστ είναι πλούσιο σε πρωτεάσες, λιπάσες, σε ένζυμα που διασπούν την κυτταρίνη, ημικυτταρινούχες ενώσεις, κλπ. Η εμφάνισή τους στο κομπόστ μεταβάλλεται ανάλογα με το στάδιο της διαδικασίας. Έτσι, εάν παρατηρείται έντονη δραστηριότητα των ενζύμων μέσω μετρήσεων σημαίνει πως δεν έχει επέλθει το στάδιο της ωρίμανσης.
- Self-heating test: κατά τα πρώτα στάδια της αποσύνθεσης, η οργανική ύλη λόγω της αυξημένης μικροβιακής δραστηριότητας αναπτύσσει πολύ υψηλές θερμοκρασίες. Έτσι, με μέτρηση της αύξησης της θερμοκρασίας μετά τη διαβροχή μπορεί να προσδιοριστεί η ωριμότητα της σωρού.
- Solvita® test: βασίζεται στην αποδόμηση (mineralization) του άνθρακα και την πτητικοποίηση της αμμωνίας. 100 cc του προς εξέταση κομπόστ κλείνονται αεροστεγώς σε βάζο, μαζί με δύο χρωματιστούς δείκτες, έναν για το διοξείδιο του άνθρακα και έναν για την αμμωνία. Μετά το πέρας τεσσάρων ωρών οι δείκτες έχουν αλλάξει χρώμα. Ανάλογα το χρώμα που έχουν αποκτήσει προσδιορίζεται και η ωριμότητα του κομπόστ.

Ο προσδιορισμός της ωριμότητας του κομπόστ είναι απαιτητική διαδικασία. Έτσι, προτείνεται ο συνδυασμός τεστ και μέτρηση χαρακτηριστικών για καλύτερα αποτελέσματα.

### *Τελικά χαρακτηριστικά*

Τα τελικά χαρακτηριστικά ενός ώριμου κομπόστ είναι τα εξής [18]:

- pH=7-9
- Cation Exchange Capacity (CEC), η δυνατότητα δηλαδή των χουμικών συστατικών να προσροφούν θετικά φορτισμένα ιόντα τα οποία μετά εύκολα ανταλλάσσονται με άλλα κατιόντα στα ίδια σημεία προσρόφησης, = τουλάχιστον  $60 \text{ meq} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$
- Λόγος C/N= 10-20, ανάλογα την αρχική προέλευση της οργανικής ύλης

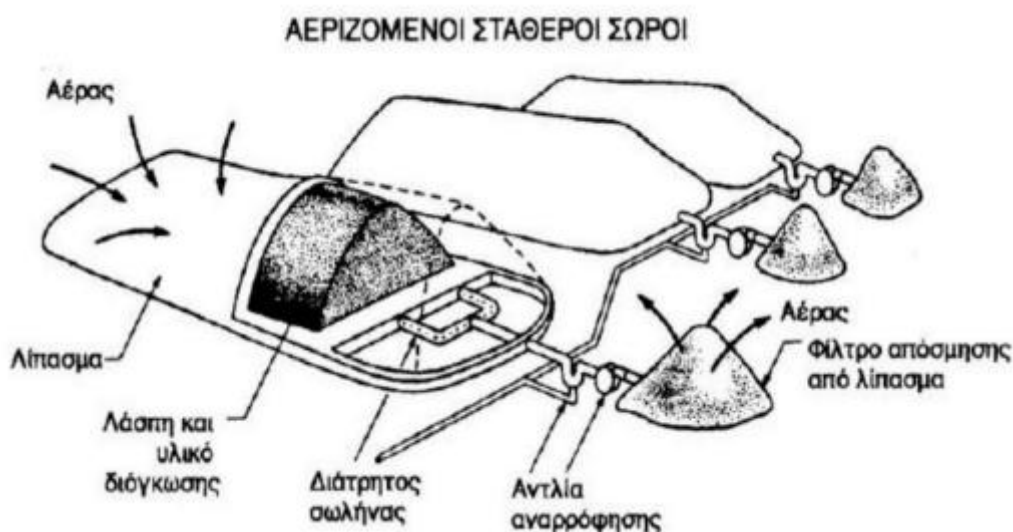
- Λόγος HA/FA: πρόκειται για τον λόγο του humic acid προς το fulvic acid και πρέπει να είναι μεγαλύτερος από 1-3. Κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης σχηματίζεται το FA ως ενδιάμεσο βήμα για τον σχηματισμό του HA και τελικά των αδιάλυτων μη φυτοτοξικών χουμικών συστατικών.
- Περιεχόμενη υγρασία=35-45%
- Μέγεθος σωματιδίων (particle size)=0.25-2.00mm

### Συστήματα κομποστοποίησης

Τα συστήματα κομποστοποίησης μπορούν να διαχωριστούν με διάφορους τρόπους όπως για παράδειγμα τον τύπο του αερισμού (παθητικός, δυναμικός) ή εάν το υλικό περιέχεται ή όχι σε αντιδραστήρα (κλειστό, ανοιχτό σύστημα αντίστοιχα).

Έτσι, παρουσιάζονται τα εξής συστήματα [6,18,29]:

- Ανοικτά συστήματα
  - Στατικοί σωροί (Εικόνα 1)
    - Φυσικός/παθητικός αερισμός (chimney effect)
    - Δυναμικός/εξαναγκασμένος αερισμός με εμφύσηση ή αναρρόφηση αέρα σε σειράδια ή σωρούς
  - Αναδεδυόμενοι σωροί
    - Φυσικός αερισμός και μηχανική ανάδευση ανά τακτά χρονικά διαστήματα, σε σιλό, σειράδια ή σωρούς.

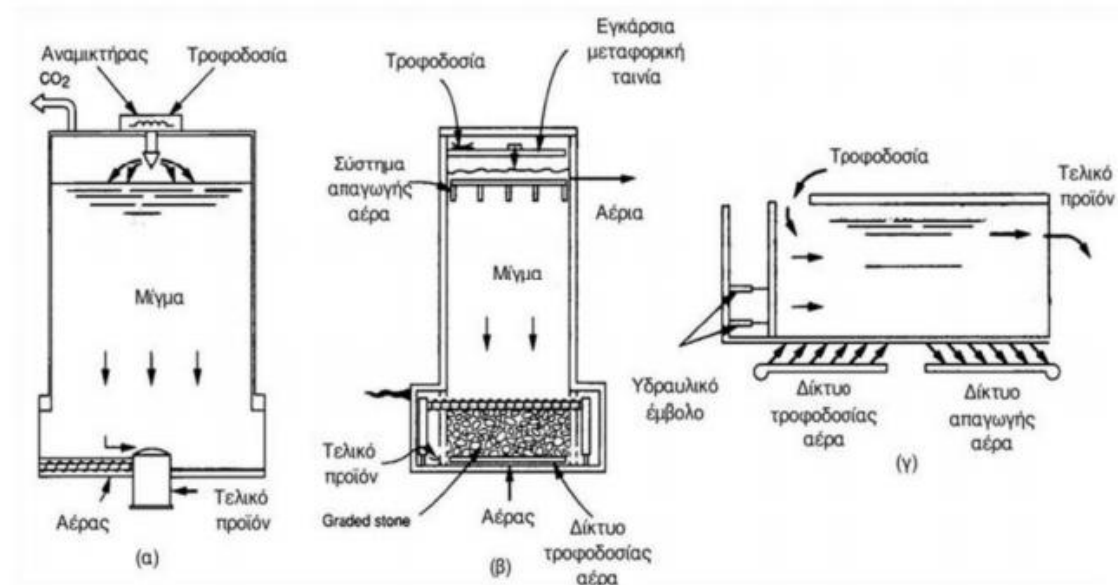


Εικόνα 1.1: Κανάλι αερισμού [29]



- Κλειστά συστήματα σε συνεχή ή όχι λειτουργία, με δυναμικό αερισμό (σε αντιδραστήρες) (Εικόνα 1.1)
- Κατακόρυφος αντιδραστήρας (για παράδειγμα στατικά σειράδια)
- Οριζόντιος αντιδραστήρας (για παράδειγμα περιστρεφόμενου τυμπάνου)

Στα ανοικτά συστήματα με παθητικό αερισμό τα σειράδια βρίσκονται σε τραπεζοειδή διαμόρφωση. Τα κλειστά συστήματα παρέχουν καλύτερο έλεγχο των οσμών και ολόκληρης της διαδικασίας αφού περιλαμβάνουν ρυθμιστές για την θερμοκρασία, το pH, τον αερισμό, την υγρασία ακόμα και για το διοξείδιο του άνθρακα.



Εικόνα 1.2: Κλειστά συστήματα κομποστοποίησης: (α) κατακόρυφος κυλινδρικός πύργος (β) κατακόρυφος οριζόντιος πύργος (γ) οριζόντιο σύστημα τύπου τούνελ [29]

### Οφέλη και Χρήσεις Κομπόστ

Με την κομποστοποίηση τεράστιος όγκος οργανικών απορριμμάτων που θα κατέληγε σε χωματερές, με τεράστιο περιβαλλοντολογικό αντίκτυπο (αέρια του θερμοκηπίου, διασταλάγματα, μη αξιοποίηση εδαφών) μετατρέπεται σε χρήσιμο, φιλικό προς το περιβάλλον προϊόν.

Για να χρησιμοποιηθεί το κομπόστ σε μια γεωργική καλλιέργεια (για παράδειγμα ως λίπασμα ή εδαφοβελτιωτικό) θα πρέπει πρώτα να ελέγχεται [19]. Η ωριμότητα του, το pH, το χρώμα, η μυρωδιά, το μέγεθος των σωματιδίων και η μικροβιακή σταθερότητα είναι από τους παράγοντες που θα πρέπει να αξιολογούνται. Ειδικά στην περίπτωση

χρήσης του ως λίπασμα θα πρέπει να αξιολογείται και η διαθεσιμότητα και περιεκτικότητα του σε θρεπτικά. Έρευνες και πειράματα έχουν αποδείξει πως η χρήση του κομπόστ αυτούσιο ή σε ανάμιξη με ορυκτά λιπάσματα (που περιέχουν άζωτο, κάλιο και φωσφορικά) βελτιώνουν την απόδοση των καλλιεργειών και τις ιδιότητες του εδάφους [19]. Πρόκειται για συνέργεια μεταξύ των δύο λιπασμάτων και η χρήση του κομπόστ είναι βοηθητική καθώς αυξάνει τη διαθεσιμότητα σε θρεπτικά. Έτσι, μπορεί να υπάρξει ελάττωση της χρήσης των ορυκτών λιπασμάτων σε χαμηλής απόδοσης καλλιέργειες.

Το παραγόμενο κομπόστ χρησιμοποιείται ως βελτιωτικό για λεπτό αμμώδες έδαφος, ενισχύει τη διατήρηση υγρασίας του εδάφους μειώνοντας τις απαιτήσεις άρδευσης, δεσμεύει τον άνθρακα και αυξάνει τη διαθεσιμότητα στο σύστημα ριζών βοηθώντας στη μεγαλύτερη πρόσληψη θρεπτικών [23,25]. Οι φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητες του εδάφους είναι δυνατόν να βελτιωθούν μετά την χρήση του κομπόστ, το οποίο επειδή είναι πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά και αποτελεί πηγή οργανικής ύλης, βοηθά στη διατήρηση της γονιμότητας του εδάφους και στην παραγωγή καλλιεργειών. Σημαντική είναι η χρήση του ως υλικό βιοφίλτρου για την απορρόφηση δυσάρεστων οσμών από βιομηχανικές εγκαταστάσεις με δύσοσμα αερία, εξαερισμών σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας αστικών λυμάτων, κομποστοποίησης, μαζικής διατήρησης ζώων κ.λ.π. [29]. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί επίσης και για διαμόρφωση επιφανειών πρασίνου σε πάρκα, αθλητικά πεδία, ΧΥΤΑ καθώς και για αντικατάσταση μητρικού εδάφους σε λατομεία.

Το κομπόστ θεωρείται κατάλληλο για τη διαδικασία της βιοθεραπείας εδάφους. Πρόκειται για τεχνική κατά την οποία μολυσμένο έδαφος απαλλάσσεται από τους ρυπαντές/μολυντές και τις τοξικές ουσίες. Αποτελεί την καταλληλότερη και την πιο οικονομική ύλη για *in situ* απορρόφηση βαρέων μετάλλων, αδρανοποίηση φυτοφαρμάκων και αφαίρεση αναδυόμενων ρυπαντών [22]. Στην αποτελεσματικότητα του κομπόστ συμβάλλουν η περιεχόμενη οργανική ύλη που έχει την τάση να απορροφά ουσίες και στη μικροβιακή και ενζυμική δραστηριότητα που συμβάλλουν στην αποδόμηση. Με την χρήση του κομπόστ η βιοθεραπεία ολοκληρώνεται σε πολύ λιγότερο χρόνο.

#### *Πιθανοί κίνδυνοι*

Κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης, εάν η οργανική ύλη δε χειρίζεται με την απαραίτητη προσοχή, είναι πιθανό να παραχθούν σημαντικές ποσότητες από: αέρια

αμμωνία, υποξειδίο του αζώτου, διοξειδίο του άνθρακα, μονοξειδίο του άνθρακα, υδρόθειο, οξειδία του αζώτου, πτητικές οργανικές ενώσεις (τερπένια, αλειφατικοί και αρωματικοί υδρογονάνθρακες, κετόνες, σουλφίδια και εστέρες) και μεθάνιο με επιπτώσεις στην χερσαία και υδρόβια ζωή, καθώς και στην ποιότητα της ατμόσφαιρας και του αέρα [19]. Τα αέρια του θερμοκηπίου (μεθάνιο, υποξειδίο) έχουν αντίκτυπο στην κλιματική αλλαγή και την υπερθέρμανση του πλανήτη, ενώ η αμμωνία, το υδρόθειο και τα πτητικά είναι υπεύθυνα για τις δυσάρεστες μυρωδιές. Οι παραγόμενες οσμές αποτελούν πρόβλημα για το κοινό που βρίσκεται γύρω από τις εγκαταστάσεις της κομποστοποίησης, τόσο σε θέμα αισθητικής αλλά και υγείας.

Οι εκπομπές αυτές επηρεάζονται από: το pH, τη θερμοκρασία, τον αρχικό λόγο C/N, τον αερισμό, την ανάδευση του σωρού, τη χρήση διογκωτικών υλών και φυσικά από το είδος των οργανικών αποβλήτων. Χαμηλός λόγος C/N, υψηλές θερμοκρασίες κι αλκαλικές συνθήκες ευνοούν τις εκπομπές αμμωνίας [22]. Τα απόβλητα τροφίμων έχουν υψηλά ποσοστά υγρασίας, υψηλή μαζική πυκνότητα και χαμηλό λόγο C/N, παράγοντες που οδηγούν σε αυξημένες εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου. Ο επαρκής αερισμός αποτρέπει την εμφάνιση αναερόβιων ζωνών εντός της σωρού και άρα την παραγωγή μεθανίου. Από έρευνες έχει προκύψει πως η κάλυψη των σωρών οδήγησε σε μειωμένες εκπομπές αμμωνίας και υποξειδίου ενώ αύξησε τις απώλειες σε μεθάνιο [21]. Η συχνή ανάδευση έχει ως αποτέλεσμα μειωμένες απώλειες σε υποξειδίο και μεθάνιο, αλλά αυξημένες σε αμμωνία. Έτσι, οι ιδανικές συνθήκες για μειωμένες εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου περιλαμβάνουν την ελάχιστη κάλυψη του σωρού και ανάδευση δυο φορές την εβδομάδα. Επίσης, προσθήκη μικρής ποσότητας μεταλλικών/ανόργανων πρόσθετων όπως για παράδειγμα φωσφογύψου, μειώνει τις αέριες εκπομπές [27].

Η ακατάλληλη διαχείριση των οργανικών αποβλήτων οδηγεί σε παραγωγή εκπλυμάτων/στραγγισμάτων με αποτέλεσμα την απώλεια θρεπτικών από το τελικό προϊόν, γεγονός που οδηγεί σε συμπληρωματική, δαπανηρή, χρήση λιπασμάτων [19]. Επίσης, τα εκπλύματα αυτά αποτελούν κίνδυνο για το περιβάλλον και για το έδαφος καθώς, συχνά, περιέχουν αμμωνία/άζωτο, βαρέα μέταλλα, χλωριωμένα οργανικά και ανόργανα άλατα [27]. Η παραγωγή των εκπλυμάτων (κίτρινο έως σκούρο καφέ υγρό) επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως: τη φύση και τη συγκέντρωση της οργανικής ύλης, τη διαβροχή των αποβλήτων, τη θερμοκρασία καθώς και από το σύστημα κομποστοποίησης. Η χρήση τους στη γεωργία και τη βιοθεραπεία θα ήταν πολύτιμη

καθώς είναι πλούσια σε θρεπτικά και μικροοργανισμούς όμως απαραίτητη είναι η προεπεξεργασία τους ώστε να απαλλαχθούν από τις τοξικές ουσίες.

#### **1.1.4 Θερμική Επεξεργασία**

Η θερμική επεξεργασία των οργανικών αποβλήτων περιλαμβάνει τρεις τεχνικές: αποτέφρωση/καύση, πυρόλυση και αεριοποίηση με τελική παραγωγή θερμικής ενέργειας.

##### **1.1.4.1 Αποτέφρωση**

Πρόκειται για την καύση των αποβλήτων και τη μετατροπή τους σε θερμότητα και ενέργεια. Η παραγόμενη θερμότητα μπορεί να εκμεταλλευτεί από το ίδιο το εργοστάσιο προς παραγωγή ενέργειας και χρήση της σε διάφορα παραρτήματα της βιομηχανικής παραγωγής, καθιστώντας την εγκατάσταση αυτόνομη ενεργειακά. Η τεχνική αυτή εξασφαλίζει μείωση τόσο του όγκου αλλά και της μάζας των αποβλήτων (σε ποσοστό 80% και 75% αντιστοίχως) και συνεπώς ο όγκος των απορριμμάτων αλλά και ο απαιτούμενος χώρος για διάθεση αυτών είναι πολύ μικρότερος. Οι συνήθεις θερμοκρασίες είναι 850 °C [6].

Η αποτέφρωση παράγει τοξικές εκπομπές αερίων που περιέχουν διοξίνες και βαρέα μέταλλα καθώς και τέφρα πλούσια σε ανόργανα συστατικά η οποία απαιτεί ειδική διαχείριση πριν απορριφθεί. Οι κυριότερες εκπομπές αερίων περιλαμβάνουν το διοξείδιο του άνθρακα, το μεθάνιο και υποξείδιο του αζώτου (αέρια του θερμοκηπίου). Λόγω αυτού σε πολλές χώρες η χρήση της ως τεχνική διαχείρισης έχει απαγορευθεί. Ωστόσο, με την εφαρμογή φίλτρων και συστημάτων ελέγχου στις εγκαταστάσεις, οι εκπομπές αυτές παύουν να είναι τόσο επιβλαβείς για τον άνθρωπο και το περιβάλλον οπότε η αποτέφρωση μπορεί να εφαρμόζεται ευκολότερα [30].

Σημαντικό είναι να τονίσουμε πως τα απόβλητα τροφίμων λόγω υψηλής περιεκτικότητας σε υγρασία και χαμηλής περιεκτικότητας σε εύφλεκτα υλικά δεν αποτελούν την ιδανική βιομάζα προς αποτέφρωση. Ιδανικά ξηραίνονται και έπειτα αναμιγνύονται με τα αστικά στερεά απόβλητα και καίγονται προς παραγωγή θερμότητας και ενέργειας.

##### **1.1.4.2 Πυρόλυση**

Η διαδικασία της πυρόλυσης περιλαμβάνει τη θερμοχημική μετατροπή των πλούσια σε άνθρακα αποβλήτων, απουσία οξυγόνου ή παρουσία αδρανών αερίων, σε αέρια, υγρά ή και στερεά προϊόντα υψηλής αξίας όπως βιοέλαιο (bio-oil, καύσιμο, υποκατάστατο πετρελαίου), syngas (CO+H<sub>2</sub>), βιοχημικά και biochar (άνθρακας) [32]. Παράμετροι όπως

η θερμοκρασία ή ο ρυθμός θέρμανσης αποβλήτων επηρεάζουν τα τελικά ποσοστά παραγωγής των παραπάνω προϊόντων [31]. Οι συνήθεις θερμοκρασίες της διαδικασίας κυμαίνονται από 400-500 °C και μπορεί να πυρολυθεί πληθώρα αποβλήτων, όπως απόβλητα τροφίμων, αστικά και βιομηχανικά στερεά απόβλητα. Η πυρόλυση αποβλήτων τροφίμων οδηγεί σε μειωμένες εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου και συμβάλλει στην μείωση του όγκου των τελικών αποβλήτων προς απόρριψη σε ποσοστό έως κι 90%, είναι επίσης απλή σε χειρισμό, αποδοτικότερη από άλλες θερμικές τεχνικές, συντομότερη και οικονομική. Ωστόσο, πρέπει να πραγματοποιείται με προσοχή καθώς η σύσταση των αποβλήτων ποικίλει και λόγω αυτού μπορεί να παραχθούν τοξικές ενώσεις όπως θειούχες ενώσεις, βαρέα μέταλλα και νιτρικά [31].

Οι βασικότεροι τύποι πυρόλυσης εμφανίζονται στον Πίνακα 1.2 [32]

<b>Πίνακας 1.2: Τύποι Πυρόλυσης [32]</b>			
<b>Τύπος</b>	<b>Θερμοκρασία (°C)</b>	<b>Προϊόντα</b>	<b>Χαρακτηριστικά</b>
Γρήγορη	800-1300	έως 75% βιοέλαια	Γρήγορος ρυθμός θέρμανσης (10-200°C /sec), Μικρός χρόνος παραμονής(1-10sec)
Αργή	400-500	έως 35% biochar	Πιο αργός ρυθμός θέρμανσης(0,1-1°C /sec), Χρόνος παραμονής (5-30min)
Καταλυτική	-	υψηλής ποιότητας βιο-έλαιο, H <sub>2</sub>	Αποφυγή σχηματισμού tar

Συγκεκριμένα για τα απόβλητα τροφίμων χρησιμοποιείται η πυρόλυση με μικροκύματα (microwave heating) σε ισχύ 300-600W όπου παράγει θερμότητα εντός του πυρήνα της βιομάζας σε αντίθεση με τη συμβατική που βασίζεται στην επιφανειακή θέρμανση της [33]. Οι διαφορές των δύο διεργασιών εμφανίζονται στον Πίνακα 1.3.

**Πίνακας 1.3: Συμβατική πυρόλυση και πυρόλυση με μικροκύματα [33]**

Συμβατική πυρόλυση	Microwave-assisted
Μικρότερες αποδόσεις σε βιοαέριο	Πιο απλή και εύκολα εφαρμόσιμη στην βιομηχανία
Μεγαλύτερες αποδόσεις σε biochar	Αποδοτικότερη
Λιγότερη θερμική απόδοση	Ελεγχόμενη
Αυξημένος χρόνος επεξεργασίας	
Αργός ρυθμός θέρμανσης	
Λιγότερο ποιοτικά προϊόντα	

#### 1.1.4.3 Αεριοποίηση

Πρόκειται για θερμική και χημική διαδικασία μετατροπής είτε στερεών είτε υγρών αποβλήτων, πλούσια σε άνθρακα και οργανικά στοιχεία, σε, (α), ένα εύφλεκτο αέριο (syngas) αποτελούμενο από μονοξείδιο και διοξείδιο του άνθρακα, αέριο υδρογόνο και μεθάνιο, (β), σε μία στερεή φάση (char) που περιλαμβάνει τα αδρανή οργανικά στοιχεία και εκείνα που δεν αεριοποιήθηκαν καθώς και τέφρα, και (γ), υγρή φάση (νερό και tar). Η αέρια φάση έχει υψηλή θερμαντική ισχύ και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για παραγωγή ενέργειας και βιοκαυσίμων. Η διαδικασία πραγματοποιείται σε υψηλές θερμοκρασίες (900-1100 °C) και ως μέσο αεριοποίησης χρησιμοποιείται είτε το οξυγόνο, ή ο ατμός ή ο αέρας [34]. Τα βήματα της αεριοποίησης παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.4 [35]

**Πίνακας 1.4: Διαδικασία Αεριοποίησης [35]**

Διαδικασία	Τύπος	T (°C)	Γεγονός	Παραγωγή
Οξειδωση	Εξώθερμη	-	Παραγωγή απαιτούμενης θερμικής ενέργειας	CO, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O
Εξάτμιση/ Ξήρανση	Ενδόθερμη	150	Εξάτμιση περιεχόμενης υγρασίας	-
Πυρόλυση	Ενδόθερμη	250-700	Αποδόμηση οργανικής	H <sub>2</sub> , CO, CO <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O, tar, biochar

			ύλης	
Μείωση	Ενδόθερμη	-	Αντίδραση όλων των προηγούμενων προϊόντων	Syngas

Βασικό κομμάτι της διαδικασίας αποτελεί η προεπεξεργασία της οργανικής ύλης ώστε να εξασφαλιστεί η ομογενοποίηση σε σύσταση και μέγεθος. Οι βασικότερες τεχνικές είναι η ξήρανση, ελαφριά πυρόλυση (torrefication) και η τεχνική του hydrothermal upgrading.

Τα προϊόντα της αεριοποίησης χωρίζονται σε πρωτογενή και δευτερογενή (Πίνακας 1.5). Τα δευτερογενή χρησιμοποιούν την παραγόμενη από τα πρωτογενή ενέργεια [35,36].

**Πίνακας 1.5: Προϊόντα αεριοποίησης [35,36]**

Πρωτογενή	Δευτερογενή
Syngas	Ηλεκτρική ενέργεια/ηλεκτρισμός
Biochar	Βιοκαύσιμα
Tar	Χημικά
Θερμότητα	Αμμωνία
Ξυλάνθρακας/κάρβουνο	Βενζίνη

Σε γενικές γραμμές τα βασικά προϊόντα των τεχνικών της πυρόλυσης και της αεριοποίησης είναι αέρια, στερεά και υγρά.

Τα υγρά προϊόντα στην πυρόλυση περιλαμβάνουν το βιοέλαιο ενώ και στις δύο περιπτώσεις περιλαμβάνεται tar (συμπυκνωμένοι υδρογονάνθρακες σε μορφή ατμού), τα αέρια στην περίπτωση της πυρόλυσης περιλαμβάνουν το pyrolytic gas που περιέχει μονοξείδιο και διοξείδιο του άνθρακα και ορισμένους υδρογονάνθρακες ενώ στην αεριοποίηση το syngas που περιέχει μονοξείδιο και υδρογόνο και τα στερεά αποτελούνται από το biochar.

Οι παραγόμενες ουσίες χρησιμοποιούνται από την ίδια την τεχνική ως πηγή ενέργειας και καύσιμη ύλη για τη διεξαγωγή της επεξεργασίας. Συγκεκριμένα όμως η χρήση του

biochar έχει πολλές εφαρμογές όπως εναλλακτική καύσιμη ύλη (κάρβουνα που δεν παράγουν καπνό), ενεργοί άνθρακες με προσροφητική ικανότητα για επεξεργασία υδάτων αλλά και εφαρμογή σε αγροτική παραγωγή για βελτίωση εδάφους και αύξηση της παραγωγής αφού συμβάλλει στην κατακράτηση των αζωτούχων ενώσεων, των κατιόντων και των βαρέων μετάλλων.

## 1.2 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Η βιομηχανία φρούτων και λαχανικών παράγει ετησίως το μεγαλύτερο όγκο αποβλήτων σε σύγκριση με τις υπόλοιπες βιομηχανίες τροφίμων. Ένα σημαντικό ποσοστό αυτών των αποβλήτων είναι υγρά, προερχόμενα κυρίως από μονάδες κονσερβοποίησης με απαιτήσεις νερού που κυμαίνονται στους 5-15 m<sup>3</sup> ανά τόνο πρώτης ύλης [40]. Οι ακριβείς ποσότητες υγρών αποβλήτων διαφέρουν από εγκατάσταση σε εγκατάσταση, ειδικά αν χρησιμοποιείται σύστημα επανακυκλοφορίας νερού. Το υψηλό οργανικό φορτίο των αποβλήτων φρούτων και λαχανικών είναι το κύριο πρόβλημα κατά την διαχείριση τους. Τα υγρά απόβλητα τέτοιων μονάδων περιέχουν αιωρούμενα σωματίδια, φλούδες, σπόρους και χυμούς των υπό επεξεργασία προϊόντων ενώ μπορούν να έχουν τιμές BOD έως και δεκαπλάσιες συγκριτικά με αστικά απόβλητα [41]. Πολλά από τα υγρά απόβλητα έρχονται από διεργασίες όπως η ψύξη, συμπύκνωση, θερμική επεξεργασία και είναι σχετικά «καθαρό» νερό με εύκολη επαναχρησιμοποίηση. Μεγάλες ποσότητες BOD και αιωρούμενων σωματιδίων παράγονται στα στάδια του πλυσίματος, της εκπυρήνωσης και της αποφλοίωσης [45]. Η διάθεση τους μπορεί να γίνει στο αποχετευτικό δίκτυο ή κατευθείαν σε εγκατάσταση βιολογικού καθαρισμού, στο έδαφος και σε υδάτινους αποδέκτες. Σε κάθε μια από αυτές περιπτώσεις θα πρέπει τα απόβλητα να έχουν κάποια συγκεκριμένα χαρακτηριστικά και να πληρούν συγκεκριμένες προδιαγραφές, συνεπώς είναι απαραίτητη η επεξεργασία τους. Οι φυσικές, χημικές και βιολογικές διεργασίες που χρησιμοποιούνται ομαδοποιούνται ανάλογα με το βαθμό της επεξεργασίας, συγκεκριμένα διακρίνονται η προεπεξεργασία, η πρωτοβάθμια, η δευτεροβάθμια και η τριτοβάθμια επεξεργασία [38].

### *Χαρακτηριστικά υγρών αποβλήτων*

Τα υγρά απόβλητα χαρακτηρίζονται μεταξύ άλλων με όρους της φυσικής, χημικής και βιολογικής τους σύνθεσης. Τα βασικότερα χαρακτηριστικά για τη βιομηχανία φρούτων και λαχανικών συνοψίζονται στον Πίνακα 1.6. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι πολλές από τις φυσικές ιδιότητες και τα χημικά και βιολογικά χαρακτηριστικά είναι αλληλοσχετιζόμενα.



Για παράδειγμα, η θερμοκρασία επηρεάζει τις ποσότητες διαλυμένων αέριων και τη βιολογική δραστηριότητα των υγρών αποβλήτων [38]. Ο καθορισμός και η ανάλυση των συστατικών των αποβλήτων είναι κλειδί στο σχεδιασμό των διεργασιών συλλογής, επεξεργασίας και επαναχρησιμοποίησης τους.

**Πίνακας 1.6: Χαρακτηριστικά υγρών αποβλήτων. [38]**

<b>Φυσικά χαρακτηριστικά</b>	<b>Χημικά χαρακτηριστικά</b>	<b>Βιολογικά χαρακτηριστικά</b>
Ολικά στερεά	Ολικό άζωτο	Κολοβακτηρίδια
Ολικά αιωρούμενα στερεά	Ολικός φωσφόρος	Ειδικό μ/οι
Θολότητα	Χλωριούχα	Τοξικότητα
Χρώμα	Θειικά	
Οσμή	Μέταλλα	
Θερμοκρασία	pH	
Πυκνότητα	COD	
	BOD <sub>5</sub>	

Τα απόβλητα περιέχουν αιωρούμενα στερεά, σημαντικό οργανικό φορτίο, υπολείμματα φυτοφάρμακων και λιπασμάτων. Το ρυπαντικό φορτίο κυμαίνεται ανάλογα με το είδος της δραστηριότητας, την πρώτη ύλη και τον εξοπλισμό μεταξύ των παρακάτω τιμών [41]:

- BOD<sub>5</sub>: 200-3000 mg/L
- Αιωρούμενα στερεά: 500-1500 mg/L
- COD: 300-6000 mg/L
- pH: 6-8

#### *Φυσικά χαρακτηριστικά*

Το πιο σημαντικό φυσικό χαρακτηριστικό των υγρών αποβλήτων είναι η περιεκτικότητα σε ολικά στερεά, τα οποία αποτελούνται από επιπλέοντα, καθιζάνοντα, κολλοειδή και διαλυμένα συστατικά. Αλλά σημαντικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν το χρώμα, τη θολότητα, τη θερμοκρασία και την οσμή. Τα υγρά απόβλητα όπως προαναφέρθηκε μπορούν να περιέχουν ποικιλία στερεών υλικών όπως κουκούτσια, φλούδες, υπολείμματα

σάρκας κλπ. Κατά το χαρακτηρισμό των αποβλήτων τα μεγάλα αυτά στερεά απομακρύνονται πριν την ανάλυση περιεκτικότητας των στέρεων.

Τα ολικά στερεά προσδιορίζονται μετά από εξάτμιση και ξήρανση γύρω στους 100°C ενώ για τα καθιζάνοντα συνήθως συγκεκριμένα ποσότητα δείγματος αφήνεται σε ηρεμία σε ειδικό σκεύος (Κώνος Imhoff) για 60 λεπτά (Εικόνα 1.3). Η μέτρηση των



Εικόνα 1.3: Κώνος Imhoff

αιωρούμενων στέρεων γίνεται με φιλτράρισμα δείγματος και εξαρτάται συνεπώς από το μέγεθος των πόρων του φίλτρου που χρησιμοποιείται (συνήθως 1  $\mu\text{m}$ ) [38]. Το χρώμα χρησιμοποιείται συνήθως για να καθοριστεί η ηλικία των αποβλήτων. Αρχικά τα απόβλητα διαθέτουν ανοιχτό καφέ ή γκρι χρώμα το οποίο σταδιακά σκουραίνει και γίνεται μαύρο με το πέρασμα του χρόνου. Τότε το απόβλητο χαρακτηρίζεται ως σηπτικό [42].

Μαζί με το χρώμα, η οσμή επίσης χρησιμοποιείται στον προσδιορισμό της ηλικίας. Η οσμή οφείλεται κυρίως στην

έκλυση υδρόθειου από μικροοργανισμούς και στην αποσύνθεση οργανικών ουσιών και μπορεί να προσδιοριστεί είτε οργανοληπτικά είτε μέσω ενόργανης ανάλυσης. Επίσης απόβλητα με έντονη οσμή υποβαθμίζουν αισθητικά τον φυσικό αποδεκτή [41,42]. Η θολότητα είναι ένα μέτρο της ικανότητας του νερού για εκπομπή φωτός και σχετίζεται κυρίως με τα κολλοειδή συστατικά. Πέρα από την αισθητική υποβάθμιση, υπερβολική θολότητα μπορεί να μειώσει τη διείσδυση του ηλιακού φωτός σε υδάτινους αποδέκτες διαταράσσοντας το τοπικό οικοσύστημα[6]. Μέτρηση της θολότητας γίνεται με σύγκριση της έντασης του φωτός που περνάει από το δείγμα με αυτή ενός πρότυπου. Η θερμοκρασία εξαρτάται από πληθώρα παραγόντων όπως το στάδιο της επεξεργασίας από την οποία προέρχονται, τη γεωγραφική θέση της μονάδας παραγωγής, την εποχή του χρόνου κ.α. Η θερμοκρασία επιδρά σημαντικά στις χημικές και βιοχημικές αντιδράσεις και στην υδρόβια ζωή. Μεγάλη προσοχή θα πρέπει να δίνεται ώστε η θερμοκρασία να είναι η κατάλληλη ανάλογα με το στάδιο της επεξεργασίας των αποβλήτων. Για παράδειγμα, στη βιολογική επεξεργασία απαιτούνται τιμές ευνοϊκές για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών ενώ κατά την απόθεση σε υδάτινο αποδεκτή θα πρέπει οι θερμοκρασίες των 2 υγρών να είναι παραπλήσιες. Αυξημένη θερμοκρασία μπορεί να οδηγήσει σε μείωση του διαλυμένου οξυγόνου στο νερό θανατώνοντας υδρόβιους οργανισμούς. Τέλος, η πυκνότητα επιδρά σημαντικά στην αποτελεσματικότητα των

διεργασιών καθίζησης και χλωρίωσης αφού μπορεί να επηρεάσει τον χρόνο των επεξεργασιών και την απόδοση τους [42].

#### *Χημικά και βιολογικά χαρακτηριστικά*

Το διαλυμένο οξυγόνο είναι η πιο σημαντική παράμετρος για τον χαρακτηρισμό της περιβαλλοντικής ποιότητας των υδάτων, αφού η έλλειψη του μπορεί να προκαλέσει ασφυξία στους υδρόβιους οργανισμούς [6]. Τα απόβλητα συχνά περιέχουν οργανικά συστατικά τα οποία οξειδώνονται από τους αερόβιους μικροοργανισμούς καταναλώνοντας το διαλυμένο στο νερό οξυγόνο. Παράλληλα, οξυγόνο καταναλώνεται και από τη χημική οξείδωση οργανικών ενώσεων. Για την αποφυγή περιστατικών ασφυξίας στους υδροβιότοπους αποδοχής των υγρών αποβλήτων είναι σημαντική η παρακολούθηση και ο περιορισμός του BOD και COD. Η μέτρηση του BOD γίνεται σε φιάλη 300 mL η οποία περιέχει υδατικό διάλυμα κορεσμένο σε οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη των αερόβιων μικροοργανισμών. Μετά από 5 μέρες στους 20°C μετράται η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου ξανά και καθορίζεται το BOD<sub>5</sub>. Το COD μετράται πολύ γρηγορότερα με μέτρηση του ισοδυνάμου οξυγόνου δείγματος αποβλήτων που μπορεί να οξειδωθεί από όξινο διάλυμα δίχρωμου καλίου [38].

Τα θρεπτικά συστατικά N και P είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη πολλών οργανισμών. Σε μικρές ποσότητες είναι ωφέλιμα για το στάδιο της βιολογικής επεξεργασίας όμως δημιουργούν φαινόμενα ευτροφισμού σε μεγάλες συγκεντρώσεις, επηρεάζοντας αρνητικά τον αποδέκτη [42].

Άλλο ένα χαρακτηριστικό που επηρεάζει σημαντικά το στάδιο της βιολογικής διεργασίας είναι το pH. Κατά κύριο λόγο όμως τα απόβλητα επεξεργασίας φρούτων και λαχανικών έχουν κατάλληλες τιμές pH (6-9). Το επιτρεπτό εύρος pH για διάθεση αποβλήτων στο περιβάλλον είναι 6.5-8.5. Η χρήση καυστικού νατρίου στην αποφλοίωση αυξάνει το pH και αν οι δεξαμενές δεν αδειάζονται τακτικά υπάρχουν μεγάλες διακυμάνσεις στις τελικές εκροές με συνέπεια δυσκολία επεξεργασίας [45].

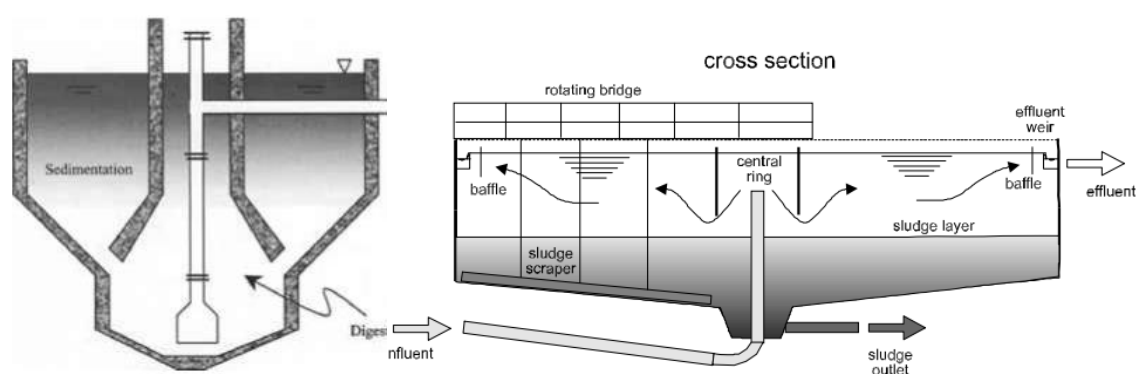
Ένας τοξικός παράγοντας που εμφανίζεται στα απόβλητα είναι τα φυτοφάρμακα και γενικά διαφορά αγροχημικά. Η απομάκρυνση τους γίνεται μέσω της χημικής εξουδετέρωσης διότι σημαντικές συγκεντρώσεις θανατώνουν και επιμολύνουν τα ψάρια. Αυτό είναι ακόμα πιο επικίνδυνο για λιποδιαλυτές ουσίες που συσσωρεύονται στην σάρκα των υδρόβιων οργανισμών. [38]

### 1.2.1 Επεξεργασία Υγρών Αποβλήτων

Πολύ συχνά πριν από την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων εκτελούνται διεργασίες ώστε το υπό επεξεργασία ρευστό να μην προκαλέσει βλάβη ή φθορές στον εξοπλισμό και να αποκτήσει πιο επιθυμητά χαρακτηριστικά. Οι διεργασίες αυτές είναι φυσικές με τις πιο συχνές να είναι η εσχάρωση, η αμμοσυλλογή και η λιποσυλλογή. Κατά την εσχάρωση τα απόβλητα διέρχονται από σχάρες οι οποίες απομακρύνουν μεγάλα στερεά κομμάτια όπως πλαστικά, ξύλα, σπόρους, φύλλα κ.α.[43]. Ένα μέρος των αιρουμένων στέρεων και του BOD μπορεί να απομακρυνθεί αναλόγως με το μέγεθος και τον τύπο της σχάρας. Προσοχή θα πρέπει να δίνεται και στην ταχύτητα ροής έτσι ώστε να μη γίνεται κατακάθιση στερεών (μικρή ταχύτητα ροής) αλλά και να μη συμπαρασύρονται (υπερβολική ταχύτητα ροής) [6]. Η απόδοση της εσχάρωσης εξαρτάται από τη μέση διάμετρο των σωματιδίων. Για παράδειγμα, απόβλητα από καλαμπόκι ή αρακά έχουν υψηλό ποσοστό διαλυτών στερεών και η εσχάρωση δεν είναι αποτελεσματική ακόμα και με διάμετρο πόρων 150 mesh [45]. Έπειτα, ανάλογα με τα χαρακτηριστικά των αποβλήτων, μπορεί να ακολουθήσει παραμονή σε δεξαμενή ώστε να διαχωριστούν τα λιπαρά και τα καθιζάνοντα στερεά [43]. Τέλος, μπορεί να ρυθμιστεί η παροχή αποθηκεύοντας μέρος των υγρών σε στιγμές μεγάλης παροχής (τεχνική εξισορρόπησης). Έτσι, μπορεί το σύστημα να ανταπεξέλθει σε ροές μεγαλύτερες των δυνατοτήτων του ενώ επιτυγχάνεται και πιο ομαλή και συνεχής ροή [44]. Τα στερεά που προκύπτουν μπορούν να αλεστούν και να επιστρέψουν στην γραμμή επεξεργασίας, είτε να διατεθούν με μεθόδους διάθεσης στερών απορριμμάτων (καύση, ταφή, ταφή). Τα λίπη που περισυλλέγονται αν δεν μπορούν να ανακυκλωθούν, καίγονται σε ειδικούς κλίβανους [45].

Στην πρωτοβάθμια επεξεργασία απομακρύνεται ένα μέρος των αιωρούμενων στερεών (50-70%), ένα μέρος του BOD (25-40%) καθώς και μικρό μέρος των θρεπτικών συστατικών αζώτου και φωσφόρου [42]. Αυτό επιτυγχάνεται με το φυσικό φαινόμενο της καθίζησης και της επίπλευσης (η διαδικασία διαρκεί 1.5-3 ώρες), ενώ μπορούν να χρησιμοποιηθούν κροκιδωτικά ( $\text{FeCl}_3$ , θειικό αργίλιο) που βελτιώνουν την απόδοση. Αυτή η πρακτική ήταν συνηθέστερη παλαιότερα ειδικά στα απόβλητα κονσερβοποιίας λόγω των εποχικών διακυμάνσεων, όμως έχει και αρνητικές συνέπειες όπως η αύξηση του κόστους και της ολικής συγκέντρωσης διαλυτών στέρεων στο τελικό υγρό κάνοντας δύσκολη την επαναχρησιμοποίησή του. Σημαντικός παράγοντας σε αυτό το στάδιο είναι η θερμοκρασία καθώς διαφορά ακόμα και 1 °C μεταξύ εισερχομένου υγρού και

δεξαμενής προκαλεί σχηματισμό ρεύματος πυκνότητας εμποδίζοντας την καθίζηση [38,43]. Η ιλύς που προκύπτει έχει 70% ποσοστό οργανικών ουσιών και περιεκτικότητα σε στερεά 2-4%, θα πρέπει να παχυνθεί και να σταθεροποιηθεί ώστε να αξιοποιηθεί. Μπορεί να παραμείνει στη δεξαμενή κατακάθισης για μεγάλο χρονικό διάστημα (μήνες) όπου και χωνεύεται αναερόβια, είτε να αφαιρείται ανά τακτά χρονικά διαστήματα (Εικόνα 1.4) [43]. Τα στερεά με πυκνότητα μικρότερη του υγρού απομακρύνονται από την επιφάνεια της δεξαμενής. Στερεά με υψηλή οικονομική αξία μπορούν να αφαιρεθούν και με φυγοκέντριση [45].



Εικόνα 1.4: Δεξαμενές καθίζησης

Κατά τη συμβατική δευτεροβάθμια επεξεργασία απομακρύνεται το μεγαλύτερο μέρος του οργανικού υλικού μέσω είτε βιολογικών είτε χημικών διεργασιών. Στην περίπτωση που δεν επιτυγχάνεται επαρκής μείωση μπορεί να γίνει συνδυασμός των δύο μεθόδων και χρήση φυσικών διεργασιών [38].

Οι χημικές μέθοδοι μπορούν να διαχωρίσουν την οργανική ύλη και τα θρεπτικά συστατικά με διάφορους μηχανισμούς:

- i) αλλάζοντας τις φυσικές τους ιδιότητες (επιφανειακή φόρτιση, αντίδραση προς αδιάλυτο στερεό ή υγρό).
- ii) μετατρέποντας βιοσταθερές ουσίες σε βιοαποικοδομήσιμες.
- iii) εξουδετερώνοντας ρυπαντικές ενώσεις προς ουδέτερες [44].

Βέβαια για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων προτιμώνται οι βιολογικές διεργασίες καθώς είναι οικονομικότερες και αποφεύγεται η χρήση χημικών. Οι βιολογικές διεργασίες διαχωρίζονται σε αερόβιες και αναερόβιες (συμπεριλαμβάνονται και οι επαμφοτερίζουσες).

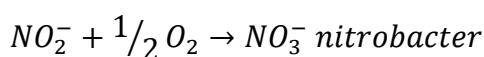
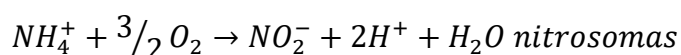
Στην αερόβια επεξεργασία οι οργανικές ενώσεις, η αμμωνία και ο φωσφόρος καταναλώνονται από διάφορα είδη μικροοργανισμών προς παραγωγή CO<sub>2</sub>, αζώτου και νέας κυτταρικής μάζας ενώ ο φωσφόρος δεσμεύεται από ειδικά βακτήρια και κατακρημνίζεται [43]. Η διαδικασία μπορεί να γίνει σε βιοαντιδραστήρες/δεξαμενές αερισμού και το παραγόμενο υγρό οδηγείται σε δεξαμενές καθίζησης. Ένα μέρος της παραγόμενης ιλύος μπορεί να επιστρέψει από τη δεξαμενή καθίζησης στη δεξαμενή αερισμού αυξάνοντας το χρόνο παραμονής της και δίνοντας της πιο επιθυμητά χαρακτηριστικά ενώ η υπόλοιπη συνήθως επεξεργάζεται αναερόβια. [6]

Απουσία οξυγόνου και παρουσία μεθανοβακτηρίων και αρχαιοβακτηρίων, μεγάλο ποσοστό οργανικών ουσιών (80-90%) και θρεπτικών συστατικών μετατρέπονται σε βιοαέριο (CH<sub>4</sub> CO<sub>2</sub>), αμμωνία και υδρόθειο σε ειδικές δεξαμενές ή τεχνητές λίμνες. Η αναερόβια οδός προτιμούνταν παλαιότερα αλλά πλέον δε βρίσκει μεγάλη εφαρμογή πέρα από την επεξεργασία της παραγόμενης ιλύος. Παρουσιάζει αρκετές ελκυστικές ιδιότητες όπως η παραγωγή ανανεώσιμης ενέργειας, η προστασία του περιβάλλοντος από αέρια του θερμοκηπίου, θανάτωση παθογόνων και απουσία μεγάλου όγκου τελικών απορριμμάτων διότι η αποξηραμένη ιλύς μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως γεωβελτιωτικό. Παρόλα αυτά η παραγωγή υδρόθειου δημιουργεί δυσарέσκεια στις τριγύρω κοινότητες, υπάρχει αρκετά μεγάλη απαίτηση σε χώρο και ανάγκη απεντόμωσης ενώ η διαδικασία είναι σημαντικά πιο αργή και συχνά χρειάζεται προσθήκη θρεπτικών συστατικών [43,45].

Η επεξεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί και σε δεξαμενές/λίμνες σταθεροποίησης μεγάλου βάθους, στις οποίες κοντά στην επιφάνεια επικρατούν αερόβιες συνθήκες λόγω του ατμοσφαιρικού οξυγόνου και της ανάπτυξης φυκιών, στη μέση παρατηρούνται αναερόβιες και αερόβιες συνθήκες και στο βάθος πέρα από την ικανότητα διείσδυσης του φωτός γίνεται αναερόβια αποικοδόμηση [38,43].

Η εκροή της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας περιέχει υψηλά ποσοστά θρεπτικών συστατικών και παθογόνων μικροοργανισμών που δεν επιτρέπουν τη διάθεση σε φυσικό αποδεκτή. Από τα θρεπτικά συστατικά, το άζωτο απομακρύνεται με βιολογικές μεθόδους ενώ ο φωσφόρος απομακρύνεται μόνο στην περίπτωση διάθεσης σε ευαίσθητο αποδεκτή, λόγω του ανεπιθύμητου φαινομένου του ευτροφισμού [46]. Η απομάκρυνση του αζώτου γίνεται μέσω της σύνθετης διεργασίας της νιτροποίησης/απονιτροποίησης όπου η αμμωνία στα απόβλητα μετατρέπεται σε νιτρώδη άλατα και έπειτα σε νιτρικά από ειδικούς μικροοργανισμούς της ιλύος. Αν και η τοξική αμμωνία έχει πλέον

εξουδετερωθεί, τα λύματα συνεχίζουν να περιέχουν ενώσεις αζώτου με αρνητικές για το περιβάλλον συνέπειες. Εξασφαλίζοντας απουσία  $O_2$ , ένα μέρος των βακτηρίων ανάγει τα νιτρικά σε αέριο άζωτο για τις ανάγκες τους σε  $O_2$  και το αέριο αυτό έχοντας χαμηλή διαλυτότητα απομακρύνεται φυσικά από το σύστημα. Η αποτελεσματικότητα της νιτροποίησης εξαρτάται κυρίως από τη θερμοκρασία και την ηλικία της ιλύος ενώ μικρό ρολό έχει και το pH. Ιδανική ανάπτυξη παρουσιάζεται σε θερμοκρασία 20-35°C και σε pH 7-8 (συνήθεις τιμές για τα υγρά απόβλητα) ενώ η ηλικία της ιλύος πρέπει να είναι μεγάλη ώστε να ευνοείται η ανάπτυξη των *Nitrosomas* και *Nitrobacter* που παρουσιάζουν μικρό ρυθμό ανάπτυξης [46].



Ο φωσφόρος μπορεί να απομακρυνθεί εύκολα από το σύστημα είτε χημικά με τη δημιουργία συσσωματώματος είτε βιολογικά. Η απομάκρυνσή του όμως δεν είναι αναγκαία πάρα μόνο στην περίπτωση απόρριψης σε γλυκά νερά. Συνήθως προτιμάται η βιολογική μέθοδος καθώς έχει καλή απόδοση με μικρό κόστος και χωρίς τη χρήση χημικών που μπορεί να αυξήσουν την ολική περιεκτικότητα σε διαλυτά στερεά [6]. Για την απομάκρυνση των παθογόνων γίνεται κυρίως απολύμανση με χλώριο ή όζον, ενώ εφαρμογές βρίσκει και η χρήση λαμπτήρων υπεριώδους (UV). Σε περίπτωση που εφαρμόστηκε δευτεροβάθμια αναερόβια διεργασία δεν είναι αναγκαία η απολύμανση.

