

ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Αποικοδόμηση Αποβλήτων των Διφασικών Ελαιοουργείων
Χρησιμοποιώντας Υπέρηχους και Συγκριτική Ανάλυση
Απόβλητων Ελαιοουργείων με τις Μεθόδους
Χημειοφωταύγειας και Folin-Ciocalteu»**

ΣΠΥΡΙΔΩΝ Ι. ΔΕΡΒΙΣΗΣ

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ
Δρ. Ν. ΚΑΛΟΓΕΡΑΚΗΣ (επιβλέπων)
Δρ. Ε. ΨΥΛΛΑΚΗ
Δρ. Δ. ΜΑΝΤΖΑΒΙΝΟΣ

Χανιά
Φεβρουάριος 2004

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στον επιβλέπων καθηγητή μου Δρ. Νικόλαο Καλογεράκη για την άψογη συνεργασία μας καθόλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας Διπλωματικής Εργασίας.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την συνεργάτιδα του εργαστηρίου Βιοχημικών Διεργασιών και Περιβαλλοντικής Βιοτεχνολογίας Δρ. Ελευθερία Ψυλλάκης για την πολύτιμη συμβολή της κατά την διενέργεια των πειραμάτων, καθώς και την συνεργάτιδα του εργαστηρίου Μικροβιολογίας κ.Αριάδνη Παντίδου. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή Δρ. Διονύσιο Μαντζαβίνο για την συνεργασία μας καθώς και όλους τους καθηγητές με τους οποίους συνεργάστηκα κατά τη διάρκεια των σπουδών μου στο Πολυτεχνείο Κρήτης.

**Αφιερώνεται στους
γονείς μου**

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....	3
1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	4
1.1.1. Υδάτινο Περιβάλλον.....	5
1.1.2. Έδαφος.....	5
1.2. ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ.....	5
1.2.1. Χρωματισμός των φυσικών νερών.....	5
1.2.2. Διασπασιμότητα των οργανικών ενώσεων.....	5
1.2.3. Απειλή για την υδρόβια ζωή.....	5
1.2.4. Αδιαπέραστο φιλμ.....	5
1.2.5. Ποιότητα εδαφών.....	5
1.2.6. Οσμές.....	6
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.....	7
2.1. Συστήματα Απαγωγής Ελαιολάδου.....	7
2.1.1. Κλασσικό Ελαιουργείο (Pressure).....	7
2.1.2. Φυγοκέντριση (Centrifugation of Tri-Phase Decanter).....	12
2.1.2.1. Ελαιουργικό συγκρότημα.....	14
2.1.3. Διφασικό Ελαιουργείο (Dual-Phase Decanter).....	19
2.1.4. Διύλιση ή Επιλεκτική Φίλτρανση (Precolation or Selective Filtration).....	21
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....	24
3. ΠΑΡΑΓΩΓΗ & ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΤΩΝ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΩΝ.....	24
3.1. Υποπροϊόντα Ελαιουργίας.....	26
3.1.1. Ελαιοπυρήνας – Απόνερα.....	26
3.1.2. Σύνθεση Ελαιοπυρήνα.....	26
3.1.3. Σύνθεση Απόνερων.....	27
3.2. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΤΩΝ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΩΝ.....	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.....	33
4. ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ.....	33
4.1.1. Γενικές Χρήσεις.....	33
4.1.2. Δείγματα.....	33
4.1.3. Χρόνος Ανάλυσης.....	33
4.1.4. Περιορισμοί.....	33
4.1.5. Ακρίβεια.....	33
4.1.6. Ευαισθησία και Όρια Ανίχνευσης.....	33
4.1.7. Συμπληρωματικές ή Σχετικές Τεχνικές.....	33
4.2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ.....	34
4.2.1. Πως Λειτουργεί.....	35
4.2.2. Χημικές Αντιδράσεις.....	35
4.3. ΣΥΣΤΑΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ & ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ.....	38
4.4. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΕΚΠΕΜΠΟΜΕΝΟΥ ΦΩΤΟΣ.....	41
4.5. ΗΛΕΚΤΡΟΓΕΝΗΜΕΝΗ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ.....	41
4.6. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ.....	42
4.7. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ.....	42
4.8. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ.....	43
4.9. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ.....	43