Στη βιομηχανία φρούτων και λαχανικών εφαρμόζεται επαναχρησιμοποίηση του νερού σε διαφορά στάδια της επεξεργασίας. Για παράδειγμα, νερό ψύξης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ξανά για την ψύξη μετά το ζεμάτισμα ενώ το νερό ζεματίσματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί με τη σειρά του για το πλύσιμο της πρώτης ύλης. Οι διεργασίες που απαιτούνται για την επαναχρησιμοποίηση του νερού μπορεί να είναι απλές όπως χλωρίωση ή να περιλαμβάνουν διαφορά στάδια όπως φιλτράρισμα, εξουδετέρωση, κατακάθιση κ.α. Πέρα από τις εγκαταστάσεις της μονάδας το νερό μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί για την άρδευση, εμπλουτισμό υπογείων υδάτων και αστικές χρήσεις (όχι κατανάλωση). Η ανακύκλωση του νερού κερδίζει έδαφος συνεχώς, ειδικά σε άνυδρες περιοχές, όπως τα Αραβικά Εμιράτα ή οι νότιες πολιτείες των ΗΠΑ, εγκυμονεί όμως διάφορους κίνδυνους και είναι συμφέρουσα μονάχα όταν το κόστος επεξεργασίας είναι μικρότερο από αυτό της χρήσης καθαρού νερού [38,39,45].

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΑΠΟΡΙΜΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ: ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ ΚΑΙ ΚΟΜΠΟΣΤΟΠΟΙΗΣΗ

Στο κεφάλαιο αυτό αναλύονται οι σύγχρονες μέθοδοι παραγωγής βιοκαυσίμων ως εναλλακτική χρήση της βιομάζας προς παραλαβή ενέργειας καθώς και δυο τεχνικές που βελτιστοποιούν την διαδικασία της κλασικής κομποστοποίησης που έχει ήδη συζητηθεί.

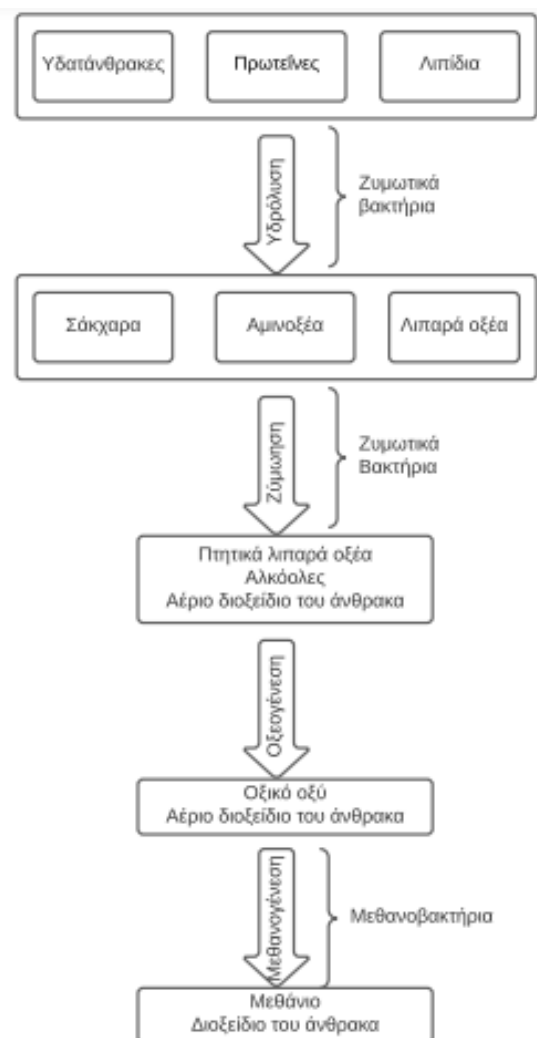
### 2.1 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ

#### 2.1.1 Βιομεθάνιο

Με τη βιοχημική διαδικασία της αναερόβιας χώνευσης και τη δράση αναερόβιων μικροοργανισμών, βακτηρίων και ενζύμων επιτυγχάνεται η αποδόμηση ακόμα και υγρής βιομάζας ή και βιομάζας με πολύ υψηλά ποσοστά υγρασίας, προς ανάκτηση βιοαερίου.

Οι μικροοργανισμοί που συμμετέχουν στη διαδικασία είναι αναερόβιοι μεσόφιλοι ή θερμόφιλοι με ιδανικές θερμοκρασίες ανάπτυξης τους 30-40°C ή 50-60°C αντίστοιχα [4]. Το βιοαέριο αποτελείται κυρίως από 50-75% μεθάνιο, 25-50% διοξείδιο του άνθρακα και ίχνη άλλων αερίων όπως υδρογόνο, υδρόθειο και νερό.

Χρησιμοποιείται ως εναλλακτικό καύσιμο προς αντικατάσταση των ορυκτών καυσίμων και εναλλακτική πηγή ενέργειας [1]. Η απαιτούμενη θερμότητα για την πραγματοποίηση της αναερόβιας χώνευσης μπορεί να προέλθει από καύση του παραγόμενου βιοαερίου [7]. Η αναερόβια χώνευση συμβάλλει επίσης στη μείωση του όγκου των αποβλήτων προς απόρριψη [3]. Γενικά, τα απόβλητα τροφίμων έχουν δυνατότητα παραγωγής μεθανίου (methane potential) κυμαινόμενη στα 0.3-1.1m<sup>3</sup>



Σχήμα 2.1: Διαδικασία αναερόβιας χώνευσης



$\text{CH}_4/\text{kgVS}_{\text{added}}$  (όπου VS:volatile solids) (cumulative yield) και πιο αποδοτικά θεωρούνται τα υποστρώματα πλούσια σε λιπίδια ( $1.014\text{m}^3/\text{kgVS}$ ), έπειτα σε πρωτεΐνες ( $0.74\text{m}^3/\text{kgVS}$ ) και τέλος σε υδατάνθρακες ( $0.37\text{m}^3/\text{kgVS}$  για γλυκόζη) καθώς τα πρώτα υδρολύονται με πιο αργό ρυθμό [6].

Συνήθως η διαδικασία πραγματοποιείται εντός αντιδραστήρων και τα στάδια της όπως φαίνεται και στο Σχήμα 2.1 είναι τα εξής [2]:

- Υδρόλυση, μέσω ζυμωτικών βακτηρίων, πολύπλοκων ενώσεων όπως μακρομόρια (υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, λιπίδια) σε απλούστερες υδατοδιαλυτές οργανικές ενώσεις όπως απλά σάκχαρα, αμινοξέα, λιπαρά οξέα
- Ζύμωση, μέσω των ίδιων βακτηρίων, σε ακόμα απλούστερες υδατοδιαλυτές ενώσεις όπως λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (πηκτικά λιπαρά οξέα), αλκοόλες και αέριο διοξείδιο του άνθρακα.
- Οξεογένεση. Πρόκειται για ενδιάμεσο στάδιο μεταξύ της αποδόμησης της οργανικής ύλης και του σχηματισμού του μεθανίου με κύρια προϊόντα το οξικό οξύ και το διοξείδιο του άνθρακα. Σημαντική προϋπόθεση είναι οι χαμηλές συγκεντρώσεις υδρογόνου
- Μεθανογένεση μέσω μεθανοβακτηρίων (είδος: αρχαία). Τα βακτήρια χωρίζονται σε δύο ομάδες που δρουν με δύο τρόπους. Τα πρώτα διασπούν το οξικό ιόν σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα ενώ τα δεύτερα παράγουν μεθάνιο από τη μετατροπή του διοξειδίου του άνθρακα και του υδρογόνου. Τα μεθανοβακτήρια είναι πιο ευαίσθητα από τα υδρολυτικά σε αλλαγές pH [4].

Τα υδρολυτικά ένζυμα του πρώτου σταδίου της αναερόβιας χώνευσης πρέπει πρώτα να προσκολληθούν στην επιφάνεια των στερεών υποστρωμάτων. Για βελτιστοποίηση της διαδικασίας και της ποιότητας των υποστρωμάτων είναι σημαντική η προ επεξεργασία αυτών είτε με ενζυμική υδρόλυση, είτε με φυσικούς (τεμαχισμός, υψηλή πίεση), θερμικούς (μικροκύματα) ή και χημικούς τρόπους (επεξεργασία με οξύ ή βάση) προς σπάσιμο τυχόν συσσωματωμάτων και μείωση του μεγέθους τους [4,8]. Για παράδειγμα, λύματα ελαιουργείων με  $\text{pH}= 4.3$  και υψηλή συγκέντρωση σε λιπίδια και m ενώσεις αναμιγνύονται με ασβέστη και μετονίτη με αποτέλεσμα να επιτευχθεί απομάκρυνση του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD) κατά 91%, κάτι που οδηγεί σε καλύτερη χώνευση των λυμάτων [8].

Η ελεγχόμενη αναερόβια χώνευση σε αντιδραστήρες παρουσιάζει τα εξής πλεονεκτήματα: μεγαλύτερες αποδόσεις αερίου καθώς και πιο ελεγχόμενη συλλογή αυτού σε σχέση με τη συλλογή του βιοαερίου που παράγεται κατά την απόρριψη σε χωματερές, βελτιωμένη ποιότητα βιοαερίου και συντομότερο χρόνο διαδικασίας [5]. Γενικά, για να βελτιωθεί η σταθερότητα αλλά και ο ρυθμός αποδόμησης της κυρίως μη ομογενούς βιομάζας, τα δύο πρώτα στάδια πραγματοποιούνται σε ξεχωριστό, πιο προηγμένο αντιδραστήρα υδρόλυσης, καταλήγοντας έτσι σε σύστημα δύο φάσεων. Ο αντιδραστήρας της μεθανογένεσης τροφοδοτείται με υδρολυμένο υπόστρωμα προς έναρξη της οξεογένεσης.

Οι βασικότερες παράμετροι που επηρεάζουν την απόδοση της αναερόβιας χώνευσης παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.1. [7]

<b>Πίνακας 2.1: Ιδανικές συνθήκες πραγματοποίησης αναερόβιας χώνευσης [7]</b>	
<b>Θερμοκρασία</b>	Μεσόφιλη (30-40°C) και θερμόφιλη (50-55°C) περιοχή
<b>Μέγεθος σωματιδίων</b>	Όχι πολύ μικρό γιατί παράγονται οξέα σε περίσσεια με αποτέλεσμα την πτώση του pH και τελικά αναστολή δράσης των μεθανοβακτηρίων
<b>Λόγος C/N</b>	25-30
<b>pH</b>	για όλη τη διαδικασία βέλτιστο εύρος 5.5-8.0 Οξεογένεση: 5.3-5.7 Μεθανογένεση: 5.8-7.2

Η τεχνική της συγχώνευσης (co-digestion) αποτελεί μια λύση για αύξηση της απόδοσης σε βιοαέριο. Καθώς η κλασική χώνευση μετατρέπει μόνο το 40-60% των πτητικών ενώσεων σε βιοαέριο, τα απόβλητα τροφίμων αναμιγνύονται με κοπριά, ενεργή ιλύς, υπολείμματα γεωργικής καλλιέργειας, σε ακαθόριστη αναλογία, για βελτίωση αυτού του ποσοστού (Πίνακας 2.2). Επίσης, τα απόβλητα τροφίμων συχνά περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις σε άλατα όπως νάτριο, ασβέστιο, κάλιο και μαγνήσιο που αποτελούν ανασταλτικό παράγοντα για την έκβαση της αναερόβιας χώνευσης. Με ταυτόχρονη

χώνευση των αποβλήτων τροφίμων και αποβλήτων με χαμηλές περιεκτικότητες σε άζωτο και λίπη λύνεται το παραπάνω πρόβλημα και επίσης αποφεύγεται η συσσώρευση ενδιάμεσων πτητικών ενώσεων και αέριας αμμωνίας [8]. Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως το στερεό υπόλειμμα της διαδικασίας πριν απορριφθεί ή χρησιμοποιηθεί σε αγροτικές καλλιέργειες θα πρέπει πρώτα να υφίσταται καύση στην πρώτη περίπτωση ή ειδική επεξεργασία προς σταθεροποίηση στη δεύτερη περίπτωση (για παράδειγμα κομποστοποίηση), καθώς μπορεί να περιέχει βλαβερές ουσίες για το έδαφος [3]. Ομοίως, οι εκροές με COD=1000mg/L πριν την επαναχρησιμοποίησή τους για άρδευση, απόρριψη στο αποχετευτικό δίκτυο ή σε υδάτινους αποδέκτες πρέπει να επεξεργαστούν κατάλληλα ώστε να πληρούν συγκεκριμένες προδιαγραφές θεσπισμένες από τη νομοθεσία [7].

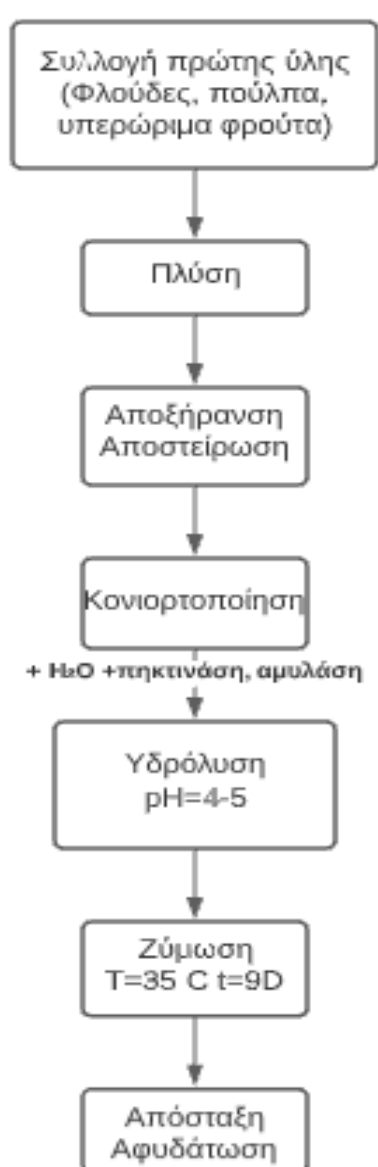
**Πίνακας 2.2: Ωφέλιμα υποστρώματα για συγχώνευση και πλεονεκτήματα [6]**

<b>Κοπριά</b>	<b>Ενεργή ιλύς</b>	<b>Φλοιοί ρυζιού</b>
Ρυθμιστικό διάλυμα	Υψηλή αλκαλικότητα	Υψηλός λόγος C/N
Παροχή θρεπτικών στο υπόστρωμα	Παρουσία μικροοργανισμών χρησιμων για ανάπτυξη μικροβίων	Αργά/δύσκολα αποδομήσιμοι
Σταθερό περιβάλλον για αναερόβιους μ/ους	Σε ανάμιξη με υποστρώματα πλούσια σε λιπίδια αυξάνεται η απόδοση σε μεθάνιο	Συμπλήρωμα σε άνθρακα σε υποστρώματα πλούσια σε άζωτο
Αύξηση αποδόμησης υποστρωμάτων πλούσια σε άνθρακα		Καθυστερεί την πρόωρη οξείδωση

Κατά τη διάρκεια της αναερόβιας χώνευσης αέρας με προσμίξεις από οργανικές ενώσεις (αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, εστέρες, διμεθυλοθειαιθέρας) και ατμό παράγεται από διάφορα στάδια της επεξεργασίας όπως από τον τόπο αποθήκευσης της οργανικής ύλης, τον κάδο ανάμιξης και τον αντιδραστήρα υδρόλυσης. Φίλτρα ικανά να αποδομούν τον αέρα κάτω από αερόβιες συνθήκες σε νερό και διοξείδιο του άνθρακα εφαρμόζονται στη μονάδα επεξεργασίας. Το παραγόμενο διμεθυλοσουλφίδιο οξειδώνεται σε θείο και πρέπει να απομακρύνεται τακτικά από τη μονάδα επεξεργασίας [2].

## 2.1.2 Βιοαιθανόλη

Η βιοαιθανόλη μπορεί να αποκτηθεί από οποιαδήποτε βιομάζα έχει υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα ή ενώσεις που μπορούν να μετατραπούν σε σάκχαρα όπως άμυλο και κυτταρίνη. Κατά κύριο λόγο σήμερα χρησιμοποιείται σε ανάμειξη με παραδοσιακά καύσιμα όπως βενζίνη, αν και μπορεί να χρησιμοποιηθεί και αυτούσια ως καύσιμο σε συγκεκριμένους κινητήρες. Συνήθως χρησιμοποιείται καλαμπόκι και ζαχαροκάλαμο από ειδικές καλλιέργειες προορισμένες για παραγωγή βιοκαυσίμων. Ανάλογα με την προέλευση της, η βιοαιθανόλη χαρακτηρίζεται ως πρώτη (βρώσιμες καλλιέργειες), δεύτερης (λιγνοκυτταρινική βιομάζα) και τρίτης γενιάς (άλγη). Η



Σχήμα 2.2: Παραγωγή βιοαιθανόλης από παραπροϊόντα εσπεριδοειδών

λιγνοκυτταρινική βιομάζα είναι στην ουσία ξηρή φυτική ύλη και βρίσκεται σε όλα τα φυτά. Αποτελείται από κυτταρίνες και ημικυτταρίνες στενά συνδεδεμένες με λιγνίνη [10]. Από τα απόβλητα φρούτων και λαχανικών ελκυστική απόδοση παρουσιάζουν τα απόβλητα ανανά, εσπεριδοειδών και τομάτας, συνεπώς είναι δυνατή η παραγωγή βιοαιθανόλης ως μέθοδος διαχείρισης αποβλήτων για τις βιομηχανίες κονσερβοποίησης και χυμοποίησης [16].

Εκτιμάται πως η αντικατάσταση των παραδοσιακών καυσίμων δεν μπορεί να βασιστεί πλήρως σε βιοαιθανόλη πρώτης γενιάς καθώς τέτοιου είδους καλλιέργειες πολλές φορές ανταγωνίζονται γόνιμη γη για την παραγωγή βρώσιμων σιτηρών, έχουν αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον και χαμηλή απόδοση ενέργειας ανά εκτάριο. Η χρήση λιγνοκυτταρινικών υλικών τα οποία βρίσκονται σε αφθονία στα απόβλητα βιομηχανιών τροφίμων προσφέρει μια κερδοφόρα και οικολογική εναλλακτική, παρουσιάζει όμως νέα προβλήματα και δυσκολίες στο κομμάτι της ανάπτυξης [15]. Σε γενικές γραμμές για την παραγωγή βιοαιθανόλης

δεύτερης γενιάς προτιμώνται πρώτες ύλες όπως τα άχυρα δημητριακών, οι φλούδες

πατάτας και η βαγάσση (bagasse) διότι παρουσιάζουν λιγότερες προοπτικές αξιοποίησης. Απόβλητα τομάτας, ανανά και εσπεριδοειδών είναι οικονομικά και περιβαλλοντικά βέλτιστο να χρησιμοποιηθούν για την παραλαβή βιοδραστικών ουσιών όπως φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα, διαιτητικές ίνες κ.α. [10,13]. Η παραγωγή βιοαιθανόλης από παραπροϊόντα εσπεριδοειδών περιγράφεται στο Σχήμα 2.2. Σημαντικό ρολό στη βιωσιμότητα της βιοαιθανόλης παίζει επίσης η διακύμανση της τιμής των παραδοσιακών καυσίμων και οι στόχοι για τη μείωση των αέριων του θερμοκηπίου.

Κατά την παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς, σάκχαρα και λιγνοκυτταρινικά συστατικά των αποβλήτων αποικοδομούνται από μικροοργανισμούς όπως ο *Saccharomyces cerevisiae* προς παραγωγή αιθυλικής αλκοόλης. Το υπόστρωμα θα πρέπει να έχει υψηλή συγκέντρωση στερεών ώστε να έχουμε αιθανόλη αντίστοιχης συγκέντρωσης με της πρώτης γενιάς. Έτσι, χρησιμοποιούνται κυρίως φλούδες και πούλπα ως πρώτη ύλη. Η διαδικασία παραγωγής αποτελείται από 3 κύρια στάδια, την προεπεξεργασία, την υδρόλυση και τη ζύμωση, ενώ μετέπειτα ακολουθεί περαιτέρω επεξεργασία ώστε να είναι κατάλληλη για καύσιμη ύλη [14].

Στις πρώτες ύλες που περιέχουν ελεύθερα σάκχαρα η προεπεξεργασία δεν είναι απαραίτητη. Οι φλούδες και η πούλπα όμως περιέχουν μεγάλα ποσοστά πηκτίνης και κυτταρίνης, οπότε στην περίπτωση αυτή απαιτείται μεγαλύτερη προεπεξεργασία. Η λιγνίνη που δεν περιέχει σάκχαρα περικλείει τα μόρια της κυτταρίνης εμποδίζοντας την υδρόλυση. Η προεπεξεργασία στοχεύει στη μείωση της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης και στην αύξηση του ποσοστού της άμορφης κυτταρίνης ώστε να προσβληθεί από τα ένζυμα της υδρόλυσης. Μια επιτυχημένη προεπεξεργασία θα πρέπει να σχηματίζει σάκχαρα απευθείας ή έμμεσα μέσω της υδρόλυσης, να αποτρέπει την απώλεια ή αλλοίωση των σακχάρων και να μη δημιουργεί προϊόντα που δρουν ως αναστολείς. Υδρόλυση δίχως προεπεξεργασία οδηγεί σε δραματική μείωση της απόδοσης έως και 70%. Φυσικά θα πρέπει να υπολογίζονται και οι απαιτήσεις σε ενέργεια και χρήματα στην επιλογή της κατάλληλης τεχνικής. Συνήθως επιλέγεται συνδυασμός μεθόδων, και στα πλαίσια αυτά, μερικές από τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους θα αναφερθούν παρακάτω [10]. Οι επιλεγόμενες μέθοδοι επεξεργασίας και οι συνθήκες τους μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με τις δυνατότητες κάθε μονάδας και τον επιλεχθέντα μικροοργανισμό.

Μια από τις βασικές μεθόδους προεπεξεργασίας είναι η κονιορτοποιήση. Έχει βρεθεί πως η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων δίνει καλύτερα αποτελέσματα κατά τη διάρκεια της υδρόλυσης αφού αυξάνει την επιφάνεια που έρχεται σε επαφή με το ένζυμο. Υπερβολική μείωση του μεγέθους όμως μπορεί να εμποδίσει περαιτέρω διαδικασίες προεπεξεργασίας και την ενζυματική υδρόλυση, έτσι το επιθυμητό μέγεθος έχει ευρεία διακύμανση με τάξη μεγέθους τα mm και εξαρτάται από την πρώτη ύλη και τις επιλεγμένες μεθόδους.

Μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος είναι η κατεργασία με ατμό (160-290°C) σε υψηλή πίεση (20-50 bar). Η βιομάζα θερμαίνεται για μερικά λεπτά και μετά ακολουθεί αποσυμπίεση, με αποτέλεσμα η απότομη διόγκωση του ατμού μέσα στο πλέγμα της λιγνοκυτταρίνης να διαχωρίζει τις ίνες. Η μεγάλη ανάκτηση ξυλόζης και η απουσία καταλυτών καθιστούν τη μέθοδο αρκετά ελκυστική. Είναι δυνατή η χρήση υγρής αμμωνίας και CO<sub>2</sub> σε παραλλαγές της παραπάνω μεθόδου. Η τελική επιλογή εξαρτάται από την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται και το επιθυμητό κόστος λειτουργίας. Ακόμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν βιολογικές μέθοδοι προεπεξεργασίας και συγκεκριμένα μύκητες που αποικοδομούν ξύλο (brown rot, white rot) για τη διάσπαση των λιγνοκυτταρινικών συστατικών [16].

Μια άλλη προσέγγιση είναι η χρήση χημικών παραγόντων για τη διάσπαση της λιγνοκυτταρίνης. Η χρήση οξέος σε υψηλή θερμοκρασία 130°C είναι αποτελεσματική αλλά έχει ως συνέπεια την παραγωγή μικροβιακών αναστολέων που εμποδίζουν τη ζύμωση, για αυτό είναι αναγκαία η απομάκρυνση τους πριν το τελευταίο στάδιο. Η χρήση βάσεως από την άλλη πλευρά καθιστά την κυτταρίνη και την ημικυτταρίνη ευάλωτες στην υδρόλυση και δεν απαιτεί υψηλές θερμοκρασίες και πιέσεις. Ενδεικτικά διάλυμα NaOH 1.5% σε 20°C για 144 ώρες απελευθέρωσε το 60 % της λιγνίνης και το 80% της ημικυτταρίνης. Τέλος, η διάσπαση της λιγνοκυτταρίνης με τη χρήση μυκήτων παρουσιάζει καλές προοπτικές. Είναι μια ασφαλής μέθοδος χωρίς μεγάλες ανάγκες σε εξοπλισμό και χωρίς τη χρήση χημικών όμως εμποδίζεται από τους μικρούς ρυθμούς υδρόλυσης και μικρή απόδοση [14].

Κατά τη διάρκεια της υδρόλυσης οι σύνθετοι υδατάνθρακες διασπώνται στα απλά μονομερή τους με επίδραση βάσεως/οξέος ή ενζύμων. Μερικά από τα απλά μονομερή είναι η μαλτόζη, σουκρόζη, γλυκόζη, φρουκτόζη και αποτελούν περίπου το 70% των διαλυτών στέρεων του υποστρώματος μετά τη φάση της υδρόλυσης. Η κατεργασία με οξύ

είναι η παλαιότερη μέθοδος, μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε αραιό οξύ ( $H_2SO_4$ ) σε υψηλή θερμοκρασία και πίεση ή πυκνό οξύ σε πιο ήπιες συνθήκες. Η χρήση βάσης παρουσιάζει το πλεονέκτημα της καλής απομάκρυνσης της λιγνίνης όμως είναι αργή διαδικασία και απαιτείται η απομάκρυνση ή εξουδετέρωση του αλκάλειου. Η χρήση ενζύμων έχει τις καλύτερες προοπτικές και χρησιμοποιείται ευρέως καθώς απαιτούνται χαμηλές θερμοκρασίες και απουσία αναστολέων, ωστόσο η αγορά των ενζύμων αυξάνει το κόστος της διαδικασίας. Βέβαια μπορεί να γίνει έμμεση χρήση ενζύμων με τον εμβολιασμό και την ανάπτυξη μικροοργανισμών που τα παράγουν. [16]

Τα ένζυμα της κυτταρινάσης έχουν βέλτιστη θερμοκρασία 40-50°C και pH 4-5. Θα πρέπει να σημειωθεί πως τα ένζυμα της κυτταρινάσης απαιτούν συγκεκριμένο υπόστρωμα. Η ενζυματική υδρόλυση είναι μια πολύ αργή διαδικασία καθώς εμποδίζεται από παραμέτρους υποστρώματος όπως η κρυσταλλικότητα της κυτταρίνης, η λιγνίνη και η έκταση της επιφανείας. Είναι προφανές λοιπόν πόσο αναγκαία είναι μια καλή προεπεξεργασία. Αν και αργή, οι αποδόσεις της είναι θετικές (75-85%) και προβλέπεται περιθώριο για βελτίωση (85-95%) εφόσον είναι ένας σχετικά νέος τομέας. Υπάρχουν και μέθοδοι που δεν απαιτούν χημικά ούτε ένζυμα όπως η υδρόλυση με ακτίνες γ ή μικροκύματα αλλά αυτή την στιγμή δεν έχουν εμπορικές εφαρμογές.

Η κυτταρίνη υδρολύεται με τη βοήθεια μιας ομάδας ενζύμων, των κυτταρινάσων. Αυτή η ομάδα ενζύμων παράγεται από μια ποικιλία βακτηρίων και μυκήτων. Μεταλλαγμένα στελέχη *Trichoderma* θεωρούνται τα πιο αποδοτικά, ενώ ο *T. reesei* βρίσκει εφαρμογή στη βιομηχανία φρούτων και λαχανικών χάρη στην υψηλή παραγωγή ενζύμου του. Ο *T. reesei* χρειάζεται συμπλήρωμα β-γλυκοσιδάσων ώστε να συνεχιστεί η αντίδραση μέχρι την παραγωγή γλυκόζης. Η διαδικασία της υδρόλυσης επηρεάζεται από μια πληθώρα παραγόντων όπως το pH, η θερμοκρασία, η αναστολή προϊόντος, το υπόστρωμα και η δράση της κυτταρινάσης. Κατά κύριο λόγο έρευνες διεξάγονται γύρω από τη βελτιστοποίηση των παραμέτρων της υδρόλυσης και την ενίσχυση της δράσης της κυτταρινάσης με στόχο την εξέλιξη της μεθόδου. [14]

Η διαδικασία της ζύμωσης μπορεί να γίνει από πληθώρα μικροοργανισμών, όμως δεν έχει βρεθεί ακόμα ένας μικροοργανισμός που να μπορεί να ζυμώσει αποδοτικά πεντόζες και εξόζες. Ένας ιδανικός μικροοργανισμός θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ευρύ φάσμα υποστρωμάτων, να αντέχει ακραίες συνθήκες (υψηλές θερμοκρασίες, συγκεντρώσεις αλκοόλης, ύπαρξη αναστολέων, χαμηλό pH) ενώ παράλληλα να διατηρεί μια καλή

απόδοση. Προσοχή θα πρέπει να δοθεί και στις τυχόν ανεπιθύμητες μεταλλάξεις του στελέχους που θα επιλεγθεί. Κατά κύριο λόγο χρησιμοποιούνται γενετικά τροποποιημένοι μικροοργανισμοί με μεγαλύτερες αποδόσεις, καλύτερη αξιοποίηση υποστρώματος και μειωμένους χρόνους ζύμωσης. Παραδοσιακά τα στάδια της σακχαροποίησης και της ζύμωσης ήταν ξεχωριστά. Η ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση όμως μπορεί να αποφέρει υψηλότερη παραγωγή αιθανόλης αποφεύγοντας την αναστολή τελικού προϊόντος και εξαλείφοντας την ανάγκη για ξεχωριστούς αντιδραστήρες. Συχνά συνδυάζεται με προεπεξεργασία ασθενούς οξέος. Μια εναλλακτική μέθοδος είναι η χρήση δύο μικροοργανισμών για τη ζύμωση, για παράδειγμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί *S. cerevisiae* αρχικά για την αξιοποίηση της εξόζης και σε δεύτερη φάση *C. shehatae* για την πεντόζη. Παρόλα αυτά αυτή η μέθοδος δεν έχει αρκετά υψηλές αποδόσεις ακόμα. Σε γενικές γραμμές βακτήρια όπως *Z. mobilis*, *E. coli* και *Klebsiella oxytoca* ζυμώνουν με εξαιρετικά γρήγορους ρυθμούς σε σχέση με τους μύκητες. Οι μικροοργανισμοί *S. cerevisiae* και *Z. mobilis* είναι οι πιο αποδοτικοί μέχρι τώρα. Θεωρητικά 100g γλυκόζης αποδίδουν 51.1g αιθανόλης και 48.9 g CO<sub>2</sub>.

Η ζύμωση μπορεί να είναι συνεχής, ημισυνεχής ή σε παρτίδες. Η ζύμωση σε παρτίδες είναι η πιο απλή, σύμφωνα με την οποία μικροοργανισμοί με μια μικρή ποσότητα θρεπτικού υλικού και το υπόστρωμα προστίθενται στον αντιδραστήρα. Στην συνέχεια, ελέγχεται το pH και η ποσότητα του διαθέσιμου O<sub>2</sub>. Στη συνεχή ζύμωση ο αντιδραστήρας που περιέχει τους ενεργούς μικροοργανισμούς τροφοδοτείται με συνεχή ροή υποστρώματος και θρεπτικών υλικών. Το τελικό προϊόν αφαιρείται συνεχώς από την κορυφή του και περιέχει αιθανόλη, κύτταρα και υπολείμματα σακχάρων. Στη βιομηχανία χρησιμοποιείται συνήθως η ημισυνεχής μέθοδος διότι δίνει την δυνατότητα μεταβολής των παραμέτρων της ζύμωσης και επιτρέπει τη συσσώρευση μεγαλύτερου ποσοστού αιθανόλης [14].

Μετά τη ζύμωση ακολουθεί κλασματική απόσταξη μέχρι μίγματος αλκοόλης-νερού περίπου 95% και τα περισσότερα στερεά παραμένουν στο νερό. Το μίγμα αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο. Σε περίπτωση που το καύσιμο προορίζεται για ανάμειξη με βενζίνη όμως θα πρέπει να ακολουθήσει περαιτέρω αφυδάτωση του διότι το διάλυμα δεν είναι αναμίξιμο σε όλες τις αναλογίες.



### 2.1.3 Βιοϋδρογόνο

Το βιοϋδρογόνο είναι ένα νέο καύσιμο που βρίσκεται κυρίως σε πειραματικό στάδιο. Η ενεργειακή του απόδοση είναι σχεδόν τριπλάσια σε σύγκριση με τα παραδοσιακά καύσιμα ενώ η καύση του παράγει μόνο νερό ως παραπροϊόν. Αν και η καύση του δεν εκπέμπει βλαβερά αέρια, οι συμβατικές διαδικασίες παραγωγής του είναι ενεργειακά απαιτητικές και δημιουργούν αέρια του θερμοκηπίου και αλλά βλαβερά παραπροϊόντα. Σε αντίθεση με τις παραδοσιακές μεθόδους παραγωγής η χρήση αποβλήτων της βιομηχανίας τροφίμων μπορεί να συμβάλει στη μείωση των αέριων του θερμοκηπίου. Οι μέθοδοι παραγωγής βιοϋδρογόνου αναφέρονται στον Πίνακα 2.3. Από αυτές, βιομάζα από απόβλητα λαχανικών και φρούτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην αεριοποίηση, πυρόλυση, φωτοζύμωση και σκοτεινή ζύμωση [18,19]. Ένα μεγάλο μειονέκτημα των διαδικασιών αυτών είναι η μειωμένη απόδοση που παρουσιάζουν σε σύγκριση με τη συμβατική παραγωγή υδρογόνου από ορυκτά καύσιμα [20]. Επίσης, αξίζει να σημειωθεί ότι στις μέρες μας το μεγαλύτερο ποσοστό του παραγόμενου υδρογόνου δε χρησιμοποιείται ως καύσιμο αλλά βρίσκει βιομηχανικές χρήσεις. Μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η σκοτεινή ζύμωση (Dark Fermentation) και ο συνδυασμός της με την φωτοζύμωση.

**Πίνακας 2.3: Μέθοδοι παραγωγής H<sub>2</sub> [18,19]**

Θερμικές	Βιολογικές	
Πυρόλυση	Παρουσία φωτός	Απουσία φωτός
Αεριοποίηση	Φωτοζύμωση	Σκοτεινή Ζύμωση

Κατά την αεριοποίηση η βιομάζα θερμαίνεται στους 600-1000 °C με περιορισμό O<sub>2</sub> και αέρα ώστε να γίνει ατελής καύση. Η διαδικασία παράγει υδρογόνο, μονοξείδιο του άνθρακα και μεθάνιο (εύφλεκτα υλικά) καθώς και διοξείδιο του άνθρακα, αμμωνία και υδρατμούς. Λόγω της φύσης της διαδικασίας είναι δυνατή μεγάλη διακύμανση στη χρησιμοποιούμενη βιομάζα, είναι δυνατή δηλαδή η επεξεργασία διάφορων λυμάτων στην ίδια εγκατάσταση. Βέβαια η σύνθεση της βιομάζας επηρεάζει την τελική σύσταση του αερίου. Πριν την αεριοποίηση είναι αναγκαία η προεπεξεργασία για τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων. Η διαδικασία της αεριοποίησης απαιτεί υψηλά ποσά ενέργειας και εμποδίζεται από μεγάλες συγκεντρώσεις υγρασίας, χαρακτηριστικό των αποβλήτων φρούτων και λαχανικών συνεπώς δεν προτιμάται η χρήση τους.

Η πυρόλυση πραγματοποιείται σε χαμηλότερη θερμοκρασία 200-500 °C απουσία οξυγόνου ενώ μπορεί να υποβοηθηθεί από καταλύτες όπως η πλατίνα. Παρουσιάζει παρόμοια πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα με την αεριοποίηση [21].

Τα παραπροϊόντα τροφίμων περιέχουν σύνθετους πολυσακχαρίτες που απαιτούν υδρόλυση για την αξιοποίησή τους. Η υδρόλυση μπορεί να είναι χημική, ενζυμική ή θερμική, συνήθως όμως προτιμάται η εφαρμογή υψηλών θερμοκρασιών (200-260°C) και πιέσεων (60atm). Η χημική μέθοδος έχει υψηλό κόστος ενώ παράγει δύσκολα διαχειρίσιμες εκροές. Ακόμα, η ενζυμική υδρόλυση δεν ενδείκνυται για διακυμάνσεις στην πρώτη ύλη καθώς απαιτεί βελτιστοποίηση, δηλαδή ρύθμιση του pH και εξουδετέρωση αναστολέων. Από την άλλη πλευρά η θερμική υδρόλυση επιτυγχάνει και την παράλληλη αποστείρωση του υποστρώματος [22].

Κατά τη φωτοζύμωση, μικροοργανισμοί των οικογενειών *Rhodobacter*, *Rhodospirillum rubrum* χρησιμοποιούν οργανικά οξέα μικρής αλυσίδας όπως βουτυρικό, γαλακτικό, πυροσταφυλικό κ.α. και παράγουν διοξείδιο του άνθρακα και στοιχειακό υδρογόνο ενώ για την παραγωγή νέων κυττάρων χρησιμοποιούνται και άλλες οργανικές ενώσεις [23]. Οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν τα ένζυμα υδρογενάση (hydrogenase) και νιτρογενάση (nitrogenase) για τη διάσπαση των πτητικών οργανικών οξέων (στις αναερόβιες συνθήκες που επικρατούν κυρίαρχο ρολό έχει η νιτρογενάση). Προσοχή θα πρέπει να δοθεί στην παρουσία οξυγόνου ή αλάτων αμμωνίας διότι αναστέλλουν τη λειτουργία τις νιτρογενάσης. Βέβαια το άζωτο είναι αναγκαίο για τη σύνθεση νέων κυττάρων και άρα την παραγωγή υδρογόνου. Πολύ συχνά ως πηγή αζώτου χρησιμοποιείται γλουταμινικό νάτριο [24,25]. Οι βέλτιστες συνθήκες για τη λειτουργία της νιτρογενάσης είναι ουδέτερο pH και ήπιες θερμοκρασίες 30-40°C ενώ υπάρχει μεγάλη ανάγκη σε φως. Υψηλή συγκέντρωση οργανικών οξέων στο υπόστρωμα μπορεί επίσης να αναστείλει τη λειτουργία της νιτρογενάσης λόγω της υπερβολικής μείωσης του pH [23]. Οι συνθήκες στον βιοαντιδραστήρα είναι οι βέλτιστες συνθήκες για τη νιτρογενάση ενώ χρησιμοποιείται φωτισμός γύρω στα 4000 lx και η παραγωγή υδρογόνου σταματάει περίπου μετά από 5 μέρες συνεχούς φωτισμού. Ηλιακό φως μπορεί να χρησιμοποιηθεί χωρίς μεγάλα μειονεκτήματα, ενώ έχει βρεθεί ότι απουσία φωτός η παραγωγή υδρογόνου συνεχίζεται με μειωμένους ρυθμούς για μικρό χρονικό διάστημα ενώ οι μικροοργανισμοί επιβιώνουν και η διαδικασία συνεχίζεται κανονικά μετά την αποκατάσταση του φωτός [25]. Οι αποδόσεις είναι αρκετά υψηλές, γύρω στο 80% της



γραμμές, η οξεογένεση και ακετογένεση είναι ευαίσθητες σε περιβαλλοντικές συνθήκες όπως το pH και η σύσταση του υποστρώματος. Τα απόβλητα φρούτων και λαχανικών παρουσιάζουν εξαιρετικά ευνοϊκές συνθήκες όπως υψηλά ποσοστά υγρασίας >70%, καλή αναλογία C/N=20 και υψηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες [25]. Για τη βελτιστοποίηση της απόδοσης θα πρέπει να ελεγχθεί η ανάπτυξη των μεθανοβακτηρίων διότι μετατρέπουν τα παραγόμενα αέρια σε μεθάνιο. Η θερμική επεξεργασία φαίνεται να είναι επιτυχής στην καταστολή της ανάπτυξης τους [24]. Τα βακτήρια που παράγουν υδρογόνο είναι ανθεκτικότερα στις υψηλές θερμοκρασίες και επιβιώνουν το θερμικό σοκ ως σπόροι. Επίσης μπορεί να ακολουθήσει εμβολιασμός του υποστρώματος με μεικτή καλλιέργεια επιθυμητών μικροοργανισμών. Ένας άλλος τρόπος ελέγχου της ανάπτυξης των μεθανοβακτηρίων είναι η ρύθμιση του pH και της θερμοκρασίας στον βιοαντιδραστήρα. Τα μεθανοβακτήρια είναι ενεργά σε εύρος pH 6,3-7,8 ενώ η οξεογένεση ευνοείται σε pH 5-6. Έχει βρεθεί ότι βέλτιστη παραγωγή υδρογόνου επιτυγχάνεται σε θεμόφιλες θερμοκρασίες (55°C), εάν δεν υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης μεθανοβακτηρίων βέβαια η μικρή διαφορά σε απόδοση σε σχέση με τις μεσόφιλες θερμοκρασίες (30-35°) δε δικαιολογεί το αυξημένο κόστος λειτουργίας. [25] Τέλος, αναπτύσσεται συνεχώς ο συνδυασμός της σκοτεινής ζύμωσης με φωτοζύμωση. Τα παραγόμενα από την σκοτεινή ζύμωση πτητικά οργανικά οξέα χρησιμοποιούνται ως πρώτη ύλη στον ίδιο ή σε ξεχωριστούς αντιδραστήρες με μικρή αλλαγή στις συνθήκες. Εφαρμόζοντας αυτή την τεχνική έχει παρατηρηθεί έως και διπλασιασμός της απόδοσης.

## 2.2 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗ ΚΟΜΠΟΣΤΟΠΟΙΗΣΗ

### 2.2.1 Κομποστοποίηση με γαιοσκώληκες-Vermicomposting

Η κομποστοποίηση που πραγματοποιείται από σκουλήκια και γαιοσκώληκες ονομάζεται vermicomposting. Το πιο σύνηθες είδος σκουληκιού είναι το *Eisenia fetida* (κοινώς γνωστό ως Κόκκινο Σκουλήκι) ικανό να αποδομήσει απόβλητα γεωργίας, ζωικά και πτηνών [30]. Πρόκειται για σκουλήκι ανεκτικό σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών με ταχύ ρυθμό αναπαραγωγής και γενικά αρκετά προσαρμοστικό [31]. Τα σκουλήκια αυτά λειτουργούν ως φυσικοί αναδευτήρες, συνθλίβοντας την οργανική ύλη με αποτέλεσμα να μειώνεται ο λόγος C/N και να αυξάνεται η εκτιθέμενη προς αποσύνθεση από μικροοργανισμούς επιφάνεια [34].

Η διαδικασία του vermicomposting διακρίνεται σε δύο στάδια:

- Την ενεργή φάση όπου δρουν οι γαιοσκώληκες και οι μικροοργανισμοί, αποδομώντας την οργανική ύλη και
- Τη φάση παρόμοια με φάση ωρίμανσης όπου οι γαιοσκώληκες αποδομούν νέες στρώσεις οργανικής ύλης ενώ τα μικρόβια επικρατούν στις προηγούμενες στρώσεις.

Ιδανικότερη οργανική ύλη προς αποσύνθεση από γαιοσκώληκες είναι αυτή με τα εξής χαρακτηριστικά: (α) pH=5-8, (β) υγρασία=40-55%, (γ) αρχικός λόγος C/N=30 [35]. Στην περίπτωση που εξαρχής αυτά δεν υπάρχουν, η χρήση διογκωτικών υλών ή προεπεξεργασίας συστήνεται για ρύθμιση των παραγόντων.

Μετά το πέρας της διαδικασίας παραλαμβάνεται ένα προϊόν (vermicompost) με εξαιρετικές ιδιότητες λιπάσματος, πλούσιο σε άζωτο (23%), κάλιο (1.85-2.25%), φώσφορο (1.55-2.25%), ασβέστιο, μαγνήσιο, μαγγάνιο, ψευδάργυρο, μικροθρεπτικά συστατικά, ένζυμα που συνεχίζουν τη διάσπαση της οργανικής ύλης εντός εδάφους και μικρόβια ευεργετικά για το έδαφος [29]. Η μικροβιακή ποικιλία



Εικόνα 2.1: Vermicomposting

εξασφαλίζει και διατηρεί τη γονιμότητα του εδάφους καθώς και την ανακύκλωση των θρεπτικών συστατικών και πραγματοποίηση φυτικοχημικών διεργασιών εντός του.

Οι γαιοσκώληκες συμβάλλουν στην απαλλαγή (μέσω της βιοαποδόμησης) από τοξικά χημικά και βαρέα μέταλλα καθώς και από παθογόνα του τελικού προϊόντος [33]. Στις καλλιέργειες που έχει προστεθεί έχει παρατηρηθεί πως απωθούν παράσιτα και προστατεύουν από ασθένειες και ζιζάνια. Αυτή η δράση πιθανώς οφείλεται στα περιεχόμενα αντιβιοτικά που παρέχουν αντίσταση στα φυτά.

Για να χρησιμοποιηθεί το τελικό vermicompost πρέπει να είναι ώριμο και να ελέγχεται η ποιότητά του [32]. Τα γενικά τελικά χαρακτηριστικά του είναι πως διαθέτει υψηλό

πορώδες, χαμηλό λόγο C/N=14, υψηλή ικανότητα συγκράτησης νερού και ουδέτερο pH. Η ωριμότητα, όπως και στο κλασικό κομπόστ, χαρακτηρίζει την καταλληλότητα του καθώς και την περιεκτικότητα σε βλαβερές για το έδαφος ουσίες. Εφαρμογή μη ώριμου vermicompost οδηγεί σε έλλειψη αζώτου στις καλλιέργειες, πτώση της συγκέντρωσης οξυγόνου έως και αναερόβιες συνθήκες στο σύστημα ριζών και, τέλος, αναστέλλει την ανάπτυξη των φυτών λόγω της παραγωγής τοξικών ενώσεων όπως αμμωνία, οργανικά οξέα και αιθυλενοξειδίο.

Έρευνες, πειράματα και μελέτες που έχουν διεξαχθεί, έχουν αποδείξει πως η διαδικασία του vermicomposting εμφανίζει μειωμένες εκπομπές αέριας αμμωνίας, μεθανίου και υποξειδίου του αζώτου [35]. Σε αυτό οφείλεται η παρουσία των γαιοσκωλήκων, στις χαμηλότερες σε σχέση με την κομποστοποίηση θερμοκρασίες καθώς και στις μειωμένες αναερόβιες συνθήκες που επικρατούν κατά τη διάρκεια της απονιτροποίησης.

Οι βασικές διαφορές που εντοπίζονται μεταξύ της κλασικής κομποστοποίησης και του vermicomposting είναι ότι:

- Στην κλασική κομποστοποίηση επικρατούν θερμοφιλα βακτήρια ενώ στο vermicomposting επικρατούν μεσόφιλα και μύκητες
- Η διαδικασία του vermicomposting δεν απαιτεί τη φάση της ωρίμανσης, που σημαίνει πως είναι πολύ πιο σύντομη από την κλασική κομποστοποίηση και το τελικό προϊόν (vermicompost) είναι άμεσα διαθέσιμο για χρήση.
- Το vermicompost έχει λεπτότερη υφή και τα θρεπτικά του είναι ευκολότερα απορροφήσιμα από το έδαφος. Επίσης είναι εξαιρετικός ρυθμιστικός παράγοντας της ανάπτυξης των φυτών με μεγάλη ποικιλία στους μικροβιακούς πληθυσμούς.
- Το κομπόστ είναι πλούσιο σε αμμώνιο ενώ το vermicompost σε νιτρικά κάτι το οποίο καθιστά το άζωτο πιο εύκολα και άμεσα διαθέσιμο στις καλλιέργειες.

Συχνά, οι δύο μέθοδοι συνδυάζονται. Η κλασική κομποστοποίηση χρησιμοποιείται σαν προεργασία πριν τη διαδικασία του vermicomposting. Τα απόβλητα υποβάλλονται σε κλασική κομποστοποίηση για δυο εβδομάδες ώστε να εξασφαλιστεί η εξυγίανση λόγω θερμοφίλων συνθηκών και απαλλαγή από ουσίες που είναι τοξικές για τους γαιοσκώληκες (π.χ. όξινες ενώσεις). Σε αυτές τις δύο εβδομάδες, τα απόβλητα αναδεύονται συχνά για να εξασφαλιστούν οι απαιτούμενες αερόβιες συνθήκες και να

εξαλειφθούν παραγόμενες οσμές [35]. Έπειτα ακολουθεί η διαδικασία του vermicomposting όπου μειώνεται το μέγεθος των σωματιδίων και αυξάνεται η διαθεσιμότητα των θρεπτικών [34]. Ο συνδυασμός αυτός οδηγεί σε εξοικονόμηση χρημάτων και χρόνου και επιτρέπει την αποσύνθεση οργανικής ύλης με ποικίλα χαρακτηριστικά. Επίσης, από έρευνες έχει προκύψει πως οι εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου ήταν λιγότερες [35]. Έτσι, η ενσωμάτωση της κλασικής κομποστοποίησης στη διαδικασία του vermicomposting οδηγεί σε πιο ποιοτικό εδαφοβελτιωτικό/λίπασμα και είναι πιο φιλική ως τεχνική για το περιβάλλον.

### **2.2.2 Προεπεξεργασία της οργανικής ύλης με υδροθερμική επεξεργασία- Hydrothermal pretreatment**

Όπως έχει ήδη αναφερθεί το μέγεθος των σωματιδίων της οργανικής ύλης στη διαδικασία της κομποστοποίησης παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην έκβαση της. Έχει αποδειχθεί πως όσο μικρότερο, τόσο πιο αποδοτική είναι η διαδικασία της αποδόμησης της βιομάζας αφού αυξάνεται η συνολική επιφάνεια που είναι διαθέσιμη προς μικροβιακή αποδόμηση.

Η υδροθερμική προεπεξεργασία μειώνει το μέγεθος των σωματιδίων της βιομάζας καθώς επίσης αυξάνει και τη διαλυτότητα ορισμένων οργανικών στοιχείων. Ωστόσο, προάγει και την παραγωγή φουρανίου που αναστέλλει διάφορες μικροβιακές δραστηριότητες όπως ανάπτυξη μικροοργανισμών απαιτούμενων για τη διαδικασία της κομποστοποίησης. Προς αποφυγή αυτού του φαινομένου, το τελικό μετά την υδροθερμική επεξεργασία προϊόν εμβολιάζεται με μικροοργανισμούς (συνήθως θερμοφίλους μύκητες) ικανούς να καταναλώσουν/αποδομήσουν το φουράνιο (π.χ. *Paecilomyces inflatus*)

Η διαδικασία της υδροθερμικής επεξεργασίας περιλαμβάνει τη διοχέτευση ατμού ή καυτού νερού στο μίγμα βιομάζας-διογκωτικών υλών με αποτέλεσμα να δημιουργείται μια μάζα ευκολότερα αποδομήσιμη από τα ένζυμα. Τελικά, η μάζα αυτή είναι άμεσα διαθέσιμη για κλασική κομποστοποίηση. Ένα άλλο σημαντικό πλεονέκτημα της προεπεξεργασίας είναι πως η βιομάζα απαλλάσσεται από την παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών λόγω των υψηλών θερμοκρασιών και οδηγείται προς κομποστοποίηση ένα στείρο προϊόν.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΝΑΚΤΗΣΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ

### 3.1 ΚΛΑΣΣΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Η εκχύλιση/ανάκτηση των συστατικών ενδιαφέροντος (λιπίδια, φαινόλες, τερπένια, καροτενοειδή κλπ) αποτελεί πολύ σημαντικό βήμα για τη μετέπειτα επεξεργασία και χρήση τους. Οι συμβατικές τεχνικές εκχύλισης περιλαμβάνουν τις εξής μεθόδους: (α) απόσταξη με νερό, ατμό ή και συνδυασμό των δύο (μέθοδος Soxhlet), (β) εκχύλιση και εμποτισμό με χρήση διαλύτη (maceration). Η εκχύλιση με διαλύτες (οργανικούς και μη) υποβοηθείται με θέρμανση ή και ανάδευση και ως στόχο έχει την αύξηση της διαλυτότητας των συστατικών ενδιαφέροντος καθώς και τη βελτίωση της μεταφοράς μάζας. Οι συμβατικές εκχυλίσεις επηρεάζονται από πληθώρα παραγόντων όπως την πυκνότητα, την πολικότητα, την τοξικότητα, την εκλεκτικότητα, την πτητικότητα, το ιξώδες και την καθαρότητα τόσο των δειγμάτων όσο και των διαλυτών [4].

#### 3.1.1 Εκχύλιση με χρήση διαλυτών - Maceration

Η διαδικασία της εκχύλισης με διαλύτες, σε μικρή κλίμακα παραγωγής, περιλαμβάνει τον εμποτισμό του δείγματος με διαλύτες με τα εξής στάδια [1,3,5,6]:

- Τεμαχισμός του δείγματος έτσι ώστε να αυξηθεί η επιφάνεια επαφής με τον διαλύτη και να αναμιχθεί καλύτερα με αυτόν
- Προσθήκη κατάλληλου και συμβατού με το δείγμα, διαλύτη (menstruum) σε κλειστό δοχείο, σε θερμοκρασία δωματίου
- Μετά από παραμονή για καθορισμένο χρονικό διάστημα (3-7 ημέρες), ο διαλύτης απομακρύνεται από το διάλυμα με εξάτμιση υπό κενό και το απομένον στερεό υπόλειμμα (marc) αναμιγνύεται με νέα ποσότητα διαλύτη και τελικά το μίγμα διηθείται.

Η μεταφορά της θερμότητας γίνεται με συναγωγή και η επιλογή του διαλύτη (πολικός ή μη) καθορίζει ποια συστατικά θα εκχυλιστούν. Τα συστατικά που εκχυλίζονται είναι παρόμοιας πολικότητας με τον διαλύτη. Οι πλέον διαδεδομένοι οργανικοί διαλύτες που χρησιμοποιούνται (είτε αυτούσιοι είτε σε μίγματα με διάφορες αναλογίες νερού) είναι το εξάνιο, η ακετόνη, η μεθανόλη, ο διαιθυλαιθέρας, το χλωροφόρμιο, το ακετονιτρίλο και η αιθανόλη.

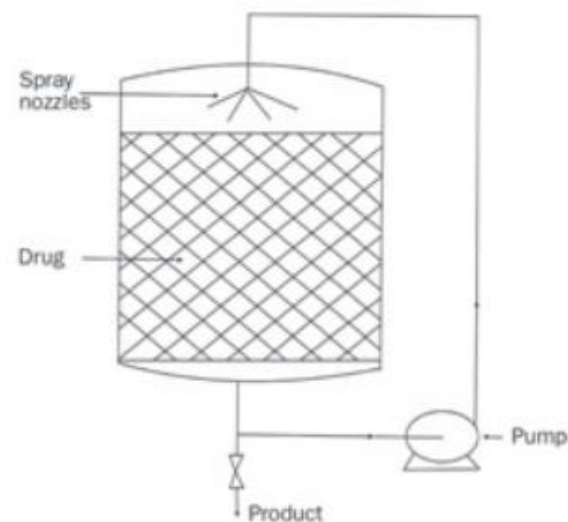
Συχνά, χρησιμοποιείται ανάδευση διότι διευκολύνει την εκχύλιση καθώς: (α) αυξάνεται η διάχυση του διαλύτη στο δείγμα και (β) αυξάνεται η απόδοση της εκχύλισης με την διάλυση συσσωματωμάτων που έχουν δημιουργηθεί [1].



Ως τεχνική είναι μη βιώσιμη καθώς [2]:

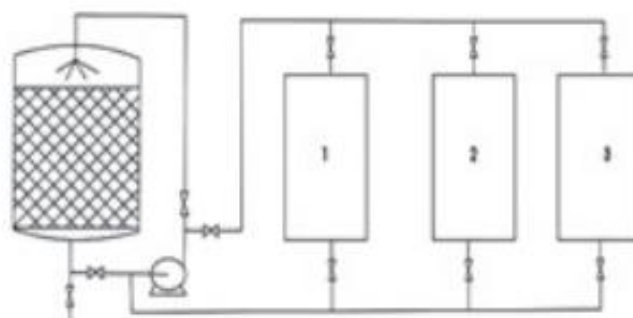
- Οι καταναλώσεις διαλυτών είναι πολύ υψηλές
- Η παραλαβή και ανάκτηση των συστατικών ενδιαφέροντος είναι σε χαμηλά επίπεδα (μικρή απόδοση)
- Ο χρόνος που απαιτείται για την εκχύλιση είναι μεγάλος

Σε βιομηχανική κλίμακα ορισμένες τροποποιήσεις πρέπει να εφαρμοστούν ώστε η μέθοδος να είναι αποτελεσματική. Τα προβλήματα στη βιομηχανία που πρέπει να λυθούν είναι η απαιτούμενη ανάδευση του μίγματος, η μείωση της χρήσης διαλυτών και το κόστος της εξάτμισης. Αρχικά, η πρώτη εναλλακτική περιλαμβάνει τη διαρκή κυκλοφορία του διαλύτη μέσα από το δείγμα (circulatory extraction)



Εικόνα 3.1: Circulatory extraction [80]

(Εικόνα 3.1). Αυτό επιτυγχάνεται με τη βοήθεια αντλίας η οποία προωθεί τον διαλύτη από την βάση του δοχείου σε ψεκαστήρες που ψεκάζουν πάνω από το δείγμα. Έτσι αποφεύγεται ο σχηματισμός συσσωματωμάτων και επιτυγχάνεται καλύτερη κατανομή του διαλύτη. Η δεύτερη



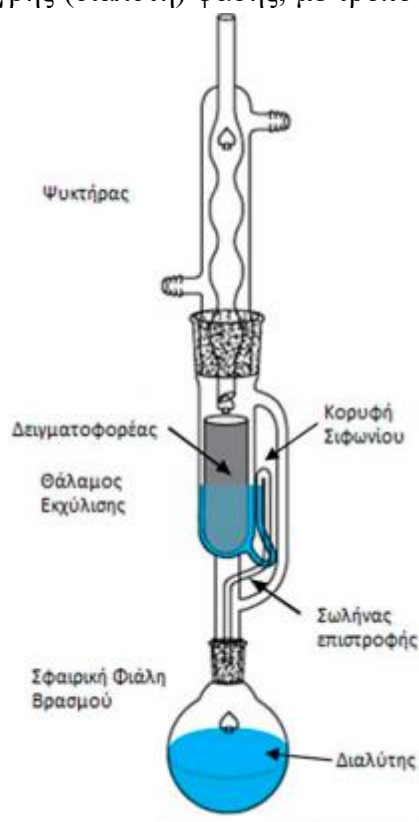
Εικόνα 3.2: Εκχύλιση πολλαπλών φάσεων [80]

εναλλακτική περιλαμβάνει την εκχύλιση σε πολλαπλά στάδια (multistage extraction) (Εικόνα 3.2). Ο απαιτούμενος εξοπλισμός περιλαμβάνει ένα δοχείο για το δείγμα, μια αντλία κυκλοφορίας, ψεκαστήρες και δοχεία προς παραλαβή των εκχυλισμάτων και όλα ενώνονται με σωλήνες. Κάθε παρτίδα με δείγμα εκχυλίζεται πολλές φορές με διαλύτη και κάθε κύκλος που ολοκληρώνεται καταλήγει σε ένα από τα δοχεία όπου το πρώτο (1)

δέχεται το πιο πυκνό ενώ το τελευταίο (3) το πιο αραιό διάλυμα. Η τελευταία εκχύλιση γίνεται πάντα με φρέσκο διαλύτη για μέγιστη απόδοση [6].

### 3.1.2 Εκχύλιση με τη μέθοδο Soxhlet

Στην εκχύλιση Soxhlet πραγματοποιείται μια διαδικασία μεταφοράς μάζας η οποία περιλαμβάνει την απομάκρυνση του επιθυμητού συστατικού από το στερεό υλικό χρησιμοποιώντας οργανικό διαλύτη ικανό να διαλύσει την επιθυμητή ουσία. Κατά τη διεργασία της εκχύλισης, ο διαλύτης διεισδύει στη στερεά μάζα του αποβλήτου και διαλυτοποιεί ενώσεις παρόμοιας πολικότητας. Στη συνέχεια ο διαλύτης απομακρύνεται από το εκχύλισμα με την ουσία ενδιαφέροντος. Ο χρόνος που απαιτείται για να επιδράσει ο διαλύτης με το στερεό υλικό είναι σημαντικός για την ανάκτηση των επιθυμητών συστατικών και επηρεάζεται από πληθώρα παραγόντων με κυριότερες τη θερμοκρασία της διαδικασίας και τη φύση του διαλύτη και του αποβλήτου. Συνεπώς, για τη βελτιστοποίηση της διαδικασίας, είναι μείζονος σημασίας η σωστή επιλογή διαλύτη και η προεπεξεργασία του δείγματος. Σύμφωνα με τον νομό του Fick η διάχυση των διαλυτών συστατικών εξαρτάται από τη διαφορά συγκέντρωσης μεταξύ στερεής (αποβλήτου) και υγρής (διαλύτη) φάσης, με τρόπο ώστε όσο μεγαλύτερη είναι η διαφορά μεταξύ των δυο



Εικόνα 3.3: Εκχυλιστήρας Soxhlet μικρής και μεσαίας κλίμακας [79]

φάσεων τόσο ταχύτερη θα είναι η εκχύλιση. Κατά την εκχύλιση Soxhlet υπάρχει συνεχή επαφή του δείγματος με φρέσκο διαλύτη και αρά μείωση του απαιτούμενου χρόνου.

Ο εκχυλιστήρας (Εικόνα 3.3) αποτελείται από μια σφαιρική φιάλη τοποθετημένη σε θερμαντικό μανδύα με προσαρτημένο οριζόντιο θάλαμο εκχύλισης και ψυκτήρα στο επάνω μέρος της. Ο διαλύτης τοποθετείται στη φιάλη και θερμαίνεται μέχρι εξατμίσεως. Ο εξατμισμένος διαλύτης ανέρχεται μέσω του πλευρικού σωλήνα και συμπυκνώνεται στον ψυκτήρα πέφτοντας έπειτα στον θάλαμο εκχύλισης όπου έρχεται σε επαφή με το δείγμα. Κατά την επαφή πραγματοποιείται εκχύλιση σε θερμοκρασία παραπλήσια με τη θερμοκρασία συμπύκνωσης του διαλύτη. Το μίγμα διαλύτη και εκχυλίσματος συσσωρεύεται στον θάλαμο με το

δείγμα έως ότου φτάσει στην κορυφή του σιφωνίου όπου και αναρροφάται και επιστρέφει στη φιάλη απόσταξης. Έπειτα ο διαλύτης εξατμίζεται εκ νέου και επαναλαμβάνεται η διαδικασία ενώ το εκχύλισμα παραμένει στη φιάλη [8,1].

Αν και η εκχύλιση Soxhlet σχεδιάστηκε για την παραλαβή λιπιδίων είναι δυνατό να παραληφθούν και άλλες ουσίες όπως σάκχαρα, πεπτίδια και οργανικά οξέα. Στα φυτικά απόβλητα υπάρχει μεγάλο εύρος βιοδραστικών ουσιών που θα μπορούσαν να ανακτηθούν. Για παράδειγμα, καροτενοειδή από απόβλητα κονσερβοποιειών όπως οι ντομάτες (λυκοπένιο) ή τα καρότα (β-καροτένιο), ελαϊκό και λινελαϊκό οξύ από κουκούτσι ροδάκινου και κασιγάρο ελιάς, λιμονένιο από πούλπα και φλούδες εσπεριδοειδών και μεγάλη ποικιλία φαινολικών ουσιών από φύλλα και κασιγάρο ελιάς [3].

Όπως προαναφέρθηκε η επιλογή κατάλληλου διαλύτη είναι το κλειδί για την επιτυχή εκχύλιση. Ο ιδανικός διαλύτης θα πρέπει να διεισδύει εύκολα στο στερεό υλικό, να παρουσιάζει επιλεκτική διαλυτότητα και να έχει χαμηλό σημείο βρασμού. Σημασία θα πρέπει να δοθεί στην επικινδυνότητα/τοξικότητα του διαλύτη τόσο ως προς το προσωπικό όσο και προς το περιβάλλον. Για την προστασία του καταναλωτή θα πρέπει να μην εμφανίζονται κατάλοιπα διαλύτη στο τελικό προϊόν οπότε απαιτείται και ευκολία στον διαχωρισμό του μείγματος. Η δυνατότητα ανακύκλωσης του διαλύτη παρουσιάζει μεγάλο οικονομικό και περιβαλλοντικό όφελος. [10]

**Πίνακας 3.1: Συνήθεις διαλύτες με αύξουσα σειρά πολικότητας και οι ουσίες που εκχυλίζουν**

	Εξάνιο, επτάνιο	Λιπίδια, λιπαρά οξέα, κηροί, τερπένια
<b>Μη πολικοί</b>	Χλωροφόρμιο, διγλωρομεθάνιο, οξικός μεθυλεστέρας	Καροτενοειδή, χλωροφύλλες, φλαβονοειδή, φαινόλες
	Ακετόνη, μεθανόλη	Οργανικά οξέα, άμυνες, αμινοξέα, αλκαλοειδή, φαινόλες
<b>Πολικοί</b>	Αιθανόλη, νερό	Σάκχαρα, νουκλεοτίδια

Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η συνεχής επαφή του δείγματος με φρέσκο διαλύτη, η απλότητα της μεθόδου και το μικρό επενδυτικό κόστος. Επίσης η μέθοδος δεν απαιτεί

υψηλά εξειδικευμένο προσωπικό σε σύγκριση με τις καινοτόμες μεθόδους. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι η διαδικασία είναι χρονοβόρα και απαιτούνται μεγάλοι όγκοι διαλύτη σε σχέση με τις καινοτόμες μεθόδους όπως η εκχύλιση με υπερήχους, μικροκύματα και με υψηλή πίεση. Ένα άλλο πρόβλημα που παρουσιάζεται είναι η θερμική αποικοδόμηση του εκχυλίσματος όταν πρόκειται για θερμοευαίσθητες ουσίες. Θα πρέπει να σημειωθεί επίσης πως η μέθοδος περιορίζεται από τη φύση των διαλυτών που επιλέγονται και είναι δύσκολο να αυτοματοποιηθεί δυσχεραίνοντας τη μεταφορά της σε βιομηχανική κλίμακα. Σε γενικές γραμμές η βιομηχανική χρήση της μεθόδου είναι ασύμφορη σε σύγκριση με τις βελτιωμένες τεχνικές, όμως το μικρό αρχικό κεφάλαιο επιτρέπει την παράλληλη διάταξη πολλών συσκευών ενώ γίνονται συνεχώς βελτιώσεις στον εξοπλισμό [9].

### **3.2 ΚΑΙΝΟΤΟΜΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ**

Οι συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης παρουσιάζουν αρκετά εμπόδια που περιορίζουν τη χρήση τους σε μεγάλη κλίμακα. Για τη βελτίωση της οικονομίας της μεθόδου αλλά και την προστασία του περιβάλλοντος εξετάζεται η εφαρμογή νέων μεθόδων. Μερικές από τις πιο υποσχόμενες τεχνικές θα αναλυθούν παρακάτω. Οι νέες αυτές μέθοδοι θεωρούνται πράσινες, εναλλακτικές των κλασσικών μεθόδων και μπορούν να συνδυαστούν μεταξύ τους. Η επιλογή της μεθόδου θα πρέπει να γίνεται με γνώμονα την ισορροπία μεταξύ απόδοσης, ποιότητας του τελικού προϊόντος, περιβαλλοντικού αποτυπώματος, επενδυτικού και λειτουργικού κόστους. Προσοχή θα πρέπει να δίνεται και στη διασφάλιση της καταλληλότητας του εκχυλίσματος ως προς την κατανάλωσή του από ανθρώπους.

#### **3.2.1 Εκχύλιση με μικροκύματα – Microwave Assisted Extraction**

Η εκχύλιση με μικροκύματα θεωρείται καινοτόμα μέθοδος εκχύλισης, φιλική προς το περιβάλλον καθώς και μη καταστροφική για τα περισσότερα βιοδραστικά συστατικά των προς ανάλυση δειγμάτων. Η ακτινοβολία μέσω μικροκυμάτων σε συχνότητες 300 MHz-300 GHz αλληλεπιδρά με τα δίπολα των πολικών μορίων τόσο του διαλύτη όσο και του δείγματος, τα οποία περιστρέφονται και προσπαθώντας να προσανατολιστούν παράγεται θερμότητα η οποία μεταφέρεται και στο υπόλοιπο δείγμα μέσω συναγωγής.

Ο βασικός μηχανισμός της εκχύλισης με μικροκύματα περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

- Ο διαλύτης είναι διαπερατός από την ακτινοβολία των μικροκυμάτων και έτσι μεταφέρεται η παραγόμενη θερμότητα στην εσωτερική υγρασία των κυττάρων του στερεού δείγματος
- Η υγρασία εξατμίζεται με αποτέλεσμα να δημιουργεί υψηλή πίεση η οποία σπάει τα κύτταρα του δείγματος
- Το σπάσιμο αυτό οδηγεί στην διείσδυση του διαλύτη στο υλικό και στην απελευθέρωση των ελαίων και των βιοδραστικών συστατικών ενδιαφέροντος του δείγματος

Μετά τη διαδικασία της εκχύλισης, είναι απαραίτητη η επεξεργασία του μίγματος διαλύτη/βιοδραστικών συστατικών η οποία συχνά περιλαμβάνει τη φυγοκέντριση ή τη διήθηση του δείγματος. Αυτή η επιπλέον επεξεργασία συχνά χαρακτηρίζεται ως μειονέκτημα της εκχύλισης με μικροκύματα ωστόσο ως μέθοδος συγκρινόμενη με κλασικές τεχνικές παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα όπως: συντομότερους χρόνους εκχύλισης, αποτελεσματικότερη ανάκτηση των συστατικών ενδιαφέροντος, μικρότερη κατανάλωση διαλυτών και ενέργειας, ομοιόμορφη εσωτερική και εξωτερική θέρμανση του δείγματος.

Η εκχύλιση με χρήση μικροκυμάτων επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τα χαρακτηριστικά του διαλύτη και κυρίως από τρεις φυσικές παραμέτρους: (α) τη διαλυτότητα, (β) τη διηλεκτρική σταθερά και (γ) τους παράγοντες σκέδασης/συντελεστές απωλειών (δηλαδή την αποτελεσματικότητα με την οποία θερμαίνονται οι διαφορετικοί διαλύτες όταν δέχονται την επίδραση των μικροκυμάτων). Διαλύτες με μεγάλες τιμές διηλεκτρικής σταθεράς (Πίνακας 3.2) όπως το νερό, η αιθανόλη και άλλοι πολικοί διαλύτες είναι αποτελεσματικότεροι από τους μη πολικούς καθώς απορροφούν μεγαλύτερα ποσά ενέργειας από τα μικροκύματα. Διαλύτες με μικρές τιμές συντελεστών απωλειών δε θεωρούνται αποτελεσματικοί καθώς δεν οδηγούν σε ικανοποιητική αύξηση της πίεσης και σπάσιμο των κυττάρων. Παρόλο που το νερό έχει μεγαλύτερη διηλεκτρική σταθερά σε σχέση με την αιθανόλη ή την μεθανόλη, ο παράγοντας σκέδασής του είναι μικρότερος από τον αντίστοιχο των δυο προαναφερθέντων και για αυτό δεν επιλέγεται αυτούσιο ως διαλύτης για εκχύλιση με μικροκύματα. Ιδανικά, χρησιμοποιούνται διαλύτες με υψηλές τιμές διηλεκτρικής σταθεράς και μεγάλο παράγοντα σκέδασης. Κάτι τέτοιο επιτυγχάνεται με χρήση μιγμάτων νερού και άλλων διαλυτών όπως αιθανόλης ή μεθανόλης [7].

<b>Πίνακας 3.2: Διηλεκτρική σταθερά διαλυτών (20°C) [5]</b>	
<b>Διαλύτες</b>	<b>Διηλεκτρική σταθερά</b>
Εξάνιο	1.89
Αιθανόλη	24.3
Μεθανόλη	32.6
Νερό	78.5
Ακετόνη	20.7

Η χρήση μικροκυμάτων έχει αποδειχθεί αποτελεσματική για εκχύλιση φαινολικών ενώσεων όπως φαινολικά οξέα (γαλλικό οξύ, ελαγικό οξύ), κερκετίνη (quacertin), trans-ρεσβερατρόλη και καροτενοειδών με πολικό χαρακτήρα ενώ προσοχή πρέπει να δίνεται σε περισσότερο θερμοευαίσθητα συστατικά όπως ανθοκυανίνες και τανίνες ακόμα και αν οι χρόνοι επεξεργασίας είναι αρκετά σύντομοι. Στον Πίνακα 3.3 αναφέρονται ορισμένα παραδείγματα εκχύλισης με μικροκύματα. Σημαντικό είναι να αναφερθεί πως η παρατεταμένη έκθεση του δείγματος στην ακτινοβολία οδηγεί τελικά σε μείωση της απόδοσης εκχύλισης καθώς η χημική δομή των βιοδραστικών συστατικών καταστρέφεται [12].

Από άποψη εξοπλισμού δύο συστήματα χρησιμοποιούνται συχνότερα: (α) κλειστά δοχεία εκχύλισης με ελεγχόμενες συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας και (β) οι φούρνοι μικροκυμάτων (focused microwave ovens) στους οποίους μόνο το δοχείο που περιέχει το δείγμα δέχεται την επίδραση της ακτινοβολίας η οποία συχνά είναι ισχυρότερη από του κλειστού συστήματος [12].

Για την εφαρμογή της εκχύλισης με μικροκύματα σε βιομηχανική κλίμακα πρέπει αρχικά να βρεθεί αποτελεσματικός τρόπος ανάκτησης και των μη πολικών συστατικών καθώς και να περιοριστούν με κάποιο τρόπο μεταβολές στα εκχυλιζόμενα συστατικά, οι οποίες τα καθιστούν δύσκολα επεξεργάσιμα [7].

**Πίνακας 3.3: Παραδείγματα εκχύλισης συστατικών με χρήση μικροκυμάτων**

Πρώτη ύλη	Ανακτώμενο συστατικό	Συνθήκες πειράματος	Απόδοση	Πηγή
Αποξηραμένη φλούδα τομάτας	Πηκτίνη	900W, 3.34 min, 88.7 °C	25.42 %	[73]
Στερεό υπόλειμμα ελαιουργίας	Έλαιο	287W, 16 min, λόγος δείγματος: διαλύτη (εξάνιο)= 10:1	6.85 g/100 g ξ.β.	[74]
Υπολείμματ α πατάτας που έχουν υποστεί λυοφιλίωση	Φαινολικές ενώσεις	300W, 2 min, 80°C, λόγος δείγματος: διαλύτη (60% αιθανόλη)=1:40	10.3±0.3 mg GAE/g ξ.β	[75]
Τομάτες που έχουν υποστεί λυοφιλίωση	Βενζυλική αλκοόλη (benzyl alcohol dihexose)	200W, 5.51 min, 146.69 °C, 45:1 δείγμα προς διαλύτη (100% νερό)	8.99 ± 0.58 mg/g	[76]
	Κουμαρικό οξύ (cis p-coumaric acid)	200W, 3.15 min, 144.64 °C, 45:1 δείγμα προς διαλύτη (100% νερό)	24.8 ± 0.9 mg/g	

Η χρήση μικροκυμάτων έχει εφαρμοστεί αποτελεσματικά και ως θερμική προεπεξεργασία (7.8 °C/min) για αναερόβια χώνευση βιομάζας και οδήγησε σε αύξηση της παραγωγής βιοαερίου κατά 6% και σταθεροποίηση του COD κατά 24% [11].

### 3.2.2 Εκχύλιση με υπερήχους – Ultrasound Assisted Extraction

Το φάσμα των υπερήχων αποτελείται από δυο ζώνες, τους υπερήχους υψηλής έντασης (20 kHz-1 MHz) και τους υπερήχους χαμηλής έντασης, με συχνότητα μεγαλύτερη του 1 MHz. Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες υπάρχει ενδιαφέρον γύρω από τη χρήση υπερήχων ως εναλλακτική στις θερμικές εκχυλίσεις ενώ έχει αρχίσει και η εφαρμογή τους σε μεγάλη κλίμακα στις βιομηχανίες φαρμάκων και τροφίμων [13]. Για την παραλαβή βιοδραστικών ουσιών από φυτικές ύλες χρησιμοποιούνται υπέρηχοι συχνότητας 20-100 kHz. Η μέθοδος προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με κλασσικές μεθόδους και ανταγωνίζεται άλλες σύγχρονες τεχνικές, όπως η εκχύλιση με υπεκρίσιμα ρευστά, η εκχύλιση υψηλής πίεσης κ.α. [12].

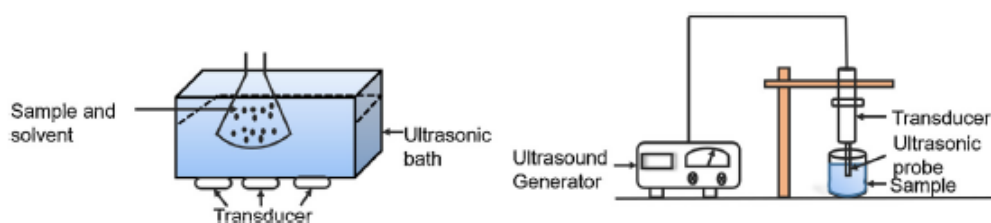
Η τεχνική εκμεταλλεύεται τη δύναμη των υπέρηχων για την παραλαβή βιοδραστικών ουσιών με χαμηλότερη ή και καθόλου κατανάλωση οργανικών διαλυτών. Το μέσο διάδοσης των κυμάτων μπορεί να είναι στερεό, υγρό ή αέριο. Τα δύο κύρια φυσικά φαινόμενα που συμβαίνουν είναι η ρήξη των κυτταρικών τοιχωμάτων και η απελευθέρωση του κυτταρικού περιεχομένου. Η αποδοτικότητα της εκχύλισης βασίζεται κυρίως στο φαινόμενο της ακουστικής σπηλαιώσης (acoustic cavitation). Οι υπέρηχοι συνιστούν κύματα υψηλών συχνοτήτων που μεταφέρουν πίεση κατά τη διέλευση τους από ένα μέσο (υγρό, στερεό ή αέριο). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία περιοχών χαμηλής και υψηλής πίεσης. Στην περίπτωση που οι διαφορές πίεσης είναι αρκετά υψηλές, τότε ένα υγρό μέσο μπορεί να αποδομηθεί με αποτέλεσμα το σχηματισμό μικροφουσαλίδων αερίου και ατμού. Η δημιουργία, αύξηση και κατάρρευση των φουσαλίδων συνιστούν το φαινόμενο της ακουστικής σπηλαιώσης. Οι φουσαλίδες απορροφούν ενέργεια από τα ηχητικά κύματα και αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια των κύκλων διαστολής, ενώ κατά τη διάρκεια των κύκλων συμπίεσης επανασυμπίεζονται. Είναι δυνατόν να διασπώνται και να επαναδημιουργούνται συνεχώς επιφέροντας αλλαγές στη δομή του μέσου διάδοσης (το δείγμα). Η βίαια κατάρρευση συμβαίνει υπό ακραίες συνθήκες πίεσης (1000 atm) και θερμοκρασίας (5000 K) και πλήττει την στερεά δομή του υλικού, διασπά τα κύτταρα και προκαλεί απελευθέρωση των επιθυμητών συστατικών από τις κυτταρικές δομές, ενώ παράλληλα διευκολύνει τη διείσδυση του διαλύτη στο εσωτερικό των κυττάρων [13,14].

Οι φυσικές δυνάμεις των υπερήχων δρουν συνεργιστικά με το διαλύτη για τη διάρρηξη της κυτταρικής μεμβράνης. Επίσης, διευκολύνεται η ανάμιξη διαλύτη με το περιεχόμενο των κυττάρων οδηγώντας σε μεγαλύτερο ρυθμό μεταφοράς μάζας. Τα φαινόμενα αυτά



μειώνουν το χρόνο, την απαιτούμενη ποσότητα διαλύτη και την κατανάλωση ενέργειας συγκριτικά με κλασικές μεθόδους [14]. Ως αποτέλεσμα η μέθοδος έχει μικρό κόστος λειτουργίας ακόμα και συγκρινόμενη με μεθόδους όπως την εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα ή την εκχύλιση υπερκρίσιμων ρευστών και είναι φιλική προς το περιβάλλον [13]. Ο συνδυασμός αυτών των χαρακτηριστικών καθιστά τη μέθοδο από τις καλύτερες επιλογές για εφαρμογή σε βιομηχανική κλίμακα [4].

Υπάρχουν δυο συστήματα υπερήχων, το λουτρό υπερήχων και ο καθετήρας υπερήχων. Στο λουτρό υπερήχων, το στερεό ή ρευστό δείγμα διασκορπίζεται στον διαλύτη απευθείας στην ατσάλινη δεξαμενή ή μέσα σε φιάλη βυθισμένη στην ατσάλινη δεξαμενή γεμάτη με άλλο μέσο διάδοσης. Η δεξαμενή είναι συνδεδεμένη με την πηγή των κυμάτων. Στον καθετήρα υπερήχων, η πηγή των κυμάτων είναι βυθισμένη απευθείας μέσα στην φιάλη που περιέχει το μίγμα διαλύτη και δείγματος. Η απευθείας παροχή ενέργειας στον διαλύτη επιτυγχάνει μηδαμινές απώλειες [15]. Το λουτρό βρίσκει κυρίως εργαστηριακή εφαρμογή λόγω του ευκολότερου χειρισμού και του μικρότερου κόστους, παρουσιάζει όμως ελαττώματα όπως ανομοιογένεια στην διάδοση της ενέργειας και μείωση της ισχύος με την πάροδο του χρόνου [14]. Επίσης η τοποθέτηση και το μέγεθος του δείγματος επηρεάζουν τα αποτελέσματα της διαδικασίας [12]. Αντίθετα, ο καθετήρας παρέχει πιο αποδοτική σπηλαιώση στο ρευστό αφού η ενέργεια εφαρμόζεται σε περιορισμένη περιοχή δείγματος. Ανεξαρτήτως της χρησιμοποιούμενης συσκευής η πρώτη ύλη θα πρέπει να υποστεί προεπεξεργασία. Για την ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών από παραπροϊόντα φρούτων και λαχανικών το δείγμα συνήθως θα πρέπει να υποστεί αφυδάτωση, άλεση σε κόκκους διαμέτρου μικρότερη του χιλιοστού και ζεμάτισμα (80-100°C) για λίγα λεπτά προς αδρανοποίηση των ενζύμων [16].



Εικόνα 3.4: Λουτρό (αριστερά) και καθετήρας (δεξιά) υπερήχων [14]

Κάθε υλικό προς εκχύλιση παρουσιάζει διαφορετικές ιδανικές παραμέτρους οι οποίες θα πρέπει να βρεθούν πειραματικά πριν την μεταφορά σε μεγάλη κλίμακα. Επίσης οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των παραγόντων μπορούν να μεταβάλλουν τις ιδανικές συνθήκες. Για παράδειγμα, έχει βρεθεί ότι για μικρό χρονικό διάστημα επεξεργασίας,

αύξηση στην ισχύ αποφέρει καλύτερη απόδοση ενώ για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας η ίδια αύξηση μειώνει το ποσοστό ανάκτησης [15]. Το βέλτιστο pH εξαρτάται κυρίως από τη φύση της υπό ανάκτησης ουσίας. Παραδείγματος χάρη, η ανάκτηση της πηκτίνης ευνοείται σε χαμηλές τιμές pH (1-2) διότι η υψηλή οξύτητα βελτιώνει τη λύση του κυτταρικού τοιχώματος και υποβοηθά την υδρόλυση της αδιάλυτης στο νερό πηκτίνης στη διαλυτή μορφή της (πηκτινικά οξέα) [18]. Η απόδοση της εκχύλισης αυξάνεται με αύξηση στην ισχύ μέχρι ένα σημείο κορύφωσης. Περαιτέρω αύξηση μειώνει την απόδοση, αυτό μπορεί να εξηγηθεί διότι αύξηση στην ισχύ αυξάνει το μέγεθος των φυσαλίδων καθώς και την απελευθερωμένη ενέργεια κατά την κατάρρευσή τους. Ωστόσο, υπερβολική αύξηση στην ισχύ οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των φυσαλίδων και μείωση στο φαινόμενο της σπηλαίωσης καθώς οι φυσαλίδες αλληλοσυγκρούονται και καταρρέουν πρόωρα. Χαμηλό εύρος συχνοτήτων (20-40kHz) αυξάνει την διάμετρο των φυσαλίδων με ευεργετικά αποτελέσματα. Μερικές εφαρμογές της μεθόδου σε φυτικά παραπροϊόντα συνοψίζονται στον Πίνακα 3.4.

Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφοροι διαλύτες όπως ελαφρώς όξινο νερό (με κιτρικό οξύ), αιθανόλη, ακετόνη και νερό. Για πηκτίνη προτιμάται όξινο νερό ή διαλύματα κιτρικού οξέος. Για ανάκτηση φαινολών ευρύτερη χρήση βρίσκουν οι αλκοόλες και η ακετόνη αραιωμένη με νερό. Η αιθανόλη προτιμάται λόγω μικρού κόστους και επειδή είναι γενικώς αναγνωρισμένος ασφαλής διαλύτης [20]. Γενικώς οι δοκιμές κινούνται προς την πλήρη αντικατάσταση οργανικών διαλυτών από νερό ή φυτικά έλαια, αλλά μέχρι τώρα έχει επιτευχθεί μόνο μείωση της συγκέντρωσής τους [64,59]. Όμως, η χρήση νερού ως διαλύτη σε πειραματικές μελέτες πάντα παρουσιάζει μικρότερη απόδοση συγκριτικά με κλασικούς διαλύτες [60,62]. Ωστόσο, αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών αυξάνει την απόδοση. Αύξηση της θερμοκρασίας βελτιώνει την απόδοση λόγω αύξησης της διαλυτότητας της βιοδραστικής ουσίας και μείωσης του ιξώδους του διαλύτη επιτρέποντας ευκολότερη διείσδυση στα κύτταρα. Συνήθως, η θερμοκρασία κυμαίνεται στο εύρος 30-45°C με τις μεγαλύτερες τιμές να μειώνουν την ισχύ της έκρηξης των φυσαλίδων χωρίς να είναι γνωστός ο ακριβής μηχανισμός. Ωστόσο, υπάρχουν έρευνες όπου δε διαπιστώθηκε μείωση στην απόδοση ακόμα και στη μεγαλύτερη θερμοκρασία που επιτεύχθηκε στο πείραμα [18,21].

**Πίνακας 3.4: Παραδείγματα εκχύλισης βιοδραστικών συστατικών με υπερήχους**

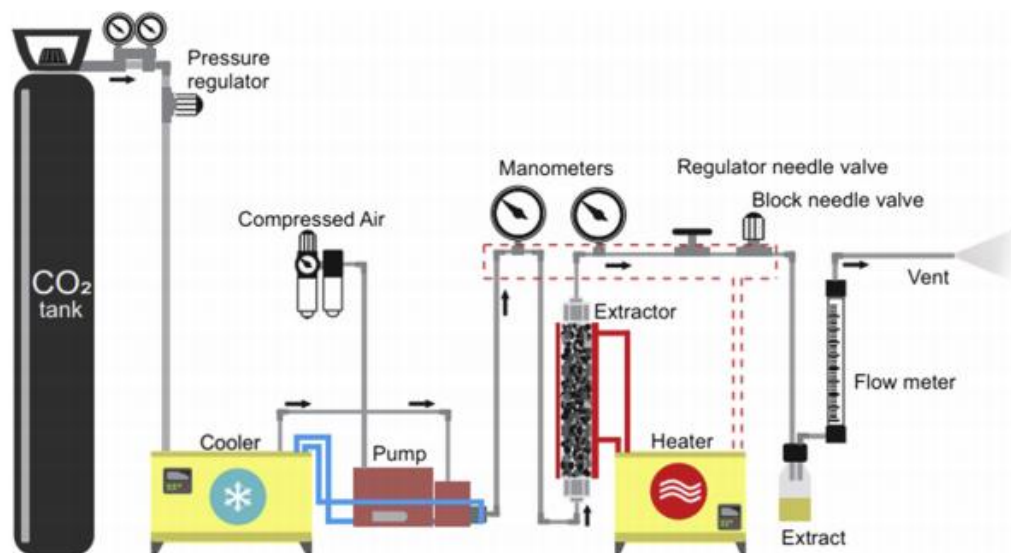
Πρώτη ύλη	Ανακτώμενο συστατικό	Προεπεξεργασία Συνθήκες Διαλύτης	Απόδοση	Πηγή
Παραπροϊόντα κονσερβοποίησης τομάτας	Πηκτίνη	Αφυδάτωση, κονιορτοποίηση 60°C, 90 min, Οξαλικό αμμώνιο, οξαλικό οξύ	36 g/100g ξ.υ.	[57]
Παραπροϊόντα τοματοπολτού	Λυκοπένιο	Αφυδάτωση, κονιορτοποίηση 30 min, 90 W, Εξάνιο:μεθανόλη:ακετόνη 2:1:1	90 mg/kg ξ.υ.	[58]
Φλούδες πορτοκαλιού	Καροτενοειδή	Αφυδάτωση, κονιορτοποίηση 50°C, 41 min, 150 W, 40 KHz Ελαιόλαδο, αλγινικό ασβέστιο	2 mg/100 g ξ.υ.	[59]
Φλούδες ροδιού	Πηκτίνη	Αφυδάτωση, κονιορτοποίηση 62°C, 29 min, 20 KHz H <sub>2</sub> O	23,87 g/100 g ξ.υ.	[60]
Φύλλα ελιάς	Πολυφαινόλες	Αφυδάτωση, κονιορτοποίηση 25°C, 60 min, Αιθανόλη 50% v/v	19.8 mg GAE/ g ξ.υ.	[61]
Στέμφυλα	Πολυφαινόλες	Καμία προεπεξεργασία 17°C, 25 min, 150 W, 40KHz H <sub>2</sub> O	32 mg GAE/ 100 g ξ.υ.	[62]
Παραπροϊόντα χυμοποίησης μήλων	Διαιτητικές ίνες	Αφυδάτωση, κονιορτοποίηση 80°C, 40 min, pH =2, 400 W, 40 KHz Υδατικό διάλυμα H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	16.4 g/ 100 g ξ.υ.	[63]

### 3.2.3 Εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά – Supercritical Fluid Extraction

Η εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά δηλαδή με ρευστά που βρίσκονται σε ενδιάμεση κατάσταση υγρού-αερίου, με πυκνότητα υγρού αλλά ιξώδες αερίου, αποτελεί μια καινοτόμα μέθοδο εκχύλισης, φιλική προς το περιβάλλον, αρκετά σύντομη και διαδεδομένη για την εκχύλιση μη πολικών στοιχείων που προέρχονται από φυτικούς ιστούς όπως λιπίδια, αιθέρια έλαια και καροτενοειδή [22]. Τα υπερκρίσιμα ρευστά λόγω του ότι διαθέτουν υψηλή διαχυτότητα και μικρό ιξώδες (ιδιότητες αερίου) είναι ικανά να διεισδύουν εντός των κυττάρων του δείγματος και να διαλύουν τα συστατικά ενδιαφέροντος [24]. Το πιο διαδεδομένο αέριο για την συγκεκριμένη εκχύλιση είναι το διοξείδιο του άνθρακα στις κρίσιμες περιοχές του, δηλαδή σε θερμοκρασία 31.1° C και πίεση 7.4 MPa. Το συγκεκριμένο αέριο επιλέγεται καθώς έχει χαμηλό κόστος και χαμηλή τοξικότητα, είναι μη εκρηκτικό και μη εύφλεκτο, ανακτάται εύκολα και έχει μεγάλη εκλεκτικότητα στα μη πολικά συστατικά. Είναι φιλικό προς το περιβάλλον και επίσης αναγνωρισμένο γενικά ως ασφαλές (GRAS) από τους οργανισμούς EFSA (European Food Safety Authority) και FDA (Food and Drug Administration) [7]. Για την εκχύλιση πολικών συστατικών, για παράδειγμα πολυφαινόλων, τα οποία δε διαλύονται στο υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub>, χρησιμοποιούνται μείγματα CO<sub>2</sub>/αιθανόλης η οποία έχει χαμηλή τοξικότητα, είναι φιλική προς το περιβάλλον και διαθέτει καλή αναμιξιμότητα με το διοξείδιο του άνθρακα. Συνιστάται η ενζυμική προεπεξεργασία του δείγματος, το οποίο μπορεί να είναι στερεό αλλά και υγρό, η οποία συμβάλλει στη διάρρηξη του κυτταρικού τοιχώματος με αποτέλεσμα τις μεγαλύτερες αποδόσεις κατά τη διάρκεια της εκχύλισης [22]. Για παράδειγμα, σύμφωνα με τους Lenucci et al. (2015), η χρήση γλυκοσιδάσης σε κατεψυγμένο δείγμα ντομάτας οδήγησε σε 153% απόδοση σε λυκοπένιο και 137% σε λιπίδια σε σχέση με την απλή εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά [22].

Οι κύριες παράμετροι που επηρεάζουν την εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά είναι η θερμοκρασία και η πίεση. Τόσο η αύξηση της θερμοκρασίας αλλά και της πίεσης σε ορισμένα εύρη συμβάλλει στην αύξηση της απόδοσης του προς ανάκτηση συστατικού. Σε αντίθετη περίπτωση, η απόδοση μειώνεται. Όσον αφορά στη θερμοκρασία, ιδανικότερο έχει θεωρηθεί το εύρος από 35 έως 60 °C το οποίο είναι κοντά στην κρίσιμη περιοχή του CO<sub>2</sub> και ταυτόχρονα οι θερμοκρασίες είναι χαμηλές ώστε να μην συμβάλλουν στην θερμική αποικοδόμηση των θερμοεαυαίσθητων συστατικών ή στην εκκίνηση ανεπιθύμητων αντιδράσεων [7]. Ομοίως, τιμές πίεσης οι οποίες ξεπερνούν το εύρος 200-450 bar συμβάλλουν στη μείωση της απόδοσης της ανάκτησης των συστατικών

ενδιαφέροντος [7]. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδικασία είναι η χρήση άλλου διαλύτη (συνδιαλύτης) καθώς και η ταχύτητα ροής του διαλύτη. Με διαφορετικούς συνδυασμούς των παραπάνω μπορούν να ανακτηθούν διαφορετικά στοιχεία κάθε φορά.



Εικόνα 3.5: Διάταξη συστήματος εκχύλισης με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> [3]

Τα συστήματα εκχύλισης με υπερκρίσιμα ρευστά βρίσκουν εφαρμογή τόσο σε εργαστηριακή αλλά και βιομηχανική κλίμακα. Η μονάδα εκχύλισης (Εικόνα 3.5) περιλαμβάνει μια αντλία CO<sub>2</sub>, μια αντλία για εισαγωγή συνδιαλύτη, το δοχείο της εκχύλισης (εκχυλιστήρας) και το δοχείο συλλογής. Στο δοχείο συλλογής, το συστατικό που έχει ανακτηθεί είναι συνήθως έτοιμο προς χρήση καθώς το διοξείδιο του άνθρακα έχει διαχωριστεί από το μίγμα και επανακυκλοφορεί για επόμενη εκχύλιση. Αυτή η διαδικασία συμβάλλει στην μείωση της κατανάλωσης ενέργειας αλλά και του κόστους βελτιώνοντας την οικονομία της μεθόδου [3]. Στην περίπτωση χρήσης αιθανόλης ως συνδιαλύτη, το τελικό μείγμα που παραλαμβάνεται υποβάλλεται σε εξάτμιση σε θερμοκρασία δωματίου για την απομάκρυνση της αιθανόλης [23]. Ένα από τα βασικότερα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι το υψηλό κόστος αγοράς αλλά και συντήρησης του εξοπλισμού. Στον Πίνακα 3.5 αναφέρονται ορισμένα παραδείγματα εκχύλισης διάφορων βιοδραστικών συστατικών με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub>.

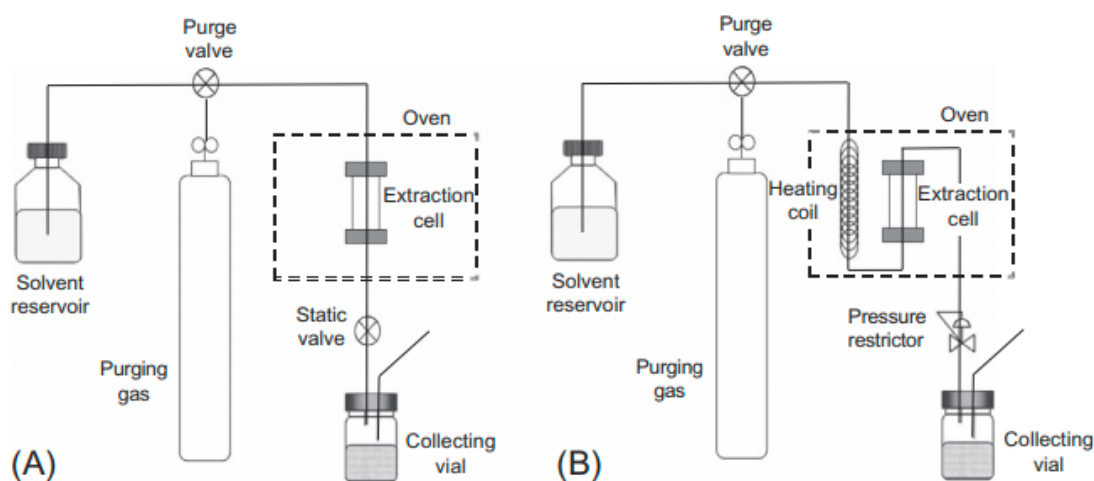
**Πίνακας 3.5: Παραδείγματα εκχύλισης βιοδραστικών συστατικών με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub>**

Απόβλητο	Διαλύτης	T (°C)	P (bar)	Συστατικό που ανακτήθηκε	Παροχή διαλύτη (mL min <sup>-1</sup> )	Πηγή
Απόβλητα ελαιουργείων	CO <sub>2</sub>	70	200	Σκουαλένιο, μόνο- και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα	1.33	[22]
Βιομηχανικά παραπροϊόντα τομάτας	CO <sub>2</sub> / 5% αιθανόλη	80	300	Λυκοπένιο 88%, β-καροτενιο 80%	13.20	[7]
Απόβλητα λαχανικών	CO <sub>2</sub> / 15,5% αιθανόλη	59	350	Καροτενοειδή	-	[3]
Απόβλητα σταφυλιών (φλούδες, κοτσάνια)	CO <sub>2</sub> / 5% αιθανολη	35	400	Ρεσβερατρόλη 49,1mg/100g ξηρού δείγματος	-	[23]

### 3.2.4 Εκχύλιση με ρευστό υπό πίεση – Pressurized Liquid Extraction

Η εκχύλιση με ρευστό υπό πίεση χρησιμοποιεί υψηλές θερμοκρασίες και πιέσεις για να αλλάξει τις φυσικοχημικές ιδιότητες του διαλύτη. Οι διαδικασίες μεταφοράς μάζας επιταχύνονται, η επιφανειακή τάση και το ιξώδες του διαλύτη μειώνονται και η διαλυτότητα των αναλυτών αυξάνεται. Αυτό επιτρέπει ευκολότερη διείδυση του διαλύτη στο στερεό δείγμα. Πληθώρα διαλυτών μπορεί να χρησιμοποιηθεί όμως, συνήθως, προτιμώνται διαλύτες GRAS όπως αιθανόλη, d-λιμονένιο, οξικός μεθυλεστέρας κ.α.

καθώς είναι λιγότερο επιβλαβείς για το περιβάλλον. Επίσης δύναται να χρησιμοποιηθεί νερό (Superheated/Subcritical Water Extraction) με ελκυστική απόδοση κάνοντας τη μέθοδο ακόμα πιο «πράσινη». Ο διαλύτης είναι πάνω από το σημείο βρασμού του, όμως παραμένει στην υγρή του φάση και κάτω από το κρίσιμο σημείο με την εφαρμογή κατάλληλης πίεσης. Η θερμοκρασία καθορίζει την πολικότητα του διαλύτη και έτσι μπορεί να ταυτιστεί με την πολικότητα των ουσιών προς εκχύλιση. Για παράδειγμα, η τιμή της διηλεκτρικής σταθεράς του νερού είναι περίπου 80 σε θερμοκρασία δωματίου, ενώ στους 250 °C μειώνεται σε 30. Σε αυτές τις συνθήκες η τιμή της διηλεκτρικής σταθεράς είναι παραπλήσια της αιθανόλης. Η μεταβολή αυτή επιτρέπει την παραλαβή βιοδραστικών λιπιδίων, αποφεύγοντας τη χρήση οργανικών διαλυτών μερικώς ή ακόμα και πλήρως [14, 25].



Εικόνα 3.6: Συσκευές εκχύλισης ρευστού υπό πίεση. Κατά παρτίδες (A) και συνεχής (B) [25]

Η συσκευή αποτελείται από τη φιάλη του διαλύτη, μια αντλία, μια φιάλη ευγενούς αερίου, το θερμαινόμενο χώρο όπου τοποθετείται το δείγμα και τη φιάλη συλλογής. Η αντλία εισάγει τον διαλύτη στο σύστημα και ωθεί το εκχύλισμα στη φιάλη συλλογής. Το δείγμα τοποθετείται σε μια ατσάλινη κυψελίδα τυλιγμένο με διηθητικό χαρτί. Η φιάλη συλλογής μπορεί να είναι βυθισμένη σε λουτρό ψύξης για να αποτραπεί περαιτέρω θερμική υποβάθμιση [25]. Η διαδικασία μπορεί να είναι συνεχής ή σε παρτίδες. Το συνεχές σύστημα απαιτεί πιο εξειδικευμένη αντλία για τον έλεγχο της ροής του διαλύτη, ρυθμιστή πίεσεως και ένα σύστημα θέρμανσης του διαλύτη, συνεπώς έχει μεγαλύτερο κόστος. Κατά τη στατική μέθοδο (batch), ο διαλύτης αντλείται προς την κυψελίδα και ακολουθεί προθέρμανση μέχρι σημείου θερμοκής ισορροπίας. Ως αποτέλεσμα της

θέρμανσης, ο διαλύτης και το δείγμα διαστέλλονται αυξάνοντας την πίεση. Το δείγμα παραμένει 5-10 λεπτά στην επιθυμητή θερμοκρασία και πίεση. Είναι δυνατό να πραγματοποιηθούν πολλαπλοί κύκλοι εκχύλισης από τον ίδιο ή διαφορετικούς διαλύτες. Έπειτα από κάθε κύκλο η κυψελίδα καθαρίζεται με διέλευση ευγενούς αερίου ώστε να απομακρυνθεί ο παλιός διαλύτης για να αντικατασταθεί με φρέσκο. Η συνεχής διαδικασία παραμένει ίδια, απλώς πλέον υπάρχει συνεχής ροή του διαλύτη στην απαιτούμενη θερμοκρασία [26].

Ανάμεσα στις βασικές παραμέτρους τις διαδικασίας, η πιο σημαντική είναι η θερμοκρασία και ο διαλύτης. Η επιλογή κατάλληλου διαλύτη δεν παρουσιάζει κάποια διαφορά από τις υπόλοιπες τεχνικές εκχύλισης. Η υψηλή θερμοκρασία του διαλύτη προκαλεί διάσπαση των δυνάμεων Van der Waals και των δεσμών υδρογόνου μεταξύ διαλύτη και δείγματος. Επιτρέπει μεγαλύτερη διείσδυση του διαλύτη και καλύτερη διαλυτοποίηση της ουσίας σε αυτόν. Υπερβολική αύξηση στη θερμοκρασία μπορεί να μειώσει την επιλεκτικότητα του διαλύτη οδηγώντας σε ακαθαρσίες στο εκχύλισμα και στην ανάγκη για επιπλέον επεξεργασία. Επίσης θερμοευαίσθητα συστατικά μπορεί να υποστούν θερμική αποσύνθεση. Η πίεση, αν και είναι η κινητήριος δύναμη πίσω από την τεχνική καθώς διατηρεί το διαλύτη στην υγρή του φάση, δεν έχει σημαντικό αντίκτυπο στην απόδοση. Αύξηση της πίεσης πέρα από την απαιτούμενη τιμή δε βελτιώνει τη συγκέντρωση ή τον χρόνο παραλαβής των επιθυμητών ουσιών [27]. Στη συνεχή διαδικασία πέρα από τη θερμοκρασία είναι σημαντικό να βρεθεί κατάλληλη ροή. Η σωστή ροή θα πρέπει να επιτρέπει μικρό χρόνο επαφής του διαλύτη με το δείγμα χωρίς να χρησιμοποιεί υπερβολικά υψηλή ταχύτητα ροής που συνεπάγεται αυξημένο κόστος λειτουργίας και μικρή συγκέντρωση τις βιοδραστικής ουσίας στο εκχύλισμα και άρα επιπλέον επεξεργασία. Αντίστοιχα, στη στατική μέθοδο, θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί αναλογία διαλύτη/δείγματος αρκετά υψηλή για μια ικανοποιητική απόδοση αλλά χαμηλή για να αποφευχθεί αραίωση του δείγματος [26].

Το δείγμα συνήθως προεπεξεργάζεται πριν την εκχύλιση με μηχανικές μεθόδους για τη μείωση της υγρασίας και της διαμέτρου των στερεών σωματιδίων. Η αφυδάτωση των δειγμάτων μπορεί να οδηγήσει σε συρρίκνωση των κυττάρων και παρεμπόδιση της εκχύλισης. Από την άλλη πλευρά, η παρουσία υγρασίας ανταγωνίζεται το διαλύτη και μειώνει την απόδοση. Σε γενικές γραμμές αν η αφυδάτωση συνδυαστεί με άλλες μεθόδους προεπεξεργασίας δρα θετικά. Η διάμετρος των σωματιδίων επηρεάζει τη μεταφορά μάζας μεγιστοποιώντας την επιφάνεια επαφής του δείγματος με το διαλύτη και



υποβοηθά την απελευθέρωση των βιοδραστικών ουσιών από τους πόρους του δείγματος. Οι μηχανικές δυνάμεις που χρησιμοποιούνται μπορούν να προκαλέσουν ρήξη των κυτταρικών τοιχωμάτων ενισχύοντας τη διάχυση της ουσίας ενδιαφέροντος. Ωστόσο το μέγεθος των σωματιδίων θα πρέπει να είναι αρκετά μεγάλο ώστε να εμποδίζεται η συσσωμάτωση των σωματιδίων (agglomeration of particles) [25].

Το κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι η υψηλή απόδοση σε μικρό χρόνο εκχύλισης και η ελάχιστη κατανάλωση διαλύτη. Το γεγονός ότι αρκετές συσκευές είναι αυτοματοποιημένες και η ευελιξία επιλογής διαλύτη καθιστά ακόμα πιο ελκυστική την τεχνική. Ωστόσο, πολλές από τις βιοδραστικές ουσίες που εκχυλίζονται είναι θερμοευαίσθητες, επομένως χρειάζεται μεγάλη προσοχή στην επιλογή της θερμοκρασίας και ελαχιστοποίηση του χρόνου επεξεργασίας. Επίσης, δεν υπάρχει εμπορικός εξοπλισμός μεγάλης κλίμακας και το υψηλό αρχικό κόστος καθιστά δύσκολη την αγορά πολλαπλών συσκευών.

Η μεταφορά της διαδικασίας σε μεγάλη κλίμακα μελετάται ακόμα. Συνήθως, η μέθοδος είναι υποβοηθούμενη από άλλες τεχνικές όπως η χρήση υπέρηχων. Η εκχύλιση με αιθανόλη 70 % υπό πίεση υποβοηθούμενη από υπέρηχους για την παραλαβή φαινολικών από φλούδες passion fruit μελετήθηκε σε μικρή κλίμακα με αλλαγές σε βασικές παραμέτρους παρουσιάζοντας προοπτικές για μεταφορά σε μεγαλύτερη κλίμακα [28]. Η μεταφορά σε μεγάλη κλίμακα δεν είναι απλή καθώς δεν γίνεται να πραγματοποιηθεί αύξηση όλων των παραμέτρων με τον ίδιο ρυθμό. Απαιτείται λοιπόν καλή γνώση της κινητικής της διαδικασίας. Επίσης οι αντιδραστήρες συνεχούς ρυθμού που προτιμώνται από τη βιομηχανία είναι λιγότερο μελετημένοι. Έχουν κατασκευαστεί μερικοί αντιδραστήρες μεγάλης κλίμακας ωστόσο δεν υπάρχει κάτι αντίστοιχο στο εμπόριο, ενώ όλοι λειτουργούν σε παρτίδες [29]. Οι Putnik et al. (2017) μελέτησαν την παραλαβή εκχυλίσματος φύλλων ελιάς με υδατική αιθανόλη 50 % v/v και πίεση 10.34 MPa. Δυο κύκλοι επεξεργασίας στους 80°C για 5 λεπτά παρουσίασαν την καλύτερη ανάκτηση πολυφαινολών (53.15 mg GAE/g ξ.υ.), ενώ ένας κύκλος επεξεργασίας στους 100°C για 15 λεπτά είχε τη μεγαλύτερη ανάκτηση φλαβονοειδών (31% των ολικών φλαβονοειδών του δείγματος) (16.51 mg QE/g ξ.υ.). Η ανάκτηση πολυφαινολών δεν είχε μεγάλη διαφορά σε απόδοση συγκριτικά με τιμές της βιβλιογραφίας για τις κλασσικές μεθόδους, ήταν όμως πολύ πιο σύντομη και με μικρότερες απαιτήσεις σε ενέργεια [65]. Κατά την εκχύλιση αποβλήτων ελαιολιτριβείου μετά από βελτιστοποίηση της διαδικασίας επιτεύχθηκε τριπλάσια ανάκτηση φαινολικών σε σύγκριση με συμβατικές μεθόδους.

Αξίζει να σημειωθεί ότι κατά την εύρεση των βέλτιστων παραμέτρων παρατηρήθηκε ικανοποιητική ανάκτηση ελαιοευρωπαϊνης (56 mg/kg ξ.υ.) σε χαμηλή θερμοκρασία 108°C και μόνο με νερό ως διαλύτη [66]. Η εκχύλιση πούλπας μήλων με μίγμα αιθανόλης/νερού υπό πίεση προσφέρει εκχυλίσματα με μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση συγκριτικά με τις συμβατικές μεθόδους [67]. Ακόμα, επιτεύχθηκε ανάκτηση λυκοπενίου υψηλής καθαρότητας από παραπροϊόντα βιομηχανικής τομάτας με νερό ως μοναδικό διαλύτη. Η ανάκτηση λυκοπενίου με νερό σε κανονικές συνθήκες είναι αδύνατη λόγω διαφοράς στην πολικότητα ενώ η χρήση οργανικών διαλυτών για την παραλαβή του έχει ως αποτέλεσμα την εκχύλιση και άλλων ανεπιθύμητων ουσιών παραπλήσιας πολικότητας. Η συγκεκριμένη μέθοδος ανάκτησης χρησιμοποιεί μικρές τιμές πίεσης και πολλούς ολιγόλεπτους κύκλους επεξεργασίας για να επιτύχει τη διασπορά του λυκοπενίου στο διαλύτη. Το ποσοστό ανάκτησης δεν είναι ιδιαίτερα υψηλό όμως τα υπολείμματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ζωοτροφή μετά από απλή αφυδάτωση [68].

### **3.2.5 Εκχύλιση με υψηλή υδροστατική πίεση – High Hydrostatic Pressure Extraction**

Η εκχύλιση με υψηλή υδροστατική πίεση χρησιμοποιεί χαμηλές θερμοκρασίες και υψηλές πιέσεις για την παραλαβή βιοδραστικών ουσιών. Η υψηλή πίεση που εφαρμόζεται οδηγεί σε αλλαγές στη δυναμική των αντιδράσεων και στη μοριακή δομή των κυττάρων. Η εφαρμογή της υψηλής πίεσης σπάει τους ετεροπολικούς δεσμούς μειώνοντας τον όγκο, σύμφωνα με την αρχή Le Chatelier, προσπαθώντας να αναιρέσει τη μεταβολή στην ισορροπία του συστήματος. Έτσι, προκαλούνται βλάβες στη δομή του κυττάρου λόγω μετουσίωσης πρωτεϊνών, ενζύμων και κατάρρευσης γεφυρών άλατος. Λόγω του μικρού τους μεγέθους τα συστατικά των φυτικών υλών παραμένουν άθικτα [30]. Η μέθοδος είναι ιδανική για την ανάκτηση ανθοκυανών λόγω της ευαισθησίας τους σε υψηλές θερμοκρασίες και έχει χρησιμοποιηθεί για την παραλαβή φαινολικών από μεγάλη ποικιλία φυτικών παραπροϊόντων και πηκτίνης από φλούδες πορτοκαλιού.

Η διαδικασία είναι φιλική προς το περιβάλλον, διότι μειώνει την ανάγκη για μεγάλους όγκους διαλυτών, δεν έχει μεγάλες απαιτήσεις ενέργειας και επιτρέπει τη χρήση μη τοξικών διαλυτών. Η αποφυγή υψηλών θερμοκρασιών συγχρόνως με την ανθεκτικότητα των ομοιοπολικών δεσμών στις υψηλές πιέσεις διατηρούν τη βιοδραστικότητα των εκχυλιζόμενων ουσιών σε υψηλά επίπεδα χωρίς μείωση στην απόδοση [12].

Διαφορετικοί διαλύτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν κατά την ίδια εκχύλιση σε διαφορετικούς κύκλους. Πιο συχνά χρησιμοποιείται νερό και αιθανόλη σε διάφορες συγκεντρώσεις. Η αιθανόλη είναι φτηνή και μη τοξική ενώ μπορεί να ανακυκλωθεί με μεγάλη ευκολία και για αυτό εκτοπίζει άλλους οργανικούς διαλύτες παρόμοιας πολικότητας με μεγαλύτερη ικανότητα εκχύλισης όπως μεθανόλη, γλωροφόρμιο, βουτανόλη κ.α. [13] Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι η χρήση αιθανόλης ή νερού αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών συστατικών.

Τα δείγματα θα πρέπει να υποστούν αφυδάτωση, ειδικά αν χρησιμοποιούνται μη πολικοί διαλύτες. Η παρουσία υγρασίας μειώνει την απόδοση και για αυτό συνίσταται η λυοφιλίωση για την αποφυγή καταστροφής των θερμοευαίσθητων υλικών. Στην περίπτωση που χρησιμοποιούνται πολικοί διαλύτες, το νερό μπορεί να εκχυλιστεί μαζί με τη δραστική ουσία και η αφυδάτωση δεν είναι αναγκαία, οι πολικοί διαλύτες εκτός της αιθανόλης όμως αποφεύγονται. Μετά την ξήρανση, το δείγμα αλέθεται μέχρι μεγέθους σωματιδίων μικρότερο των 3 χιλιοστών για την διευκόλυνση της διάχυσης. Το δείγμα αναμειγνύεται με τον διαλύτη, τοποθετείται σε σακούλα πολυαιθυλενίου, σφραγίζεται, απομακρύνεται ο αέρας και τοποθετείται στο θάλαμο πίεσεως. [30]. Έπειτα, η πίεση αυξάνεται σταδιακά μέχρι την επιθυμητή τιμή. Η διαφορά πίεσης εκατέρωθεν της κυτταρικής μεμβράνης είναι τόσο μεγάλη που οδηγεί σε ακαριαία διείσδυση του διαλύτη στο κύτταρο [31]. Η πίεση διατηρείται για μικρό χρονικό διάστημα μερικών λεπτών και ακολουθεί απότομη πτώση στην ατμοσφαιρική πίεση, η οποία προκαλεί διόγκωση του κυττάρου, λύση του κυτταρικού τοιχώματος και περαιτέρω ανάμειξη του διαλύτη με τα συστατικά του κυττάρου [12]. Στο τέλος, το μίγμα κοσκινίζεται για να διαχωριστούν τα στερεά συστατικά τα οποία μπορούν να αναμιχθούν με διαλύτη και να ακολουθήσει δεύτερος κύκλος επεξεργασίας. Δυο κύκλοι συνήθως είναι αρκετοί για την ανάκτηση των συστατικών ενδιαφέροντος.

Οι κύριες μεταβλητές της μεθόδου είναι ο διαλύτης και η πίεση. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση είναι η θερμοκρασία, η αναλογία δείγματος και ο χρόνος επεξεργασίας. Αύξηση της πίεσης προσδίδει καλύτερες ιδιότητες στον διαλύτη και αυξάνει τον όγκο του διαλύτη στα κύτταρα, μειώνοντας τον χρόνο επεξεργασίας [13]. Για παράδειγμα, η εκχύλιση φαινολικών από φλούδες πορτοκαλιού και λεμονιού παρουσίασε βελτίωση με αύξηση στα 300 MPa για 10 λεπτά και ακόμα μεγαλύτερη απόδοση στα 500 MPa για 3 λεπτά. Μεγαλύτερη επεξεργασία σε πίεση 500 MPa για 10 λεπτά οδήγησε σε πτώση της συγκέντρωσης ολικών φαινολικών στο εκχύλισμα, και πιθανώς αυτό οφείλεται

σε ενζυμική οξείδωση των βιοδραστικών ουσιών [32]. Επίσης, μεγαλύτερες τιμές πίεσης χρειάζονται περισσότερη ενέργεια και ακριβότερο εξοπλισμό. Η επιλογή του καταλληλότερου διαλύτη γίνεται με κριτήρια ίδια με των υπόλοιπων εκχυλίσεων όμως δίνεται μεγαλύτερη βαρύτητα στη χρήση «πράσινων» διαλυτών. Οι θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται κυμαίνονται από 20 έως 60°C με πιο συχνή τη θερμοκρασία δωματίου. Η αύξηση της θερμοκρασίας μειώνει το ιξώδες του διαλύτη και αυξάνει τη διαλυτότητα της ουσίας προς παραλαβή. Είναι σημαντικό οι θερμοκρασίες να είναι κάτω από 50 °C για την αποφυγή θερμικής υποβάθμισης. Μια μικρή άνοδος στην θερμοκρασία μπορεί να σημειωθεί κατά το στάδιο εφαρμογής της πίεσης (3°C στα 100MPa), ενώ είναι δυνατή η κυκλοφορία ψυκτικού υγρού γύρω από το δείγμα για εξισορρόπηση της θερμοκρασίας.

Οι Grassino et al. (2020) ανέπτυξαν μια διαδικασία ανάκτησης πολλαπλών συστατικών ενδιαφέροντος (πηκτίνη, πολυφαινόλες, λιπαρά οξέα) από φλούδες τομάτας. Για την ανάκτηση πηκτίνης χρησιμοποιήθηκε επεξεργασία με νιτρικό οξύ 0.1M και πίεση 300 MPa στους 80° C για 45 λεπτά. Η μέθοδος είχε 15% μεγαλύτερη ανάκτηση πηκτίνης στο 25% του χρόνου της συμβατικής εκχύλισης με τον ίδιο διαλύτη (reflux extraction), η απόδοση ωστόσο ήταν χαμηλή [69]. Σημαντική μείωση του απαιτούμενου χρόνου ανάκτησης λυκοπενίου επιτεύχθηκε με την χρήση υπερυψηλής πίεσης. Συγκεκριμένα, με διαλύτη αιθανόλη 75% και πίεση 500 MPa, χωρίς θέρμανση, εκχύλισε το 92 % του λυκοπενίου σε απόβλητα πάστας τομάτας σε 1 min. Το ολικό περιεχόμενο λυκοπένιο είχε υπολογιστεί μέσω εκχύλισης με χλωροφόρμιο και χρήση υπερήχων (30 min) [70]. Ακόμα, ο συνδυασμός υψηλής πίεσης και ενζυμικής υδρόλυσης χρησιμοποιήθηκε για τη μείωση του χρόνου και την αύξηση παραλαβής ολιγοσακχαριτών από απόβλητα μήλου. Η χρήση κυτταρινάσης και πίεσης 200 MPa για 15 min οδήγησε σε σχεδόν τετραπλάσια αύξηση των περιεχομένων ολιγοσακχαριτών [71]. Αύξηση της ενζυμικής δραστηριότητας με εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης παρατηρήθηκε και κατά την ανάκτηση φαινολικών από απόβλητα οινοποίησης [72].

Πάρα τα φανερά πλεονεκτήματα της μεθόδου δεν υπάρχει κάποια εφαρμογή της σε μεγάλη κλίμακα. Ωστόσο, η χρήση υδροστατικής πίεσης χρησιμοποιείται για την επεξεργασία τροφίμων ως μέθοδος συντήρησης (ψυχρή αποστείρωση).

### **3.2.6 Εκχύλιση με παλμικά ηλεκτρικά πεδία – Extraction by Pulsed Electric Fields**

Τα τελευταία χρόνια, τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον των επιστημόνων καθώς μπορούν να εφαρμοστούν σε διάφορες επεξεργασίες τροφίμων είτε

για συντήρηση (ξήρανση), είτε για εκχύλιση και ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών, είτε ως μέθοδος προεπεξεργασίας για κάποια άλλη τεχνική εκχύλισης. Πρόκειται για μια μη θερμική μέθοδο μικροβιακής και ενζυμικής αδρανοποίησης δειγμάτων τροφίμων όπου δεν αναπτύσσονται υψηλές θερμοκρασίες, αλλά εφαρμόζονται υψηλές δυνάμεις ηλεκτρικών πεδίων και έτσι τα θερμοευαίσθητα συστατικά των δειγμάτων, η διατροφική τους αξία καθώς και τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά (χρώμα, άρωμα) παραμένουν αναλλοίωτα. Συνήθως παρατηρείται μια μικρή αύξηση στη θερμοκρασία του δείγματος της τάξης των 3-5°C [13]. Η τεχνολογία της εκχύλισης περιλαμβάνει την εφαρμογή στο ημιστερεό ή υγρό δείγμα, παλμικών πεδίων με τα εξής χαρακτηριστικά: (α) μικρής διάρκειας παλμοί (μs έως και ms), (β) μέτρια έως υψηλή δύναμη ηλεκτρικού πεδίου (100- 300 V cm<sup>-1</sup> έως 20–80 kV cm<sup>-1</sup> και (γ) χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις (1- 10 kJ/kg) [13]. Συνήθως η εκχύλιση πραγματοποιείται σε θερμοκρασία δωματίου ή λίγο υψηλότερη [23,34]. Η μέθοδος βασίζεται στο φαινόμενο της ηλεκτροδιάτρησης (electroporation). Όταν το δείγμα εκτίθεται σε ηλεκτρικό πεδίο, η κυτταρική του μεμβράνη διαταράσσεται και δημιουργούνται πόροι πάνω σε αυτήν, μόνιμα ή για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, ανάλογα με τη χρονική διάρκεια, τον αριθμό και την ένταση των παλμών. Η παρατεταμένη διάρκεια της επεξεργασίας με αυξημένο αριθμό παλμών οδηγεί σε αύξηση της θερμοκρασίας στο δείγμα. Η μεταβολή στη μεμβράνη αυξάνει τη διαπερατότητά της και τελικά ευνοεί τη μεταφορά μάζας κατά την εκχύλιση και έτσι τα βιοδραστικά συστατικά ανακτώνται ευκολότερα.

Τα πλεονεκτήματα της εκχύλισης με παλμικά ηλεκτρικά πεδία σε σύγκριση με τις κλασικές τεχνικές εκχύλισης συνοψίζονται στα εξής σημεία [13,33]:

- Η μεταφορά μάζας είναι αυξημένη
- Η απόδοση της εκχύλισης είναι βελτιωμένη
- Ο χρόνος της εκχύλισης είναι συντομότερος
- Η κατανάλωση διαλυτών είναι μικρότερη
- Η αποδόμηση και υποβάθμιση θερμοευαίσθητων συστατικών είναι περιορισμένη
- Παρατηρείται μικροβιακή και ενζυμική αδρανοποίηση
- Το ενεργειακό κόστος και περιβαλλοντικό αποτύπωμα είναι πολύ μικρότερα. Για παράδειγμα, σε σύγκριση με μηχανικές τεχνικές εκχύλισης, η ενέργεια που παρέχεται κυμαίνεται από 1-15 kJ/Kg [33]

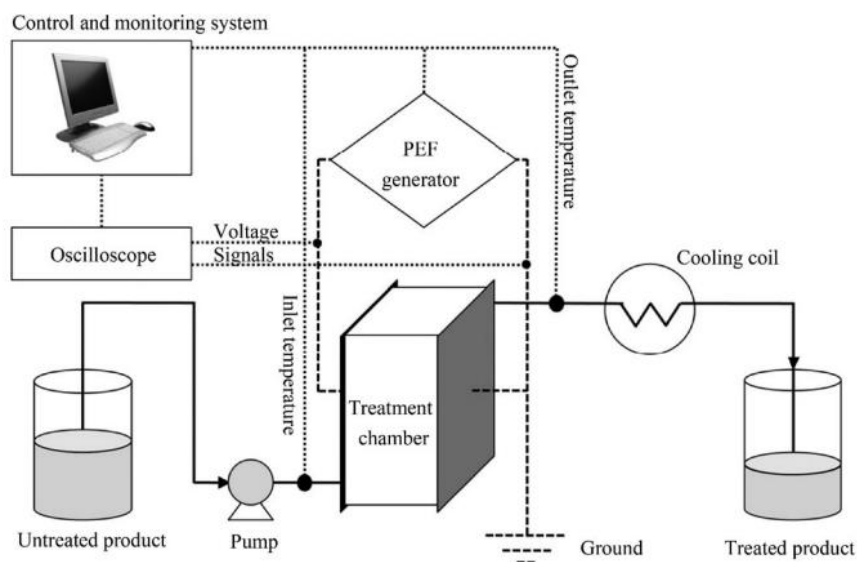
Ο εξοπλισμός περιλαμβάνει μια γεννήτρια παλμών υψηλής τάσης, τον θάλαμο επεξεργασίας και ένα σύστημα παρακολούθησης και ελέγχου (Εικόνα 3.7) [13]. Το δείγμα τοποθετείται ανάμεσα σε δύο ηλεκτρόδια εκ των οποίων το πρώτο είναι σε υψηλή τάση ενώ το δεύτερο σε δυναμικό γείωσης. Το δοχείο της επεξεργασίας είναι κυλινδρικό και τα ηλεκτρόδια έχουν την μορφή δίσκων [34]. Τα συστήματα μπορούν να λειτουργούν είτε σε παρτίδες

(100-1000 V/cm) είτε συνεχόμενα (20-80 kv/cm) [1,34]. Στην εκχύλιση σε παρτίδες, μετά την επεξεργασία, το δείγμα

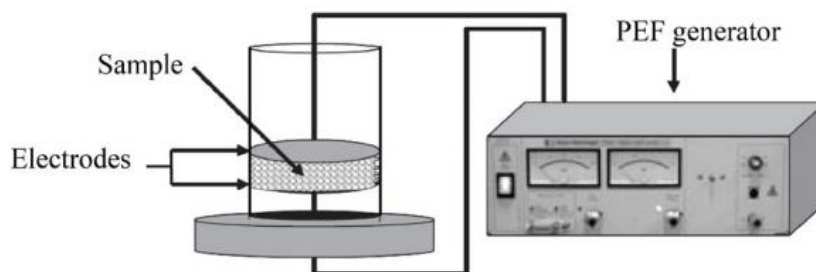
αναμιγνύεται με διαλύτη και ακολουθεί κλασική εκχύλιση και διαχωρισμός του τελικού μίγματος

ενώ στην συνεχή, το μίγμα δείγμα-διαλύτη επιδέχεται την επίδραση των ηλεκτρικών πεδίων [34].

Ο πιο σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τη συγκέντρωση του προς ανάκτηση συστατικού και την απόδοση της εκχύλισης είναι η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου (E, kV/cm), η οποία επηρεάζει τις φυσικοχημικές ιδιότητες του διαλύτη αλλά και του δείγματος. Η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου επηρεάζεται από την τάση (V μετρούμενη σε kV) και από την απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων (l μετρούμενη σε mm). Η σχέση που τα συνδέει είναι η εξής:  $E=V/l$  [34,23]. Με αύξηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου η απόδοση αυξάνεται, ωστόσο, δεν πρέπει να ξεπερνάει συγκεκριμένες τιμές γιατί τελικά θα υπάρξουν τα αντίθετα αποτελέσματα. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την



Εικόνα 3.7: Πάνω: Σύστημα σε συνεχή λειτουργία, Κάτω: Δοχείο επεξεργασίας [34]



απόδοση είναι ο αριθμός των παλμών καθώς και η χρονική διάρκεια της παύσης μεταξύ τους, η θερμοκρασία, οι ιδιότητες του δείγματος και η παροχή ενέργειας [1,33].

Σύμφωνα με τους López et al. (2008), η εφαρμογή παλμικών ηλεκτρικών πεδίων πριν τον τεμαχισμό του δείγματος σταφυλιών που υποβλήθηκε σε εκχύλιση με διαβροχή, συνέβαλλε στη μείωση του χρόνου της επεξεργασίας της εκχύλισης και στη σταθεροποίηση των ανθοκυανινών και πολυφαινόλων κατά την παραγωγή του κρασιού [1]. Βελτιωμένες αποδόσεις και μικρότερος χρόνος εκχύλισης σε δείγματα που έχουν προεπεξεργαστεί με παλμικά ηλεκτρικά πεδία παρατηρούνται στις κλασικές τεχνικές εκχύλισης καθώς και σε διάφορες καινοτόμες τεχνικές όπως για παράδειγμα στην εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά ή στην εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα.

**Πίνακας 3.6: Παραδείγματα εκχύλισης βιοδραστικών συστατικών με παλμικά ηλεκτρικά πεδία**

Πρώτη ύλη	Ανακτώμενο συστατικό	Συνθήκες επεξεργασίας	Αποτελέσματα	Πηγή
Σταφύλια για χρήση σε οινοποιείο	Πολυφαινόλες	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0.5 kV/cm, 50 παλμοί, 0.1 kJ/kg</li> <li>• 2.4 kV/cm, 50 παλμοί 2.3 kJ/kg</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 13%</li> <li>• 28%</li> </ul> Βελτιωμένη απόδοση εκχύλισης σε σχέση με σταφύλια που δεν είχαν υποστεί επεξεργασία	[23]
Πούλπα μήλων	Πηκτίνη	15 kV/cm, 10 παλμοί, 62 °C, συνεχές σύστημα	Απόδοση πηκτίνης 14.12 %, υψηλότερη σε σύγκριση με υπερήχους (11.63 %) και μικροκύματα (10.98 %)	[34]
Υπολείμματα τομάτας	Λυκοπένιο	30 kV/cm, 8 παλμοί, θερμοκρασία δωματίου,	Απόδοση λυκοπενίου 96.7 %, υψηλότερη σε σχέση με μικροκύματα (78.4 %), υπερήχους	[34]

συνεχές	(92.5 %) και κλασική
σύστημα	εκχύλιση (40.2 %)

Η μεταφορά της τεχνικής αυτής σε βιομηχανική κλίμακα απαιτεί την επεξεργασία μεγαλύτερου όγκου δειγμάτων με αποτέλεσμα τη χρήση μεγαλύτερου εξοπλισμού και την κατανάλωση περισσότερης ενέργειας, ακόμα και αν αυτή, σε σύγκριση με τις κλασικές τεχνικές, είναι μειωμένη. Γενικότερα, απαιτείται η προσαρμογή και βελτιστοποίηση όλων των παραμέτρων της επεξεργασίας σε βιομηχανικό επίπεδο. Ιδανική λύση θα ήταν η αξιοποίηση κάποιας ανανεώσιμης πηγής ενέργειας, κάτι το οποίο από μόνο του ως εφαρμογή είναι αρκετά απαιτητικό [33]. Στον Πίνακα 3.6 αναφέρονται ορισμένα παραδείγματα εκχύλισης διάφορων βιοδραστικών συστατικών με παλμικά ηλεκτρικά πεδία.

### 3.2.7 Ωμική θέρμανση – Ohmic Heating

Πρόκειται για εναλλακτική θερμική διεργασία η οποία συμβάλλει στην αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης. Ως θερμική μέθοδος θεωρείται πιο αποτελεσματική και φιλική προς το περιβάλλον σε σχέση με τις κλασικές, με απόδοση στο 90% και οικονομία ενέργειας μέχρι και 70% [33]. Το ηλεκτρικό ρεύμα διαπερνά τα υλικά που διαθέτουν ηλεκτρική αντίσταση παράγοντας έτσι θερμότητα η οποία μεταφέρεται ομοιόμορφα σε όλη την επιφάνεια του δείγματος, αυξάνοντας την θερμοκρασία του [33]. Με άλλα λόγια, η ηλεκτρική ενέργεια μετατρέπεται άμεσα σε θερμική. Ωστόσο, η εφαρμογή αυτής της τεχνικής για εκχύλιση θερμοευαίσθητων και ασταθών συστατικών, όπως οι ανθοκυανίνες από φυτικούς ιστούς θεωρείται επίφοβη καθώς η θέρμανση και οι μεταβολές που προκαλεί η ηλεκτρική ενέργεια (π.χ. ηλεκτροδιάτρηση) μπορούν να αλλοιώσουν τα προς εκχύλιση συστατικά [33]. Επίσης, η χρήση της σε μη αγώγιμα υλικά καθώς και σε μη ομογενή συστήματα δεν μπορεί να εφαρμοστεί [35].

Ο εξοπλισμός είναι παρόμοιος με αυτόν που αναφέρθηκε στα παλμικά ηλεκτρικά πεδία με την μόνη διαφορά πως οι θερμοκρασίες στην ωμική θέρμανση μπορούν να φτάσουν μέχρι και τους 100 °C και η τάση κυμαίνεται από 60-280 V [35].

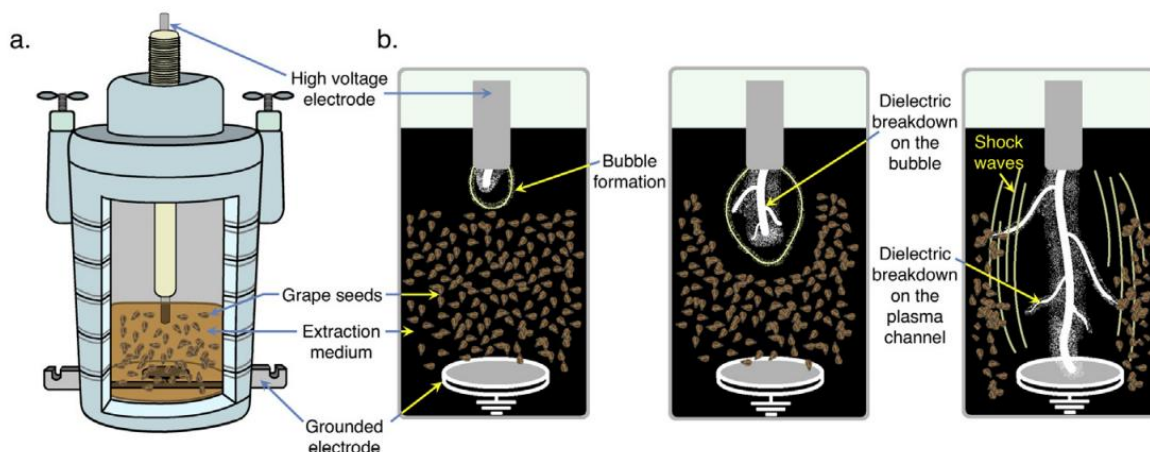
### 3.2.8 Εκχύλιση με χρήση ηλεκτρικών εκκενώσεων υψηλής τάσης – Extraction by High Voltage Electrical Discharges

Πρόκειται για ακόμα μια μη θερμική τεχνική που χρησιμοποιεί σύντομους ηλεκτρικούς παλμούς και υψηλές τιμές ηλεκτρικού πεδίου για να αυξήσει την απόδοση κατά την



εκχύλιση. Έχει εφαρμοστεί πριν την κλασική εκχύλιση (ως προεπεξεργασία) για να βελτιώσει την εκχύλιση ελαίου από καρπούς, πολυφαινολών από απόβλητα σταφυλιών (κοτσάνια και φλούδες) και για την ανάκτηση πηκτίνης από ζαχαρότευτλα [33,36]. Πρόκειται για μια τεχνική φιλική προς το περιβάλλον καθώς έχει μικρές ενεργειακές απαιτήσεις [36,37]. Σε σύγκριση με κλασικές τεχνικές εκχύλισης ο χρόνος επεξεργασίας είναι μικρότερος, οι θερμοκρασίες μειωμένες όπως και η αύξηση θερμοκρασίας του δείγματος (είναι δηλαδή κατάλληλη για θερμοευαίσθητα συστατικά), η μεταφορά μάζας αυξημένη και οι απαιτήσεις σε διαλύτη κατά την εκχύλιση μικρότερες [36]. Παράλληλα, από διάφορες έρευνες και πειράματα έχει προκύψει πως σε σύγκριση με άλλες ανερχόμενες τεχνικές, όπως τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία, τα μικροκύματα και οι υπέρηχοι, η τεχνική των ηλεκτρικών εκκενώσεων υψηλής τάσης παρουσιάζει καλύτερες αποδόσεις στην εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών [37]. Για παράδειγμα οι Roselló et al. (2015) έδειξαν πως η προεπεξεργασία με ηλεκτρικές εκκενώσεις υψηλής τάσης αποδείχθηκε η πιο αποτελεσματική από άποψη απόδοσης και χρόνου στην εκχύλιση πολυφαινολών και πρωτεϊνών από τους πυρήνες ελιάς σε σύγκριση με τη χρήση των υπερήχων και των μικροκυμάτων. Η πρώτη είχε απόδοση 255 mg GAE (gallic acid equivalent)/ L ενώ τα μικροκύματα και οι υπέρηχοι 140 και 146 mg GAE/L αντίστοιχα [38]. Η εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου με ένταση 40 kV σε παραπροϊόντα σταφυλιών και μετέπειτα εκχύλιση με διαλύτη οδηγεί σε ανάκτηση μέχρι και 9 g GAE/100 g ξ.β. [23]. Επίσης, φλούδες από ρόδια επεξεργάστηκαν με ένταση πεδίου 40 kV για χρονικό διάστημα 7 λεπτών και ανακτήθηκαν  $46 \pm 0.5$  mg GAE/g πολυφαινολών επί ξηρού βάρους [77]. Τέλος, πηκτίνη ανακτήθηκε από υπόλειμμα ζαχαρότευτλων με την χρήση ηλεκτρικών εκκενώσεων υψηλής τάσης ως προεπεξεργασία (40 kV, 100 παλμοί/2s) και εκχύλιση με όξινο νερό με τελική απόδοση 53.4%, υψηλότερη σε σχέση με την πηκτίνη που ανακτήθηκε χωρίς προεπεξεργασία (42.6 %) [78].

Το υγρό δείγμα (συνήθως διάλυμα νερού με στερεό ή ημιστερεό δείγμα) τοποθετείται εντός κυλινδρικού δοχείου, ανάμεσα σε δύο ηλεκτρόδια, όπου το πρώτο έχει την μορφή βελόνας ώστε να διεισδύει εντός του δείγματος και να αναπτύσσει κατά την επεξεργασία υψηλή τάση ενώ το δεύτερο βρίσκεται σε δυναμικό γείωσης (Εικόνα 3.8). Οι συνηθισμένες τιμές ηλεκτρικού πεδίου είναι 20-80 kV/cm και η διάρκεια των παλμών 2-5  $\mu$ s [33,4]. Με άλλα λόγια, η ενέργεια διεισδύει εντός της υδατικής φάσης μέσα από ένα κανάλι πλάσματος που δημιουργείται από την εκκένωση (discharge) λόγω της υψηλής τάσης ανάμεσα στα δύο βυθισμένα ηλεκτρόδια [36].



Εικόνα 3.8: Εργαστηριακής κλίμακας διάταξη ηλεκτρικών εκκενώσεων υψηλής τάσης (HKYT) (a) επεξεργασία παραπροϊόντων σταφυλιών (b) φαινόμενα που ακολουθούν [23]

Οι αυξημένες αποδόσεις βασίζονται στα φαινόμενα που ακολουθούν την επίδραση των παλμών υψηλής τάσης και επηρεάζουν την κυτταρική δομή του δείγματος προκαλώντας ρήξη των κυτταρικών μεμβρανών [33]. Τα φαινόμενα αυτά είναι τα εξής: κύματα σοκ υψηλής πίεσης, σπηλαίωση φυσαλίδων, δημιουργία υγρών στροβιλισμών [33,23]. Επίσης η ηλεκτρική εκκένωση προκαλεί την παραγωγή καυτού, σε συγκεκριμένο σημείο, πλάσματος το οποίο εκπέμπει ακτινοβολία UV και παράγει  $-OH$  ρίζες κατά την φωτόλυση, εντός της υδατικής φάσης, με αποτέλεσμα την οξείδωση του κυττάρου [36].

Ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει τη διεργασία είναι ο αριθμός των παλμών και η παροχή ενέργειας. Για παράδειγμα, σύμφωνα με τους Boussetta et al. (2011), ενέργεια που ξεπερνούσε τα  $80 \text{ kJ/kg}$  σε παραπροϊόντα σταφυλιών μείωσε την περιεχόμενη συγκέντρωση σε πολυφαινόλες [37]. Αυτό το γεγονός σχετίζεται με την παραγωγή και δράση του πλάσματος που προκαλεί η ενέργεια [37]. Όσο μεγαλύτερη είναι η ενέργεια που παρέχεται στο σύστημα τόσο περισσότερες είναι οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται κατά την φωτόλυση και τελικά θα οξειδώσουν τα βιοδραστικά συστατικά [37].

Η μεταφορά της διεργασίας σε βιομηχανική κλίμακα θα απαιτούσε μεγάλο κεφάλαιο για την αγορά του εξοπλισμού. Παράλληλα, οι απαιτήσεις ενέργειας και διαλυτών θα ήταν αυξημένες. Συνεπώς, παρά τα πλεονεκτήματά της, έρευνες θα πρέπει να διεξαχθούν για την χρήση των ηλεκτρικών εκκενώσεων υψηλής τάσης στην βιομηχανία.

### 3.2.9 Ενζυμικά υποβοηθούμενη εκχύλιση - Enzyme Assisted Extraction

Τα ένζυμα είναι πρωτεϊνικά μόρια που διευκολύνουν τη διεξαγωγή βιοχημικών αντιδράσεων αυξάνοντας την ταχύτητα της αντίδρασης. Παρουσιάζουν εξαιρετική εκλεκτικότητα και εξειδίκευση, επιθυμητές ιδιότητες για την παραλαβή βιοδραστικών

ουσιών. Η τεχνική χρησιμοποιείται χρόνια αλλά χρειάζεται βελτιώσεις για τη μείωση του χρόνου και του κόστους αφού τα ένζυμα ως αντιδραστήρια έχουν υψηλό κόστος αγοράς. Η τεχνική χρησιμοποιείται ως συμπλήρωμα κάποιας καινοτόμας ή και κλασσικής τεχνικής εκχύλισης. Μερικές από τις συμβατές μεθόδους είναι η χρήση υπερήχων, μικροκυμάτων, υπερυψηλής πίεσης και ιοντικών διαλυτών [40]. Η χρήση ενζύμου μπορεί να οδηγήσει στην αντικατάσταση οργανικών διαλυτών με νερό ή με πιο ήπιους διαλύτες καθώς και σε ηπιότερες συνθήκες επεξεργασίας (pH, θερμοκρασία, χρόνος επεξεργασίας). Τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται μπορεί να προέρχονται από μικροοργανισμούς, φυτά αλλά και ζωικά κύτταρα, ωστόσο η πλειοψηφία των εμπορικά διαθέσιμων ενζύμων προέρχεται από μικροοργανισμούς λόγω της ευκολίας παραγωγής [39].

Η επίδραση της ενζυμικής υδρόλυσης σε κλασσικές και καινοτόμες τεχνικές έχει μελετηθεί εκτενώς με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Η εκχύλιση με εξάνιο σε απόβλητα βιομηχανικής τομάτας, υποβοηθούμενη από μίγμα ενζύμων Pectlyve® και Cellulyve®, παρουσίασε πολλαπλάσια απόδοση ανάκτησης λυκοπενίου σε σύγκριση με την εκχύλιση χωρίς ενζυμική προκατεργασία. Επίσης ο χρόνος εκχύλισης μειώθηκε από 2.5 ώρες σε 1 ώρα, ωστόσο το δείγμα επώαστηκε για 4 ώρες [46]. Η ανάκτηση πηκτίνης από παραπροϊόντα αγκινάρας με εκχύλιση υπερήχων υποβοηθούμενη από μίγμα ενζύμων Celluclast® βελτίωσε την απόδοση (13,9 %) σε σύγκριση με την εκχύλιση με οξέα (5,8 %) και με απλή εκχύλιση με υπέρηχους (7,1 %) [9].

Η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης βασίζεται στην αλληλεπίδραση του υποστρώματος με το ένζυμο. Τα ένζυμα διαθέτουν μια περιοχή, το ενεργό σημείο, που προσδέεται στο υπόστρωμα σχηματίζοντας σύμπλοκο. Όταν ένζυμο και υπόστρωμα προσδέονται για το σχηματισμό του συμπλόκου, η τεταρτοταγής δομή του ενζύμου αλλάζει αποκτώντας το βέλτιστο σχήμα για την αλληλεπίδραση ενζύμου-υποστρώματος. Η αλλαγή στο σχήμα του ενζύμου προκαλεί μηχανικό στρες στο υπόστρωμα και κατά συνέπεια μειώνει την ενέργεια ενεργοποίησης της εκάστοτε αντίδρασης ευνοώντας το σπάσιμο των δεσμών [45]. Η αλληλεπίδραση του ενζύμου με το υπόστρωμα εξαρτάται από τους φυσικοχημικούς παράγοντες του περιβάλλοντος αφού μικρές αλλαγές στις συνθήκες επηρεάζουν το σχήμα του ενζύμου. Οι βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας κάθε ενζύμου διαφέρουν και θα πρέπει να καθορίζονται πειραματικά. Τα ένζυμα χρησιμοποιούνται για την εξασθένιση του κυτταρικού τοιχώματος και των άλλων μεμβρανών που μπορεί να περιέχουν τις επιθυμητές ουσίες. Η μείωση του πάχους ή και λύση της μεμβράνης

μειώνει τον χρόνο της εκχύλισης που θα χρησιμοποιηθεί και τις απαιτήσεις για ακραίες συνθήκες. Αποφεύγοντας τη χρήση χημικών για την εκχύλιση και την προεπεξεργασία, η μέθοδος καθίσταται ασφαλέστερη και τα παραγόμενα προϊόντα κατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση [39]. Οι βιοδραστικές ουσίες είναι συνδεδεμένες με την κυτταρική μεμβράνη ή περιέχονται στα κενοτόπια. Η ταννάση (tannase) απελευθερώνει τις πολυφαινόλες υδρολύοντας πολυσακχαρίτες και σπάζοντας δεσμούς μεταξύ πολυφαινολών και κυτταρικού τοιχώματος. Ένζυμα όπως οι κυτταρινάσες, πηκτινάσες και ημικυτταρινάσες υδρολύουν τα κυτταρικά τοιχώματα διευκολύνοντας τη διείσδυση του διαλύτη [41].

Συνήθως, το ακατέργαστο υλικό αφυδατώνεται και κονιορτοποιείται, ενώ προτιμότερη μέθοδος αφυδάτωσης είναι η λυοφιλίωση ειδικά για την παραλαβή θερμοευαίσθητων ουσιών. Έπειτα προστίθενται τα απαραίτητα ένζυμα και ρυθμίζεται το pH. Το μίγμα επωάζεται για μερικές ώρες και ακολουθεί αδρανοποίηση του ενζύμου. Το μίγμα φυγοκεντρείται για την παραλαβή του ενζύμου και την επαναχρησιμοποίησή του. Τέλος, το pH ρυθμίζεται ξανά και ακολουθεί η εκχύλιση. Αν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές, ενδέχεται η ενζυμική υδρόλυση να πραγματοποιηθεί ταυτόχρονα με την εκχύλιση αποκλείοντας έτσι το χρονοβόρο στάδιο της επώασης.

Όπως προαναφέρθηκε, θα πρέπει να καθορίζονται οι ιδανικές συνθήκες λειτουργίας του ενζύμου όπως pH, θερμοκρασία, συγκέντρωση ενζύμου και μέγεθος σωματιδίων υποστρώματος. Κατά τον προσδιορισμό του βέλτιστου pH, θα πρέπει να αποφευχθούν τιμές κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών, διότι μειώνεται η διαλυτότητα τους και η εκχύλιση παρεμποδίζεται. Η αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου αυξάνει την προσβολή του κυτταρικού τοιχώματος και μειώνει το χρόνο της προεπεξεργασίας με το ένζυμο αλλά και της εκχύλισης. Όμως, το υψηλό κόστος του αντιδραστηρίου θα πρέπει να συνυπολογίζεται στην οικονομία της αντίδρασης. Επίσης, υπερβολική συγκέντρωση του ενζύμου μπορεί να προκαλέσει αναστολή παραγωγής του τελικού προϊόντος τερματίζοντας τη διαδικασία [39]. Παρόλο που τα ένζυμα έχουν μια βέλτιστη θερμοκρασία δράσης μπορούν να δράσουν σε ένα εύρος θερμοκρασιών, ενώ οι υψηλές θερμοκρασίες (>50°C) αποφεύγονται διότι πέρα από την καταστροφή θερμοευαίσθητων συστατικών μπορεί να οδηγήσουν και στην μετουσίωση των ενζύμων. Τα μικρότερα σωματίδια του δείγματος παρουσιάζουν ευκολότερη προσβασιμότητα του ενεργού κέντρου του ενζύμου στο υπόστρωμα μειώνοντας τον απαιτούμενο χρόνο της προεπεξεργασίας [41].

Η ενζυμική προκατεργασία των δειγμάτων μειώνει τον χρόνο εκχύλισης και τους όγκους των διαλυτών εκχύλισης με αυξημένη απόδοση και προστασία της βιοδραστικότητας του τελικού προϊόντος. Τα κύρια μειονεκτήματα της μεθόδου είναι το μεγάλο κόστος ενζύμων και το γεγονός ότι τα παρασκευάσματα που είναι διαθέσιμα στην αγορά δεν μπορούν να υδρολύσουν πλήρως το κυτταρικό τοίχωμα. Επιπλέον, τα ένζυμα συμπεριφέρονται διαφορετικά στις μεταβολές οξυγόνου και θερμοκρασίας που συμβαίνουν στους αντιδραστήρες μεγάλου όγκου [42]. Έρευνες γύρω από τη λειτουργία και τη δομή των ενζύμων γίνονται προκειμένου να ξεπεραστούν αυτά τα εμπόδια, με νέα ένζυμα να παράγονται διαρκώς.

Η χρήση ενζύμων στην βιομηχανία τροφίμων δεν είναι κάτι νέο, ένζυμα αξιοποιούνται εδώ και πολλά χρόνια για εκχύλιση ελαίων, διαύγαση χυμών, παραγωγή γαλακτοκομικών κ.α. Νέα βελτιωμένα ένζυμα με μεγαλύτερη ανθεκτικότητα, καλύτερο εύρος λειτουργίας έχουν προκύψει και διατίθενται στην αγορά. Αν και το κόστος των ενζύμων για πειραματικές μελέτες είναι υψηλό, η αυξημένη απόδοση και η δυνατότητα ανακύκλωσης μειώνουν το ολικό κόστος της διαδικασίας σε μεγάλη κλίμακα. Για την περαιτέρω μείωση του κόστους μπορεί να εφαρμοστούν τεχνικές όπως η παραγωγή των ενζύμων αντί για την αγορά τους, η βελτίωση της απόδοσης μέσω αλλαγών στην πρωτεϊνική δομή και η ακινητοποίησή τους [45]. Αξίζει να σημειωθεί ότι με τη συγκεκριμένη τεχνική, μια επιχείρηση που χρησιμοποιεί ξεπερασμένες τεχνικές για την παραλαβή βιοδραστικών ουσιών μπορεί να αναβαθμίσει τη διαδικασία με μικρό αρχικό κεφάλαιο και χωρίς ιδιαίτερη ανάγκη για καινούργιο εξοπλισμό.

Οι αντίξοες συνθήκες του βιομηχανικού περιβάλλοντος αυξάνουν την τάση αποσταθεροποίησης των ενζύμων μειώνοντας το χρόνο ζωής τους. Η τεχνολογία ακινητοποίησης είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος σταθεροποίησης του ενζύμου και βελτίωσης της διαδικασίας παραγωγής. Η ακινητοποίηση παρεμποδίζει την κίνηση των μορίων του ενζύμου στο χώρο με αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας αδιάλυτης στο νερό φάσης. Χρησιμοποιώντας την τεχνική αυτή, η ενζυμική κατάλυση μπορεί να σταματήσει άμεσα και εύκολα και το παραγόμενο προϊόν είναι απαλλαγμένο από το ένζυμο. Το εύκολα διαχωρίσιμο ένζυμο παρουσιάζει μεγαλύτερο χρόνο ζωής και βελτιωμένες ιδιότητες [44]. Επίσης η διαδικασία της προεπεξεργασίας διευκολύνεται με την αφαίρεση διαδικασιών, όπως η φυγοκέντριση. Ένα μεγάλο εύρος οργανικών και ανόργανων φορέων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φορέας για την ακινητοποίηση των ενζύμων. Η

χρήση μαγνητικών νανοσωματιδίων παρουσιάζει τις καλύτερες προοπτικές, είναι όμως σε πειραματικό στάδιο [42].

### **3.3. ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΙ ΔΙΑΛΥΤΕΣ**

Η νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης προωθεί τη μείωση στη χρήση πετροχημικών διαλυτών και οργανικών ενώσεων με μεγάλη τοξικότητα. Το νερό είναι ο πιο «πράσινος» διαλύτης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί με πολλά πλεονεκτήματα σε συνδυασμό με καινοτόμες τεχνικές όπως υπέρηχοι, μικροκύματα και υπερύψηλη πίεση. Η αποτελεσματικότητα του νερού στην ανάκτηση μη πολικών και υδρόφοβων αναλυτών όμως είναι μικρή συγκριτικά με αυτή των οργανικών διαλυτών, ακόμα και σε συνδυασμό με καινοτόμες τεχνικές. Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος ερευνάται η αξιοποίηση εναλλακτικών διαλυτών με «πράσινες» ιδιότητες όπως απουσία τοξικότητας, ευφλεκτότητας και ελαχιστοποίηση των κινδύνων για τους εργαζομένους και παράλληλα φυσικοχημικές ιδιότητες παρόμοιες με τους κλασσικούς διαλύτες. Ειδικότερα ενδιαφέρον υπάρχει γύρω από τη χρήση ιοντικών υγρών και βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (Deep Eutectic Solvents) [48].

#### **3.3.1 Ιοντικοί Διαλύτες - Ionic Liquids**

Τα ιοντικά υγρά είναι υγρά άλατα σε χαμηλές θερμοκρασίες, ακόμα και θερμοκρασίες κάτω των 100 °C (τα συνηθισμένα άλατα έχουν σημεία τήξεως 400-800°C). Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι ενώσεις που είναι υγρές σε θερμοκρασίες δωματίου. Η δομή τους περιλαμβάνει ένα μεγάλο οργανικό κατιόν και ένα μικρό συνήθως ανόργανο ιόν. Έτσι η τελική δομή που προκύπτει είναι μη κρυσταλλική αφού δεν υπάρχει δυνατότητα συμμετρικής διάταξης.

Τα πλεονεκτήματα της χρήσης τους οφείλονται στη μικρή τάση ατμών, την ενδεχομένη υψηλή σταθερότητα και τη δυνατότητα επαναχρησιμοποίησής τους, σε συνδυασμό με φυσικοχημικές ιδιότητες παρόμοιες με οργανικούς διαλύτες. Οι τιμές επιφανειακής τάσης τους είναι σχετικά υψηλές σε σύγκριση με οργανικούς διαλύτες αλλά χαμηλότερες του νερού. Η πυκνότητα και το ιξώδες τους παρουσιάζει μεγάλη διακύμανση ανάλογα με την σύνθεσή τους. Θεωρούνται πολικοί διαλύτες, ο βαθμός, όμως, της πολικότητας μπορεί να σχεδιαστεί με κατάλληλη επιλογή ιόντων. Έτσι μπορεί να έχουμε πλήρως υδρόφιλους ή υδρόφοβους διαλύτες [49]. Από την άλλη μεριά, το κόστος των ιοντικών διαλυτών είναι υπερπολλαπλάσιο των κλασσικών, η διαφορά όμως αυτή μπορεί να μειωθεί λόγω της ευκολίας επαναχρησιμοποίησής τους. Είναι μια καινούργια τεχνολογία οπότε δεν είναι

βέβαιη η τοξικότητα, η περιβαλλοντική συμβατότητα και η σταθερότητά τους. Ο χαρακτηρισμός τους ως πράσινους διαλύτες γίνεται με βάση τη μικρή τάση ατμών που έχουν όμως έχει αποδειχθεί ότι παρουσιάζουν τοξικότητα σε υδρόβιους οργανισμούς και προβλήματα στην βιοαποικοδόμησή τους. Η αύξηση της ανθρακικής αλυσίδας διευκολύνει την αποδόμησή τους αλλά και την τοξικότητα τους δημιουργώντας νέα προβλήματα [50]. Ένα ακόμα εμπόδιο είναι οι σχετικά υψηλές τιμές ιξώδους και πυκνότητας, όμως μπορεί να καταπολεμηθεί με αύξηση της θερμοκρασίας ή με ανάμιξη με νερό.

Οι ανθοκυάνες από παραπροϊόντα οινοποίησης ανακτήθηκαν σε ικανοποιητική απόδοση με την χρήση ιοντικού διαλύτη BASIONIC™. Το τελικό εκχύλισμα είχε συγκέντρωση ανθοκυανών 3.58 mg/g υψηλότερη με άλλες τιμές της βιβλιογραφίας. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι τιμές σύγκρισης προέρχονται από διαφορετικά δείγματα [51]. Οι Larriba et al. (2016) μελέτησαν την επίδραση διάφορων παραμέτρων και ιοντικών διαλυτών στην ανάκτηση τυροσόλης από απόβλητα ελαιουργίας καθώς και την δυνατότητα ανακύκλωσης των διαλυτών. Με εφαρμογή κατάλληλων συνθηκών οι επιδόσεις των ιοντικών διαλυτών ήταν παραπλήσιες με τους οργανικούς, ενώ η επαναχρησιμοποίηση δεν είχε σημαντική επίδραση στην απόδοση της διαδικασίας [52]. Επίσης η εκχύλιση πίτουρου ρυζιού για την ανάκτηση γ-ορυζανόλης με μικροκύματα και ιοντικούς διαλύτες παρουσίασε θετικά αποτελέσματα [53].

### **3.3.2 Βαθέως ευτηκτικοί Διαλύτες – Deep Eutectic Solvents**

Ως βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (DES) ορίζονται μίγματα αποτελούμενα από τουλάχιστον δύο συστατικά, έναν δότη δεσμών υδρογόνου και έναν δέκτη. Ως δότες μπορούν να χρησιμοποιηθούν καρβονυλικά οξέα (οξαλικό, κιτρικό, μαλικό), αμίνες (ουρία, ημιδαζόλη) ή πολυόλες (γλυκερόλη) ενώ ως δέκτες προλίνη, χλωριούχος χολίνη, βεταΐνη, γλυκόζη κ.α. [48]. Τα συστατικά του μίγματος αλληλεπιδρούν και μπορούν να σχηματίσουν μια φάση με σημείο ζέσεως μικρότερο από το σημείο ζέσεως των επιμέρους συστατικών. Ο αριθμός των πιθανών συνδυασμών που μπορούν να σχηματίσουν ευτηκτικά μίγματα είναι αρκετά μεγάλος, ενώ η παρασκευή τους είναι μια εύκολη διαδικασία απαιτώντας την ανάμειξη των συστατικών υπό ανάδευση και ήπια θέρμανση (70-80°C).

Παρουσιάζουν όλα τα πλεονεκτήματα των ιοντικών διαλυτών αλλά με σημαντικά μικρότερο κόστος παραγωγής. Επίσης είναι λιγότερο τοξικοί με χαμηλότερο ιξώδες και

μικρότερη ευφλεκτότητα. Τέτοιοι διαλύτες βρίσκονται φυσικά σε συγκεκριμένα κύτταρα υπεύθυνα για φυσικές ιδιότητες, όπως η κρυοπροστασία, αντοχή στην ξηρασία, και αφυδάτωση (φυσικοί εύτηκτοι διαλύτες NADES).

Η ανάκτηση πηκτίνης από φλούδες φράπας με την χρήση DES μελετήθηκε από τους Liew et al. (2018) σε σύγκριση με την εκχύλιση με κιτρικό οξύ. Παρασκευάστηκαν πολλαπλοί διαλύτες, με το μίγμα γαλακτικού οξέος, γλυκόζης και νερού σε μοριακή αναλογία 6:1:6, να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ανάκτηση (23.04 %), απόδοση 16% μικρότερη από την κλασσική τεχνική. Το υψηλό ιξώδες του διαλύτη ίσως να είναι ο καθοριστικός παράγοντας μείωσης της απόδοσης. Περαιτέρω αραίωση με νερό μειώνει το ιξώδες αλλά ίσως επηρεάζει αρνητικά τη σταθερότητα του διαλύτη. Πέρα από τη χαμηλότερη απόδοση, η τεχνική απαιτεί μεγαλύτερη κατανάλωση ενέργειας, χαμηλότερες τιμές pH και περιπλοκότερη προετοιμασία (παρασκευή του μίγματος διαλύτη) [54]. Η παραλαβή κουρκουμοειδών από κουρκουμά με τη χρήση διαλυτών DES βασισμένων στη χλωριούχο χολίνη και υπερήχων είχε απόδοση 77 mg/g, παραπλήσια της μεθόδου Soxhlet με αιθανόλη (89 mg/g) σε σημαντικά μικρότερο χρόνο 20 min (12 h για μέθοδο Soxhlet) και με 150 φορές μικρότερες απαιτήσεις σε ενέργεια [55]. Η ανάκτηση φαινολών από φλούδες σταφυλιών με διάφορους διαλύτες DES συγκρίθηκε με εκχύλιση με τη χρήση μεθανόλης και υδατικού διαλύματος μεθανόλης, με τους βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες να έχουν ανωτέρα ποσοστά ανάκτησης [56].



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ

Στις επόμενες παραγράφους θα αναλυθεί πως με τη βοήθεια διάφορων μικροοργανισμών, παραπροϊόντα φυτικής προέλευσης μπορούν να αξιοποιηθούν και να αποτελέσουν ιδανική πρώτη ύλη προς παραλαβή πληθώρα πολύτιμων συστατικών.

### 4.1 ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΠΡΩΤΕΙΝΗ

Η μονοκυτταρική πρωτεΐνη αποτελείται από νεκρά αφυδατωμένα κύτταρα βακτηρίων, ζυμών και άλγεις. Τα κύτταρα αυτά περιέχουν υψηλά ποσοστά πρωτεΐνης καθώς και λίπη, υδατάνθρακες, μέταλλα και βιταμίνες, ενώ είναι ισορροπημένα σε περιεκτικότητα αμινοξέων. Οι πρωτεΐνες αυτές θα μπορούν να συμπληρώσουν τη δίαιτα του ανθρώπου σε περιοχές με έλλειψη σε συμβατικές πηγες πρωτεΐνης, χορτοφαγικές διατροφές ή να χρησιμοποιηθούν ως ζωοτροφές υψηλής διατροφικής αξίας. Η πρώτη μαζική παραγωγή μονοκυτταρικών πρωτεϊνών έγινε κατά τη διάρκεια του Πρώτου Παγκοσμίου Πολέμου, όπου για τη κάλυψη του πρωτεϊνικού ελλείμματος στη Γερμανία χρησιμοποιήθηκε καλλιέργεια *S. cerevisiae* [6].

Σε αντίθεση με τις συμβατικές διαδικασίες παραγωγής πρωτεϊνών (γεωργία, κτηνοτροφία) οι μικροβιακές πρωτεΐνες δεν εξαρτώνται από περιβαλλοντικές συνθήκες και έχουν μικρές απαιτήσεις σε προσωπικό, εκτάσεις γης και νερό (εκτός φωτοσυνθετικών μ/ων). Είναι λοιπόν μια σταθερή πηγή ποιοτικής τροφής με μικρές απαιτήσεις σε πρώτες ύλες και μικρή παραγωγή αποβλήτων. Η παραγωγή της για ανθρώπινη κατανάλωση όμως έχει αυξημένο κόστος λόγω της ανάγκης διατήρησης ασηπτικών συνθηκών και της μετέπειτα επεξεργασίας. Το περιεχόμενο ποσοστό νουκλεϊκών οξέων στα τελικά κύτταρα είναι αρκετά υψηλό και μπορεί να προκαλέσει προβλήματα υγείας, οπότε απαιτείται ειδική επεξεργασία για τη μείωση του. Τελικός περιοριστικός παράγοντας είναι και η αποδοχή από τους καταναλωτές [5]. Η χρήση παραπροϊόντων κονσερβοποιίας και χυμοποίησης μπορεί να μειώσει περαιτέρω το κόστος της διαδικασίας.

Κατά την επιλογή του κατάλληλου μικροοργανισμού θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η ευκολία επεξεργασίας για την παραλαβή του τελικού προϊόντος, η ταχύτητα ανάπτυξης του μικροοργανισμού, η διατροφική αξία της πρωτεΐνης και η ασφάλεια των καταναλωτών. Ο επιλεγμένος μικροοργανισμός δεν μπορεί να είναι παθογόνος ή να υπάρχουν στελέχη του που παράγουν τοξίνες [3]. Στη μεταφορά σε μεγάλη κλίμακα θα

πρέπει επίσης να δοθεί προσοχή στον αφρισμό, στη σταθερότητα των συνθηκών στους βιοαντιδραστήρες και στη γενετική σταθερότητα του επιλεγμένου στελέχους [5].

Η χρήση αλγείδ δεν είναι ιδιαίτερα συμφέρουσα παρά μόνο σε συγκεκριμένες περιπτώσεις για την παραγωγή συμπληρωμάτων διατροφής. Υπάρχουν μεγάλες απαιτήσεις σε νερό, ανάγκη για θερμές θερμοκρασίες (>20°C), σταθερή ηλιοφάνεια και επεξεργασία για τη βελτίωση της πεπτικότητας [2]. Χρησιμοποιούνται γένη *Chlorella*, *Spirulina*. Πάρα τις δυσκολίες, στην Ιαπωνία και στην Ταιβάν γίνεται ήδη παραγωγή συμπληρωμάτων διατροφής από μελάσα ή ζάχαρη [1]. Η χρήση βιομηχανικών υδατικών αποβλήτων ως μέσο είναι επίσης δυνατή [6].

Τα βακτήρια *Bacillus*, *Hydrogenomonas*, *Methylomonas* και *Pseudomonas* που χρησιμοποιούνται πιο συχνά έχουν τους υψηλότερους ρυθμούς ανάπτυξης και ποσοστά πρωτεΐνης (μέχρι 80%) με την ικανότητα να μεταβολίσουν μεγάλη ποικιλία υποστρωμάτων. Βέβαια δεν είναι αποδεκτά από τους καταναλωτές και υπάρχει μικρότερη εμπειρία με τη χρήση τους στην παραγωγή τροφίμων. Η παραγωγή τους έχει αυξημένο κόστος αφού υπάρχει δυσκολία στην ανάκτηση τους και μεγάλο ποσοστό νουκλεϊκών οξέων το κάποιο θα πρέπει να μειωθεί [1,2].

Οι ζύμες είναι συνήθως η καλύτερη επιλογή αφού υπάρχει μεγάλη εμπειρία στην χρήση τους και είναι σχετικά πιο γνώριμες στο καταναλωτικό κοινό. Δεν έχουν τα ίδια ποσοστά πρωτεΐνης με τα βακτήρια αλλά παραμένουν σε ικανοποιητικά πλαίσια. Η ανάκτηση τους είναι ευκολότερη και αναπτύσσονται σε χαμηλές τιμές pH (4,5-5,5), μειώνοντας την ανάγκη για ασηπτικές συνθήκες. Τα κυρία γένη που χρησιμοποιούνται είναι *Saccharomyces*, *Candida*, *Torulopsis* και *Rhodotorula* [5,2].

Ως πηγή άνθρακα και ενέργειας μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολλά αγροτικά και βιομηχανικά απόβλητα. Για απόβλητα και αμυλώδη υποστρώματα είναι αναγκαία μια προεπεξεργασία όπως αυτή που εφαρμόζεται στα βιοκαύσιμα για την απελευθέρωση των ζυμωμένων σακχάρων. Εκτός από άνθρακα οι μικροοργανισμοί απαιτούν πηγές αζώτου, φωσφόρου μετάλλων και βιταμινών. Η ανάμιξη διάφορων ειδών αποβλήτων μπορεί να παρέχει ικανοποιητικές ποσότητες μετάλλων και μια καλή αναλογία C:N (10:1) ενώ η χρήση προσθέτων δεν είναι αναγκαία ειδικά αν το τελικό προϊόν προορίζεται για ζωοτροφή [7]. Συνήθη συμπληρώματα ανάπτυξης είναι η γλυκόζη,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ . Οι Khan et al. (2012) χρησιμοποίησαν φλούδες μπανάνας και απόβλητα ροδιού και μήλου χωρίς πρόσθετα αλλά μόνο με τη χρήση θερμικής προεπεξεργασίας με

τα τελικά προϊόντα να είναι ιδανική ζωοτροφή με συγκέντρωση πρωτεϊνών περίπου 50% [4]. Φλούδες αγγουριού και πορτοκαλιών ως υπόστρωμα για την ανάπτυξη *S. Cerevisiae*, είχαν επίσης καλή τελική απόδοση πρωτεϊνών [3].

**Πίνακας 4.1: Πειραματικές μελέτες παραγωγής μικροβιακής πρωτεΐνης [3,4]**

Μικροοργανισμός	Υπόστρωμα	Προεπεξεργασία	Συνθήκες	% πρωτεϊνών
<i>S. cerevisiae</i>	Φλούδες αγγουριού	Αφυδάτωση, κονιορτοποιήση, 10% HCl +100°C, Αποστείρωση 121°C 15 min	pH=5.5, 28°C, 140h, προσθήκη γλυκόζης, N, P.	53.4
<i>S. cerevisiae</i>	Φλούδες πορτοκαλιού	Αφυδάτωση, κονιορτοποιήση, 10% HCl +100°C, Αποστείρωση 121°C 15 min	pH=5.5, 28°C, 140h, προσθήκη γλυκόζης, N, P.	30.5
<i>S. cerevisiae</i>	Φλούδες μπανάνας	Αποστείρωση 121°C 45 min 15Psi	27°C, χωρίς προσθετά ανάπτυξης	58.6
<i>S. cerevisiae</i>	Φλούδες ροδιού	Αποστείρωση 121°C 45 min 15Psi	27°C, χωρίς προσθετά ανάπτυξης	54.3
<i>S. cerevisiae</i>	Απόβλητα μήλου	Αποστείρωση 121°C 45 min 15Psi	27°C, χωρίς προσθετά ανάπτυξης	50.9

Η συλλογή των κυττάρων γίνεται συνήθως στο τέλος της λογαριθμικής φάσης ανάπτυξης ή στην αρχή της φάσης στασιμότητας. Για τον διαχωρισμό από το υπόστρωμα

χρησιμοποιείται φυγοκέντριση ή συνδυασμός φυγοκέντρισης/καθίζησης/κροκίδωσης. Η πάστα που παραλαμβάνεται αποξηραίνεται για να δώσει μια ξηρή σκόνη ελεύθερη από ζωντανούς οργανισμούς [1]. Το κυτταρικό τοίχωμα θα πρέπει να αφαιρεθεί και τα περιεχόμενα νουκλεϊκά οξέα να μειωθούν για την βελτίωση της θρεπτικής αξίας του τελικού προϊόντος. Το κυτταρικό τοίχωμα μπορεί να καταστραφεί ενζυματικά ή μηχανικά με την χρήση πίεσης, υπέρηχων, άλεσμα και άλλες μεθόδους. Η χρήση χημικών μεθόδων όπως δημιουργία συμπλοκών ουρίας-πρωτεΐνης δεν συνιστάνται διότι καταστρέφονται πολύτιμα αμινοξέα και μειώνεται η διατροφική αξία του προϊόντος [7]. Τα περιεχόμενα νουκλεϊκά οξέα μπορούν να απομακρυνθούν με επίδραση με NaCl, NaOH ή να ελαττωθούν με θερμικό σοκ λόγω μετουσίωσης των ριβοσωμάτων [1].

## 4.2 ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ

Πρόκειται για οργανικές ενώσεις με ασθενείς ιδιότητες οξέος, χρησιμοποιούμενα ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων, φαρμακοβιομηχανία και βιομηχανία παραγωγής καλλυντικών. Η παραγωγή τους μπορεί να πραγματοποιηθεί μικροβιακά από ορισμένα είδη βακτηρίων και μυκήτων ακόμα και σε βιομηχανική κλίμακα με υπόστρωμα απόβλητα τροφίμων, γεωργίας, φρούτων και λαχανικών. Οι κυριότεροι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής: (α) βακτήρια όπως *Arthrobacter paraffinensis*, *Bacillus sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Streptococcus thermophilus* και (β) μύκητες όπως *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Yarrowia lipolytica* [8]. Τα κυριότερα παραγόμενα οργανικά οξέα είναι το κιτρικό και το γαλακτικό οξύ.

### 4.2.1 Κιτρικό οξύ

Πρόκειται για ενδιάμεσο προϊόν του κύκλου του Krebs και εντοπίζεται επίσης φυσικά σε ζώα και φυτά από τα οποία μπορεί να απομονωθεί (για παράδειγμα εσπεριδοειδή). Είναι γενικά αναγνωρισμένο ως ασφαλές (GRAS) και χρησιμοποιείται ως φυσικό συντηρητικό στη βιομηχανία τροφίμων [9]. Παράγεται κυρίως από τον μύκητα *Aspergillus niger* με την τεχνική της ζύμωσης στερεάς φάσης (solid state fermentation) ή υγρής φάσης (liquid state fermentation) η οποία χωρίζεται σε βυθιζόμενη (submerged) και επιφανειακή (surface) (Πίνακας 2) [10]. Ο μύκητας αυτός έχει τη δυνατότητα ανάπτυξης σε pH 2.5-3.5 όπου υπερκαλύπτει την ταυτόχρονη παραγωγή οξικού οξέος και αυξάνει την απόδοση σε κιτρικό (όταν το υπόστρωμα είναι πλούσιο σε σάκχαρα) και ακόμα, είναι ικανός να μεταβολίσει πληθώρα φτηνών υποστρωμάτων για παραγωγή κιτρικού οξέος [11]. Η παραγωγή κιτρικού οξέος μέσω ζύμωσης έχει τα εξής πλεονεκτήματα: απλή λειτουργία,

απαίτηση μη εξειδικευμένου προσωπικού, λιγότερη κατανάλωση ενέργειας και απλά συστήματα ελέγχου [11].

Στη βυθιζόμενη ζύμωση, η αποδόμηση των υδατανθράκων συμβαίνει αναερόβια ή μερικώς αναερόβια εντός αντιδραστήρων από μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται σε υγρό υπόστρωμα (broth) [10]. Οι συνθήκες που επικρατούν εντός των αντιδραστήρων είναι ασηπτικές και ομοιογενείς και η λειτουργία τους βασίζεται σε παραμέτρους όπως η συγκέντρωση της βιομάζας, η μετάδοση θερμότητας και η λειτουργία σε ιδανικές για τη ζύμωση συνθήκες [10]. Η επιφανειακή ζύμωση είναι αερόβια διαδικασία και απαιτεί υψηλά ποσοστά υγρασίας (40-60%). Αρχικά, ο μύκητας αναπτύσσεται σε μορφή μυκηλίου στην επιφάνεια του υποστρώματος εντός ρηχών ανοξείδωτων δίσκων και έπειτα χρησιμοποιείται για τη μετατροπή των υδατανθράκων σε κιτρικό οξύ [10,11]. Η διαδικασία πραγματοποιείται εντός θαλάμων στους οποίους κυκλοφορεί στείρος αέρας ο οποίος παρέχει το απαιτούμενο οξυγόνο [11]. Μετά την ολοκλήρωση της ζύμωσης, τα μυκήλια υφίστανται επεξεργασία (washing) προς παραλαβή και εκχύλιση του κιτρικού οξέος [10,11]. Η ζύμωση στερεάς φάσης είναι ανώτερη από τις προαναφερθείσες καθώς μπορεί να χρησιμοποιήσει πληθώρα φθηνών και άχρηστων για τη βιομηχανία παραπροϊόντων, όπως απόβλητα γεωργίας, βιομηχανίας τροφίμων, ελαιουργίας και χυμοποιίας ως υποστρώματα για παραγωγή πολύτιμων ουσιών με χαμηλότερο κόστος, μικρότερες απαιτήσεις σε νερό και απλούστερο εξοπλισμό (Πίνακας 4.2). Έτσι καθίσταται πιο φιλική προς το περιβάλλον τεχνική. Ως διαδικασία είναι λιγότερο ευαίσθητη σε μεταβολές συνθηκών λειτουργίας και σε παρουσία ή απουσία άλλων ενώσεων όμως είναι δυσκολότερη η προσαρμογή της σε βιομηχανική κλίμακα. Η διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής: τα στερεά, φυσικά νωπά υποστρώματα αναπτύσσουν τον μικροοργανισμό ο οποίος στην συνέχεια θα προχωρήσει στην παραγωγή της επιθυμητής ουσίας η οποία μπορεί να ανακτηθεί με διάφορες τεχνικές. Η διαδικασία πραγματοποιείται εντός αντιδραστήρων [10]. Ωστόσο, για την παραγωγή κιτρικού οξέος η ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική είναι αυτή της βυθιζόμενης ζύμωσης.

Σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την τελική απόδοση σε κιτρικό οξύ είναι η πηγή άνθρακα και η αρχική συγκέντρωση σακχάρων. Μονοσακχαρίτες και δισακχαρίτες είναι προτιμότεροι για τη διαδικασία καθώς μεταβολίζονται γρηγορότερα. Ιδανική πρώτη ύλη θεωρείται η σουκρόζη καθώς ο *A. niger* διαθέτει το εξωκυτταρικό ένζυμο ιμπερτάση που αποδομεί ταχύτατα την σουκρόζη [11]. Άλλοι παράγοντες είναι η συγκέντρωση

φωσφόρου και αζώτου, η αρχική υγρασία, το pH, ο αερισμός και η παρουσία ιχνοστοιχείων [10,11].

**Πίνακας 4.2: Υποστρώματα και είδη ζυμώσεων [11]**

Τύπος ζύμωσης	Υπόστρωμα
Επιφανειακή	Απόβλητα ζυθοποιίας, απορρίμματα βαμβακοβιομηχανίας, ορός από γογγύλια
Βυθιζόμενη	Απόβλητα ζυθοποιίας, λάδι καρύδας, ελαιόλαδο, φοινικέλαιο, μελάσσα
Στερεάς φάσης	Στερεό υπόλειμμα μήλου, υπολείμματα καρότου, σταφυλιών, ακτινιδίου, ανανά, πορτοκαλιού, καφέ, ζαχαροκάλαμων, μελάσσα, πίτουρο σιταριού

**Πίνακας 4.3: Παραγωγή κιτρικού οξέος από διάφορα υποστρώματα**

Υπόστρωμα	Απόδοση σε κιτρικό οξύ	Μικροοργανισμός	Πηγή
Φλούδες μπανάνας	82g/kg ξηρού βάρους	<i>A. niger</i>	[8]
Πούλπα ανανά	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5.25g/kg</li> <li>• 3.25g/kg</li> </ul>	<i>A. niger</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Προσθήκη μεθανόλης</li> <li>• Απουσία μεθανόλης</li> </ul>	[8]
Φλούδες ανανά	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 14.71g/L</li> <li>• 8.58g/L</li> </ul>	<i>A. niger</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Προσθήκη μεθανόλης</li> <li>• Απουσία μεθανόλης</li> </ul>	[8]
Στερεό υπόλειμμα μήλου	4.6g/100g υπολείμματος	<i>A. niger</i> (Van Tieghem MTCC 281)	[10]
Φλούδες πορτοκαλιού	9.2 g/L	<i>Aspergillus niger</i> CECT 2090 <ul style="list-style-type: none"> <li>• Προσθήκη μεθανόλης</li> </ul>	[51]
Κατσίγαρος	28.9 g/L	<i>Yarrowia lipolytica</i> ACA-DC 50109 <ul style="list-style-type: none"> <li>• Προσθήκη γλυκόζης</li> </ul>	[52]

Ορισμένα υποστρώματα πριν τη χρήση τους πρέπει να υποστούν προεπεξεργασία για την αποφυγή ανάπτυξης ανεπιθύμητων μικροοργανισμών λόγω υψηλής υγρασίας. Για παράδειγμα, στερεά υπολείμματα μήλων, σταφυλιών, ανανά, πορτοκαλιού και λαχανικών καθώς και φλούδες μπανάνας, φρούτα σε αποσύνθεση πρέπει να υποβληθούν σε ξήρανση μέχρι την επιθυμητή υγρασία, κονιορτοποίηση και κοσκίνισμα [10]. Στην περίπτωση όπου τα χρησιμοποιούμενα υποστρώματα δε διαθέτουν επαρκείς ποσότητες από απαραίτητα για τη ζύμωση συστατικά όπως άζωτο, φωσφόρο, εμπλουτίζονται με  $KNO_3$  ή  $NH_4NO_3$  και  $K_2HPO_4$  ή  $KH_2PO_4$ , αντίστοιχα [11]. Για παράδειγμα, οι φλούδες πορτοκαλιού πλένονται διεξοδικά, κονιορτοποιούνται, ξηραίνονται σε μορφή σκόνης, κοσκινίζονται και έπειτα εμπλουτίζονται σε γλυκόζη, σουκρόζη,  $NH_4NO_3$ ,  $MgSO_4$  και  $(NH_4)_3PO_4$  [10]. Ακόμα, η προσθήκη μεθανόλης αυξάνει τα ποσοστά απαιτούμενης υγρασίας [10].

Η τεχνική ανάκτησης του κιτρικού οξέος πραγματοποιείται ανάλογα με την πρώτη ύλη που έχει χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή του. Γενικότερα όμως γίνεται με τις εξής τεχνικές [10,11]: κατακρύμνιση με  $CaO$  (precipitation), εκχύλιση με διαλύτες, τεχνικές ιονοανταλλαγής και απορρόφησης (adsorption), διαχωρισμό με μεμβράνες, φιλτράρισμα και ηλεκτροδιάλυση. Στον Πίνακα 4 αναφέρονται οι κυριότερες εφαρμογές του κιτρικού οξέος στη σύγχρονη βιομηχανία.

**Πίνακας 4.4: Εφαρμογές κιτρικού οξέος [10,11]**

<b>Βιομηχανία</b>	<b>Εφαρμογή</b>
Τροφίμων	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Μέσω οξίνισης (π.χ τυριά) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Συντηρητικό</li> <li>• Ενίσχυση γεύσης</li> </ul> </li> <li>• Σταθεροποιητής σε αναψυκτικά και χυμούς</li> <li>• Γαλακτωματοποιητής</li> <li>• Χαμηλώνει το pH και αδρανοποιεί ένζυμα</li> </ul> <p>Προστατεύει το ασκορβικό οξύ με την αδρανοποίηση ιχνών μετάλλων σε τρόφιμα</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Χρωστική σε καραμέλες</li> </ul>
Φαρμάκων	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Αντι-κροκιδωτικό</li> <li>• Αντιοξειδωτικό σε σκευάσματα βιταμινών</li> </ul>
Καλλυντικών	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Μέσο ρύθμισης pH</li> </ul>

#### 4.2.2 Γαλακτικό οξύ

Πρόκειται για το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο οργανικό οξύ στη βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών και φαρμάκων. Παράγεται από ζύμωση μικροοργανισμών αλλά και χημική σύνθεση και είναι αναγνωρισμένο ως ασφαλές (GRAS). Ωστόσο, η παραγωγή του στηρίζεται κυρίως στη ζύμωση μικροοργανισμών (90%) με τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος και νηματοειδείς μύκητες να προτιμούνται για τη διαδικασία [8,12]. Ανάλογα με τον χρησιμοποιούμενο μικροοργανισμό και την πρώτη ύλη, η διαδικασία της ζύμωσης μπορεί να πραγματοποιηθεί σε ένα ή δυο στάδια [12]. Για την πραγματοποίηση σε ένα στάδιο απαιτείται η προσθήκη ενζύμων και άλλων μέσων, ενώ σε δύο στάδια απαιτείται η προεπεξεργασία του υποστρώματος προς απελευθέρωση των σακχάρων με ενζυμικές ή θερμοχημικές μεθόδους και έπειτα η χρήση του υποστρώματος εντός αντιδραστήρα για τη ζύμωση [12]. Ο συνδυασμός της ενζυμικής υδρόλυσης και της ζύμωσης από μικροοργανισμούς, δηλαδή η ταυτόχρονη σακχαροποίηση (saccharification) και ζύμωση (fermentation) έχει ως αποτέλεσμα τη μετατροπή της βιομάζας σε γαλακτικό οξύ σε ένα βήμα [12]. Όταν η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιείται σε ξεχωριστό στάδιο υπάρχει συσσώρευση των σακχάρων κατά τη ζύμωση. Με άλλα λόγια, συμβαίνει αναστολή υποστρώματος. Οι υψηλότερες δηλαδή από συγκεκριμένες τιμές συγκεντρώσεις υποστρώματος οδηγούν σε μείωση της απόδοσης. Ο συνδυασμός των δύο τεχνικών οδηγεί σε αύξηση τελικής παραγωγής προϊόντος. Οι κυριότερες προεπεξεργασίες για τη ζύμωση σε δύο στάδια περιλαμβάνουν την ενζυμική υδρόλυση, φυσικές (άλεση, τεμαχισμός), χημικές (όξινη ή βασική υδρόλυση) και φυσικοχημικές μεθόδους (steam explosion) και όλες αποσκοπούν στην παραλαβή ομοιογενούς υποστρώματος με μικρού μοριακού βάρους συστατικά τα οποία είναι εύκολα αποδομήσιμα από τους μικροοργανισμούς [12].

Τα γαλακτικά βακτήρια παράγουν γαλακτικό οξύ μέσω αναερόβιας ζύμωσης. Διαχωρίζονται σε ομοζυμωτικά και ετεροζυμωτικά. Τα πρώτα μεταβολίζουν εξόζες μέσω γλυκόλυσης (μεταβολική πορεία Embden-Meyerhof-Parnas) και περιλαμβάνουν τα γένη *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Microbacterium*, *Lactobacillus*, ορισμένα *Bacillus* και κάποιους μύκητες *Phycomycetes* με τελική παραγωγή μόνο γαλακτικού οξέος σε ποσοστό μέχρι και 90% [1,8]. Τα δεύτερα μεταβολίζουν εξόζες και πεντόζες μέσω της μεταβολικής πορείας των φωσφοπεντοζών (ετερογαλακτική ζύμωση) και τελικά παράγουν γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ, αιθυλική αλκοόλη και CO<sub>2</sub> [12,1]. Οι ιδανικές



συνθήκες ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων είναι pH 3.5-10 και θερμοκρασίες από 5-45 °C [13]. Οι νηματοειδής μύκητες του γένους *Rhizopus* παράγουν γαλακτικό οξύ αερόβια, είναι ικανοί να μεταβολίσουν πιο πολύπλοκα υποστρώματα και διαχωρίζονται ευκολότερα από τη βιομάζα. [12]. Γενικά σε βιομηχανική κλίμακα προτιμάται η χρήση των γαλακτικών βακτηρίων διότι είναι ευκολότερος ο χειρισμός τους εντός των αντιδραστήρων [12].

Εναλλακτικά υποστρώματα για την παραγωγή γαλακτικού οξέος μπορούν να είναι: (α) η γλυκερόλη, ως παραπροϊόν της παραγωγής βιοντίζελ. Οι κυριότεροι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται είναι οι *Klebsiella*, *Clostridium*, *Lactobacillus* καθώς και το βακτήριο *E. Coli* [13,14], (β) απόβλητα τροφίμων με κυριότερους μικροοργανισμούς τα *L. plantarum* και *L. brevis* [12]. Η ζύμωση πραγματοποιείται σε ημισυνεχή συστήματα και απαιτείται η προσθήκη ουσιών που εξουδετερώνουν το υπόστρωμα (neutralizing agents) με αποτέλεσμα την ταχύτερη υδρόλυση του και παραγωγή γαλακτικού οξέος σε ποσοστό 80% [12], (γ) φλούδες πατάτας και υγρά απόβλητα από τη βιομηχανία επεξεργασία πατάτας [12]. Οι φλούδες πατάτας είναι υπόστρωμα που περιέχει όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την άμεση παραγωγή γαλακτικού οξέος [12]. Οι Ping et al. (2015) χρησιμοποιώντας τους μύκητες *R. oryzae* και *R. Arrhizus* με υπόστρωμα υγρά απόβλητα πατάτας (πλούσια σε άμυλο) σε θερμοκρασία 30 °C, pH 6, χρόνο ζύμωσης 36 ώρες και αρχική συγκέντρωση αμύλου 20g/L και παρήγαγαν 0.87g/g γαλακτικού οξέος με τον *R. oryzae* 2062 και 0.97 g/g αμύλου με τον *R. arrhizus* 36017 [12]. Οι Mudaliyar et al., (2012) δοκίμασαν πέντε διαφορετικά υποστρώματα (φλούδες από μάνγκο, πατάτα, γλυκό καλαμπόκι, πορτοκάλι και αρακά) για παραγωγή γαλακτικού οξέος, χρησιμοποιώντας τους μικροοργανισμούς *Lactobacillus casei* και *L. delbruckii*. Η μεγαλύτερη απόδοση (63.33g/L) προέκυψε από τις φλούδες μάνγκο με τον *L. casei* και έπειτα παρατηρήθηκαν τα εξής αποτελέσματα: γλυκό καλαμπόκι 37.62 g/L με *L. casei* και 13.38 g/L με *L. delbruckii*, πατάτα 38.88 g/L με *L. casei* και 13.63 g/L με *L. delbruckii*, πορτοκάλι 54.54 g/L με *L. delbruckii* και 25.75 g/L με *L. casei* [1]. Να σημειωθεί πως τα κυριότερα υποστρώματα για την παραγωγή γαλακτικού οξέος είναι απόβλητα πλούσια σε λιγνίνη και κυτταρίνη, άμυλο και απόβλητα γαλακτοβιομηχανίας [12].

Στη βιομηχανία το γαλακτικό οξύ έχει πολλές εφαρμογές με κυριότερες τον τομέα της ιατρικής που χρησιμοποιείται με τη μορφή πολυγαλακτικού οξέος (PLA) ως βιοπλαστικό

για εμφυτεύματα και των τροφίμων που χρησιμοποιείται ως συντηρητικό και ενισχυτικό γεύσης [13].

#### **4.3 ΠΟΛΥ(ΥΔΡΟΞΥ ΑΛΚΑΝΟΪΚΟΙ) ΕΣΤΕΡΕΣ ΡΗΑ**

Πρόκειται για πολυεστέρες που είναι βιοαποικοδομήσιμοι και προέρχονται από μικροοργανισμούς. Παράγονται ενδοκυτταρικά από πολλούς μικροοργανισμούς σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών συστατικών αλλά περίσσειας άνθρακα για μετέπειτα αξιοποίηση τους ως πηγή άνθρακα και ενέργειας. Το πολυμερές μπορεί να αποτελέσει μέχρι και το 90% της μάζα του κυττάρου στο τέλος της ζύμωσης υπό ιδανικές συνθήκες. Ένα από τα πλεονεκτήματα του υλικού έναντι άλλων βιοπλαστικών είναι ότι μπορεί να μορφοποιηθεί με κλασσικές διεργασίες μορφοποίησης [15]. Έχει καλύτερα χαρακτηριστικά όπως αδιαπερατότητα στους υδρατμούς, O<sub>2</sub> και λίπη από συμβατικά πλαστικά όπως το πολυπροπένιο, ενώ υπάρχει ευελιξία στις τελικές ιδιότητες αφού ΡΗΑ μπορούν να σχηματιστούν από πάνω από 150 διαφορετικές μονομερείς υποομάδες [17]. Οι ΡΗΑ εισήχθησαν στην αγορά τη δεκαετία του 1980 με το εμπορικό όνομα Biopol® προερχόμενοι από ζύμωση γλυκόζης και βρίσκουν χρήσεις σε πολλές βιομηχανίες συμπεριλαμβανομένης και της συσκευασίας τροφίμων [15].

Το κόστος παραγωγής των ΡΗΑ είναι μέχρι και 5 φορές εκείνο των συμβατικών πλαστικών και η πηγή άνθρακα αποτελεί περίπου το 50% του ολικού κόστους παραγωγής [17]. Η χρήση αποβλήτων ελαιουργιών, μελάσας και άλλων φυτικών παραπροϊόντων παρουσιάζει ερευνητικό ενδιαφέρον στην προσπάθεια μείωσης του κόστους της διαδικασίας. Τα φυτικά απόβλητα θα πρέπει να υποστούν προεπεξεργασία μετατροπής της λιγνοκυτταρίνης σε αποικοδομήσιμες ενώσεις (απλά σάκχαρα). Η διαδικασία μπορεί να γίνει μηχανικά, ενζυμικά, χημικά ή με συνδυασμό όπως και κατά την παραγωγή βιοαιθανόλης. Η παραγωγή ΡΗΑ μικροβιακά αποτελείται από δυο στάδια. Αρχικά τα κύτταρα καλλιεργούνται σε βέλτιστες συνθήκες μέχρι προκαθορισμένης μικροβιακής συγκέντρωσης. Έπειτα το θρεπτικό υπόστρωμα αλλάζει περιέχοντας μόνο πηγή άνθρακα. Τα κύτταρα δεν μπορούν να πολλαπλασιαστούν απουσία N, P όμως μεγαλώνουν σε μέγεθος και βάρος καθώς αποθηκεύουν ΡΗΑ [16]. Οι πολυεστέρες ανακτώνται από τα κύτταρα με διαδοχικές φυγοκεντρίσεις σε χαμηλή ταχύτητα σε συνδυασμό με εκχυλίσεις με χλωροφόρμιο και μεθανόλη.

Η μελέτη γύρω από τη χρήση λιγνοκυτταρικών παραπροϊόντων είναι εκτεταμένη με μεγάλη διακύμανση αποδόσεων. Ενδεικτικά: άχυρο σταριού αποικοδομήθηκε από

*Burkholderia sacchari* με απόδοση 0.7g PHA/g ξηρής κυτταρικής μάζας (ξ.κ.μ.), άχυρο ρυζιού από *Bacillus firmus* με απόδοση 0.9, παραπροϊόντα παραγωγής φοινικέλαιου από *Bacillus megaterium* με απόδοση 0.5 g PHA/g [18,19,20]. Στερεά απόβλητα ελαιουργείου με ελάχιστη προεπεξεργασία (ανάμιξη με νερό και κοσκίνισμα) και τη φυσική τους μικροχλωρίδα απέδωσαν 0.39g PHA/ g ξ.κ.μ. σε μη ασηπτικές συνθήκες [21]. Οι Campanari et al. (2017) ανέπτυξαν μια ελκυστική διαδικασία διαχείρισης υδατικών αποβλήτων ελαιουργείων όπου τα απόβλητα χρησιμοποιούνται για την παραγωγή πτητικών λιπαρών οξέων μέσω οξεογένεσης και οι εκροές της διεργασίας διαχωρίζονται με φυγοκέντριση με την στερεή φάση να χρησιμοποιείται για την παραγωγή μεθανίου και την υγρή φάση για την παραγωγή PHA. Η ποσότητα PHA που ανακτήθηκε ήταν μικρή όμως δεν χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές αυξημένου κόστους όπως αποστείρωση ή χρήση ενζύμων και, παράλληλα, το COD της υγρής φάσης μειώθηκε κατά 70% [22]. Παρομοίως, από υδατικά απόβλητα κονσερβοποιού τομάτας με χρήση μεικτής καλλιέργειας από ενεργή ίλύς αφαιρέθηκε το 84% του άνθρακα, το 76% του φωσφόρου και όλη η περιεχομένη αμμωνία και ανακτήθηκε μικροβιακή μάζα με 20 % συγκέντρωση σε PHA [30]. Υποσχόμενος είναι και ο συνδυασμός στέμφυλων λευκών σταφυλιών οиноποίησης Solaris με χρησιμοποιημένα λαδιά τηγανίσματος. Τα στέμφυλα έχουν φυσικά υψηλά ποσοστά σακχάρων τα οποία αυξήθηκαν με ήπια ενζυμική υδρόλυση και χρησιμοποιήθηκαν για τη φάση ανάπτυξης του *Pseudomonas resinovorans* ενώ το λάδι τηγανίσματος χρησιμοποιήθηκε για τη φάση στρες. Η ποσότητα PHA που ανακτήθηκε ήταν ικανοποιητική 21.3 g/L στέμφυλων, ενώ υπάρχουν περιθώρια βελτίωσης και αποφυγής χρήσης ενζύμων με τη βελτιστοποίηση των παραγόντων της διεργασίας [31]. Απόβλητα λευκών σταφυλιών για την παραγωγή PHA σε μεγάλη κλίμακα έχουν χρησιμοποιηθεί από τους Follonier et al. (2015) με απόδοση 5.8g PHA/ L καλλιέργειας. Για τη φάση ανάπτυξης του *P. putida* χρησιμοποιήθηκε διάλυμα σακχάρων από εκχύλιση των στέμφυλων με νερό ενώ για τη φάση στρες μίγμα λιπαρών οξέων C8/C11:1=1/1. Τα ακριβά λιπαρά οξέα θα μπορούσαν να αντικατασταθούν με λαδί τηγανίσματος για περαιτέρω μείωση του κόστους [32]. Ακόμα *Zubellellae tiwanensis* παρήγαγε 47,3% της μάζας του ως PHA κατά τη φάση ανάπτυξης χωρίς συνθήκες στρες ζυμώνοντας φλούδες μπανάνας [23]. Για τη χρήση τους ως εναλλακτικά υποστρώματα έχουν μελετηθεί και παρουσιάζουν ενδιαφέρον φλούδες ανανά, κρεμμυδιού και χυμός από μήλα κάσιους.

Οι PHA αποσυντίθεται από το ένζυμο PHA-αποπολυμεράση που υπάρχει σε πολλά βακτήρια και μύκητες του εδάφους. Σε αερόβιες συνθήκες αποσυντίθεται προς διοξείδιο

του άνθρακα και μεθάνιο σε μερικές εβδομάδες. Επίσης, μπορεί να αποικοδομηθεί και αναερόβια σε αντίθεση με βιοπλαστικά όπως το πολυγαλακτικό οξύ (PLA) [15]. Για την περαιτέρω βελτίωση της διαδικασίας βιομηχανικά χρησιμοποιούνται στελέχη μικροοργανισμών με ανασυνδυασμένο DNA. Τέτοιου είδους μικροοργανισμοί μπορούν να παράγουν PHA χωρίς συνθήκες στρες, γρηγορότερα ή σε μεγαλύτερες ποσότητες. Η ανάπτυξη γενετικά τροποποιημένων μικροοργανισμών που θα παράγουν οικονομικά PHA από λιγνοκυτταρική μάζα θα μπορούσε να αντικαταστεί τη χρήση υποστρωμάτων από καλλιέργειες καλαμποκιού και ζαχαροκάλαμου [17]. Στις παρούσες συνθήκες, η χρήση φυτικών αποβλήτων περιπλέκει αρκετά τη διαδικασία χωρίς μεγάλη μείωση στο κόστος παρά μόνο σε ορισμένες συνθήκες σε περιοχές με υψηλές τιμές συμβατικών πρώτων υλών ή περιορισμένο καλλιεργήσιμο έδαφος.

#### 4.4 ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΚΥΤΤΑΡΙΝΗ

Πολλά βακτήρια των γενών *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Gluconacetobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina* παράγουν στον εξωκυτταρικό χώρο κυτταρίνη σε πολύ καθαρή μορφή χωρίς προσμίξεις με λιγνίνη, ημικυτταρίνες και πηκτίνη. Η βακτηριακή κυτταρίνη έχει μεγαλύτερη ικανότητα συγκράτησης ύδατος, κρυσταλλικότητα και αντοχή στον εφελκυσμό από τη φυσική κυτταρίνη. Χάρη σε αυτές τις ιδιότητες έχει πολλαπλές χρήσεις σε ιατρικές εφαρμογές με διάφορα εμπορικά προϊόντα. Με την επίτευξη της μείωσης του κόστους παραγωγής μπορεί να αξιοποιηθεί και σε άλλους τομείς όπως η τεχνολογία τροφίμων ως συσκευασία, σταθεροποιητής και πηκτικός παράγοντας [24]. Στις Φιλιππίνες, βακτηριακή κυτταρίνη από ζύμωση παραπροϊόντων ανανά χρησιμοποιείται για την παραγωγή του παραδοσιακού γλυκού Nata de pina [25].

Τα κλασικά υποστρώματα αποτελούνται από γλυκόζη, πεπτόνη, εκχυλίσματα ζύμης,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  και κιτρικό οξύ. Η χρήση φυτικών παραπροϊόντων με σύσταση παρόμοια των συμβατικών υποστρωμάτων για την πλήρη ή μερική αντικατάσταση των συμβατικών υποστρωμάτων μελετάται εκτεταμένα. Τα υποστρώματα όμως θα πρέπει να έχουν υψηλά επίπεδα γλυκόζης διότι η βιοσύνθεση της βακτηριακής κυτταρίνης αρχίζει με φωσφορυλίωση της γλυκόζης. Για παράδειγμα, φλούδες πορτοκαλιού μετά από επεξεργασία με ένζυμα για την αύξηση των ζυμωμένων σακχάρων είχαν απόδοση έως και 6 φορές μεγαλύτερη από αυτή των κλασικών υποστρωμάτων ανάπτυξης [26]. Άχυρο σιταριού μετά από ενζυμική υδρόλυση παρουσίασε σχεδόν διπλάσια απόδοση

βακτηριακής κυτταρίνης σε σύγκριση με κλασσικό υπόστρωμα με την ίδια συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων (12g/L). Αυτό μπορεί να οφείλεται στην ποικιλία πηγών άνθρακα στο άχυρο σε σύγκριση με τη χρήση της γλυκόζης ως μοναδική πηγή άνθρακα. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος οξικού βελτίωσε την απόδοση της διαδικασίας [27]. Απόβλητα ανανά σε συνδυασμό με χυμό ζαχαροκάλαμου ζυμώθηκαν από *Gluconacetobacter medellinensis* με σχεδόν 70% καλύτερη απόδοση και φυσικές ιδιότητες παρόμοιες με τη κυτταρίνη του συμβατικού υποστρώματος [28]. Μερικές ακόμα εφαρμογές αναφέρονται στο Πίνακα 4.5:

<b>Πίνακας 4.5: Παραγωγή βακτηριακής κυτταρίνης από φυτικά παραπροϊόντα</b>				
<b>Υπόστρωμα</b>	<b>Μικροοργανισμός</b>	<b>Προεπεξεργασία</b>	<b>Απόδοση</b>	<b>Πηγή</b>
Φλούδες και πούλπα πορτοκαλιού, πεπτόνη, εκχύλισμα ζύμης, αιθανόλη	<i>Komagataeibacter xylinus</i>	Ενζυμική υδρόλυση	5.7±0.7 g/L υποστρώματος	[29]
Φλούδες ακτινιδίου,	<i>Komagataeibacter hansenii</i>	Υδρόλυση με οξύ, αποστείρωση	11.5g/100g ξηρής φλούδας	[25]
Φλούδες κυδωνιού	<i>Komagataeibacter hansenii</i>	Υδρόλυση με οξύ, αποστείρωση	9.5g/100g ξηρής φλούδας	[25]
Απόβλητα ανανά και ζαχαροκάλαμου	<i>Gluconacetobacter medellinensis</i>	Αποστείρωση	4.0g/L υποστρώματος	[28]
Άχυρο σιταριού	<i>Gluconacetobacter xylinus</i>	Επίδραση με ιοντικό υγρό (Ionic liquid), Ενζυμική υδρόλυση	8.3g/L υποστρώματος	[27]
Φλούδες πατάτας, H <sub>2</sub> O	<i>Gluconacetobacter xylinus</i>	Υδρόλυση με οξύ, αποστείρωση, φυγοκέντριση	4.7 g/L υποστρώματος	[33]
Φλούδες πορτοκαλιού, πεπτόνη, εκχύλισμα	<i>Gluconacetobacter xylinus</i>	Ενζυμική υδρόλυση	6.13g/L υποστρώματος	[34]

ζύμης				
Υδατικό εκχύλισμα παραπροϊόντων ελαιοτριβείου	<i>Glucanacetobacter sacchari</i>	Υδρόλυση με οξύ, αποστείρωση	0.85 g/L υποστρώματος	[35]

Αν και τα φυτικά υποστρώματα έχουν προοπτικές θα πρέπει να δοθεί προσοχή στη συγκέντρωση των φαινολικών και άλλων αντιμικροβιακών συστατικών που βρίσκονται σε αφθονία σε παραπροϊόντα φρούτων και λαχανικών αφού περιορίζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων [25]. Η ζύμωση μπορεί να διαρκέσει έως και 21 μέρες αλλά ο ρυθμός παραγωγής κυτταρίνης μειώνεται αρκετά μετρά από περίπου 9 μέρες. Η ανάκτηση της κυτταρίνης από την καλλιέργεια επιτυγχάνεται με φυγοκέντριση, επίδραση με αραιό καυστικό νάτριο και αφυδάτωση.

#### 4.5 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ENZYMΩΝ ΑΠΟ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ

Είναι γνωστό πως η παραγωγή ενζύμων αποτελεί διαδικασία υψηλού κόστους, κυρίως λόγω της υψηλής τιμής των υποστρωμάτων που χρησιμοποιούνται [36]. Έτσι, εξετάζονται νέες τεχνικές για την παραλαβή ενζύμων, με τη χρήση μικροοργανισμών, από απορρίμματα βιομηχανιών και αγροτικής παραγωγής, τα οποία αποτελούν πολύ φτηνά υποστρώματα. Τα τελευταία χρόνια η ζύμωση σε στερεή φάση (solid state fermentation) αποτελεί την πιο διαδεδομένη τεχνική παραλαβής διάφορων ενζύμων με τη χρήση των προαναφερθέντων υποστρωμάτων. Η ζύμωση αυτή περιλαμβάνει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών που θα παράξουν τελικά το ένζυμο σε πορώδη, στερεά, φυσικά νωπά υποστρώματα, χωρίς την παρουσία ελεύθερου νερού [36]. Είναι απλή και οικονομική διαδικασία, με ικανοποιητικές αποδόσεις και τελικές συγκεντρώσεις ενζύμων και, τέλος, καταναλώνει λίγη ενέργεια και νερό. Επίσης, η χρήση παραπροϊόντων και υπολειμμάτων βιομηχανιών και αγροτικής παραγωγής καθιστά την τεχνική φιλική προς το περιβάλλον καθώς μειώνεται έτσι η περιβαλλοντική μόλυνση [38]. Θεωρείται ιδανική τεχνική για την ανάπτυξη μυκήτων καθώς οι συνθήκες που επικρατούν εντός των αντιδραστήρων είναι παρόμοιες με τις φυσικές συνθήκες ανάπτυξης των ενζύμων, δηλαδή τις συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον [37].

Φλούδες και στερεά υπολείμματα (pomace) φρούτων και λαχανικών, ακόμα και απόβλητα παραγωγής φυτικών ελαίων (oil cakes) είναι πλούσια σε υδατάνθρακες και αποτελούν πηγή άνθρακα, αζώτου και άλλων μικροθρεπτικών, απαραίτητων για την

ανάπτυξη των μικροοργανισμών, καθιστώντας τα ιδανικά υποστρώματα [39]. Πριν τη χρήση τους χρειάζονται μια προεπεξεργασία όπως τεμαχισμό ή άλεση με σκοπό να μειωθεί το μέγεθος των σωματιδίων (particle size) και τα θρεπτικά συστατικά να είναι ευκολότερα και πιο άμεσα διαθέσιμα για τους μικροοργανισμούς [38]. Στον Πίνακα 4.6 αναφέρονται τα κυριότερα ένζυμα που έχουν παραχθεί από αυτά τα υποστρώματα [39].

**Πίνακας 4.6: Γενικές εφαρμογές μικροοργανισμών σε υποστρώματα για παραγωγή ενζύμων [39]**

Υπόστρωμα	Ένζυμο	Μικροοργανισμός
Πίτα ελαιοπροϊόντων (oil cakes)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Λιπάση</li> <li>• Πεπτιδάση</li> <li>• Ξυλανάση</li> </ul>	<i>Pseudomonas, Scytalidium, Aspergillus, Bacillus subtilis</i>
Υπολείμματα φρούτων και λαχανικών	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Κυτταρινάση</li> <li>• Ξυλανάση</li> <li>• Πηκτινάση</li> <li>• Πεπτιδάση</li> </ul>	<i>Bacillus subtilis, Aspergillus</i>

Παρακάτω, παρουσιάζονται τα κυριότερα ένζυμα που παράγονται από τη ζύμωση στερεού υποστρώματος με τη βοήθεια μικροοργανισμών καθώς και κάποιες από τις εφαρμογές τους. Στον Πίνακα 4.7 παρουσιάζονται παραδείγματα μικροβιακής παραγωγής ενζύμων.

- Πεπτιδάσες

Η βασική δράση τους είναι η υδρόλυση των πεπτιδικών δεσμών των πρωτεϊνών [36]. Οι βιομηχανίες στις οποίες εφαρμόζονται είναι: καθαριστικών, φαρμάκων, τροφίμων, δέρματος, χάρτου και μεταξιού [36]. Κατηγοριοποιούνται σε όξινες, ουδέτερες και βασικές (ανάλογα με το ιδανικό pH στο οποίο δρουν), με τις βασικές να έχουν κύρια χρήση σε καθαριστικά προϊόντα (απορρυπαντικά ρούχων) [36]. Οι όξινες πεπτιδάσες χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων[39].

- Πηκτινάσες

Πρόκειται για πηκτινολυτικά ένζυμα, δηλαδή η δράση τους αφορά στη διάσπαση της πηκτίνης [38]. Χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία υφασμάτων, τσαγιού, καφέ,

εξαγωγής/εκχύλισης ελαίων και διαύγασης χυμών καθώς και για την επεξεργασία βιομηχανικών λυμάτων [38,39,41]. Ακόμα, μπορούν να εφαρμοστούν σε τροφές κατοικίδιων ως πρόσθετο τροφίμων [39].

- **Κυτταρινάσες**

Οι τρεις βασικοί τύπου κυτταρινασών που υδρολύουν υποστρώματα πλούσια σε κυτταρίνη είναι: ενδογλυκανάσες, εξωγλυκανάσες και β-γλυκοσιδάσες. Πρόκειται για υδρολυτικά ένζυμα και χρησιμοποιούνται συχνά για την παραγωγή βιοαιθανόλης από βιομάζα πλούσια σε λιγνοκυτταρινικά συστατικά, στη βιομηχανία υφασμάτων (δημιουργία ξεθωριασμένης όψης στα τζιν υφάσματα), χάρτου, για τη δημιουργία ζωοτροφής, παραλαβή και διαύγαση χυμού από φρούτα και λαχανικά και επεξεργασία αμύλου [40,42]. Ακόμα, χρησιμοποιούνται στη διαδικασία της παραγωγής βύνης (malting) από κριθάρι στην παραγωγή μπίρας και για να μετατρέψει τις ζωοτροφές σε πιο εύπεπτες [42].

- **Ξυλανάσες**

Δρουν συνεργιστικά με τις κυτταρινάσες και βρίσκουν εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων και χάρτου [41].

- **Λιπάσες**

Πρόκειται για ένζυμα ικανά να καταλύσουν διαδικασίες εστεροποίησης και μετεστεροποίησης των λιπιδίων [39]. Χρησιμοποιούνται για την παραγωγή απορρυπαντικών και αντιβιοτικών ενώ στη βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση γαλακτωματοποιητών [39]. Μπορούν ακόμα να εφαρμοστούν και για την παραγωγή βιοντίζελ και επεξεργασία βιομηχανικών λυμάτων [39].

- **Ταννάσες**

Καταλύουν την υδρόλυση των εστερικών δεσμών που εντοπίζονται στις υδατοδιαλυτές ταννίνες και στους εστέρες του γαλλικού οξέος [43]. Βρίσκουν εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων για την παραγωγή στιγμιαίου τσαγιού (διαύγαση), στη διαύγαση οίνου καθώς και για την αφαίρεση των ανεπιθύμητων ιδιοτήτων των ταννίνων [43]. Ακόμα χρησιμοποιούνται για την παραγωγή γαλλικού οξέος (συστατικό αντιβακτηριδιακών φαρμάκων και υπόστρωμα για παραγωγή συντηρητικών τροφίμων) και διάφορων πρόσθετων αντιοξειδωτικών τροφίμων (γαλλικό προπύλιο) [43].



**Πίνακας 4.7: Παραδείγματα μικροβιακής παραγωγής ενζύμων**

Υπόστρωμα	Μικροοργανισμός	Ένζυμο	Συνθήκες πειράματος	Πηγή
Φλούδες πατάτας	<i>Bacillus subtilis</i>	Αλκαλική πεπτιδάση	24 ώρες επώαση στους 50°C, 100% περιεχόμενη υγρασία υποστρώματος (ενυδατικός παράγοντας απεσταγμένο νερό), φλασκή Erlenmeyer	[36]
Πίτουρο σιταριού	<i>Aspergillus oryzae</i> LBA 01	Πεπτιδάση	48 ώρες επώαση στους 23°C, 50% αρχική υγρασία, φλασκή Erlenmeyer	[37]
Φλούδες λάιμ	<i>Aspergillus niger</i> Aa-20	Πηκτινάση	96 ώρες επώαση στους 30°C, 70% περιεχόμενη υγρασία υποστρώματος, κατακόρυφος βιοαντιδραστήρας με δίσκους	[38]
Αποξηραμένες φλούδες πορτοκαλιού	<i>A. niger</i> BTL	Ξυλανάση	επώαση στους 30°C, 90% αρχική υγρασία, φλασκή Erlenmeyer	[41]
Πίτουρο σιταριού με 5% (w/w) ταννικό οξύ (tannic acid)	<i>Aspergillus aculeatus</i> DBF9	Ταννάση	72 ώρες επώαση στους 30°C, 80% αρχική υγρασία, φλασκή Erlenmeyer	[55]
Κατσίγαρος με χαμηλά αρχικά σάκχαρα	<i>Candida cylindracea</i> (NRRL Y-17506)	Λιπάση	120 ώρες επώαση στους 28°C, φλασκή Erlenmeyer,	[54]

			εμπλουτισμός με ελαιόλαδο και NH <sub>4</sub> Cl
			7 ημέρες επώαση στους 25 °C, 75% αρχική υγρασία, φλασκί Erlenmeyer, με ιδανικές αναλογίες:
Κατσίγαρος αναμεμιγμένος με απόβλητα οινοποιίας	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus ibericus</i>	• Ξυλανάση , Κυτταρινάση	<i>A. niger</i> , 23% (w/w) ΑΣΥΕ, 30% ΕΣ, 33% ΚΑ, 14% ΕΣΥΕ <i>A. ibericus</i> , 30% ΕΣ, 36% ΚΑ, 34% ΕΣΥΕ

[53]

– ΑΣΥΕ: ακατέργαστο στερεό υπόλειμμα ελαιουργίας, ΕΣ: εκχυλισμένα στέμφυλα, ΚΑ: κλαδέματα αμπελιών, ΕΣΥΕ: εκχυλισμένο στερεό υπόλειμμα ελαιουργίας

#### 4.6 ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Η μικροβιακή παραγωγή αρωματικών ουσιών από μικροοργανισμούς δεν αποτελεί μια νέα τεχνολογία. Οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούνται εδώ και εκατοντάδες χρονιά για την παραγωγή διάφορων ζυμωμένων προϊόντων. Η ζύμωση αυτή έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή ενός ή περισσότερων αρωματικών ουσιών που προσδίδουν στο τελικό προϊόν τη χαρακτηριστική γεύση και οσμή του [1]. Η αξιοποίηση αποβλήτων για την παραγωγή αρωματικών ενώσεων από την άλλη μεριά είναι μια νέα εφαρμογή. Οι ουσίες αυτές μπορεί να είναι προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού των μικροοργανισμών ή προϊόντα βιομετατροπής πρόδρομων ενώσεων και η παραγωγή τους είναι ένα σύνθετο φαινόμενο που επηρεάζεται από πολλούς φυσικοχημικούς και βιολογικούς παράγοντες. Η χρήση τους παρουσιάζει πλεονεκτήματα όπως την ανεξαρτητοποίηση από τη φυτική παραγωγή για τη δημιουργία προϊόντων ποιοτικά και ποσοτικά σταθερότερων και τη μεγαλύτερη ευκολία παραγωγής σε σύγκριση με φυτικές καλλιέργειες και μεθόδους οργανικής χημείας. Οι παραγόμενες ενώσεις έχουν τον χαρακτηρισμό «φυσικό άρωμα» [44].

Για τη βιομηχανοποίηση της διαδικασίας προτιμότερη είναι η μέθοδος βιομετατροπής, όμως αυτή η διαδικασία είναι δύσκολο να πραγματοποιηθεί με απόβλητα της βιομηχανίας

τροφίμων. Η παραγωγή μίγματος αρωματικών ουσιών ως δευτερογενείς μεταβολικές αν και καταλληλότερη για τη χρήση παραπροϊόντων παρουσιάζει δυσκολίες όπως προβλήματα απόδοσης, ελέγχου των συνθήκων και επάρκειας θρεπτικών συστατικών. Συνήθως για την έναρξη της ζύμωσης προστίθεται γλυκόζη, όμως η ανάμιξη διάφορων ειδών παραπροϊόντων τροφίμων είναι μια ενδιαφέρουσα εναλλακτική. Οι καταλληλότεροι μικροοργανισμοί είναι βακτήρια του γαλακτικού οξέος και ζύμες ή μύκητες που χρησιμοποιούνται ήδη από τη βιομηχανία τροφίμων σε άλλες διαδικασίες καθώς έχουν χαρακτηριστεί ως ασφαλής και είναι γνωστή η μεταβολική τους συμπεριφορά. Η γενετική τροποποίηση μπορεί να είναι η λύση σε εμπόδια όπως η χαμηλή απόδοση, ωστόσο η χρήση γενετικά τροποποιημένων οργανισμών παρουσιάζει προβλήματα στην αποδοχή των καταναλωτών και στον χαρακτηρισμό ως φυσικά συστατικά [46]. Βέλτιστη διαδικασία χαρακτηρίζεται η ζύμωση στερεής φάσης (solid state fermentation), αφού είναι απλή διαδικασία, έχει μικρές έως καθόλου απαιτήσεις σε νερό αρά και μικρό όγκο παραγόμενων αποβλήτων και σχετικά χαμηλό κόστος [45]. Το μεγαλύτερο εμπόδιο φαίνεται να είναι η ανάκτηση των αρωματικών ενώσεων αφού παρουσιάζουν μικρή διαλυτότητα και είναι ιδιαίτερα πτητικές.

Οι Ματζουρίδου et al. (2015) χρησιμοποίησαν φλούδες πορτοκαλιού για την παραγωγή μίγματος αρωματικών εστέρων ως δευτερογενείς μεταβολικές του μύκητα *S. Cerevisiae* (εμπορική ονομασία Vitilevure MT). Βρέθηκε ότι η υψηλή συγκέντρωση d-λιμονένιου εμποδίζει την ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Η θερμική προεπεξεργασία που χρησιμοποιήθηκε όμως μειώνει αρκετά τη συγκέντρωση του. Η ανάκτηση αρωματικών ενώσεων σε μεγάλη κλίμακα θεωρείται βιώσιμη διαδικασία εφόσον μπορεί να γίνει παράλληλα με την ανάκτηση πηκτίνης και άλλων βιοδραστικών ουσιών εκτός της βιταμίνης C [47]. Πούλπα μήλου αξιοποιήθηκε με 4 διάφορους μικροοργανισμούς που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή μηλίτη με ικανοποιητικά αποτελέσματα. Παρατηρήθηκε ότι η επιλογή του μικροοργανισμού επηρεάζει σημαντικά τις παραγόμενες ενώσεις. Συνολικά βρέθηκαν 132 διαφορετικές αρωματικές ουσίες στα τελικά προϊόντα με την ζυμωμένη πούλπα να έχει ευχάριστο άρωμα ώριμων φρούτων και σταφίδας [48]. Η ζύμωση παραπροϊόντων ελαιοτριβείου από τον *R. oryzae* οδήγησε στην παραγωγή 17 αρωματικών ενώσεων με κυρίαρχες την 2-πεντανόνη (γλυκιά οσμή μπανάνας) μετά από 72 ώρες καλλιέργειας, το d-λιμονένιο (άρωμα κίτρου) και 2-φαινυλαιθανολη (άρωμα ρόδου) μετά από 180 ώρες. Το ζυμωμένο υπόστρωμα είχε οσμή άγουρης ελιάς [50]. Τέλος οι Rossi et al. (2009) διαπίστωσαν πως η συμπλήρωση

πούλπας εσπεριδοειδών με πίτουρο σόγιας και μελάσα ζαχαροκάλαμου αυξάνει σημαντικά τον όγκο των αρωματικών ενώσεων στο τελικό μίγμα [49].

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΚΑΙ ΟΙ ΚΥΡΙΟΤΕΡΕΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΟΥΣ**

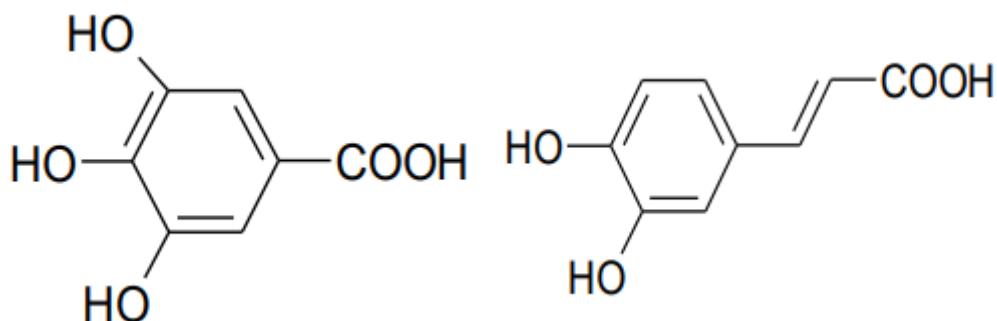
Στη σημερινή κοινωνία, έχει παρατηρηθεί στροφή του ενδιαφέροντος των καταναλωτών προς πιο υγιεινές εναλλακτικές στις διατροφικές συνήθειες αλλά και σε άλλες εφαρμογές της καθημερινότητας όπως για παράδειγμα στον χώρο των καλλυντικών και της ατομικής φροντίδας. Έτσι, η βιομηχανία αξιοποιώντας πόρους που ήδη διαθέτει προσπαθεί να ικανοποιήσει αυτές τις απαιτήσεις των καταναλωτών με τον εμπλουτισμό προϊόντων με τα λεγόμενα βιοδραστικά συστατικά τα οποία προέρχονται από φυτικούς ιστούς και κυρίως από ουσίες που παραλαμβάνονται από την παραγωγή άλλων προϊόντων των οποίων τα απόβλητα και παραπροϊόντα θα απορρίπτονταν ανεκμετάλλευτα. Για παράδειγμα, οι βιομηχανίες ελαιουργίας, χυμοποίησης και κονσερβοποιίας παράγουν πολύτιμα παραπροϊόντα, πλούσια σε βιοδραστικές ουσίες οι οποίες με κατάλληλες μεθόδους παραλαβής και μετέπειτα επεξεργασίας μπορούν να εφαρμοστούν στις βιομηχανίες τροφίμων και καλλυντικών, βελτιώνοντας τη δράση ήδη υπάρχοντων προϊόντων. Τα λεγόμενα βιοδραστικά συστατικά περιλαμβάνουν πολυφαινόλες, τερπένια, λιπαρά οξέα, διαιτητικές ίνες και άλλα.

### **5.1 ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ**

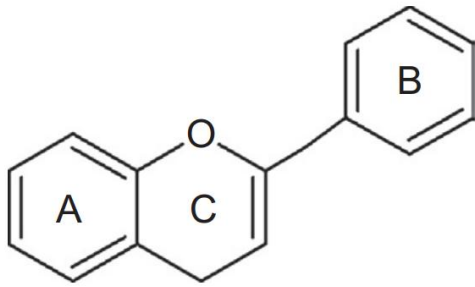
#### **5.1.1 Φαινολικά συστατικά**

Πρόκειται για δευτερογενείς μεταβολίτες και κοινό χαρακτηριστικό της δομής τους είναι η ύπαρξη ενός αρωματικού δακτυλίου με έναν ή περισσότερους υποκαταστάτες  $-OH$  [33]. Με τον όρο δευτερογενής μεταβολίτης εννοούνται ενώσεις οι οποίες δε συμμετέχουν στο φωτοσυνθετικό ή αναπνευστικό μεταβολισμό αλλά είναι απαραίτητες για την επιβίωση των φυτών [33]. Βρίσκονται φυσικά στα φυτά παρέχοντας τους προστασία από την ηλιακή ακτινοβολία, άμυνα ενάντια σε παθογόνα και παράσιτα, αντιοξειδωτική δράση καθώς επίσης είναι υπεύθυνες για το χρώμα των φυτών. Η κατανάλωσή τους μέσω φρούτων, λαχανικών, δημητριακών ολικής άλεσης, κρασιού, τσαγιού και σοκολάτας εξοπλίζει τον ανθρώπινο οργανισμό με αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις, καρδιοπροστατευτικές, νευροπροστατευτικές και αντιθρομβωτικές δράσεις [7]. Μπορούν να διαχωριστούν σε τρεις μικρότερες κατηγορίες

που περιλαμβάνουν [6,33]: τα φλαβονοειδή, τα φαινολικά οξέα και τις ταννίνες οι οποίες μπορούν να χωριστούν ξανά και περιλαμβάνουν άλλες ενώσεις όπως φλαβόνες, φλαβανόλες, ισοφλαβόνες, ανθοκυανίνες, κατεχίνες κλπ. Τα φαινολικά οξέα διαθέτουν τουλάχιστον έναν αρωματικό δακτύλιο όπου ένα υδρογόνο είναι υποκατεστημένο από μια υδροξυλομάδα [33]. Διακρίνονται σε υδροξυ-βενζοϊκά και υδροξυ-κινναμικά οξέα [56]. Τα φλαβονοειδή είναι βενζοπυρανικά παράγωγα που περιέχουν φαινολικό και πυρανικό δακτύλιο [56]. Διαφέρουν ως προς την υποκατάσταση των δακτυλίων με υδροξυ- μεθοξυ- και γλυκοζιτικές ομάδες και ως προς τη συζυγία μεταξύ των δακτυλίων A και B [56]. Κατατάσσονται σε 14 τάξεις με βάση την οξειδωτική κατάσταση του ετεροκυκλικού τους δακτυλίου C. Οι κυριότερες τάξεις είναι: οι ανθοκυανιδίνες (κυανό, κόκκινο ή ιώδες χρώμα), οι φλαβανόλες (άχρωμες), οι φλαβάνες (άχρωμες), οι φλαβονόλες (απαλό κίτρινο χρώμα), οι φλαβόνες (απαλό κίτρινο χρώμα), οι κατεχίνες, οι φλαβανόνες (άχρωμες ή υποκίτρινες), και τα ισοφλαβονοειδή (άχρωμα) [56]. Δρουν ως δεσμευτές των ελεύθερων ριζών προστατεύοντας έτσι τα κύτταρα και τους ιστούς από την οξειδωση των λιπιδίων. Τέλος, οι ταννίνες διακρίνονται σε υδρολυόμενες και συμπυκνωμένες. Οι υδρολυόμενες διαθέτουν γλυκοζιτικό δεσμό με μόριο σακχάρου ή πολυσακχαρίτη, των οποίων πολλά υδροξύλια είναι εστεροποιημένα με φαινολικά οξέα και κυρίως με γαλλικό ή ελλαγικό οξύ (ellagic acid) ενώ οι συμπυκνωμένες ταννίνες (προανθοκυανιδίνες) είναι μια ομάδα από πολύ υδροξυφλαβαν-3-ολιγομερή ή πολυμερή όπου οι δομικές μονάδες των φλαβανολών ενώνονται με δεσμό άνθρακα-άνθρακα [56]. Είναι ικανές να καθυστερήσουν την απορρόφηση υδατανθράκων και λιπών μειώνοντας έτσι τα επίπεδα των LDL λιποπρωτεϊνών [56].



Εικόνα 5.1: Αριστερά το γαλλικό οξύ (υδροξυ-βενζοϊκό οξύ), Δεξιά το καφεϊκό οξύ (υδροξυ-κινναμικό οξύ) [56]



Εικόνα 5.2: Γενική δομή φλαβονοειδών [33]

### 5.1.2 Καροτενοειδή

Πρόκειται για λιποδιαλυτά συστατικά υψηλής προστιθέμενης αξίας με αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Διαθέτουν στο μόριο τους 40 άτομα άνθρακα και διαχωρίζονται σε δύο κατηγορίες: τα καροτένια (πολυακόρεστοι υδρογονάνθρακες) και τις ξανθοφύλλες (οξυγονούχα παράγωγα υδρογονανθράκων με υποκατεστημένες υδροξυ- ή οξο- ή εποξυ-ομάδες) [32]. Εντοπίζονται στα φρούτα και τα λαχανικά με έντονο κόκκινο ή πορτοκαλί χρώμα και σε φυλλώδη λαχανικά [31]. Γενικά, ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα και μειώνουν τον κίνδυνο για ασθένειες όπως ο καρκίνος, καρδιαγγειακά νοσήματα, αρτηριοσκλήρωση προστατεύοντας το ανθρώπινο DNA από μεταλλάξεις και την LDL χοληστερόλη από οξείδωση [17,18,21]. Η δράση των καροτενοειδών είναι συνεργιστική, δηλαδή όταν συνυπάρχουν και δρουν μαζί εμφανίζουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα [23]. Η ύπαρξη εκτεταμένου συστήματος συζυγών διπλών δεσμών στην ανθρακική αλυσίδα ευθύνεται για ένα από τα πιο διακριτά χαρακτηριστικά των καροτενοειδών, την απορρόφηση φωτός. Η χρωμοφόρος ομάδα με επτά ή περισσότερους διπλούς δεσμούς απορροφά φως στην ορατή περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος και στα μόρια αυτά παρατηρούνται χρώματα διαβαθμισμένων αποχρώσεων από κίτρινο σε κόκκινο [22]. Έτσι, το λυκοπένιο και το β-καροτένιο, δυο από τα κυριότερα καροτενοειδή που βρίσκονται στην τομάτα και τα παραπροϊόντα της, είναι εγκεκριμένα ως πρόσθετα τροφίμων ως φυσικές χρωστικές ουσίες [17]. Ορισμένα καροτενοειδή όπως το λυκοπένιο, το β-καροτένιο και η λουτεΐνη εμφανίζουν περισσότερο στοχευμένη δράση, η οποία αναλύεται σε επόμενη παράγραφο.

### 5.1.3 Διαιτητικές ίνες

Ως διαιτητικές ίνες ορίζεται μια ομάδα συστατικών τροφίμων φυτικής προέλευσης που δεν αποικοδομούνται από τον ανθρώπινο οργανισμό για την παραγωγή ενέργειας. Η

ομάδα αυτή περιλαμβάνει τις κυτταρίνες, ημικυτταρίνες, πηκτίνες, β-γλύκανες, φυτικά κόμματα και τη λιγνίνη. Έχει βρεθεί ότι η ημερήσια κατανάλωση επαρκούς ποσότητας αυτών των συστατικών συμβάλει στην πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων, τη φυσιολογική λειτουργία του εντέρου και τη ρύθμιση των επίπεδων σακχάρου στο αίμα [47]. Πέρα από τη διατροφική τους αξία οι ίνες είναι επιθυμητές στην παραγωγή τροφίμων λόγω των λειτουργικών ιδιοτήτων τους, συγκεκριμένα την ικανότητα συγκράτησης ύδατος και ελαίων και την ικανότητα απορρόφησης ύδατος (swelling capacity). Οι διαιτητικές ίνες από φρούτα, λαχανικά και τα παραπροϊόντα τους έχουν υψηλότερη διατροφική αξία από τις ίνες των δημητριακών και των οσπρίων διότι περιέχουν υψηλότερα ποσοστά διαλυτών φυτικών ινών και βιοδραστικών συστατικών [48]. Για την παραλαβή τους, ως πηγή, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια πληθώρα παραπροϊόντων φρούτων και λαχανικών όπως ροδάκινα, καρότα, πατάτες, και πιπεριές. Ωστόσο τα παραπροϊόντα χυμοποίησης μήλων και πορτοκαλιών είναι η πιο ελκυστική πρώτη ύλη καθώς έχουν τα υψηλότερα ποσοστά φυτικών ινών [47].

#### **5.1.4 Πηκτίνες**

Οι πηκτίνες είναι σύνθετοι πολυσακχαρίτες μεγάλου μοριακού βάρους που βρίσκονται σε όλες τις μη ξυλώδεις φυτικές ύλες [39]. Αποτελούνται από γραμμικά πολυμερή D-γαλακτορουρικού οξέος, ενωμένα με α-1,4γλυκοζιτικούς δεσμούς. Οι καρβοξυλομάδες του πολυμερούς μπορεί να είναι εστεροποιημένες με μεθανόλη ή ενωμένες με κατιόντα ασβεστίου και μαγνησίου ενώ μπορεί να φέρουν και πλευρικές αλυσίδες ουδέτερων σακχάρων [34]. Είναι προφανές λοιπόν ότι ο ορός πηκτίνες καλύπτει ένα μεγάλο αριθμό πολυμερών με διαφορετικά μοριακά βάρη, χημική σύσταση και λειτουργικές ιδιότητες. Οι κυρίες πηγές πηκτινών είναι παραπροϊόντα φρούτων και λαχανικών. Χρησιμοποιούνται στην παραγωγή τροφίμων για τη ρύθμιση του ιξώδους σε χυμούς και σάλτσες, τη σταθεροποίηση πρωτεϊνών σε γαλακτοκομικά προϊόντα και το σχηματισμό πηκτής σε μαρμελάδες και ζελεδάκια. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σε προϊόντα διαίτης για την αντικατάσταση του λίπους ή της ζάχαρης. Πέρα από την τεχνολογία τροφίμων χρησιμοποιούνται στη φαρμακευτική βιομηχανία για τη μείωση της χοληστερόλης, τη δέσμευση τοξικών παραγόντων όπως τα βαρέα μέταλλα και ως σταθεροποιητές σε καλλυντικά [42,43].

#### **5.1.5 Τοκοφερόλες**

Οι τοκοφερόλες είναι μια ομάδα λιποδιαλυτών χημικών ενώσεων παρόμοιας χημικής δομής. Κοινό χημικό χαρακτηριστικό των τοκοφερολών (α-, β-, γ- και δ-τοκοφερόλη)

είναι η ύπαρξη 6-χρωμανόλης (6-chromanol), όπως και μια πλευρική αλειφατική αλυσίδα, της ουράς φυτυλίου (phytyl tail), στη θέση 2. Οι διάφορες τοκοφερόλες διαφέρουν στον αριθμό και στη θέση των μεθυλομάδων στο δακτύλιο. Η πλευρική αλυσίδα αποτελείται από 16 άτομα άνθρακα με τρία στερεογονικά κέντρα στις θέσεις 2, 4', και 8'. Μαζί με τις τοκοτριενόλες συνιστούν τη βιταμίνη E [67,68]. Οι τοκοφερόλες είναι φυσικά αντιοξειδωτικά και η αντιοξειδωτική τους δράση αυξάνεται από την α προς τη δ ενώ η βιολογική τους δράση ακολουθεί αντίθετη πορεία και αυξάνεται από τη δ προς την α [66]. Η συνολική βιολογική δράση της βιταμίνης E οφείλεται κυρίως στην παρουσία της α- τοκοφερόλης, η φυσικά σχηματιζόμενη α-τοκοφερόλη εμφανίζει την υψηλότερη βιολογική δραστηριότητα (1-3 φορές δραστηκότερη από κάθε άλλη ισομερή μορφή). Αφομοιώνεται, επίσης, σε μεγαλύτερο βαθμό από τον ανθρώπινο οργανισμό. Οι ουσίες που συνιστούν την βιταμίνη E έχουν ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου. Συγκεκριμένα [68]:

- Είναι αναγκαίες για την κυτταρική αναπνοή ιστών, όπως ο καρδιακός μυς και οι σκελετικοί μύες
- Δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες
- Παίζουν ρυθμιστικό ρολό στη βιοσύνθεση ενώσεων στον οργανισμό.
- Προστατεύουν από τον καρκίνο του προστάτη
- Ενδέχεται επίσης να καθυστερούν την εμφάνιση των συμπτωμάτων της νόσου Αλτσχάιμερ.
- Εμποδίζουν την οξείδωση των λιπών και των βιταμινών A και D στα τρόφιμα.

Οι τοκοφερόλες προστίθενται σε πολλά τρόφιμα (δημητριακά πρωινού, αυγά, γαλακτοκομικά, κρεατοσκευάσματα). Η α-τοκοφερόλη εμφανίζει συνεργιστικά αντιοξειδωτική δράση με το σελήνιο (Se), το οποίο συχνά συνοδεύει στον εμπλουτισμό των τροφίμων [69]. Ο εμπλουτισμός με τοκοφερόλες προστατεύει το προϊόν από την οξείδωση αυξάνοντας παράλληλα τη διατροφική αξία του. Για παράδειγμα, οι Govaris et al. (2009) απέδειξαν πως η προσθήκη α-τοκοφερόλης σε προϊόντα κιμά γαλοπούλας αναστέλλει την οξείδωση των λιπαρών του προϊόντος κατά τη συντήρηση με ψύξη. Επίσης βρέθηκε ότι η συμπλήρωση της διατροφής των πουλερικών με πηγές πλούσιες σε τοκοφερόλες οδήγησε σε πολύ μεγαλύτερη περιεκτικότητά τους στο λίπος του προϊόντος



και σε καλύτερα αποτελέσματα στον περιορισμό της οξειδωσης [70]. Η χρήση της τοκοφερόλης δεν περιορίζεται μόνο ως πρόσθετο στα τρόφιμα αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στη συσκευασία επιτρέποντας τη σταδιακή της μετανάστευση από τη συσκευασία προς το προϊόν ή εμπλουτίζοντας εδώδιμες μεμβράνες.

Εμπορικά για την παραλαβή τους συνήθως χρησιμοποιείται εκχύλιση υπερκρίσιμου CO<sub>2</sub>. Η ανάκτησή τους μπορεί να γίνει από παραπροϊόντα απόσπησης διάφορων ελαίων όπως ελαιόλαδο, ηλιέλαιο και κραμβέλαιο [71]. Επίσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν έλαια σπόρων τομάτας και σταφυλιών καθώς και κατσίγαρος από ελαιοτριβεία.

### **5.1.6 Τερπένια**

Τα τερπένια και η οξυγονωμένη τους μορφή, τα τερπενοειδή, αποτελούν μια μεγάλη κατηγορία φυσικών προϊόντων που προέρχονται από μονάδες ισοπρενίου, που συνδέονται μεταξύ τους με πολλούς συνδυασμούς. Τα περισσότερα τερπενοειδή έχουν πολυκυκλική δομή και διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τον βασικό σκελετό [72]. Παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία με 40000 διαφορετικές δομές, η ποικιλία αυτή αντανακλάται και στις βιολογικές τους λειτουργίες. Χρησιμοποιούνται ως φάρμακα, βελτιωτικά γεύσης και αρωματικές ενώσεις [73]. Προκαλούν ένα ευρύ φάσμα αρωμάτων με ευχάριστη αντίληψη. Τα περισσότερα τερπένια έχουν 2 ή περισσότερα οπτικά κέντρα με τα εναντιομερή να διαφέρουν στις ιδιότητες και τα χαρακτηριστικά της οσμής τους [74]. Στα απόβλητα της βιομηχανίας τροφίμων εντοπίζονται αξιόλογες ποσότητες τερπενοειδών με κυριότερα το d-λιμονένιο στα εσπεριδοειδή, το σκουαλένιο στις ελιές και την νουτκατόνη (nootkatone) στα γκρέιπφρουτ. Ακόμα, εντοπίζονται στα παραπροϊόντα μήλου και ντομάτας με το κυριότερο το ελαιολικό οξύ (oleanolic acid).

### **5.1.7 Στιλβένια**

Τα στιλβένια είναι μια κατηγορία πολυφαινολών που απαντώνται στα φυτά. Η βασική τους δομή αποτελείται από 2 βενζοϊκούς δακτυλίους που συνδέονται μεταξύ τους με μια αλυσίδα αιθανίου ή μεθανίου. (C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>). Είναι ενώσεις μικρής πολικότητας που απαιτούν οργανικούς διαλύτες για την εκχύλιση τους [75]. Υπάρχουν σε διάφορα είδη φυτών όμως τα σταφύλια είναι η κυριότερη πηγή στη διατροφή του ανθρώπου. Αποτελούν μηχανισμό αντοχής των φυτών σε ασθένειες, κυρίως ενάντια σε μύκητες [76]. Η ρεσβερατρόλη αποτελεί το σημαντικότερο στιλβένιο και βρίσκεται στο φλοιό, τις ρίζες και τους σπόρους του αμπέλου αλλά η μεγαλύτερη συγκέντρωση συνήθως παρατηρείται στο φλοιό του καρπού. Η συγκέντρωσή της στα παραπροϊόντα οινοποιίας είναι περίπου

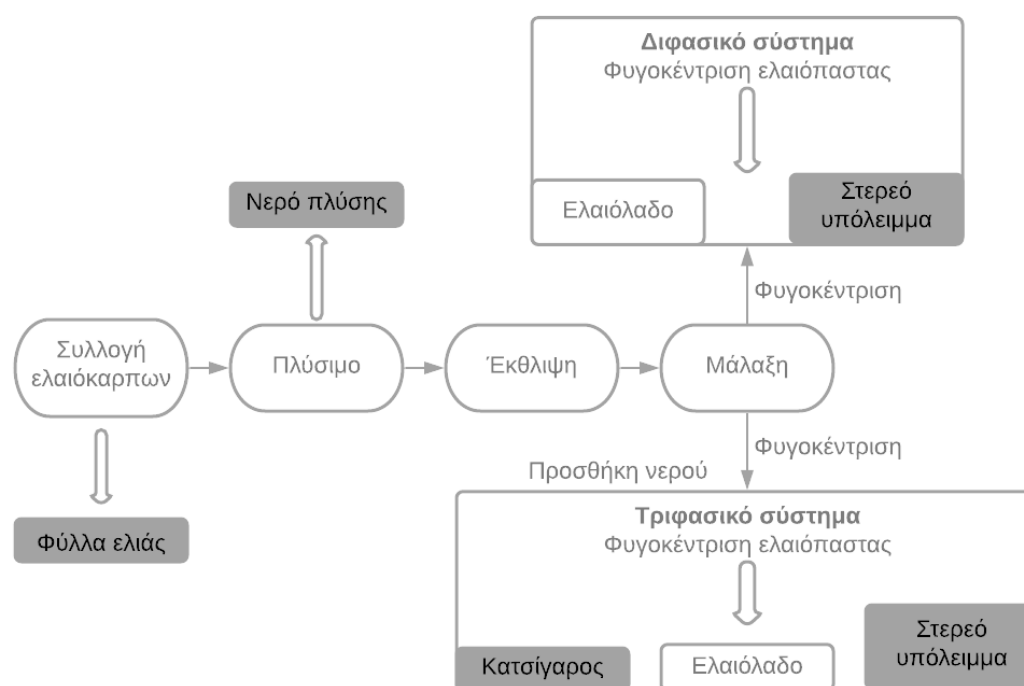
50 mg/L όμως έχει μεγάλες διακυμάνσεις. Η σύνθεση της αυξάνεται όταν το φυτό προσβληθεί από μικροοργανισμούς, επομένως απουσία ασθενειών μπορεί να παρατηρηθεί μεγάλη πτώση στην συγκέντρωσή της. Για παράδειγμα οι Gürbüz et al. (2007) βρήκαν συγκέντρωση 0,043mg/L σε στέμφυλα [77,78]. Ρεσβερατρόλη εντοπίζεται ακόμα και σε απόβλητα βιομηχανίας ντομάτας.

## **5.2 ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΕΣ ΠΟΥ ΕΝΤΟΠΙΖΟΝΤΑΙ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ**

### **5.2.1 Παραπροϊόντα ελαιουργίας**

Στη Μεσόγειο, η συνολική έκταση ελιών που καλλιεργείται για παραγωγή ελαιολάδου υπολογίζεται στα 8 εκατομμύρια εκτάρια [1]. Ο ελαιόκαρπος (*Olea europaea*) αποτελείται από τρία βασικά μέρη: (α) τη φλούδα ή αλλιώς επικάρπιο (1,0-3,5% του βάρους του καρπού), το οποίο περιέχει χλωροφύλλες, καροτενοειδή και ανθοκυανίνες, υπεύθυνα για το χρώμα, (β) τη σάρκα ή αλλιώς μεσοκάρπιο (70-80%) το οποίο περιέχει όλα τα συστατικά (λάδι, νερό, βιοδραστικές ουσίες) και (γ) τον πυρήνα ή ενδοκάρπιο (18-22%) το οποίο πρόκειται για το σκληρό ξυλώδες τμήμα που περιέχει τον σπόρο (κουκούτσι) [5]. Τα βασικότερα παραπροϊόντα που προέρχονται κατά την παραλαβή ελαιολάδου από τον ελαιόκαρπο είναι τα εξής: φύλλα, στερεό υπόλειμμα, το οποίο περιλαμβάνει πυρήνες και υγρά λύματα (κασίγαρος). Ετησίως το στερεό υπόλειμμα μπορεί να φτάσει μέχρι και τους 2.881.550 τόνους παγκοσμίως [3]. Για 100 kg ελιά προς επεξεργασία αντιστοιχούν 35 kg στερεού υπολείμματος και 55-200 L κασίγαρου (ανάλογα με το σύστημα επεξεργασίας) [5]. Υπάρχουν δύο βασικά συστήματα παραλαβής ελαιολάδου, το τριφασικό και το διφασικό [5]. Κατά το τριφασικό σύστημα, παράγονται κυρίως στερεό υπόλειμμα (olive pomace), το ελαιόλαδο και ο κασίγαρος (olive mill waste water), ενώ κατά το διφασικό παράγεται το ελαιόλαδο και το στερεό υπόλειμμα το οποίο διαφέρει σε σχέση με του τριφασικού συστήματος καθώς συγκρατεί περισσότερα συστατικά. Η βασική διαφορά των δύο μεθόδων είναι πως στο διφασικό σύστημα δεν υπάρχει προσθήκη νερού για την επεξεργασία της ελιάς (Σχήμα 5.1). Η ανάπτυξη του διφασικού συστήματος έγινε για να μειωθούν τα απόβλητα ελαιουργίας. Τα παραπάνω παραπροϊόντα παλαιότερα απορρίπτονταν χωρίς επεξεργασία σε υδάτινους αποδέκτες (με καταστροφικές για το περιβάλλον συνέπειες καθώς η περιεκτικότητά τους σε φαινολικές ενώσεις τα καθιστά τοξικά) ή διαθέτονται ως ζωοτροφές. Παρακάτω, θα αναλυθούν τα παραπροϊόντα καθώς και τα βιοδραστικά συστατικά και οι εφαρμογές αυτών στη σύγχρονη βιομηχανία. Σημαντικό είναι να αναφερθεί πως οι συγκεντρώσεις των ενώσεων αυτών δεν είναι καθορισμένες καθώς οι κλιματολογικές και εδαφολογικές

συνθήκες όπως και η εποχή και η υγεία, η ηλικία και η ποικιλία του φυτού τις επηρεάζουν.

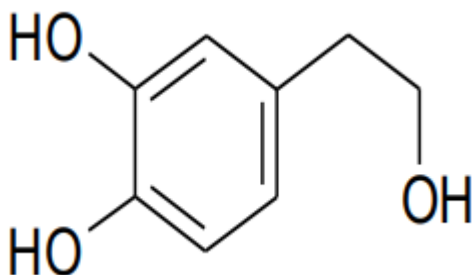


Σχήμα 5.1: Διαδικασία παραλαβής ελαιολάδου, με σκούρο χρώμα εμφανίζονται τα παραπροϊόντα

### Φύλλα ελιάς

Στον Πίνακα 5.1 αναφέρονται τα κυριότερα βιοδραστικά συστατικά που έχουν βρεθεί και εκχυλιστεί από τα φύλλα ελιάς. Από τις κυριότερες και πιο άφθονες φαινόλες είναι η ελαιοευρωπαϊνή με επίπεδα 10-140g/kg. Η ελαιοευρωπαϊνή είναι υπεύθυνη για την πικρή γεύση των άγουρων ελιών, της οποίας η συγκέντρωση μειώνεται με την ωρίμανση. Πρόκειται για σεκοϊριδοειδή γλυκοζίτη (secoiridoid glucoside), εστέρα ελενολικού οξέος (elenolic acid) και υδροξυτυροσόλης με μοριακό τύπο  $C_{25}H_{32}O_{13}$ . Η δράση της κατά του καρκίνου, της παχυσαρκίας, της υπογλυκαιμίας, των καρδιακών νοσημάτων και του διαβήτη έχει αποδειχθεί και παράλληλα έχει αντιμικροβιακές ιδιότητες απέναντι σε ιούς, βακτήρια, μύκητες, μούχλες και άλλα παράσιτα. Επίσης, έχει υψηλή αντιοξειδωτική δράση [2,3,4]. Η ελαιοευρωπαϊνή είναι υπεύθυνη για την παρουσία μιας άλλης σημαντικής αντιοξειδωτικής και αντιμικροβιακής ένωσης, της υδροξυτυροσόλης. Καθώς η πρώτη υδρολύεται, παράγεται η δεύτερη. Πρόκειται για μια όρθο-διφαινόλη με αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση [3,4,5]. Οι ουσίες αυτές δρουν συνεργιστικά, δηλαδή, αναμιγμένες/συνδυασμένες είναι αποτελεσματικότερες από ότι μόνες τους [3].

Παράλληλα, σε φύλλα ελιάς εκχυλισμένα με μεθανόλη έχει εντοπιστεί και μαννιτόλη, μια πολυόλη, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετο τροφίμων, εγκεκριμένο από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (Guidance CDER/FDA 2000) ως γλυκαντικό χαμηλό σε θερμίδες με αντιοξειδωτική δράση [9].



Εικόνα 3: Υδροξυτυροσόλη [34]

#### *Στερεό υπόλειμμα (olive pomace)*

Πρόκειται για ετερογενή βιομάζα σε ημιστερεή μορφή με υψηλό ποσοστό υγρασίας και ελαίου, αποτελούμενη από υπολείμματα φλούδας, σάρκας και πυρήνων. Έχει χαμηλό pH και υψηλό οργανικό φορτίο. Τα κυριότερα συστατικά που περιέχονται είναι σάκχαρα, πρωτεΐνες, λιπαρά οξέα, χρωστικές και πολυφαινόλες. Από τις σημαντικότερες ενώσεις είναι το σκουαλένιο, η υδροξυτυροσόλη και η ελαιοευρωπαϊνή. Για κάθε τόνο στερεού υπολείμματος, μπορούν να παραληφθούν μέχρι και 5 kg καθαρής υδροξυτυροσόλης (καθαρότητα 99,6%), η οποία διαθέτει υψηλή αντιοξειδωτική δράση. Άλλες ενώσεις αναφέρονται στον Πίνακα 5.1. Σημαντικό είναι να αναφέρουμε πως τα περιεχόμενα αντιοξειδωτικά συστατικά του υπολείμματος ξεπερνάνε τα περιεχόμενα στο ίδιο το ελαιόλαδο. Το σκουαλένιο είναι πολύτιμο για το δέρμα και τους ιστούς του, με δράσεις κατά της ηλιακής ακτινοβολίας (δρα ως φίλτρο). Έχει επίσης μαλακτικές ιδιότητες [3,5]. Άλλη μια πολύτιμη ουσία είναι η τυροσόλη, η οποία όμως βρίσκεται σε μικρότερες ποσότητες εντός της βιομάζας. Είναι συνδεδεμένη με δράσεις καρδιοπροστατευτικές και νευροπροστατευτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιδιαβητικές [12].

#### *Κατσίγαρος (olive mill waste water)*

Πρόκειται για τις εκροές των ελαιουργίων και περιλαμβάνουν: σάκχαρα, φαινολικά συστατικά, λιπίδια, αλκοόλες ακόμα και πηκτίνη [3]. Όπως αναφέρθηκε, το στερεό υπόλειμμα περιέχει το 45% των φαινολικών ουσιών, ο κατσίγαρος περιέχει το 53% ενώ το ελαιόλαδο μόνο το 2% από το σύνολο του ελαιόκαρπου [3,8]. Από τις κυριότερες

ενώσεις που περιέχονται στον κατσίγαρο είναι η υδροξυτυροσόλη (66,5%). Γενικότερα, οι ενώσεις που περιέχονται στον κατσίγαρο, μπορούν να μειώσουν την οξείδωση της LDL χοληστερίνης και την δημιουργία ελεύθερων ριζών.

### Πυρήνες

Παραλαμβάνονται με το φιλτράρισμα του στερεού υπολείμματος και είναι πλούσιοι σε ημικυτταρίνη, κυτταρίνη και λιγνίνη σε ποσοστά 21.45–27.64%, 29.79–34.35%, 20.63–25.11%, αντίστοιχα [13]. Εντοπίζονται ακόμα και πρωτεΐνες, λιπαρά οξέα, φαινολικές ενώσεις και σάκχαρα.

**Πίνακας 5.1: Σύσταση παραπροϊόντων ελαιουργίας**

Παραπροϊόν	Βιοδραστικές Ουσίες
<b>Φύλλα</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Φλαβόνες</li> <li>• Φλαβανόλες</li> <li>• Τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη, βανιλίνη, καφεϊκό οξύ</li> <li>• Ελευρωπαΐνη</li> </ul>
<b>Στερεό υπόλειμμα</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη</li> <li>• Ελευρωπαΐνη</li> <li>• Καφεϊκό οξύ, ελενολικό οξύ</li> <li>• Κατεχόλη</li> <li>• Πηκτινικές ύλες</li> <li>• Σκουαλένιο</li> </ul>
<b>Κατσίγαρος</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Φαινολικές ενώσεις</li> <li>• Σάκχαρα</li> <li>• Οργανικά οξέα</li> <li>• Άζωτο, Φώσφορος, Μαγνήσιο, Κάλιο</li> </ul>
<b>Πυρήνας</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Κυτταρίνη, ημικυτταρίνη, λιγνίνη</li> <li>• Έλαιο</li> <li>• Φαινολικές ενώσεις</li> </ul>

### Εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων [10]

Τα πλούσια σε ακόρεστα λιπαρά οξέα έλαια είναι επιρρεπή στην οξειδωση. Με την προσθήκη φυσικών αντιοξειδωτικών, ο χρόνος ζωής και η ποιότητα των ελαίων βελτιώνονται. Για παράδειγμα, οι Rubio et al. (2012) αύξησαν τη σταθερότητα ελαιόλαδου με προσθήκη αντιοξειδωτικών εκχυλισμένων από στερεό υπολείμμα ελαιουργίας (secoiridoids) και φλαβονοειδών εκχυλισμένα από θυμάρι με αναλογία 60:40 (w/w). Ο εμπλουτισμός μπορεί να έχει θετική επίδραση στα έλαια αλλά είναι πολύ συχνό φαινόμενο να αυξάνεται η πικρή γεύση και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαίου να μεταβάλλονται. Για αυτό συνήθως τα περισσότερα εμπλουτισμένα έλαια περιλαμβάνουν και κάποιο αρωματικό φυτό ή βότανο (θυμάρι, δεντρολίβανο) για να εξισορροπήσουν τυχόν μεταβολές. Παρόμοιες προσπάθειες εμπλουτισμού έχουν εφαρμοστεί σε ζυμαρικά, ψωμί, μπισκότα ακόμα και γάλα για παραγωγή γιαουρτιού, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.2.

**Πίνακας 5.2: Εφαρμογές σκόνης στερεού υπολείμματος ελαιουργίας σε διάφορα προϊόντα [10]**

Τρόφιμο	Πρόσθετο	Μεταβολή
Ζυμαρικά	Αντικατάσταση σιταριού με σκόνη από στερεό υπολείμμα ελαιουργίας (5 και 10%), πλούσιο σε φυτικές ίνες	<ul style="list-style-type: none"><li>Χαμηλότερος χρόνος βρασμού, μεγαλύτερη απορρόφηση νερού και απώλειες κατά το μαγείρεμα</li><li>Αύξηση φαινολικών συστατικών και αντιοξειδωτικής δράσης</li></ul>
Ζυμαρικά	Εμπλουτισμός ζυμαρικού με σκόνη στερεού υπολείμματος ελαιουργίας (10-15%)	<ul style="list-style-type: none"><li>Αύξηση φαινολικών ουσιών κατά 50 φορές και φλαβονοειδών κατά 15 φορές (σε σχέση με το control)</li><li>Οργανοληπτικές μεταβολές (χρώμα, υφή), μη ανεκτές από τους καταναλωτές</li></ul>
Ψωμί	Εμπλουτισμός με σκόνη στερεού υπολείμματος ελαιουργίας (10%)	<ul style="list-style-type: none"><li>Αύξηση σε φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή</li><li>Αύξηση στις φυτικές ίνες</li><li>Οργανοληπτικές μεταβολές,</li></ul>

		ανεκτές από τους ερευνητές
Γάλα για παραγωγή γιαουρτιού	Υδατικό διάλυμα φαινόλης, από στερεό υπόλειμμα ελαιουργίας και ζύμωση με <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Αύξηση στα φαινολικά συστατικά και στην αντιοξειδωτική δράση</li> <li>• Μείωση στον χρόνο ζωής</li> </ul>

Συχνό φαινόμενο στις μέρες μας είναι η ζήτηση των καταναλωτών για πιο φιλικά προς το περιβάλλον προϊόντα, με αυξημένο ενδιαφέρον κυρίως στη μείωση της χρήσης πλαστικού. Έτσι, οι ερευνητές προσπαθώντας να ικανοποιήσουν αυτά τα αιτήματα προχωρούν στη σύνθεση νέων, καινοτόμων συσκευασιών οι οποίες είναι βιοδιασπώμενες αλλά και προέρχονται από φυσικούς πόρους. Έχουν αναπτυχθεί λοιπόν συσκευασίες χιτοζάνης εμπλουτισμένες με συστατικά που προέρχονται από το στερεό υπόλειμμα ελαιουργίας οι οποίες αυξάνουν τον χρόνο ζωής του προϊόντος. Επίσης, αφυδατωμένοι πυρήνες ελιάς αναμιγνύονται με πολυπροπυλένιο για παραγωγή θερμοπλαστικού πολυμερούς [11].

### 5.2.2 Παραπροϊόντα τομάτας

Οι καλλιέργειες τομάτας (*Solanum lycopersicum*) αποτελούν τη δεύτερη μεγαλύτερη καλλιέργεια λαχανικού στον κόσμο με το 2016 να φτάνει μέχρι και τους 177 εκατομμύρια τόνους παγκοσμίως (FAOSTAT) [14]. Ποσοστό 24-60% της παραγωγής οδηγείται προς επεξεργασία [14]. Η τομάτα μπορεί να καταναλωθεί είτε ωμή είτε επεξεργασμένη με τη μορφή χυμού, σάλτσας, πάστας, κέτσαπ, ή αποξηραμένης (λιαστή ντομάτα). Η βιομηχανία επεξεργασίας τομάτας παράγει τεράστιες ποσότητες από παραπροϊόντα όπως φλούδες, σπόρους και στερεό υπόλειμμα το οποίο περιέχει τα προαναφερθέντα καθώς και διαιτητικές ίνες, τα οποία απορρίπτονται και χρησιμοποιούνται είτε ως ζωοτροφή είτε κομποστοποιούνται [14]. Ωστόσο, η αξιοποίηση αυτών των προϊόντων μπορεί να οδηγήσει στην ανάκτηση πολύτιμων συστατικών με εφαρμογές στη σύγχρονη βιομηχανία. Ενδεικτικά, βιοδραστικά συστατικά τα οποία μπορούν να ανακτηθούν είναι: λυκοπένιο και άλλα καροτενοειδή, φαινολικές ενώσεις, πηκτίνη, πρωτεΐνες. Για παράδειγμα, στον Πίνακα 5.3 αναφέρονται κάποια από τα συστατικά ενδιαφέροντος που ανιχνεύθηκαν από τους Kalogeropoulos et al. (2012) σε πειράματα εκχυλίσεων λυοφιλωμένων υποπροϊόντων τομάτας [16].

Το λυκοπένιο προστατεύει τα λεμφοκύτταρα των πνευμόνων από την επίδραση του NO<sub>2</sub> που εντοπίζεται στον καπνό του τσιγάρου και τελικά προκαλεί καρκίνο [21]. Επίσης, έχει αντιγηραντικές ιδιότητες και για αυτό χρησιμοποιείται στη βιομηχανία καλλυντικών [18]. Σημαντική ανακάλυψη των τελευταίων χρόνων μέσω ποικίλων ερευνών είναι πως η θερμική επεξεργασία της τομάτας, για παράδειγμα, η μετατροπή της σε σάλτσα, αυξάνει τη βιοδιαθεσιμότητα του λυκοπενίου και η αφομοίωση του από τον οργανισμό είναι καλύτερη [21]. Αυτό συμβαίνει διότι η θέρμανση προκαλεί ισομερίωση του λυκοπενίου από *trans* σε *cis* λυκοπένιο (άμεσα απορροφήσιμο από τον οργανισμό) [21].

Το β-καροτένιο δρα σαν πρόδρομη ένωση της βιταμίνης Α (ρετινόλη) η οποία είναι απαραίτητη για τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών στους εξωθερμικούς ιστούς, δεσμεύει τις ελεύθερες ρίζες και διαθέτει αντιοξειδωτική δράση [32]. Η έλλειψή της μπορεί να προκαλέσει τύφλωση, μη ολοκληρωμένη ανάπτυξη ακόμα και θάνατο σε μικρά παιδιά και εγκύους [31]. Ακόμα, συνδέεται με την πρόληψη της παχυσαρκίας και του διαβήτη τύπου 2 [23]. Ωστόσο, αναπάντεχα ευρήματα από έρευνες έχουν προκύψει για την επίδραση του β-καροτένιου σε καπνιστές (υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας) [22,23]

Η λουτεΐνη είναι υπεύθυνη για την καλή όραση [31]. Παρέχει προστασία στους οφθαλμούς από την UV ακτινοβολία και μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης καταρράκτη και εκφύλισης ωχράς κηλίδας [31].

**Πίνακας 5.3: Συστατικά ενδιαφέροντος σε τομάτες και παραπροϊόντα της [16]**

Συστατικό	Παραπροϊόν (φλούδες, σπόροι)	Ολόκληρη τομάτα
Περιεχόμενο νερό (g/kg)	738.5 ± 2.4	946.9 ± 3.2
<b>Καροτενοειδή (mg/kg ξ.β)</b>		
Λυκοπένιο	413.7 ± 80.3	1013.2 ± 89.4
β-καροτένιο	149.8 ± 6.4	86.1 ± 4.4
<b>Τοκοφερόλες (mg/kg ξ.β)</b>		
α-τοκοφερόλη	155.7 ± 10.1	85.8 ± 5.9
<b>Τερπένια (mg/kg ξ.β)</b>		



Σκουαλένιο	9.3 ± 3.6	0.90 ± 0.14
Oleonic acid (ελαιολικό οξύ)	12.5 ± 0.48	8.2 ± 2.6
Ολικές πολυφαινόλες (mg GAE)	9452.8 ± 476.6	9779.3 ± 71.7
<b>Φαινολικά οξέα (mg/kg ξ.β)</b>		
Καφεϊκό οξύ	33.5 ± 13.1	26.6 ± 2.2
<b>Φλαβονοειδή (mg/kg ξ.β)</b>		
Ναρινγενίνη	328.6 ± 50.5	14.8 ± 2.2
Καμπφερόλη	5.5 ± 1.2	2.4 ± 0.41
<b>Στιλβένια (mg/kg ξ.β)</b>		
Ρεσβερατρόλη	7.7 ± 1.8	6.4 ± 1.1

#### *Φλούδες τομάτας*

Πρόκειται για τη σημαντικότερη πηγή λυκοπενίου και β-καροτένιου. Κυριότερο συστατικό της εξωτερικής επιφάνειας που προφυλάσσει το φυτό από περιβαλλοντολογικές επιδράσεις είναι ο βιοπολυεστέρας cutin (κηρώδες πολυμερές) [14]. Πρόκειται για μια ουσία αδιάβροχη, φίλτρο έναντι της ακτινοβολίας UV, μη τοξική, αδιάλυτη και βιοδιασπώμενη [14]. Βρίσκει αρκετές εφαρμογές στη βιομηχανία αφού μετά από την εκχύλιση της μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοπλαστικό ή σε ανάμιξη με συμβατά πλαστικά για χρήση στη βιομηχανία τροφίμων ως συσκευασία και εφαρμογή σε διάφορους τομείς της ιατρικής [14].

#### *Σπόροι τομάτας*

Περιέχουν σημαντικό ποσοστό πρωτεΐνης (24.5%), είναι πλούσιοι σε λυσίνη, γλουταμινικό και ασπαραγινικό οξύ (αμινοξέα) [15]. Τα αμινοξέα παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και άμυνα του οργανισμού και μειώνουν τις πιθανότητες για παχυσαρκία [20]. Ακόμα, είναι πλούσιοι σε έλαιο (18-27%) με κυρίαρχα λιπαρά οξέα τα:

παλμιτικό, στεατικό (κορεσμένα) και λινολεϊκό, ελαϊκό και αραχιδονικό οξύ (ακόρεστα) [19]. Το έλαιο από σπόρους τομάτας διατηρεί τα χαρακτηριστικά του αναλλοίωτα σε περιπτώσεις παρατεταμένης θέρμανσης [20]. Σημαντικό είναι να αναφερθεί πως περιέχουν και αντιμικροβιακούς παράγοντες και για αυτό η χρήση τους σε βιομηχανίες τροφίμων (ως συντηρητικό) και φαρμάκων ερευνάται [20].

#### *Εφαρμογές στη βιομηχανία*

Στον Πίνακα 5.4 αναφέρονται κάποια παραδείγματα από τη χρήση παραπροϊόντων τομάτας στη βιομηχανία τροφίμων. Ακόμα, η πηκτίνη που έχει απομονωθεί από φλούδες τομάτας και η πρωτεΐνη από σπόρους τομάτας έχουν ικανοποιητικά χαρακτηριστικά και είναι αποτελεσματικά στη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων [23]. Οι Sarkar και Kaul (2014) απομόνωσαν πρωτεΐνη εκχυλίζοντάς την από αποξηραμένους σπόρους τομάτας με ικανοποιητικά χαρακτηριστικά, εντός προδιαγραφών, θεσπισμένων από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας [15]. Οι Karthika et al. (2016) πρόσθεσαν ποσότητες από σκόνη σπόρων (0-5%) και φλούδας (0-30%) τομάτας σε ρυζάλευρο (30-40%) και καλαμποκάλευρο (40-60%) με στόχο την παραγωγή εξωθημένου σνακ (extruded/puffed snack) [25]. Το τελικό προϊόν είχε αυξημένα ποσοστά διαιτητικών ινών λόγω της προστιθέμενης φλούδας τομάτας που διαθέτει υψηλό ποσοστό ινών (29%) ωστόσο επηρέασε την υφή του προϊόντος (αύξηση σκληρότητας). Ακόμα, υπήρχαν μεταβολές στο χρώμα και άρωμα των τελικών προϊόντων. Παρ' όλα αυτά το προϊόν ήταν αποδεκτό από τους ερευνητές. Οι Sengar et al. (2020) δοκίμασαν διάφορες τεχνικές εκχύλισης πηκτίνης από παραπροϊόντα τομάτας με χρήση υπερήχων και τα πειράματά τους έδειξαν πως η προεπεξεργασία του δείγματος με υπερήχους και η εκχύλιση με μικροκύματα είχε την καλύτερη απόδοση και η πηκτίνη ήταν καλύτερης ποιότητας με βαθμό εστεροποίησης 73.33% [26]. Γενικότερα, η χρήση των βιοδραστικών συστατικών που έχουν ανακτηθεί από παραπροϊόντα τομάτας ως πρόσθετα σε τρόφιμα καθιστώντας τα λειτουργικά, έχει αποδοχή από τους καταναλωτές, καθώς έχει υπάρξει στροφή στο ενδιαφέρον τους προς φυσικές εναλλακτικές σε προϊόντα τροφίμων [20]. Τέλος, οι Szabo et al. (2020) εξέτασαν την δυνατότητα εμπλουτισμού ενεργών συσκευασιών (active films) κατασκευασμένων από πολυβινυλική αλκοόλη (poly-vinyl alcohol)-PVA) με ιτακονικό οξύ (itaconic acid – Ia) ή χιτοζάνη με εκχυλίσματα παραπροϊόντων τομάτας, πλούσια σε καρροτενοειδή (β-καροτένιο και λουτεΐνη) και φαινολικές ενώσεις (naringenin, chalcone- φλαβονοειδή) [14]. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως το φιλμ που περιείχε τη χιτοζάνη και τα εκχυλίσματα τομάτας είχε την καλύτερη αντιμικροβιακή δράση και το μεγαλύτερο ποσοστό

φαινολικών ενώσεων (αντιοξειδωτική δράση) δίνοντας έτσι ελπιδοφόρα αποτελέσματα για την εξερεύνηση της χρήσης των εκχυλισμάτων παραπροϊόντων τομάτας στην βιομηχανία συσκευασίας τροφίμων.

**Πίνακας 5.4: Εφαρμογές παραπροϊόντων τομάτας σε διάφορα τρόφιμα**

Τρόφιμο	Πρόσθετο	Μεταβολή	Αποδοχή από καταναλωτές	Πηγή
Ψωμί	Αντικατάσταση αλεύρου με 10 % αλεύρι από σπόρους τομάτας	<ul style="list-style-type: none"> <li>Βελτιωμένα διατροφικά χαρακτηριστικά (αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης)</li> <li>Μεταβολές στα ρεολογικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της ζύμης και του ψωμιού</li> </ul>	Μη αποδοχή από τους καταναλωτές λόγω μεταβολής χρώματος και γεύσης	23,28
Ελαιόλαδο	Ταυτόχρονη άλεση ελιών και λυοφιλιωμένων υποπροϊόντων τομάτας (co-milling)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Υψηλά ποσοστά λυκοπενίου (αυξημένη αντιοξειδωτικά δράση)</li> </ul>	-	23,24
Λουκάνικα	Προσθήκη λυοφιλιωμένης φλούδας τομάτας	<ul style="list-style-type: none"> <li>Υψηλά ποσοστά λυκοπενίου</li> </ul> Μικρότερα ποσοστά τάγγισης κατά την ωρίμανση και συντήρηση	Αποδοχή από τους καταναλωτές	23,29
Παγωτό	Εκχύλισμα καροτενοειδών από φλούδες τομάτας	<ul style="list-style-type: none"> <li>Καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά</li> </ul>	Αποδοχή από τους καταναλωτές με προσθήκη εκχυλίσματος 3%	23,30

### 5.2.3 Παραπροϊόντα πορτοκαλιών

Η ταξινόμηση των πορτοκαλιών αναφέρεται σε δυο είδη εμπορικών πορτοκαλιών: τα γλυκά πορτοκάλια (*Citrus sinensis*) τα οποία χρησιμοποιούνται για παραγωγή χυμού και νωπή κατανάλωση και τα ξινά (*Citrus aurantium*) που καλλιεργούνται κυρίως για τη φλούδα τους που χρησιμοποιείται για την παραγωγή μαρμελάδας. Τα πορτοκάλια αποτελούνται από ένα εξωτερικό αρωματικό στρώμα (flavedo), στο οποίο οφείλεται το χρώμα του φρούτου, με θύλακες λαδιού και ακριβώς από κάτω ένα άσπρο σπογγώδες στρώμα (albedo). Τα τμήματα του φρούτου που βρίσκονται κάτω από αυτό το στρώμα χωρίζονται μεταξύ τους με μεμβράνες. Κάθε τμήμα αποτελείται από κύστες μέσα στις οποίες υπάρχουν χυμώδη κύτταρα [34].

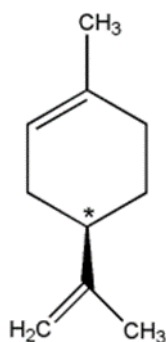
Το 1/3 της συνολικής παραγωγής προορίζεται για βιομηχανική επεξεργασία, κυρίως για την παραγωγή χυμού. Περίπου το 50% του αρχικού βάρους των πορτοκαλιών είναι απόβλητα αποτελούμενα από φλούδες, κουκούτσια και υπολείμματα μεμβρανών [35]. Το 45.5% είναι στερεά υπολείμματα και το 0.5% υγρά. Τα απόβλητα συνήθως αφήνονται εξωτερικά της μονάδας παραγωγής για τη χρήση τους ως ζωοτροφή μετά από μικρή επεξεργασία ή την καύση τους, επηρεάζοντας αρνητικά το γύρω έδαφος [36]. Αυτές οι μέθοδοι διαχείρισης παρουσιάζουν αρκετά μειονεκτήματα. Η καύση παράγει CO<sub>2</sub> και δεν προσφέρει κάποιο οικονομικό όφελος. Οι φλούδες ως ζωοτροφή παρουσιάζουν μεγαλύτερη πεπτικότητα από άλλα αγροτικά παραπροϊόντα και υψηλότερη αύξηση βάρους συγκριτικά με αμυλούχες ζωοτροφές. Ωστόσο υψηλά ποσοστά από φλούδες πορτοκαλιού στη διατροφή των μηρυκαστικών μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα υγείας και η επεξεργασία θα πρέπει να γίνεται άμεσα με μεγάλη προσοχή ώστε να αποφευχθεί η παραγωγή μυκοτοξινών. Επιπλέον, λάθος συντήρηση μπορεί να οδηγήσει σε παραγωγή μεθανίου από την αποικοδόμηση της πρώτης ύλης [37]. Η χρήση των αποβλήτων για την ανάκτηση συστατικών ενδιαφέροντος αποτελεί μια πιο υπεύθυνη διαχείριση με οικονομικά οφέλη. Τα κυριότερα προϊόντα που μπορούν να ληφθούν από την επεξεργασία των στερεών υπολειμμάτων πορτοκαλιών είναι το αιθέριο έλαιο (D-λιμονένιο), πηκτίνη, διαιτητικές ίνες, και φλαβονοειδή. Τα υπολείμματα των διαδικασιών ανάκτησης μπορούν να αποτελέσουν υπόστρωμα βιοσύνθεσης ουσιών [39].

Ο τρόπος εξαγωγής του χυμού επηρεάζει τα χαρακτηριστικά των παραπροϊόντων. Η εξαγωγή του χυμού παλαιότερα γινόταν με περιστροφικούς αποχυμωτές όμως αυτοί έχουν πλέον αντικατασταθεί από αποχυμωτές F.M.C ή Brown που παράγουν καλύτερη ποιότητα χυμού. Αυτοί οι αποχυμωτές παραλαμβάνουν ξεχωριστά και ένα ποσοστό από

αιθέριά έλαια τα οποία εκκρίνονται κατά την εκχύμωση [40]. Η τυπική σύσταση των στερεών βιομηχανικών αποβλήτων δίνεται στον Πίνακα 5.5. Γενικά, το pH των στερών υπολειμμάτων είναι χαμηλό ( $\approx 4$ ) οπότε για τις περισσότερες διεργασίες απαιτείται εξουδετέρωση του, ενώ η μέση υγρασία είναι περίπου 80% [36]. Ως άλλες ουσίες αναφέρονται οργανικά οξέα και βιταμίνες.

**Πίνακας 5.5: Σύσταση % στερεών παραπροϊόντων χυμοποίησης πορτοκαλιών (*C. sinensis*) [37]**

Διαλυτά σάκχαρα	16.90
Κυτταρίνη	9.21
Ημικυτταρίνη	10.50
Πηκτίνη	42.50
Άμυλο	3.75
Λιγνίνη	0.84
Λίπος	1.95
Πρωτεΐνη	6.50
Άλλα	4.35



Εικόνα 5.4: d-λιμονένιο

Τουλάχιστον 0.5% του βάρους των πορτοκαλιών είναι αιθέρια έλαια το οποία περιέχονται στις φλούδες. Η περιεκτικότητά τους στα στερεά απόβλητα είναι 3-4% σε ξηρή βάση [39]. Το κυριότερο συστατικό στα αιθέρια έλαια πορτοκαλιού είναι το D-λιμονένιο (90%). Είναι ένα κυκλικό τερπένιο με πολλές χρήσεις ως αρωματικός παράγοντας σε καλλυντικά, φάρμακα, τρόφιμα και αλλά είδη οικιακής χρήσης, όπως καθαριστικά. Χρησιμοποιείται

επίσης ως φυσικό παρασιτοκτόνο με χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά, ως εναλλακτικός διαλύτης, ενώ ερευνάται και η χρήση του ως φορέας σε καταλυτικές διεργασίες [41]. Είναι πρακτικά αδιάλυτο στο νερό και έχει σημείο βρασμού 176°C. Παραδοσιακά, παραλαμβάνεται με ψυχρή πίεση ή απόσταξη ατμού (hydrodistillation). Η διαδικασία παραλαβής του μπορεί να βελτιωθεί με την χρήση νέων τεχνολογιών όπως μικροκύματα, υπέρηχοι, υπεκρίσιμα ρευστά κ.α. [39].

Η εσπεριδίνη και η ναριουτίνη (narirutin) είναι τα κυριότερα φλαβονοειδή στα παραπροϊόντα πορτοκαλιών. Οι Sawalha et al. (2009) ανίχνευσαν 26.9 mg/g ναριουτίνη

και 35.2 mg/g εσπεριδίνη ως τα κύρια φαινολικά συστατικά σε ξηρές φλούδες γλυκών πορτοκαλιών [46]. Η εσπεριδίνη έχει συσχετιστεί με την πρόληψη πολλών ασθενειών χάρη στις αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της, χωρίς να παρουσιάζει ιδιαίτερη τοξικότητα στα θηλαστικά. Έχει την τάση να σχηματίζει κρυσταλλικές δομές με παρόμοιους γλυκοζίτες πράγμα που επηρεάζει τη διαλυτότητα της, κάνοντας δύσκολη την απομόνωση της. Είναι αδιάλυτη στο νερό και μερικώς διαλυτή στην αιθανόλη και την μεθανόλη (1g/L). Βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο albedo και στα άγουρα φρούτα όπου μπορεί να φτάσει έως και 14% του βάρους του καρπού [44]. Στα στερεά παραπροϊόντα *C. sinensis* βρέθηκε σε συγκεντρώσεις 19000-30000 ppm ανάλογα με την ποικιλία [45].

Στα στερεά απόβλητα χυμοποίησης των *C. sinensis* οι διαιτητικές ίνες αποτελούν περίπου το 60% του ολικού βάρους των αποβλήτων, με αναλογία διαλυτών προς αδιάλυτων ινών ίση με 1:2. Τα κύρια συστατικά των διαιτητικών ινών των αποβλήτων είναι οι πηκτίνες ακολουθούμενες από κυτταρίνες, ημικυτταρίνες και λιγνίνη [49]. Η ικανότητα συγκράτησης ύδατος και ελαίου αλευριού ινών πορτοκαλιών βρέθηκε 16 g/g και 1 g/g, αντίστοιχα. Αυτές οι ιδιότητες καθιστούν τις ίνες πορτοκαλιών μια καλή λύση για την ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών σε παγωτά και προϊόντα αρτοποιίας. Έχει βρεθεί ότι αντικατάσταση του συμβατικού αλευριού μέχρι 10% δεν παρουσιάζει σημαντική διαφορά στις οργανοληπτικές ιδιότητες κέικ και μπισκότων όμως μειώνει το θερμιδικό περιεχόμενο, το ποσοστό λίπους και προσφέρει αυξημένη περιεκτικότητα σε διαιτητικές ίνες [47,50]. Επιτυχημένη είναι και η χρήση τους ως αντικαταστάτης λιπαρών σε παγωτά με μείωση έως και 70% του περιεχομένου λίπους χωρίς δυσάρεστες αλλαγές στις οργανοληπτικές ιδιότητες [48]. Η σκόνη υπολειμμάτων χυμοποίησης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως φορέας βιοδραστικών ουσιών εκχυλίσματος για την προστασία τους από την αποικοδόμηση κατά την παρασκευή και αποθήκευση λειτουργικών τροφίμων [51]. Επίσης, βρέθηκε ότι η ενσωμάτωση ινών πορτοκαλιού σε λουκάνικα προστατεύει το περιεχόμενο λίπος από την οξείδωση και μειώνει τη συγκέντρωση νιτρικών αλάτων στο προϊόν [52].

Τα υπολείμματα της διαδικασίας ανάκτησης αιθέριων ελαίων και φαινολικών ενώσεων πέρα από την ανάκτηση διαιτητικών ινών μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως υποστρώματα για τη βιοσύνθεση πρωτεϊνών, πηκτινολυτικών ενζύμων, οργανικών οξέων και βιοκαυσίμων [37]. Για παράδειγμα η β-γλυκοσιδάση παραλαμβάνεται με ζύμωση στερεάς φάσης από βαγάσση γλυκού πορτοκαλιού. Το ένζυμο καταλύει την υδρόλυση

της κυτταρίνης και χρησιμοποιείται για προεπεξεργασία λιγνοκυτταρικών υποστρωμάτων προς παραγωγή αιθανόλης και την αποφυγή αποχρωματισμού φρουτοχυμών [38]. Η μικροβιακή αξιοποίηση βαγάσσης πορτοκαλιού έχει αναλυθεί στα κεφάλαια 2 και 3.

Τα κουκούτσια μπορούν και αυτά να αξιοποιηθούν με διάφορες μεθόδους. Είναι πλούσια σε εριοκιτρίνη (eriocitrin), ναριρουτίνη και εσπεριδίνη όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.6 [53]. Έχουν υπερδιπλάσια περιεκτικότητα ελαίου (40%) συγκριτικά με άλλους καρπούς που χρησιμοποιούνται για ελαιοπαραγωγή όπως το καλαμπόκι και η σόγια. Τα περιεχόμενα λιπαρά οξέα είναι κυρίως πολυακόρεστα και πολυακόρεστα με κυρίαρχα το λινολεϊκό (40%), το παλμιτικό (26%) και το ελαϊκό (23%). Η κατανάλωση λινολεϊκού οξέος (CLA) προσφέρει αποδεδειγμένα οφέλη για την υγεία προστατεύοντας την καρδιά, ενισχύοντας το ανοσοποιητικό και ρυθμίζοντας τα επίπεδα σακχάρου στο αίμα. Ακόμα, το έλαιο από κουκούτσια πορτοκαλιών περιέχει παρόμοια επίπεδα τοκοφερολών και φαινολικών οξέων με το παρθένο ελαιόλαδο [54]. Η πίτα που απομένει από την εξαγωγή των ελαίων έχει μεγάλο ποσοστό πρωτεϊνών με απαραίτητα αμινοξέα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ζωοτροφή [55].

**Πίνακας 5.6: Βιοδραστικές ουσίες στα απόβλητα χυμοποίησης *Citrus sinensis* (mg/kg) [53]**

<b>Βιοδραστικές ουσίες</b>	<b>Κουκούτσια</b>	<b>Φλούδες/ πούλπα</b>	<b>Υγρά απόβλητα</b>
π-υδροξυβενζοϊκό οξύ	153.6	367.7	-
Καφεϊκό οξύ	84.7	192.7	-
Εριοκιτρίνη	747.0	404.5	1167.7

Ναριρουτίνη	4704.7	5452.0	1479.0
Εσπεριδίνη	40399.7	14864.6	19640.9

#### 5.2.4 Παραπροϊόντα μήλου

Η παραγωγή μήλου (*Malus domestica* Borkh.) μπορεί να φθάσει μέχρι και τους 70 εκατομμύρια τόνους ετησίως [57]. Μπορεί να καταναλωθεί ωμό (70-75% της παραγωγής) ή επεξεργασμένο (25-30%) σε χυμό, μαρμελάδα, αποξηραμένα, μηλίτη (cider), ακόμα και να μετατραπεί σε ξύδι [3]. Κάποιες από τις κυριότερες κατηγορίες μήλων είναι οι εξής [58]: Fuji, Gala, Golden Delicious, Granny Smith (πράσινο μήλο), Honeycrisp, Red Delicious, Pink Lady, Empire. Η ευρεία χρήση του έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή σημαντικών ποσοτήτων από απορρίμματα τα οποία περιλαμβάνουν φλούδες (95%), σπόρους (2-4%) και κοτσάνια (1%) και όλα μαζί δημιουργούν το λεγόμενο στερεό υπόλειμμα μήλου (apple pomace). Ανάλογα με την κατηγορία του μήλου και τις συνθήκες ανάπτυξής του (περίοδος ανάπτυξης, κλιματολογικές συνθήκες, γεωγραφική τοποθεσία), τα θρεπτικά συστατικά και η σύσταση του υπολείμματος διαφέρει, ωστόσο πάντα τα περιεχόμενα φαινολικά συστατικά είναι περισσότερα στη φλούδα παρά στη σάρκα [61,62]. Η συνηθέστερη τεχνική διαχείρισης του είναι η απόρριψη σε χωματερές με καταστροφικές για το περιβάλλον συνέπειες καθώς διαθέτει υψηλό οργανικό φορτίο (χημικά και βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο-COD,BOD) [59]. Ακόμα, χρησιμοποιείται και ως ζωοτροφή. Στον Πίνακα 5.7 αναφέρεται μια τυπική σύσταση στερεού υπολείμματος μήλου [57]. Τα μήλα είναι πλούσια σε φαινολικές ενώσεις άρα διαθέτουν υψηλή αντιοξειδωτική και καρδιοπροστατευτική δράση. Τα κυριότερα φαινολικά συστατικά του στερεού υπολείμματος μήλου είναι [57]: επιχατεχίνη, φλοριζίνη, κουερσετίνη, γλωρογενικό οξύ, καφεϊκό οξύ, p-κουμαρικό οξύ, με τα κυριότερα συστατικά (γλωρογενικό οξύ, φλοριζίνη, κατεχίνη, κουαρσετίνη και ρουτίνη, βενζοϊκό οξύ) να ανήκουν στις κατηγορίες: υδροξυκυανικά οξέα, διυδροχαλκόνες, φλαβαν-3-όλες, φλαβονόλες, βενζοϊκά οξέα αντίστοιχα [57]. Ακόμα, είναι πλούσιο σε ανθοκυανίνες και τερπένια (ελαιολικό οξύ) [59]. Τα τερπένια είναι συστατικά με αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές, αντικές δράσεις και προστατεύουν το συκώτι [63]. Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 5.7, το στερεό υπόλειμμα



μήλου χαρακτηρίζεται από υψηλές ποσότητες φυτικών ινών (κυτταρίνη και ημικυτταρίνη). Η κατανάλωση φυτικών ινών έχει ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου καθώς μπορούν να βοηθήσουν στην αντιμετώπιση και την πρόληψη διάφορων ασθενειών όπως στον καρκίνο του εντέρου, στην παχυσαρκία, στο διαβήτη και στα καρδιακά προβλήματα [65].

**Πίνακας 5.7: Τυπική σύσταση στερεού υπολείμματος μήλου [57]**

<b>Συστατικό</b>	<b>Περιεκτικότητα</b>
Υγρασία	9.0%
Λίπος	2.27%
Πρωτεΐνη	2.37%
Τέφρα	1.6%
Υδατάνθρακες	84.7%
Άμυλο	5.6%
Ολικά σάκχαρα	54.2%
Ολικό Άζωτο	6.8g/kg ξ.β.
Ολικός Άνθρακας	6.8 g/kg ξ.β.
Κυτταρίνη	127.9 g/kg ξ.β.
Ημικυτταρίνη	7.2-43.6 g/kg ξ.β.
Λιγνίνη	15.3-23.5 g/kg ξ.β.
Πηκτίνη	3.5-14.3 g/kg ξ.β.
Γλυκόζη	22.7%
Φρουκτόζη	23.6%
Γαλακτόζη	6-15%

Η φλούδα του μήλου είναι πλούσια σε επικατεχίνη, φλοριζίνη και κουερσετίνη [61]. Η κουερσετίνη έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών καθώς έρευνες έχουν μελετήσει την αντιοξειδωτική της δράση στον ανθρώπινο οργανισμό [64]. Για παράδειγμα, οι Dhyani et al (2018) και οι Łata et al (2009), μέσω πειραμάτων ανακάλυψαν πως η φλούδα του μήλου συγκριτικά με την πούλπα και ολόκληρο το φρούτο αντίστοιχα είναι πλουσιότερη σε φαινολικά συστατικά [61,62]. Αναλυτικά, τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 5.8.

**Πίνακας 5.8: Συγκεντρώσεις συστατικών μήλου [61,62]**

<b>Ποικιλία</b>	<b>Μέρος μήλου</b>	<b>Επικατεχίνη</b>	<b>Φλοριζίνη</b>
Golden Delicious	Φλούδα	1.96 mg/g ξ.β.	1.73 mg/g ξ.β.
	Ολόκληρο φρούτο	0.65 mg/g ξ.β.	0.38 mg/g ξ.β.
Gala	Φλούδα	1.99 mg/g ξ.β.	0.85 mg/g ξ.β.
	Ολόκληρο φρούτο	0.58 mg/g ξ.β.	0.13 mg/g ξ.β.
Fuji	Φλούδα	2.57 mg/g ξ.β.	1.81 mg/g ξ.β.
	Ολόκληρο φρούτο	0.75 mg/g ξ.β.	0.34 mg/g ξ.β.
Granny Smith	Φλούδα	2.17 mg/g ξ.β.	1.87 mg/g ξ.β.
	Ολόκληρο φρούτο	0.97 mg/g ξ.β.	0.22 mg/g ξ.β.
Golden Delicious	Φλούδα	20.37-41.24 mg/100g	-
	Πούλπα	10.36-22.21 mg/100g	-
Red Delicious	Φλούδα	34.74-52.97 mg/100g	-
	Πούλπα	13.21-22.45 mg/100g	-

Οι σπόροι μήλου είναι πλούσιοι σε φλοριζίνη [60]. Πρόκειται για φυτοαλεξίνη η οποία παρέχει προστασία στον καρπό από παθογόνα και περιβαλλοντικές μεταβολές και προστασία στα λιπίδια από οξείδωση [60]. Είναι αναγνωρισμένη ως αντιδιαβητικός και αντιοξειδωτικός παράγοντας [60]. Ακόμα, οι σπόροι του μήλου μέσω ψυχρής ή θερμής

έκθλιψης μπορούν να δώσουν έλαιο πλούσιο σε λινολεϊκό οξύ [64]. Σημαντικό είναι να αναφέρουμε πως οι σπόροι μήλου περιέχουν αμυγδαλίνη η οποία είναι τοξική για τον άνθρωπο (δηλητηρίαση από κυάνιο), γεγονός που καθιστά την κατανάλωση στερεού υπολείμματος ύποπτη [59]. Ωστόσο νέες έρευνες αποκαλύπτουν πως η περιεχόμενη στους σπόρους μήλων αμυγδαλίνη είναι ασφαλής για ανθρώπινη κατανάλωση [59].

#### *Εφαρμογές στη βιομηχανία [59]*

Βασικός στόχος της ενσωμάτωσης των παραπροϊόντων μήλου στη βιομηχανία τροφίμων είναι ο εμπλουτισμός των προϊόντων με τα βιοδραστικά συστατικά που περιέχουν τα μήλα (φαινολικά συστατικά και διαιτητικές ίνες). Η εφαρμογή του υπολείμματος ωστόσο μπορεί να επιφέρει ορισμένες μεταβολές στα προϊόντα. Η συνηθέστερη χρήση του υπολείμματος είναι η εξαγωγή της περιεχόμενης πηκτίνης για χρήση ως παράγοντα ζελατινοποίησης [64]. Προσπάθειες έχουν γίνει για ενσωμάτωση στερεού υπολείμματος μήλου σε ψωμί. Η εφαρμογή στερεού υπολείμματος μήλου (5%) είχε την μεγαλύτερη αποδοχή και τα καλύτερα οργανοληπτικά αποτελέσματα σε οσμή και γεύση (Masoodi and Chauhan, 1998). Η εφαρμογή σκόνης υπολείμματος (3%) σε παραδοσιακό ιρακινό ψωμί μείωσε την σκληρότητα του ψωμιού και καθυστέρησε την αλλοίωσή του και, ακόμα, βελτίωσε την οσμή και ήταν αποδεκτό από τους καταναλωτές (Jannati et al., 2018). Η ανάμιξη σκόνης στερεού υπολείμματος μήλου σε μείγμα για κέικ και muffins οδήγησε σε αποδοχή σε οσμή και γεύση, ωστόσο άλλες παράμετροι όπως ο όγκος του κέικ, η ομοιομορφία, η συρρίκνωση εμφανίζουν μείωση ενώ η σκληρότητα εμφανίζει αύξηση. Η εφαρμογή του υπολείμματος σε εξωθημένα προϊόντα δεν επιφέρει αρνητικές μεταβολές στις φυσικές ιδιότητες των σνακ και παράλληλα, βελτιώνει τη διατροφική τους αξία. Ακόμα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για παραγωγή αλκοολούχων ποτών. Συνήθως πραγματοποιείται με ζύμωση στερεής φάσης ή ταυτόχρονη ζύμωση και σακχαροποίηση προς παραγωγή αιθανόλης. Τα παραγόμενα ποτά έχουν καλύτερη γεύση και οσμή (flavor). Τέλος, λόγω του ότι είναι πλούσιο σε λιγνίνη και άζωτο, το στερεό υπόστρωμα μήλου αποτελεί ιδανικό υπόστρωμα παραγωγής βρώσιμων μανιταριών. Το εγχείρημα βρίσκεται ακόμα σε πειραματικό στάδιο.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η βιομηχανία τροφίμων δημιουργεί υψηλές ποσότητες αποβλήτων και απορριμμάτων κατά το στάδιο της μεταποίησης. Οι μονάδες επεξεργασίας φρούτων και λαχανικών παράγουν το μεγαλύτερο όγκο αποβλήτων από κάθε άλλο κλάδο της βιομηχανίας τροφίμων. Επίσης, η καλλιέργεια των περισσότερων φρούτων και λαχανικών που καταλήγουν προς επεξεργασία είναι εποχιακή. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση υπερβολικών ποσοτήτων αποβλήτων σε μικρό χρονικό διάστημα. Ως αποτέλεσμα, δημιουργούνται σημαντικά προβλήματα στους δημόσιους ΧΥΤΑ, εξαιτίας της υψηλής βιο-αποικοδομισιμότητας και της εκπομπής μεθανίου. Αυτά τα απόβλητα συνήθως περιέχουν υψηλή περιεκτικότητα σε αιωρούμενα στερεά και επιδεικνύουν υψηλές τιμές BOD και COD. Η διαχείριση των αποβλήτων αυτών θα πρέπει να γίνεται με γνώμονα το περιβάλλον καθώς ανεξέλεγκτη απόρριψη τους υποβαθμίζει αισθητικά τον αποδεκτή και διαταράσσει το οικοσύστημα της περιοχής. Βέβαια το κόστος της διαχείρισης επιβαρύνει τη μονάδα παραγωγής σε ένα κλάδο όπου τα περιθώρια κέρδους είναι χαμηλά. Είναι αναγκαίο λοιπόν να βελτιωθούν οι κλασσικές μέθοδοι διαχείρισης και να αναπτυχθούν νέες. Μέθοδοι που θα προσφέρουν στον παραγωγό μια νέα πηγή εσόδων, ενώ παράλληλα εξασφαλίζουν ελαχιστοποίηση των αρνητικών προς το περιβάλλον συνεπειών. Η προσπάθεια αυτή απαιτεί συνεργασία επιστημόνων από διάφορα πεδία όπως χημικών, τεχνολόγων τροφίμων, χημικών μηχανικών και βιολόγων. Η καλή συνεργασία των βιομηχανιών τροφίμων είναι απαραίτητη προϋπόθεση για επιτυχή αποτελέσματα, ειδικά στην χώρα μας όπου εμφανίζονται πολλές μικρές μονάδες επεξεργασίας.

Η σύσταση των υποπροϊόντων της βιομηχανίας φρούτων και λαχανικών τα καθιστά συμφέρουσες πρώτες ύλες για την ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών ή την μικροβιακή παραγωγή συστατικών ενδιαφέροντος. Η αξιοποίηση των υποπροϊόντων που παράγονται είναι δύσκολη εξαιτίας του γεγονότος ότι τα υλικά αυτά είναι ευπαθή, αφού υπόκεινται σε μια σειρά χημικών, βιοχημικών και μικροβιολογικών μεταβολών που υποβαθμίζουν την ποιότητα των εν δυνάμει προϊόντων προστιθέμενες αξίας που μπορούν να παραχθούν. Θα πρέπει λοιπόν η αξιοποίηση τους να πραγματοποιείται άμεσα, κάτι που είναι επιτεύξιμο μονάχα στην περίπτωση μεγάλων εγκαταστάσεων με συνεχή παραγωγή.

Αν και υπάρχει εκτεταμένη έρευνα γύρω από το αντικείμενο παρατηρείται έλλειψη στη μελέτη της οικονομίας των διαδικασιών σε μεγάλη κλίμακα, λόγω φυσικών περιορισμών. Επίσης, η βελτιστοποίηση των παραγόντων κάθε διαδικασίας ανάλογα με τη

χρησιμοποιούμενη πρώτη ύλη είναι τομέας που θα πρέπει να ερευνηθεί περαιτέρω. Παράλληλα, θα πρέπει να αποδειχθεί η ευεργετική δράση και η ασφάλεια των λειτουργικών συστατικών που πρόκειται να ενσωματωθούν σε τρόφιμα καθώς και η ασφάλεια οποιαδήποτε προϊόντος θα καταναλωθεί από ανθρώπους ή ζώα.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

### **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

1. Ngoc Bao Dung Thi, Gopalakrishnan Kumar, Chiu-Yue Lin, 2015, An overview of food waste management in developing countries: Current status and future perspective, *Journal of Environmental Management*, Volume 157, Pages 220-229
2. M.C. Coelho, R.N. Pereira, A.S. Rodrigues, J.A. Teixeira, M.E. Pintado, 2020, The use of emergent technologies to extract added value compounds from grape by-products, *Trends in Food Science & Technology*, Volume 106, Pages 182–197
3. K. B. Arun, Aravind Madhavan, Raveendran Sindhu, Parameswaran Binod, Ashok Pandey, Reshmy R , Ranjna Sirohi, 2020, Remodeling agro-industrial and food wastes into value-added bioactives and biopolymers, *Industrial Crops & Products*, Volume 154, 112621
4. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2019, *The State of Food and Agriculture*
5. The European Parliament and the Council of the European Union. regulation (ec) no 1924/2006 of the european parliament and of the council on nutrition and health claims made on foods. *Off J Eur Union*. 2006;404:9-25.

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1**

1. Irene Esparza, Nerea Jimenez-Moreno, Fernando Bimbela, Carmen Ancín-Azpilicueta, Luis M. Gandía, 2020, Fruit and vegetable waste management: Conventional and emerging approaches, *Journal of Environmental Management*, Volume 265, 110510
2. Yingqun Ma, Yu Liu, 2019, Turning food waste to energy and resources towards a great environmental and economic sustainability: An innovative integrated biological approach, *Biotechnology Advances*, Volume 37, 107414
3. Abbas, Abdulhussain & Guo, Jin-Song & Ping, Liu & Ya, Pan & Al-Rekabi, Wisam, 2009, Review on Landfill Leachate Treatments, *American Journal of Applied Sciences*, 6(4), Pages 672-684
4. Safaa M. Raghav, Ahmed M. Abd El Meguid & Hala A. Hegazi, 2013, Treatment of leachate from municipal solid waste landfill, *HBRC Journal*, 9:2, Pages 187-192
5. Semih Otles, Stella Despoudi, Camelia Bucatariu, Canan Kartal, 2015 Chapter 1 Food waste management, valorization, and sustainability in the food industry, *Food Waste Recovery*, Pages 3-23 Academic Press

6. Μαρία Χ. Γιαννακούρου, Σημειώσεις Μαθήματος Αξιοποίηση Παραπροϊόντων Τροφίμων & Διαχείριση αποβλήτων των βιομηχανιών τροφίμων, Διαχείριση στερεών αποβλήτων
7. <https://www.wehrle-werk.de/en/environmental-technology/applications/landfill-leachate>
8. Ngoc Bao Dung Thi, Gopalakrishnan Kumar, Chiu-Yue Lin, 2015, An overview of food waste management in developing countries: Current status and future perspective, Journal of Environmental Management, Volume 157, Pages 220-229
9. Ioannis S. Arvanitoyannis, Theodoros H. Varzakas, 2008, Chapter 9 Fruit/Fruit Juice Waste Management: Treatment Methods and Potential Uses of Treated Waste, Waste Management for the Food Industries, Elsevier
10. Evagelia Tsagaraki, Harris N. Lazarides, Konsantinos B. Petrotos, 2003, Chapter 8 Olive mill wastewater treatment, Utilization of By-Products and Treatment of Waste in the Food Industry, Volume 3, Springer
11. Anil Kumar Anal, 2018, Chapter 1, Food Processing By-Products and their Utilization: Introduction, Food Processing By-Products and their Utilization, Wiley-Blackwell
12. Irene Esparza, Nerea Jimenez-Moreno, Fernando Bimbela, Carmen Ancín-Azpilicueta, Luis M. Gandía, 2020, Fruit and vegetable waste management: Conventional and emerging approaches, Journal of Environmental Management, Volume 265, 110510
13. Ramy Salemdeeb , Erasmus K.H.J. zu Ermgassen, Mi Hyung Kim, Andrew Balmford, Abir Al-Tabbaa, 2017, Environmental and health impacts of using food waste as animal feed: a comparative analysis of food waste management options, Journal of Cleaner Production, Volume 140, Pages 871-880
14. Cecilia J.A., García-Sancho C., Maireles-Torres P.J., Luque R., 2019, Industrial Food Waste Valorization: A General Overview, Biorefinery, Pages 253-280, Springer
15. Poonam Sharma, Vivek Kumar Gaurb, Sang-Hyoun Kim, Ashok Pandey, 2020, Microbial strategies for bio-transforming food waste into resources, Bioresource Technology, Volume 299, 122580
16. Fuqing Xu, Yangyang Li, Xumeng Ge, Liangcheng Yang, Yebo Li, 2018, Anaerobic digestion of food waste – Challenges and opportunities, Bioresource Technology, Volume 247, Pages 1047–1058
17. Ana B. Siles-Castellano, María J. López, Macarena M. Jurado, Francisca Suárez-Estrella, Juan A. López-González, María J. Estrella-González, Joaquín Moreno, 2020, Industrial composting of low carbon/nitrogen ratio mixtures of agri-food waste and impact on compost quality, Bioresource Technology, Volume 316, 123946

18. K. Azim & B. Souidi & S. Boukhari & C. Perissol & S. Roussos & I. Thami Alam, 2018, Composting parameters and compost quality: a literature review, *Organic Agriculture*, Volume 8, Pages 141–158
19. Bernal, M. P., Sommer, S. G., Chadwick, D., Qing, C., Guoxue, L., & Michel, F. C., 2017, Current Approaches and Future Trends in Compost Quality Criteria for Agronomic, Environmental, and Human Health Benefits, *Advances in Agronomy*, Volume 144, Pages 143-233, Academic Press
20. Ngoc Bao Dung Thi, Gopalakrishnan Kumar, Chiu-Yue Lin, 2015, An overview of food waste management in developing countries: Current status and future perspective, *Journal of Environmental Management*, Volume 157, Pages 220-229
21. Zhentong Li, Hongwei Lu, Lixia Ren, Li He, 2013, Experimental and modeling approaches for food waste composting: A review, *Chemosphere*, 93(7), Pages 1247–1257
22. Alejandra Cerda, Adriana Artola, Xavier Font, Raquel Barrena, Teresa Gea, Antoni Sánchez, 2018, Composting of food wastes: Status and challenges, *Bioresource Technology*, Volume 248, Pages 57–67
23. Mukhtar Ahmed, Shakeel Ahmad, Fayyaz-ul-Hassan, Ghulam Qadir, Rifat Hayat, Farid Asif Shaheen and Muhammad Ali Raza, 2019, Innovative Processes and Technologies for Nutrient Recovery from Wastes: A Comprehensive Review, *Sustainability*, Volume 11, 4938
24. R. Yukesh Kannah, J. Merrylin, T. Poornima Devi, S. Kavitha, P. Sivashanmugam, Gopalakrishnan Kumar, J. Rajesh Banu, 2020, Food waste valorization: Biofuels and value added product recovery, *Bioresource Technology Reports*, Volume 11, 100524
25. Kelly M. Kibler, Debra Reinhart, Christopher Hawkins, Amir Mohaghegh Motlagh, James Wright, 2018, Food waste and the food-energy-water nexus: A review of food waste management alternatives, *Waste Management*, Volume 74, Pages 52–62
26. Chenyu Du, Jwan J. Abdullah, Darren Greetham, Danni Fu, Mengyuan Yu, Liwei Ren , Shuang Li, Diannan Lu, 2018, Valorization of food waste into biofertiliser and its field application, *Journal of Cleaner Production*, Volume 187, Pages 273-284
27. Chukwudi O. Onwosi, Victor C. Igbokwe, Joyce N. Odimba, Ifeanyichukwu E. Eke, Mary O. Nwankwoala, Ikemdinachi N. Iroh, Lewis I. Ezeogu, 2017, Composting technology in waste stabilization: On the methods, challenges and future prospects, *Journal of Environmental Management*, Volume 190, Pages 140-157
28. H. Insam, M. de Bertoldi, 2007, Chapter 3 Microbiology of the composting process *Waste Management Series*, Volume 8, Pages 25-48, Elsevier



29. Κωστόγλου Ιωάννα, Πτυχιακή Εργασία: Κομποστοποίηση-Βιομηχανικά και Οικιακά Συστήματα - Η Κατάσταση στην Ελλάδα, Νοέμβριος 2014
30. Thi Phuong Thuy Pham, Rajni Kaushik, Ganesh K. Parshetti, Russell Mahmood, Rajasekhar Balasubramanian, 2015, Food waste-to-energy conversion technologies: Current status and future directions, *Waste Management*, Volume 38, Pages 399–408
31. D. Czajczynska, L. Anguilano, H. Ghazal, R. Krzyzynska, A.J. Reynolds, N. Spencer, H. Jouhara, 2017, Potential of pyrolysis processes in the waste management sector, *Thermal Science and Engineering Progress*, Volume 3, Pages 171–197
32. Soosan Kim, Younghyun Lee, Kun-Yi Andrew Lin, Eunmi Hong, Eilhann E. Kwon, Jechan Lee, 2020, The valorization of food waste via pyrolysis, *Journal of Cleaner Production*, Volume 259, 120816
33. Yunpu Wang, Zihong Zeng, Xiaojie Tian, Leilei Dai, Ling Jiang, Shumei Zhang, Qiuhaowu, Pingwei Wen, Guiming Fu, Yuhuan Liu, Roger Ruan, 2018, Production of bio-oil from agricultural waste by using a continuous fast microwave pyrolysis system, *Bioresource Technology*, Volume 269, Pages 162–168
34. Natalia Kamińska-Pietrzak, Adam Smoliński, 2013, Selected Environmental Aspects of Gasification and co-gasification of Various Types of Waste, *Journal of Sustainable Mining* Volume 12, No. 4, Pages 6-13
35. Antonio Molino, Simeone Chianese, Dino Musmarra, 2016, Biomass gasification technology: The state of the art overview, *Journal of Energy Chemistry*, Volume 25, Pages 10–25
36. Anabel Fernandez, Leandro Rodriguez Ortiz, Daniela Asensio, Rosa Rodriguez, Germán Mazza, 2020, Kinetic analysis and thermodynamics properties of air/steam gasification of agricultural waste, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, Volume 8, 103829
37. Samar Elkhalfifa, Tareq Al-Ansari, Hamish R. Mackey, Gordon McKay, 2019, Food waste to biochars through pyrolysis: A review, *Resources, Conservation & Recycling*, Volume 144, Pages 310–320
38. Metcalf and Eddy, 2018, Μηχανική υγρών αποβλήτων: Επεξεργασία και Επαναχρησιμοποίηση, Κεφάλαια 1,2,4,5,6, , 4<sup>η</sup> Έκδοση, Εκδόσεις Τζιόλα
39. Sperling, Marcos, 2007, Basic Principles of Wastewater Treatment. *Water*, Volume 2 Intelligence Online
40. Περιβαλλοντικές επιπτώσεις από την διαχείριση υγρών αποβλήτων σε κονσερβοποιεία φρούτων και λαχανικών και χυλοποίησης εσπεριδοειδών, Τεχνικό επιμελητήριο Ελλάδας 1999

41. Sogi, Dalbir & Siddiq, Muhammad, 2011, Chapter 21 Waste Management and Utilization in Vegetable Processing, Handbook of Vegetables and Vegetable Processing, Pages 423-440, Wiley-Blackwell
42. Άλκηστης- Θεοδώρα Λέκκα, 2013, Επεξεργασία υγρών αποβλήτων: περιγραφή και λειτουργία μονάδας επεξεργασίας λυμάτων Ιωάννινων
43. Marcos von Sperling, 2007, Biological Wastewater Treatment Series Volume 1, Wastewater Characteristics, Treatment and Disposal, Chapter 4 Overview of wastewater treatment systems, Chapter 5 Overview of sludge treatment and disposal, Pages 163-277, IWA Publishing, (2007)
44. Woodard & Curran Inc, 2006, Industrial waste treatment handbook, Second Edition Chapters 7 Methods for Treating Wastewaters from Industry, Chapter 10 Wastes from Industries (Case Studies), Pages 149-334, 409-496, Elsevier
45. Liquid wastes from canning and freezing fruits and vegetables, National Service Center for Environmental Publications (NSCEP) (1971)
46. Ni, Bing-Jie & Pan, Yuting & Guo, Jianhua & Viridis, Bernardino & Hu, Shihu & Chen, Xueming & Yuan, Zhiguo, 2016, Denitrification Processes for Wastewater Treatment.
47. Τεχνική Περιβάλλοντος, Ενότητα 7: Βιολογικές διεργασίες αιωρούμενης βιομάζας Ευθύμιος Νταρακάς, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2**

1. R. Yukesh Kannah, J. Merrylin, T. Poornima Devi, S. Kavitha, P. Sivashanmugam, Gopalakrishnan Kumar, J. Rajesh Banu, 2020, Food waste valorization: Biofuels and value added product recovery, Bioresource Technology Reports, Volume 11, 100524
2. Gunther Pesta, 2007, Chapter 4 Anaerobic Digestion of Organic Residues and Wastes, Utilization of By-Products and Treatment of Waste in the Food Industry, Volume 3, Pages 53-72, Springer
3. Yingqun Ma, Yu Liu, 2019, Turning food waste to energy and resources towards a great environmental and economic sustainability: An innovative integrated biological approach, Biotechnology Advances, Volume 37, 107414

4. Irene Esparza , Nerea Jimenez-Moreno, Fernando Bimbela, Carmen Ancín-Azpilicueta, Luis M. Gandía, 2020, Fruit and vegetable waste management: Conventional and emerging approaches, *Journal of Environmental Management*, Volume 265, 110510
5. Kelly M. Kibler, Debra Reinhart, Christopher Hawkins, Amir Mohaghegh Motlagh , James Wright, 2018, Food waste and the food energy water nexus a review of food waste management alternatives, *Waste Management*, Volume 74, Pages 52–62
6. Fuqing Xu, Yangyang Li, Xumeng Ge, Liangcheng Yang, Yebo Li, 2018, Anaerobic digestion of food waste challenges and opportunities, *Bioresource Technology*, Volume 247, Pages 1047–1058
7. Δέλιος Κυριάκος, Κουτρούλης Αλέξανδρος, Χηντήρη Ελένη, 2014, Διπλωματική Εργασία: Επεξεργασία οργανικών αποβλήτων για παραγωγή ενέργειας
8. Thi Phuong Thuy Pham, Rajni Kaushik, Ganesh K. Parshetti, Russell Mahmood, Rajasekhar Balasubramanian, 2015, Food waste-to-energy conversion technologies: Current status and future directions, *Waste Management*, Volume 38, Pages 399–408
9. Μαρία Χ. Γιαννακούρου, Σημειώσεις Μαθήματος Αξιοποίηση Παραπροϊόντων Τροφίμων & Διαχείριση αποβλήτων των βιομηχανιών τροφίμων, Προεπεξεργασία υγρών βιομηχανικών αποβλήτων
10. D. Rutz, R. Janssen, 2007, Chapter 5 Bioethanol, Chapter 9 Biohydrogen , *Biofuel technology handbook*, Pages 40-72, 120-122, WIP Renewable Energies
11. S. Hegde, J.S. Lodge, T.A. Trabold, 2018, Characteristics of food processing wastes and their use in sustainable alcohol production, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 81, Pages 510-523
12. Rouf Ahmad Dar, Mudasir Yaqoob, Manisha Parmar, Urmila Gupta Phutela, 2019, Chapter 10 Biofuels from Food Processing Waste, *Microbial Fuel Cells: Materials and Applications*, Pages 249-289, Materials Research Forum LLC
13. T. H. Kao, B. H. Chen, 2013, Chapter 18 Fruits and Vegetables, *Valorization of food processing by-products*, Pages 517-558, CRC Press
14. M. Balat, 2011, Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review, *Energy Conversion and Management*, Volume 52, Pages 858-875
15. S. Dhiman, G. Mukherjee, 2020, Present scenario and future scope of food waste to biofuel production, *Journal of food process engineering*, Volume 44
16. M. M. Khandaker, U. A. Abdullahi, 2020, Bio-Ethanol Production from Fruit and Vegetable Waste by Using *Saccharomyces cerevisiae*

17. G. Molina, V. Gupta, B. Singh, N. Gathergood, 2019, Chapter 20 Bioethanol Production from Fruit and Vegetable Wastes, *Bioprocessing for Biomolecules Production*, Wiley-Blackwell
18. <https://www.birmingham.ac.uk/research/activity/bio-hydrogen/index.aspx>
19. Rouf Ahmad Dar, Mudasir Yaqoob, Manisha Parmar, Urmila Gupta Phutela, 2019, Chapter 10 Biofuels from Food Processing Waste, *Microbial Fuel Cells: Materials and Applications*, Pages 249-289, Materials Research Forum LLC
20. W. Cieciora-Włoch, S. Borowski A. Otlewska, 2020, Biohydrogen production from fruit and vegetable waste, sugar beet pulp and corn silage via dark fermentation, *Renewable Energy*, Volume 153, Pages 1226-1237
21. R.Lukajtisa, I. Hołowacza, K. Kucharska, 2018, Hydrogen production from biomass using dark fermentation, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Volume 91, Pages 665-694
22. Mark D.Redwood, 2012, An integrated biohydrogen refinery: Synergy of photofermentation, extractive fermentation and hydrothermal hydrolysis of food wastes, *Bioresource Technology*, Volume 119, Pages 384-392
23. Reungsang, Alissara et al., 2018, Chapter 7 Hydrogen from Photo Fermentation, *Bioreactors for Microbial Biomass and Energy Conversion*, Pages 221-317, Springer
24. F. Dalena, 2017, Chapter 17 Bioenergy production from second- and third-generation feedstocks, *Bioenergy Systems for the Future*, Pages 559-599, Woodhead Publishing
25. B. Uyar, 2007, Effect of light intensity, wavelength and illumination protocol on hydrogen production in photobioreactors, *International Journal of Hydrogen Energy*, Volume 32, Pages 4670-4677
26. Majid Hosseini, 2019, Chapter 15 Biohydrogen Production From Renewable Resources, *Advanced Bioprocessing for Alternative Fuels, Biobased Chemicals, and Bioproducts*, Pages 289-312, Woodhead Publishing
27. G. Balachandar, Namita Khanna, Debabrata Das, 2013, Chapter 6 Biohydrogen Production from Organic Wastes by Dark Fermentation, *Biohydrogen*, Elsevier
28. E. Elbeshbishy, 2017, A critical review on inhibition of dark biohydrogen fermentation, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 79, Pages 656-668
29. Sinha, Rajiv, Herat, Sunil, Valani, Dalsukhbhai, Chauhan, Krunalkumar, 2009, Earthworms Vermicompost: A Powerful Crop Nutrient over the Conventional Compost & Protective Soil Conditioner against the Destructive Chemical Fertilizers for Food Safety

and Security, American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, Volume 5 Number S

30. V.K. Garg, S. Suthar, Anoop Yadav, 2012, Management of food industry waste employing vermicomposting technology, Bioresource Technology, Volume 126, Pages 437–443
31. N.Othman, J.M. Irwan, Roslan, M. A, 2012, Vermicomposting of Food Waste, International Journal of Integrated Engineering, Volume ,4 No. 2, Pages 39-48
32. Monireh Majlessi, Akbar Eslami, Hossein Najafi Sale/h, Simin Mirshafieean and Sara Babaii, 2012, Vermicomposting of food waste: assessing the stability and maturity, Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering , 9:25
33. Hossein Alidadi, Ahmad Hosseinzadeh, Ali Asghar Najafpoor, Habibollah Esmaili, Jafar Zanganeh, Maryam Dolatabadi Takabi, Fardin Ghasemy Piranloo, 2016, Waste recycling by vermicomposting: Maturity and quality assessment via dehydrogenase enzyme activity, lignin, water soluble carbon, nitrogen, phosphorous and other indicators, Journal of Environmental Management, Volume 182, Pages 134-140
34. Cristina Lazcano, María Gómez-Brandón, Jorge Domínguez, 2008, Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure, Chemosphere, Volume 72, Pages 1013–1019
35. Su Lin Lim, Leong Hwee Lee, Ta Yeong Wu, 2016, Sustainability of using composting and vermicomposting technologies for organic solid waste biotransformation: recent overview, greenhouse gases emissions and economic analysis, Journal of Cleaner Production, Volume 111, Pages 262-278
36. Kiyohiko Nakasaki, Hiroshi Mimoto, Quyen Ngoc Minh Tran, Akiko Oinuma, 2015, Composting of food waste subjected to hydrothermal pretreatment and inoculated with *Paecilomyces* sp. FA13, Bioresource Technology, Volume 180, Pages 40-46
37. S. Ewanick, R. Bura, 2010, Chapter 1, Hydrothermal pretreatment of lignocellulosic biomass, Biolalcohol production, Biochemical conversion of lignocellulosic biomass Pages 3-18, Woodhead Publishing Limited

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3**

1. J. Azmir, I.S.M. Zaidul, M.M. Rahman, K.M. Sharif, A. Mohamed, F. Sahena, M.H.A. Jahurul, K. Ghafoor, N.A.N. Norulaini, A.K.M. Omar, 2013, Techniques for extraction of

- bioactive compounds from plant materials, *Journal of Food Engineering*, Volume 117, Pages 426–436
2. Xiana Rico, Beatriz Gullón, José Luis Alonso, Remedios Yáñez, 2020, Recovery of high value-added compounds from pineapple, melon, *Food Research International*, Volume 132, 109086
  3. Simone Mazzutti, Rozangela Curi Pedrosa, and Sandra Regina Salvador Ferreira, 2021, Green processes in foodomics. Supercritical Fluid Extraction of Bioactives, *Comprehensive Foodomics*, Volume 2, Pages 725-743
  4. Jasminka Giacometti, Danijela Bursać Kovačević, Predrag Putnikb, Domagoj Gabrić, Tea Bilušić, Greta Krešić, Višnja Stulić, Francisco J. Barba, Farid Chemat, Gustavo Barbosa-Cánovas, Anet Režek Jambrak, 2018, Extraction of bioactive compounds and essential oils from Mediterranean herbs by conventional and green innovative techniques: A review, *Food Research International*, Volume 113, Pages 245-262
  5. Azwanida, 2015, A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation, *Med Aromat Plants*, 4:3
  6. Sukhdev Swami Handa, Suman Preet Singh Khanuja, Gennaro Longo, Dev Dutt Rakesh, 2008, Extraction technologies for medicinal and aromatic plants, *International Centre for Science and High Technology*
  7. Ειρήνη Φ. Στρατή, Μελέτη Μεθόδων Παραλαβής Καροτενοειδών από Παραπροϊόντα Τομάτας, Διδακτορική Διατριβή, (2014)
  8. M.D. Luque de Castro, F.Priego-Capote, 2010, Soxhlet extraction: Past and present panacea, *Journal of Chromatography*, Volume 1217, Pages 2383-2389
  9. M.D. Luque de Castro , L.E. Garcia-Ayuso, 1998, Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *Analytica Chimica Acta*, Volume 369, Pages 1-10
  10. [http://www.chem.ualberta.ca/~orglabtutorials/Interactive%20Tutorials/separation/Theory/theory6\\_2.htm](http://www.chem.ualberta.ca/~orglabtutorials/Interactive%20Tutorials/separation/Theory/theory6_2.htm)
  11. Thi Phuong Thuy Pham, Rajni Kaushik, Ganesh K. Parshetti, Russell Mahmood, Rajasekhar Balasubramanian, 2015, Food waste to energy conversion technology, *Waste Management*, Volume 38, Pages 399-408
  12. Rui M.S. Cruz, Romilson Brito, Petros Smirniotis, Zoe Nikolaidou, Margarida C. Vieira, 2017, Chapter 11 Extraction of bioactive compounds from olive leaves using emergent technologies, *Ingredients Extraction by Physicochemical Methods in Food*, *Handbook of Food Bioengineering*, Volume 4, Pages 441-463, Academic Press

13. S. A. Moreira, E.M.C. Alexandre, 2019, Effect of emergent non-thermal extraction technologies on bioactive individual compounds profile from different plant materials, *Food Research International* Volume 115, Pages 177–190
14. R. A. Wahab, 2018, An overview of cosmeceutically relevant plant extracts and strategies for extraction of plant-based bioactive compounds, *Food and Bioproducts Processing*, Volume 112, Pages 69–85
15. K. Kumar, 2021, Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review, *Ultrasonics – Sonochemistry*, Volume 70, 105325
16. Raza, F. Li, X. Xu, J. Tang, 2017, Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant polysaccharides from the stem of *Trapa quadrispinosa* using response surface methodology, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 94, Pages 335–344
17. B.B.V. Guandalini, N.P. Rodrigues, L.D.F. Marczak, 2019, Sequential extraction of phenolics and pectin from mango peel assisted by ultrasound, *Food research international*, Volume 119, Pages 455–461
18. R. Minjares-Fuentes, A. Femenia, M.C. Garau, J.A. Meza-Velázquez, S. Simal, C. Rosselló, 2014, Ultrasound-assisted extraction of pectins from grape pomace using citric acid: a response surface methodology approach, Volume 106, Pages 179–189
19. Brijesh K.Tiwari, September 2015, Ultrasound: A clean, green extraction technology, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* Volume 71, Pages 100-109
20. Y. Xu, L. Zhang, Y. Bailina, Z. Ge, T. Ding, X. Ye, D. Liu, 2014, Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel, *Journal of Food Engineering*, Volume 126, Pages 72–81
21. K. Ghafoor, Y.H. Choi, J.Y. Jeon, I.H. Jo, 2009, Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(11), Pages 4988–4994
22. Rocío Gallego, Monica Bueno, Miguel Herrero, 2019, Sub- and supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plants, food-by-products, seaweeds and microalgae - An update, *Trends in Analytical Chemistry*, 116, Pages 198-213
23. Francisco J. Barba, Zhenzhou Zhu, Mohamed Koubaa, Anderson S. Sant'Ana, Vibeke Orlien, 2016, Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review, *Trends in Food Science & Technology* 49, Pages 96-109

24. Chigozie Louis Okoliea, Taiwo O. Akanbib, Beth Masona, Chibuiké C. Udenigwec, Alberta N.A. Aryee, 2019, Influence of conventional and recent extraction technologies on physicochemical properties of bioactive macromolecules from natural sources: A review, *Food Research International*, 116, Pages 827-839
25. Alvarez-Rivera Gerardo, 2019, *Liquid-Phase Extraction*, Chapter 14, Elsevier
26. Turner C. *Separation*, 2013, *Extraction and Concentration Processes in the Food, Beverage and Nutraceutical Industries*, Chapter 2, Pages 39–70, Woodhead Publishing
27. Arwa Mustafa, Charlotta Turner, 2011, Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review, *Analytica Chimica Acta*, 703(1), Pages 8-18
28. Vigano, Juliane, Brumer, 2016, Integration of pressurized liquids and ultrasound in the extraction of bioactive compounds from passion fruit rinds: Impact on phenolic yield, extraction kinetics and technical-economic evaluation, *Food and Bioprocess Processing* Vol. 100, Pages 382-390
29. Pronyk; G. Mazza, 2009, Design and scale-up of pressurized fluid extractors for food and bioproducts, *Journal of Food Engineering*, 95(2), Pages 215–226
30. Shafat A. Khan, Rouf Aslam, Hilal A. Makroo, 2018, High pressure extraction and its application in the extraction of bio-active compounds: A review, *Journal of Food Process Engineering*, Volume 42, Issue 1, e12896
31. Shouqin, Zhang & Jun, Xi & Changzheng, Wang, 2005, High hydrostatic pressure extraction of flavonoids from propolis, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 80:1, Pages 50-54
32. R. Casquete, S.M. Castro, M.C. Villalobos, M.J. Serradilla, R.P. Queirós, J.A. Saraiva, M.G. Córdoba & P. Teixeira, 2014, High pressure extraction of phenolic compounds from citrus peels, *High Pressure Research*, 34:4, Pages 447-451
33. M.C. Coelho a, R.N. Pereira, A.S. Rodrigues, J.A. Teixeira, M.E. Pintado, 2020, The use of emergent technologies to extract added value compounds from grape by-products, *Trends in Food Science & Technology*, 106, Pages 182-197
34. Jun Xi, Zongming Li & Yang Fan, 2021, Recent advances in continuous extraction of bioactive ingredients from food-processing wastes by pulsed electric fields, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(10), Pages 1738-1750
35. Marta Coelho, Ricardo Pereira, António S. Rodrigues, José A. Teixeira, Manuela E. Pinadto, 2019, Extraction of tomato by-products' bioactive compounds using ohmic technology, *Food and Bioprocess Processing*, 117, Pages 329–339



36. Nadia Boussetta, Eugène Vorobiev, 2014, Extraction of valuable biocompounds assisted by high voltage electrical discharges: A review, *Comptes Rendus Chimie*, 17, Pages 197-203
37. N. Boussetta, E. Vorobiev, V. Deloison, F. Pochez, A. Falcimaigne-Cordin, J.-L. Lanoisellé, 2011, Valorisation of grape pomace by the extraction of phenolic antioxidants: Application of high voltage electrical discharges, *Food Chemistry*, 128, Pages 364–370
38. Elena Roselló-Soto & Francisco J. Barba & Oleksii Parniakov & Charis M. Galanakis & Nikolai Lebovka & Nabil Grimi & Eugène Vorobiev, 2015, High Voltage Electrical Discharges, Pulsed Electric Field, and Ultrasound Assisted Extraction of Protein and Phenolic Compounds from Olive Kernel, *Food Bioprocess Technology*, 8:4, Pages 885–894
39. Sandesh J Marathe, Swati B Jadhav, Sandip B Bankar, Kriti Kumari Dubey, Rekha S Singhal, 2019, Improvements in the extraction of bioactive compounds by enzymes, *Current Opinion in Food Science*, Volume 25, Pages 62-72
40. Chigozie Louis Okolie, Taiwo O. Akanbi, Beth Mason, Chibuikwe C. Udenigwe, Alberta N.A. Aryee, 2019, Influence of conventional and recent extraction technologies on physicochemical properties of bioactive macromolecules from natural sources: A review, *Food Research International*, Volume 116, Pages 827-839
41. Macedo, Gabriela & Junior, Joseph., 2020, Integrating Biological Processing and Emerging Technologies for Polyphenol Extraction: A Review of Latest Developments, *Innovative Food Processing Technologies*, Volume 3, Pages 183-189
42. Shamraja S. Nadar, Priyanka Rao, Virendra K. Rathod, 2018, Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review, *Food Research International*, Volume 108, Pages 309-330
43. Βασιλογιάννη Ειρήνη Σοφία, 2020, Ενζυμικά υποβοηθούμενη εκχύλιση βιοδραστικών μορίων από το άγριο τριαντάφυλλο (*Rosa Canina L.*), Διπλωματική Εργασία
44. Mohamad, Nur Royhaila; Marzuki, Nur Haziqah Che; Buang, Nor Aziah; Huyop, Fahrul; Wahab, Roswanira Abdul, 2015, An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(2), Pages 205–220.
45. Munish Puri, 2017, *Food Bioactives Extraction and Biotechnology Applications*, Chapter 8, Springer International Publishing

46. Antonio Zuorro, Marcello Fidaleo, Roberto Lavecchia, 2011, Enzyme-assisted extraction of lycopene from tomato processing waste, *Enzyme and Microbial Technology*, Volume 49, Issues 6–7, Pages 567-573
47. Carlos Sabater, Víctor Sabater, Agustín Olano, Antonia Montilla, Nieves Corzo, 2020, Ultrasound-assisted extraction of pectin from artichoke by-products. An artificial neural network approach to pectin characterisation, *Food Hydrocolloids*, Volume 98
48. Anuradha Saini, Parmjit S. Panesar, 2020, Beneficiation of food processing by-products through extraction of bioactive compounds using neoteric solvents, *LWT, Food Science and Technology* 134, 110263
49. Joan F. Brennecke; Edward J. Maginn, 2001, Ionic liquids: Innovative fluids for chemical processing, *AIChE Journal*, 47(11), Pages 2384–2389
50. Thuy Pham, T. P., Cho, C.-W., & Yun, Y.-S., 2010, Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review. *Water Research*, 44(2), Pages 352–372.
51. Álvaro Silva Lima, Cleide Mara Faria Soares, Renate Paltram, Heidi Halbwirth, Katharina Bica, 2017, Extraction and consecutive purification of anthocyanins from grape pomace using ionic liquid solutions, *Fluid Phase Equilibria*, Volume 451, Pages 68-78
52. Larriba, M., Omar, S., Navarro, P., García, J., Rodríguez, F., & Gonzalez-Miquel, M., 2016, Recovery of tyrosol from aqueous streams using hydrophobic ionic liquids: a first step towards developing sustainable processes for olive mill wastewater (OMW) management, *RSC Advances*, 6(23), Pages 18751–18762
53. Arrahman, Arif, Sigalingging, Efendy, Trinovita, Elsa, Saputri, Fadlina Chany, & Mun'im, Abdul, 2020, Utilization of [Bmim]BF<sub>4</sub>-MAE on enhancement of  $\gamma$ -oryzanol extraction from rice bran and its tyrosinase inhibitory activity, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56, e18115
54. Shan Qin Liew, Gek Cheng Ngoh, Rozita Yusoff, Wen Hui Teoh, 2018, Acid and Deep Eutectic Solvent (DES) extraction of pectin from pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) peels, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, Volume 13, Pages 1-11
55. Sujata S. Patil, Ajay Pathak, Virendra K. Rathod, 2021, Optimization and kinetic study of ultrasound assisted deep eutectic solvent based extraction: A greener route for extraction of curcuminoids from *Curcuma longa*, *Ultrasonics Sonochemistry*, Volume 70, 105267
56. Marina Cvjetko Bubalo, Natka Čurko, Marina Tomašević, Karin Kovačević Ganić, Ivana Radojčić Redovniković, 2016, Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents, *Food Chemistry*, Volume 200, Pages 159-166

57. Antonela Ninčević Grassino, Mladen Brnčić, Dražen Vikić-Topić, Sunčica Roca, Maja Dent, Suzana Rimac Brnčić, 2016, Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste, *Food Chemistry*, Volume 198, Pages 93-100
58. Kumcuoglu, S., Yilmaz, T., & Tavman, S., 2014, Ultrasound assisted extraction of lycopene from tomato processing wastes, *Journal of food science and technology*, 51(12), Pages 4102–4107
59. Savic Gajic, Ivana & Savic, Ivan & Gajic, Dragoljub & Dosic, Aleksandar, 2021, Ultrasound-Assisted Extraction of Carotenoids from Orange Peel Using Olive Oil and Its Encapsulation in Ca-Alginate Beads, *Biomolecules*, 11(2), 225
60. I.G. Moorthy, J.P. Maran, S. Muneeswari, S. Naganyashree, C.S. Shivamathi, 2015, Response surface optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from pomegranate peel, *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, Pages 1323–1328
61. S. Şahin, R. Şamlı, 2013, Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology, *Ultrasonic Sonochemistry*, 20(1), Pages 595–602.
62. M.R. González-Centeno, K. Knoerzer, H. Sabarez, S. Simal, C. Rosselló, A. Femenia, 2014, Effect of acoustic frequency and power density on the aqueous ultrasonic-assisted extraction of grape pomace (*Vitis vinifera* L.)—a response surface approach, *Ultrasonic Sonochemistry*, 21(6), Pages 2176–2184.
63. X. Li, X. He, Y. Lv, Q. He, 2014, Extraction and functional properties of water-soluble dietary fiber from apple pomace, *Journal of Food Process Engineering*, 37(3), Pages 293–298
64. Athanasia M. Goula, Maria Ververi, Anna Adamopoulou, Kyriakos Kaderides, 2017, Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils, *Ultrasonics Sonochemistry*, Volume 34, Pages 821-830
65. Predrag Putnik, Francisco J. Barba, Ivana Španić, Zoran Zorić, Verica Dragović-Uzelac, Danijela Bursać Kovačević, 2017, Green extraction approach for the recovery of polyphenols from Croatian olive leaves (*Olea europea*), *Food and Bioproducts Processing*, Volume 106, Pages 19-28
66. Cea Pavez, I.; Lozano-Sánchez, J.; Borrás-Linares, I.; Nuñez, H.; Robert, P.; Segura-Carretero, A., 2019, Obtaining an Extract Rich in Phenolic Compounds from Olive Pomace by Pressurized Liquid Extraction. *Molecules*, 24, 3108

67. Hilde Wijngaard; Nigel Brunton, 2009, The Optimization of Extraction of Antioxidants from Apple Pomace by Pressurized Liquids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(22), Pages 10625-10631
68. Naviglio D, Caruso T, Iannece P, Aragón A, Santini A., 2008, Characterization of high purity lycopene from tomato wastes using a new pressurized extraction approach, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), Pages 6227-6231.
69. Antonela Ninčević Grassino, Jelena Ostojić, Vicenzia Miletic, Senka Djaković, Tomislav Bosiljkov, Zoran Zorić, Damir Ježek, Suzana Rimac Brnčić, Mladen Brnčić, 2020, Application of high hydrostatic pressure and ultrasound-assisted extractions as a novel approach for pectin and polyphenols recovery from tomato peel waste, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Volume 64, 102424
70. Jun Xi, 2006, Effect of High Pressure Processing on the Extraction of Lycopene in Tomato Paste Waste, *Chemical Engineering & Technology*, 29, Pages 736-739
71. De la Peña-Armada, R.; Villanueva-Suárez, M.J.; Rupérez, P.; Mateos-Aparicio, I., 2020, High Hydrostatic Pressure Assisted by Celluclast® Releases Oligosaccharides from Apple By-Product. *Foods* 9:8, 1058
72. Aline Soares Cascaes Teles, Davy William Hidalgo Chávez, Maria Alice Zarur Coelho, Amauri Rosenthal, Leda Maria Fortes Gottschalk, Renata Valeriano Tonon, 2021, Combination of enzyme-assisted extraction and high hydrostatic pressure for phenolic compounds recovery from grape pomace, *Journal of Food Engineering*, Volume 288, 110128
73. Animesh Singh Sengar, Ashish Rawson, Manimekalai Muthiah, Suresh Kumar Kalakandan, March 2020, Comparison of different ultrasound assisted extraction techniques for pectin from tomato processing waste, *Ultrasonics Sonochemistry*, Volume 61, 104812
74. Derya KoçakYanık, April 2017, Alternative to traditional olive pomace oil extraction systems: Microwave-assisted solvent extraction of oil from wet olive pomace, *LWT-Food Science Technology*, Volume 77, Pages 45-51
75. Tao Wu, Jun Yan, Ronghua Liu, Massimo F.Marccone, Haji Akber Aisa, Rong Tsao, 15 August 2012, Optimization of microwave-assisted extraction of phenolics from potato and its downstream waste using orthogonal array design, *Food Chemistry*, Volume 133, Issue 4, Pages 1292-1298
76. José Pinela, M.A.Prieto, Ana Maria Carvalho, Maria Filomena Barreiro, M. Beatriz P.P. Oliveira, Lillian Barros, Isabel C.F.R. Ferreira, 30 May 2016, Microwave-assisted

extraction of phenolic acids and flavonoids and production of antioxidant ingredients from tomato: A nutraceutical-oriented optimization study, Separation and Purification Technology, Volume 164, Pages 114-124

77. Hiba N.Rajha, Anna-Maria Abi-Khattar, Sally El Kantar, Nadia Boussetta, Nikolai Lebovka, Richard G.Maroun, Nicolas Louka, Eugene Vorobiev, December 2019, Comparison of aqueous extraction efficiency and biological activities of polyphenols from pomegranate peels assisted by infrared, ultrasound, pulsed electric fields and high-voltage electrical discharges, Innovative Food Science & Emerging Technologies, Volume 58, 102212
78. Fouad Almohammed, Mohamed Koubaa, Anissa Khelfa, Matheus Nakaya, Houcine Mhemdi, Eugène Vorobiev, 2017, Pectin recovery from sugar beet pulp enhanced by high-voltage electrical discharges, Food and Bioproducts Processing, Volume 103, Pages 95-103
79. [https://www.manischemicals.com/el/syskevi-soxhlet/750-3849-%CF%83%CF%85%CF%83%CE%BA%CE%B5%CF%85%CE%AE-soxhlet.html?fbclid=IwAR38xBpEexzKCILxb68amaPvzK4aqdajh1pGdMPXOouhDuNwsdXB3kS5f\\_o](https://www.manischemicals.com/el/syskevi-soxhlet/750-3849-%CF%83%CF%85%CF%83%CE%BA%CE%B5%CF%85%CE%AE-soxhlet.html?fbclid=IwAR38xBpEexzKCILxb68amaPvzK4aqdajh1pGdMPXOouhDuNwsdXB3kS5f_o)
80. J. Singh, 2008, Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants Chapter 3: Maceration, Percolation and Infusion Techniques for the Extraction of Medicinal and Aromatic Plants, International Centre for Science and High Technology, Pages 67-82,

#### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4**

1. Βασίλης Σπηλιώτης, Ανθιμία Μπατρίνου, 2014, Βιομηχανική Μικροβιολογία, Κεφάλαιο 4,10, σελίδες 43-70, 137-164, Εκδόσεις Δίσιγμα
2. Mondal, A.K. & Sengupta, Samadrita & Bhowal, J. & Bhattacharya, D.K., 2012, Utilization of fruit wastes producing single cell protein. International Journal of Science Environment and Technology, 1:5, Pages 430-438
3. Teresa Gervasi, Vito Pellizzeri, Giorgio Calabrese, Giuseppa Di Bella, Nicola Cicero & Giacomo Dugo, 2018, Production of single cell protein (SCP) from food and agricultural waste by using *Saccharomyces cerevisiae*, Natural Product Research, 32:6, Pages 648-653,
4. Mondal, A.K. & Sengupta, Samadrita & Bhowal, J. & Bhattacharya, D.K., 2012, Utilization of fruit wastes producing single cell protein, International Journal of Science Environment and Technology, 1:5, Pages 430-438

5. Kelechi M. Ukaegbu-Obi, 2016, Single Cell Protein: A Resort to Global Protein Challenge and Waste Management, *Journal of Microbiology & Microbial Technology*, 1:1, Pages 1-5
6. Upadhyaya, Suman & Tiwari, Shashank & Arora, Naveen & Singh, D P., 2016, Chapter 12 Microbial Protein: A Valuable Component for Future Food Security, *Microbed and Environmental Management*, Stadium Press
7. A.T, Nasserri & Rasoul-Amini, Sara & Morowvat, Mohammad Hossein & Younes, Ghasemi, 2011, Single Cell Protein: Production and Process. *American Journal of Food Technology*, 6(2)
8. Panda, S. K., Mishra, S. S., Kayitesi, E., Ray, R. C., 2016, Microbial-processing of fruit and vegetable wastes for production of vital enzymes and organic acids: Biotechnology and scopes, *Environmental Research* 146, Pages 161–172
9. Anu Shree Varshney, 2016, Production, Comparative and Quantitative Analysis of Citric acid by *Aspergillus niger* using Food Waste as a Substrate, *Journal of Experimental Food Chemistry*, 2:4, 1000121
10. Omkar Sawant, Sagar Mahale, Vanitha Ramchandran, Geetha Nagaraj and Ashok Bankar, 2018, Fungal citric acid production using waste materials: a mini-review, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 8(2), Pages 821-828
11. Pau Loke Show, Kehinde Opeyemi Oladele, Qi Yan Siew, Fitri Abdul Aziz Zakry, John Chi-Wei Lan & Tau Chuan Ling, 2015, Overview of citric acid production from *Aspergillus niger*, *Frontiers in Life Science*, 8:3, Pages 271-283
12. Juliana Romo-Buchelly, María Rodríguez-Torres, 2019, Biotechnological valorization of agro industrial and household wastes for lactic acid production, *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. XXI, no. 1, Pages 83-97
13. Veeresh Juturu & Jin Chuan Wu, Microbial production of lactic acid: the latest development, 2016, *Critical Reviews in Biotechnology*, 36:6, Pages 967-977
14. Mohamed Ali, Abdel-Rahman, Yukihiro Tashiro, Kenji Sonomoto, 2013, Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes, *Biotechnology Advances* 31, Pages 877–902
15. Σπυρίδων Ε. Παπαδάκης, 2018, Συσκευασία τροφίμων, Κεφάλαιο 9, 2<sup>η</sup> Έκδοση, Εκδόσεις Τζιόλα, σελ. 239-258
16. Yiu Fai Tsang, Vanish Kumar, Pallabi Samadar, Yi Yang, Jechan Lee, Yong Sik Ok, Hocheol Song, Ki-Hyun Kim, Eilhann E. Kwon, Young Jae Jeon, 2019, Production of

- bioplastic through food waste valorization, *Environment International*, Volume 127, Pages 625-644
17. Nielsen, C., Rahman, A., Rehman, A. U., Walsh, M. K., & Miller, C. D., 2017, Food waste conversion to microbial polyhydroxyalkanoates. *Microbial biotechnology*, 10(6), Pages 1338–1352
  18. Cesário MT, Raposo RS, de Almeida MC, van Keulen F, Ferreira BS, da Fonseca MM., 2014, Enhanced bioproduction of poly-3-hydroxybutyrate from wheat straw lignocellulosic hydrolysates, *New Biotechnology*, 31(1), Pages 104-113
  19. Raveendran, Sindhu & Silviya, Nagapoomam & Parameswaran, Binod & Pandey, Ashok., 2013, Pentose rich hydrolysate from acid pretreated rice straw as a carbon source for the production of poly-3-hydroxybutyrate, *Biochemical Engineering Journal*, 78, Pages 67-72
  20. Zhang, You-Hong & Sun, Wandong & Wang, Hengwei & Geng, Anli., 2013, Polyhydroxybutyrate production from oil palm empty fruit bunch using *Bacillus megaterium* R11, *Bioresource technology*. 147C, Pages 307-314
  21. James L. Waller, Peter G. Green, Frank J. Loge, 2012, Mixed-culture polyhydroxyalkanoate production from olive oil mill pomace, *Bioresource Technology*, Volume 120, Pages 285-289
  22. Sabrina Campanari, Floriana Augelletti, Simona Rossetti, Fabio Sciubba, Marianna Villano, Mauro Majone, 2017, Enhancing a multi-stage process for olive oil mill wastewater valorization towards polyhydroxyalkanoates and biogas production, *Chemical Engineering Journal*, Volume 317, Pages 280-289
  23. Sanjay K.S. Patel, Prasun Kumar, Mamtesh Singh, Jung-Kul Lee, Vipin C. Kalia, 2015, Integrative approach to produce hydrogen and polyhydroxybutyrate from biowaste using defined bacterial cultures, *Bioresource Technology*, Volume 176, Pages 136-141,
  24. Tsouko, E., Kourmentza, C., Ladakis, D., Kopsahelis, N., Mandala, I., Papanikolaou, S., Paloukis, F., Alves, V., & Koutinas, A., 2015, Bacterial Cellulose Production from Industrial Waste and by-Product Streams, *International journal of molecular sciences*, 16(7), Pages 14832–14849.
  25. Melih Güzel, Özlem Akpınar, Preparation and characterization of bacterial cellulose produced from fruit and vegetable peels by *Komagataeibacter hansenii* GA2016, 2020, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 162, Pages 1597-1604
  26. Hussain, Zohaib & Sajjad, Wasim & Khan, Taous & Wahid, Fazli, 2019, Production of bacterial cellulose from industrial wastes: a review. *Cellulose*. 26, Pages 2895-2911

27. Chen, L., Hong, F., Yang, X. X., & Han, S. F., 2013, Biotransformation of wheat straw to bacterial cellulose and its mechanism. *Bioresource technology*, 135, Pages 464–468.
28. Alga, I.; Fernandes, S.C.M.; Mondragon, G.; Castro, C.; Garcia-Astrain, C.; Gabilondo, N.; Retegi, A.; Eceiza, A., 2014, Pineapple agroindustrial residues for the production of high value bacterial cellulose with different morphologies. *Journal of Applied Polymer Science*, 132:1, 41237
29. Xin Fan, Yue Gao, Wanying He, Hao Hu, Ming Tian, Kexing Wang, Siyi Pan, 2016, Production of nano bacterial cellulose from beverage industrial waste of citrus peel and pomace using *Komagataeibacter xylinus*, *Carbohydrate Polymers*, Volume 151, Pages 1068-1072
30. Liu HY, Hall PV, Darby JL, Coats ER, Green PG, Thompson DE, Loge FJ., 2008, Production of polyhydroxyalkanoate during treatment of tomato cannery wastewater. *Water Environment Research: a research publication of the Water Environment Federation*, 80(4), Pages 367-372.
31. Follonier, Stéphanie & Arrell, Miriam & Silvestri, Anne-Claire & Crelier, Simon & Kalman, Franka & Riesen, Roland & Zinn, Manfred, 2014, Fruit pomace and waste frying oil as sustainable resources for the bioproduction of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates. *International journal of biological macromolecules*. 71, Pages 42-52
32. Follonier, Stéphanie & Riesen, Roland & Zinn, Manfred, 2015, Pilot-scale Production of Functionalized mcl-PHA from Grape Pomace Supplemented with Fatty Acids, *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 29, Pages 113-121
33. Mohamed Abdelraof, Mohamed S. Hasanin, Houssni El -Saied, 2019, Ecofriendly green conversion of potato peel wastes to high productivity bacterial cellulose, *Carbohydrate Polymers*, Volume 211, Pages 75-83.
34. Kuo, CH., Huang, CY., Shieh, CJ. et al., 2019, Hydrolysis of Orange Peel with Cellulase and Pectinase to Produce Bacterial Cellulose using *Gluconacetobacter xylinus*, *Waste and Biomass Valorization* 10, Pages 85–93
35. Fábio P. Gomes, Nuno H.C.S. Silva, Eliane Trovatti, Luísa S. Serafim, Maria F. Duarte, Armando J.D. Silvestre, Carlos Pascoal Neto, Carmen S.R. Freire, 2013, Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue, *Biomass and Bioenergy*, Volume 55, Pages 205-211.
36. Ashis K. Mukherjee, Hemanta Adhikari, Sudhir K. Rai, 2008, Production of alkaline protease by a thermophilic *Bacillus subtilis* under solid-state fermentation (SSF) condition



- using *Imperata cylindrica* grass and potato peel as low-cost medium: Characterization and application of enzyme in detergent formulation, *Biochemical Engineering Journal*, Volume 39, Issue 2, Pages 353-361
37. Ruann Janser Soares de Castro, Hélia Harumi Sato, 2014, Production and biochemical characterization of protease from *Aspergillus oryzae*: An evaluation of the physical-chemical parameters using agroindustrial wastes as supports, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, Volume 3, Issue 3, Pages 20-25
  38. Héctor A. Ruiz, Rosa M. Rodríguez-Jasso, Raúl Rodríguez, Juan C. Contreras-Esquivel, Cristóbal N. Aguilar, 2012, Pectinase production from lemon peel pomace as support and carbon source in solid-state fermentation column-tray bioreactor, *Biochemical Engineering Journal*, Volume 65, Pages 90-95
  39. M. El-Bakry, J. Abraham, A. Cerda, R. Barrena, S. Ponsá, T. Gea & A. Sánchez, 2015, From Wastes to High Value Added Products: Novel Aspects of SSF in the Production of Enzymes, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 45:18, Pages 1999-2042
  40. Gurpreet Singh Dhillon, Surinder Kaur, Satinder Kaur Brar, Mausam Verma, 2012, Potential of apple pomace as a solid substrate for fungal cellulase and hemicellulase bioproduction through solid-state fermentation, *Industrial Crops and Products*, Volume 38, Pages 6-13
  41. Diomi Mamma, Elisavet Kourtoglou, Paul Christakopoulos, 2008, Fungal multienzyme production on industrial by-products of the citrus-processing industry, *Bioresource Technology*, Volume 99, Issue 7, Pages 2373-2383
  42. Rajeev K Sukumaran, Reeta Rani Singhanian, Ashok Pandey, November 2005, Microbial cellulases-Production, applications and challenges, *Journal of Scientific & Industrial Research*, Vol. 64, Pages 832-844
  43. Ruth Belmares, Juan Carlos Contreras-Esquivel, Raúl Rodríguez-Herrera, Ascensión Ramírez Coronel, Cristóbal Noe Aguilar, 2004, Microbial production of tannase: an enzyme with potential use in food industry, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 37, Issue 8, Pages 857-864
  44. Βασίλης Σπηλιώτης, Ανθιμία Μπατρίνου, 2014, Βιομηχανική Μικροβιολογία, Κεφάλαιο 7, σελίδες 101-103, Εκδόσεις Δίσιγμα
  45. Najla Ben Akacha, Mohamed Gargouri, 2015, Microbial and enzymatic technologies used for the production of natural aroma compounds: Synthesis, recovery modeling, and bioprocesses, *Food and Bioproducts Processing*, Volume 94, Pages 675-706.

46. Hadj Saadoun, Bertani, Levante, Vezzosi, Ricci, Bernini, Lazzi, 2021, Fermentation of Agri-Food Waste: A Promising Route for the Production of Aroma Compounds. *Foods*, 10:4, 707
47. Fani Th Mantzouridou, Adamantini Paraskevopoulou, Sofia Lalou, 2015, Yeast flavour production by solid state fermentation of orange peel waste, *Biochemical Engineering Journal*, Volume 101, Pages 1-8
48. Roberto Rodríguez Madrera, Rosa Pando Bedriñana, Belén Suárez Valles, 2015, Production and characterization of aroma compounds from apple pomace by solid-state fermentation with selected yeasts, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 64, Issue 2, Pages 1342-1353,
49. S.C. Rossi, L.P.S. Vandenberghe, B.M.P. Pereira, F.D. Gago, J.A. Rizzolo, A. Pandey, C.R. Soccol, A.B.P. Medeiros, 2009, Improving fruity aroma production by fungi in SSF using citric pulp, *Food Research International*, Volume 42, Issue 4, Pages 484-486,
50. Onur Guneser, Asli Demirkol, Yonca Karagul Yuceer, Sine Ozmen Togay, Muge Isleten Hosoglu, Murat Elibol, 2017, Production of flavor compounds from olive mill waste by *Rhizopus oryzae* and *Candida tropicalis*, *Brazilian Journal of Microbiology*, Volume 48, Issue 2, Pages 275-285
51. Rivas B, Torrado A, Torre P, Converti A, Domínguez JM. 2008, Submerged citric acid fermentation on orange peel autohydrolysate, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7), Pages 2380-2387
52. Papanikolaou S, Galiotou-Panayotou M, Fakas S, Komaitis M, Aggelis G., 2008, Citric acid production by *Yarrowia lipolytica* cultivated on olive-mill wastewater-based media, *Bioresource Technology*, 99(7), Pages 2419-28
53. Diogo Filipe, Helena Fernandes, Carolina Castro, Helena Peres, Aires Oliva-Teles, 2019, Improved lignocellulolytic enzyme production and antioxidant extraction using solid-state fermentation of olive pomace mixed with winery waste, *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, Volume 14, Issue 1, Pages 78-91
54. Alessandro D'Annibale, Giovanni Giovannozzi Sermanni, Federico Federici, Maurizio Petruccioli, 2006, Olive-mill wastewaters: a promising substrate for microbial lipase production, *Bioresource Technology*, Volume 97, Issue 15, Pages 1828-1833
55. D. Banerjee, K. C. Mondal, B. R. Pati, 2007, Tannase Production by *Aspergillus aculeatus* DBF9 through solid-state fermentation, *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 54 (2), Pages 159–166

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

1. Faten Brahmi, Beligh Mechri, Samia Dabbou, Madiha Dhibi, Mohamed Hammami, July 2012, The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations, *Industrial Crops and Products*, Volume 38, Pages 146-152
2. Beatriz Gullón, Patricia Gullón, Gemma Eibes, Cristóbal Cara, Antonia De Torres, Juan Carlos López-Linares, Encarnación Ruiz, Eulogio Castro, December 2018, Valorisation of olive agro-industrial by-products as a source of bioactive compounds, *Science of The Total Environment*, Volume 645, Pages 533-542
3. M. Antónia Nunes, Filipa B.Pimentel, Anabela S.G.Costa, Rita C.Alves, M. Beatriz P.P.Oliveira, June 2016, Olive by-products for functional and food applications: Challenging opportunities to face environmental constraints, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Volume 35, Pages 139-148
4. Selin Şahin, Mehmet Bilgin, 2018, Olive tree (*Olea europaea* L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: a review, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Volume 98, Issue 4, Pages 1271-1279
5. Francisca Rodrigues, Filipa B.Pimentel, M.Beatriz P.P.Oliveira, August 2015, Olive by-products: Challenge application in cosmetic industry, *Industrial Crops and Products*, Volume 70, Pages 116-124
6. Karishma Rajbhar, Himanshu Dawda and Usha Mukundan, 2015, Polyphenols: Methods of Extraction, *Scientific Reviews & Chemical Communications*, 5(1), Pages 1-6
7. Irene Esparza, Nerea Jiménez-Moreno, Fernando Bimbela, Carmen Ancín-Azpilicueta, Luis M. Gandía, 2020, Fruit and vegetable waste management: Conventional and emerging approaches, *Journal of Environmental Management* 265 110510
8. Brendan Holland, Dominic Agyei, Taiwo O. Akanbi, Bo Wang, Colin J. Barrow, Abingdon 2017, Chapter 5 Bioprocessing of Plant-Derived Bioactive Phenolic Compounds, *Food Biosynthesis*, Academic Press, Pages 135-181
9. Ángeles Guinda, José María Castellano, José Manuel Santos-Lozano, Teresa Delgado-Hervás, Pilar Gutiérrez-Adán, Mirela Rada, November 2015, Determination of major bioactive compounds from olive leaf, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 64, Issue 1, Pages 431-438
10. Graziana Difonzo, Marica Troilo, Giacomo Squeo, Antonella Pasqualone, Francesco Caponio, 2020, Functional compounds from olive pomace to obtain high-added value

- foods – a review, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Volume 101, Issue 1, Pages 15-26
11. Guillermo Rodríguez, Antonio Lama, Rocío Rodríguez, Ana Jiménez, Rafael Guillén, Juan Fernández-Bolaños, September 2008, Olive stone an attractive source of bioactive and valuable compounds, *Bioresource Technology*, Volume 99, Issue 13, Pages 5261-5269
  12. M. Antónia Nunes, Anabela S.G.Costa, Sílvia Bessada Joana Santos, HeldePuga, Rita C.Alves, Vitor Freitas, M. Beatriz P.P. Oliveira, December 2018, Olive pomace as a valuable source of bioactive compounds: A study regarding its lipid- and water-soluble components, *Science of The Total Environment*, Volume 644, Pages 229-236
  13. Rahele Ghanbari, Farooq Anwar, Khalid M. Alkharfy , Anwarul-Hassan Gilani, Nazamid Saari, 2012, Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea* L.)—A Review, *International Journal of Molecular Sciences*, 13(3), Pages 3291-3340
  14. José J. Benítez 1, Paula M. Castillo, José C. Del Río, Manuel León-Camacho , Eva Domínguez, Antonio Heredia, Susana Guzmán-Puyol , Athanassia Athanassiou, José A. Heredia-Guerrero, 2018, Valorization of Tomato Processing by-Products: Fatty Acid Extraction and Production of Bio-Based Materials, *Materials*, 11(11), 2211
  15. Anwasha Sarkar, Purnima Kaul, 2014, Evaluation of Tomato Processing By-Products: A Comparative Study in a Pilot Scale Setup, *Journal of Food Process Engineering*, Volume 37, Issue 3, Pages 299-307
  16. Nick Kalogeropoulos, Antonia Chiou, Vassiliki Pyriochou, Anna Peristeraki, Vaios T.Karathanos, December 2012, Bioactive phytochemicals in industrial tomatoes and their processing byproducts, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 49, Issue 2, Pages 213-216
  17. I.F. Strati, V. Oreopoulou, Recovery of carotenoids from tomato processing by-products – a review, November 2014, *Food Research International*, Volume 65, Part C, Pages 311-321
  18. G.Pataro, D.Carullo, M.Falcone, G.Ferraria, July 2020, Recovery of lycopene from industrially derived tomato processing by-products by pulsed electric fields-assisted extraction, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Volume 63, 102369
  19. E.Vági, B.Simándi, K.P.Vásárhelyiné, H.Daood, Á.Kéry, F.Doleschall, B.Nagy, March 2007, Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids, tocopherols and sitosterols

- from industrial tomato by-products, *The Journal of Supercritical Fluids*, Volume 40, Issue 2, Pages 218-226
20. Katalin Szabo, Francisc Vasile Dulf, Zorița Diaconeasa, Dan Cristian Vodnar, December 2019, Antimicrobial and antioxidant properties of tomato processing byproducts and their correlation with the biochemical composition, *LWT*, Volume 116, 108558
  21. Muhammad Umar Nasir, Sarfraz Hussain, Saqib Jabbar, 2015, Tomato processing, lycopene and health benefits: A review, *Science Letters*, Volume 3, Issue 1, Pages 1-5
  22. Ειρήνη Φ. Στρατή, Διδακτορική Διατριβή, 2014, Μελέτη μεθόδων παραλαβής καροτενοειδών από παραπροϊόντα τομάτας
  23. Szabo, K., Cătoi, A.F. & Vodnar, D.C., 2018, Bioactive Compounds Extracted from Tomato Processing by-Products as a Source of Valuable Nutrients. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73:4, Pages 268–277
  24. Alessandra Bendini, Giuseppe Di Lecce, Enrico Valli, Sara Barbieri, Federica Tesini & Tullia Gallina Toschi, 2015, Olive oil enriched in lycopene from tomato by-product through a co-milling process, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66:4, Pages 371-377
  25. Karthika Devi B, Kuriakose SP, Krishnan AVC, Choudhary P and Rawson A., 2016, Utilization of By-product from Tomato Processing Industry for the Development of New Product, *Journal of Food Processing & Technology*, 7:8
  26. Animesh Singh Sengar, Ashish Rawson, Manimekalai Muthiah, Suresh Kumar Kalakandan, 2020, Comparison of different ultrasound assisted extraction techniques for pectin from tomato processing waste, *Ultrasonics Sonochemistry*, Volume 61, 104812
  27. Szabo, K.; Teleky, B.-E.; Mitrea, L.; Călinoiu, L.-F.; Martău, G.-A.; Simon, E.; Varvara, R.-A.; Vodnar, D.C., 2020, Active Packaging—Poly(Vinyl Alcohol) Films Enriched with Tomato By-Products Extract, *Coatings* 10:2, 141
  28. D. S. Sogi, J. S. Sidhu, M. S. Arora, S. K. Garg & A. S. Bawa, 2002, Effect of Tomato Seed Meal Supplementation on the Dough and Bread Characteristics of Wheat (PBW 343) Flour, *International Journal of Food Properties*, 5:3, Pages 563-571
  29. M.M. Calvo, M.L. García, M.D. Selgas, 2008, Dry fermented sausages enriched with lycopene from tomato peel, *Meat Science*, Volume 80, Issue 2, Pages 167-172
  30. Effat M. Rizk, Alaa T. El-Kady, Amany R. El-Bialy, 2014, Characterization of carotenoids (lyco-red) extracted from tomato peels and its uses as natural colorants and antioxidants of ice cream, *Annals of Agricultural Sciences*, Volume 59, Issue 1, Pages 53-61

31. Manfred Eggersdorfer, Adrian Wyss, Carotenoids in human nutrition and health, 2018, Archives of Biochemistry and Biophysics, Volume 652, Pages 18-26
32. Σφλώμος Κωνσταντίνος, Αθήνα 2019, Κεφάλαιο 1, Βιολειτουργικά Τρόφιμα, Πρόσθετα και Συμπληρώματα Διατροφής, Εκδόσεις Τσότρας, σελ. 18-57
33. Milena Morandi Vuolo, Verena Silva Lima, Mário Roberto Maróstica Junior, 2019, Chapter 2 - Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power, Editor(s): Maira Rubi Segura Campos, Bioactive Compounds, Woodhead Publishing, Pages 33-50
34. Αναγνωστοπούλου Ά., Ταλλέλη Α., Αθήνα 2008, Κεφάλαιο 4: Τεχνολογία των χυμών φρούτων, Τεχνολογία και ποιότητα φρούτων και λαχανικών, σελ. 219-285, Εκδόσεις Νέων Τεχνολογιών
35. Sagar, Narashans & Pareek, Sunil & Sharma, Sunil & Yahia, Elhadi & Lobo, Gloria., 2018, Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 17:3, Pages 512-531
36. K. Rezzadori, S. Benedetti, E.R. Amante, 2012, Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for new products, Food and Bioproducts Processing, Volume 90, Issue 4, Pages 606-614
37. Angel Siles López J, Li Q, Thompson IP., 2010, Biorefinery of waste orange peel. Critical Reviews in Biotechnology, 30(1), Pages 63-69
38. Agrawal, Ruchi & Satlewal, Alok & Verma, AShok Kumar, 2017, Utilization of Citrus sinensis waste for the production of β-glucosidase by solid-state fermentation using a *Bacillus subtilis* mutant, Environmental Engineering and Management Journal, 16:7, Pages 1465-1471
39. Avtar S. Matharu, Eduardo M. de Melo, Joseph A. Houghton, 2016, Opportunity for high value-added chemicals from food supply chain wastes, Bioresource Technology, Volume 215, Pages 123-130
40. C.M. Lanza, CITRUS FRUITS | Processed and Derived Products of Oranges, Editor(s): Benjamin Caballero, Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), Academic Press, 2003, Pages 1346-1354
41. Ciriminna R, Lomeli-Rodriguez M, Demma Carà P, Lopez-Sanchez JA, Pagliaro M., 2014, Limonene: a versatile chemical of the bioeconomy. Chemical Communications (Cambridge, England), 50(97), Pages 15288-15296

42. L. Flutto, PECTIN | Food Use, Editor(s): Benjamin Caballero, Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), Academic Press, 2003, Pages 4449-4456
43. Beli R. Thakur, Rakesh K. Singh, Avtar K. Handa & Dr. M. A. Rao, 1997, Chemistry and uses of pectin — A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37:1, Pages 47-73
44. Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L.J.D. and Singla, A.K., 2001, Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytotherapy Research.*, 15(8), Pages 655-669
45. Manthey, J. and K. Grohmann, 1996, Concentrations of hesperidin and other orange peel flavonoids in citrus processing byproducts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 3, Pages 811-814
46. Saleh M.S. Sawalha, David Arráez-Román, Antonio Segura-Carretero, Alberto Fernández-Gutiérrez, 2009, Quantification of main phenolic compounds in sweet and bitter orange peel using CE–MS/MS, *Food Chemistry*, Volume 116, Issue 2, Pages 567-574
47. Sharoba, Prof. Ashraf & Farrag, Mostafa & El-Salam, Amira., 2013, Utilization of some fruits and vegetables waste as a source of dietary fiber and its effect on the cake making and its quality attributes. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 19, Pages 429-444
48. Tainara de Moraes Crizel, André Jablonski, Alessandro de Oliveira Rios, Rosane Rech, Simone Hickmann Flôres, 2013, Dietary fiber from orange byproducts as a potential fat replacer, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 53, Issue 1, Pages 9-14
49. Nuria Grigelmo-Miguel, Olga Martín-Belloso, 1998, Characterization of dietary fiber from orange juice extraction, *Food Research International*, Volume 31, Issue 5, Pages 355-361
50. Obafaye, RO, Omoba, OS., 2018, Orange peel flour: A potential source of antioxidant and dietary fiber in pearl-millet biscuit, *Journal of Food Biochemistry*, Volume 42, Issue 4
51. Kyriakos Kaderides, Athanasia M. Goula, 2017, Development and characterization of a new encapsulating agent from orange juice by-products, *Food Research International*, Volume 100, Part 1, Pages 612-622
52. Fernández-López, J., Fernández-Ginés, J. M., Aleson-Carbonell, L., Sendra, E., Sayas-Barberá, E., & Pérez-Alvarez, J. A., 2004, Application of functional citrus by-products to meat products, *Trends in Food Science & Technology*, 15(3-4), Pages 176–185

53. Marina Russo, Ivana Bonaccorsi, Veronica Inferrera, Paola Dugo, Luigi Mondello, 2015, Underestimated sources of flavonoids, limonoids and dietary fiber: Availability in orange's by-products, *Journal of Functional Foods*, Volume 12, Pages 150-157
54. Cassia Roberta MALACRIDA, Mieko KIMURA, Neuza JORGE, *Phytochemicals and Antioxidant Activity of Citrus Seed Oils*, 2012, *Food Science and Technology Research*, Volume 18, Issue 3, Pages 399-404
55. Karabiber, E. & Yilmaz, E., 2017, Extraction and characterisation of lemon, orange and grapefruit seeds press cake proteins, *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 9 Pages 1-12
56. Σινάνογλου Βασιλεία, Σημειώσεις Μαθήματος Λειτουργικών Συστατικών, Φυσικά Αντιοξειδωτικά
57. Perussello, C.A., Zhang, Z., Marzocchella, A. and Tiwari, B.K., 2017, Valorization of Apple Pomace by Extraction of Valuable Compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16:5, Pages 776-796
58. <https://usapple.org/apple-varieties>
59. Fengzhi Lyu, Selma F. Luiz, Denise Rosane Perdomo Azeredo, Adriano G. Cruz, Said Ajlouni and Chaminda Senaka Ranadheera, 2020, Apple Pomace as a Functional and Healthy Ingredient in Food Products: A Review, *Processes* 8, 319
60. Ying Xu, Mingtao Fan, Junjian Ran, Tingjing Zhang, Huiye Sun, Mei Dong, Zhe Zhang, Haiyan Zheng, 2016, Variation in phenolic compounds and antioxidant activity in apple seeds of seven cultivars, *Saudi Journal of Biological Sciences*, Volume 23, Issue 3, Pages 379-388
61. Dhyani, P., Bahukhandi, A., Rawat, S. *et al.*, 2018, Diversity of bioactive compounds and antioxidant activity in Delicious group of apple in Western Himalaya, *Journal of Food Science and Technology*, 55, Pages 2587–2599
62. Barbara Łata, Aleksandra Trampczynska, Justyna Paczesna, 2009, Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition, *Scientia Horticulturae*, Volume 121, Issue 2
63. Cristina G. Grigoras, Emilie Destandau, Laëtitia Fougère, Claire Elfakir, 2013, Evaluation of apple pomace extracts as a source of bioactive compounds, *Industrial Crops and Products*, Volume 49, Pages 794-804
64. Krzysztof Kołodziejczyk, Jarosław Markowski, Monika Kosmala, Bogusław Król, Witold Płocharski, 2007, Apple Pomace as a Potential Source of Nutraceutical Products, *Polish journal of food and nutrition sciences*, Vol. 57, No. 4(B), Pages 291-295



65. Franciolo Vendruscolo, Patrícia M. Albuquerque, Fernanda Streit, Elisa Esposito & Jorge L. Ninow, 2008, Apple Pomace: A Versatile Substrate for Biotechnological Applications, *Critical Reviews in Biotechnology*, 28:1
66. Τσάκνης Γιάννης, 2018, *Τεχνολογία: Ποιότητα λιπών και λαδιών*, Εκδόσεις Τζιόλα, σελ. 22-23, 159-160
67. FAO/WHO Report: "Human Vitamin and Mineral Requirements: Chapter 9. Vitamin E"
68. Σφλώμος Κωνσταντίνος, 2017, *Χημεία Τροφίμων*, Εκδοσεις Νότα, σελ. 374-377
69. Σφλώμος Κωνσταντίνος, *Τρόφιμα*, 2019, Πρόσθετα και Συμπληρώματα Διατροφής, Εκδόσεις Τσόρτας, σελ. 33-38
70. A. Govaris, N. Botsoglou, G. Papageorgiou, E. Botsoglou & I. Ambrosiadis, 2004, Dietary versus post-mortem use of oregano oil and/or  $\alpha$ -tocopherol in turkeys to inhibit development of lipid oxidation in meat during refrigerated storage, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 55:2, Pages 115-123
71. Parisa Jafarian Asl, Razieh Niazmand, Farnaz Yahyavi, 2020, Extraction of phytosterols and tocopherols from rapeseed oil waste by supercritical CO<sub>2</sub> plus co-solvent: A comparison with conventional solvent extraction, *Heliyon*, Volume 6, Issue 3
72. Richard Fern, 2010, *Nature's chemicals: The natural products that shaped our world*, Oxford University Press, Pages 64-67
73. Caputi, Lorenzo & Aprea, Eugenio, 2011, Use of Terpenoids as Natural Flavouring Compounds in Food Industry, *Recent patents on food, nutrition & agriculture*. 3. 9-16
74. H.-D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle, 2018, *Χημεία Τροφίμων*, 4<sup>η</sup> Έκδοση, Εκδόσεις Τζιόλα, σελ. 403-409
75. Shen, T., Wang, X.-N., & Lou, H.-X., 2009, Natural stilbenes: an overview, *Natural Product Reports*, 26(7), 916.
76. Julie Chong, Anne Poutaraud, Philippe Huguene, 2009, Metabolism and roles of stilbenes in plants, *Plant Science*, Volume 177, Issue 3, Pages 143-155
77. Careri, M., Corradini, C., Elviri, L., Nicoletti, I., & Zagnoni, I., 2003, Direct HPLC Analysis of Quercetin and trans-Resveratrol in Red Wine, Grape, and Winemaking Byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), Pages 5226–5231
78. Ozan Gürbüz, Duygu Göçmen, Fatih Dağdelen, Murat Gürsoy, Sami Aydın, İsmet Şahin, Levent Büyükuysal, Mehmet Usta, 2007, Determination of flavan-3-ols and trans-resveratrol in grapes and wine using HPLC with fluorescence detection, *Food Chemistry*, Volume 100, Issue 2, Pages 518-525