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.....	44
5.1. Co(II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence method.....	44
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6.....	46
6. Η ΧΡΗΣΗ ΥΠΕΡΗΧΩΝ ΣΤΗ ΧΗΜΕΙΑ.....	46
6.1. Εισαγωγή.....	46
6.2. Θεωρητικό Υπόβαθρο.....	46
6.3. Φυσικοχημικά Ζητήματα της Χημείας των Υπερήχων.....	48
6.4. Βελτιστοποίηση Υπερηχητικών Συστημάτων Αντίδρασης	51
6.5. Περιβαλλοντικές Εφαρμογές.....	53
6.6. Μηχανισμός Sonolysis των Φαινολικών Ενώσεων.....	55
6.7. Χαρακτηριστικά του hydrogen peroxide.....	56
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7.....	58
7.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ Α.....	58
7.1.2. Δείγματα προς Επεξεργασία.....	58
7.1.3. Περιγραφή Διαδικασίας.....	59
7.1.3.1. Εκχύλιση.....	59
7.1.3.2. Luminol Chemiluminescence Method.....	60
7.1.3.4. Calibration Jenway 6200 Fluorimeter.....	61
7.1.4. ΠΡΟΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ.....	61
7.1.5. Υπολογισμός των Total Phenols στα αποστάγματα.....	62
7.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ Β.....	67
7.2.1. Οργανολογία.....	70
7.2.2. Δείγματα προς Επεξεργασία.....	70
7.2.3. Περιγραφή της Διαδικασίας.....	71
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8.....	75
8.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	75
8.2. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....	76
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	77

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσας Διπλωματικής Εργασίας πραγματοποιήθηκε ανάλυση των φαινολικών ενώσεων των αποβλήτων των τριφασικών και διφασικών ελαιουργείων χρησιμοποιώντας την μέθοδο της Χημειοφωταύγειας και σύγκριση των αποτελεσμάτων με την μέθοδο του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu. Οι φαινολικές ενώσεις του κασιόγαρου είναι μια ομάδα με τοξικές και δυνητικά καρκινογενείς ιδιότητες. Τα δείγματα των αποβλήτων των ελαιουργείων ελήφθησαν και αναλύθηκαν από την ευρύτερη περιοχή του Δήμου Χανίων.

Η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός έγιναν με τη βοήθεια του σήματος Χημειοφωταύγειας της luminol και του hydrogen peroxide κατά την παρουσία ενός μεταβατικού μετάλλου Co(II) και ενός δακτυλιδιού μεταλλικών ιόντων EDTA σε ρυθμιστικό διάλυμα, Boric Acid, του PH, διατηρώντας σταθερό το PH 9. Ανάλογη ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu.

Τα αποτελέσματα έδειξαν την ύπαρξη αρκετά υψηλών συγκεντρώσεων των φαινολικών ενώσεων. Για τα δείγματα των τριφασικών και των διφασικών ελαιουργείων που αναλύθηκαν με την μέθοδο του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu, οι συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων ως caffeic acid ήταν: 3Φ1: 2.574mg/L, 3Φ2: 2.331mg/L, 3Φ3: 1.827mg/L, 2Φ1: 831mg/L και 2Φ2: 726mg/L. Αντίστοιχα με την μέθοδο της Χημειοφωταύγειας, οι συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων ήταν: 3Φ1: 176,2 mg/L, 3Φ2: 32,4 mg/L, 3Φ3: 47,5mg/L, 2Φ1: 84,2 mg/L και 2Φ2: 364 mg/L.

Συγκρίνοντας τα παραπάνω αποτελέσματα διαπιστώνεται ότι με τη μέθοδο της Χημειοφωταύγειας οι συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων ως caffeic acid είναι πολύ μικρότερες από τις συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων όπως προέκυψαν με τη μέθοδο του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu.

Συνυπολογίζοντας το γεγονός ότι η μέθοδος του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu είναι δοκιμασμένη και αξιόπιστη για των υπολογισμό των φαινολικών ενώσεων των αποβλήτων των ελαιουργείων, μπορούμε να πούμε ότι οι συγκεντρώσεις που προέκυψαν μ' αυτή τη μέθοδο ανταποκρίνονται στην πραγματικότητα.

Βέβαια σ' αυτή την περίπτωση πρέπει να επισημανθεί: α) η μη σωστή λειτουργία της συγκεκριμένης μεθόδου της Χημειοφωταύγειας για τον υπολογισμό των φαινολικών ενώσεων των ελαιουργείων, β) τα πιθανά πειραματικά λάθη και γ) τα πιθανά πειραματικά λάθη στην κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης του caffeic acid για τον υπολογισμό των φαινολικών ενώσεων.

Σε δεύτερη φάση της παρούσας Διπλωματικής Εργασίας πραγματοποιήθηκε επεξεργασία των αποβλήτων των διφασικών ελαιουργείων χρησιμοποιώντας υπερηχητικά κύματα με τη βοήθεια της συσκευής Ultrason 250 της LabPlant Ltd (Huddersfield-West Yorkshire, England, UK) και ανάλυση των φαινολικών ενώσεων των επεξεργασμένων δειγμάτων με τη βοήθεια της μεθόδου της Χημειοφωταύγειας. Τα δείγματα των διφασικών ελαιουργείων ελήφθησαν από την περιοχή του Δήμου Αγιάς και Σταλού, του Νομού Χανίων.

Πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα επεξεργασίας των αποβλήτων με τη χρήση υπερήχων. Στο πρώτο πείραμα τα χαρακτηριστικά λειτουργίας της συσκευής ήταν $P = 150\text{Watt}$, $\nu = 80\text{KHz}$ και $T = 25^\circ\text{C}$ και στο δεύτερο πείραμα τα χαρακτηριστικά λειτουργίας της συσκευής ήταν $P = 75\text{Watt}$, $\nu = 80\text{KHz}$ και $T = 25^\circ\text{C}$.

Εκτελέστηκαν μετρήσεις του COD πριν και μετά το πέρας της επεξεργασίας του υδατικού διαλύματος και τα αποτελέσματα ήταν: 2Φ1: $\text{COD}_{\text{ΠΡΙΝ}} = 10.800\text{mg/L}$ και 2Φ2: $\text{COD}_{\text{ΠΡΙΝ}} = 12.600\text{mg/L}$. Επιλέχθηκε το δείγμα 2Φ1 για επεξεργασία με τη χρήση υπερήχων, λόγω του ότι διαθέτει το μικρότερο οργανικό φορτίο. Μετά το πέρας του πειράματος 1^ο η τιμή του COD ήταν 15.200mg/L και μετά το πέρας του πειράματος 2^ο η τιμή του COD ήταν 14.400mg/L . Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι η τελική τιμή COD είναι μεγαλύτερη από την αρχική τιμή COD. Αυτό βέβαια μας οδηγεί στο ερώτημα, πώς αυξήθηκε η τιμή του COD ενώ πραγματοποιήθηκε αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων και χωρίς να υπάρξει προσθήκη άνθρακα? Η απάντηση σ' αυτό το ερώτημα είναι ότι η αύξηση της τιμής COD επιτεύχθηκε λόγω της αύξησης της συγκέντρωσης του hydrogen peroxide, το οποίο προέκυψε στο διάλυμα λόγω της εφαρμογής των υπερήχων.

Εν συνεχεία ακολούθησε ανάλυση των δειγμάτων, που ελήφθησαν κατά τη διάρκεια του πειράματος 1^ο. Παρατηρήθηκε ότι κατά την παρατεταμένη εφαρμογή υπερηχητικών κυμάτων στο υδατικό διάλυμα πραγματοποιείται διάσπαση των φαινολικών ενώσεων των διφασικών ελαιουργείων. Με τη βοήθεια της μεθόδου της Χημειοφωταύγειας, που αναπτύχθηκε στο ΜΕΡΟΣ Α, πάρθηκαν μετρήσεις της έντασης CL απ' όπου παρατηρείται αύξηση αυτής με το πέρας του χρόνου. Από αυτό το συμπέρασμα διαπιστώνεται αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων των διφασικών ελαιουργείων. Η εξήγηση είναι ότι η μείωση του οργανικού φορτίου στο διάλυμα, αυξάνει την ένταση CL τείνοντας προς την τιμή CL intensity (I) 100 που αντιστοιχεί στο στην αντίδραση calibration του μηχανήματος κατά την οποία δεν έχουμε οργανικό φορτίο.

Όσον αφορά τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων των φαινολικών ενώσεων των δειγμάτων δεν παρουσιάζονται γιατί όπως αναλύεται στην ενότητα 9.1 δεν δίνει αξιόπιστα αποτελέσματα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα υγρά απόβλητα των ελαιουργείων (κατσίγαρος ή μούργα) αποτελούν ένα τεράστιο περιβαλλοντικό πρόβλημα σ' όλες τις ελαιοπαραγωγικές χώρες. Το αποτέλεσμα της ελεύθερης ροής τους είναι η ρύπανση του εδάφους, των ακτών και των υδάτων (επιφανειακών και υπόγειων) με συνέπεια την υποβάθμιση των περιοχών αυτών[33].

Για την κατανομή της παραγωγής αποβλήτων χρονικά δεν υπάρχουν ακριβή στοιχεία. Όμως είναι γνωστό ότι το σύνολο της συγκομιδής –και επομένως η έκθλιψη- αρχίζει στα μέσα Νοεμβρίου και τελειώνει για τις περισσότερες ζώνες τον Φεβρουάριο. Βέβαια υπάρχουν κάποιες ποικιλίες ελιών (Τσουνάτης, Θρουμπολιάς, Χονδρολιάς) που συλλέγονται από το έδαφος μετά από φυσική πτώση, παρατείνοντας την λειτουργία μικρών ελαιουργείων μέχρι τον Απρίλιο, Μάιο ή/και καμιά φορά τον Ιούνιο. Στο τρίμηνο αυτό συμπίπτει συνήθως και το μεγαλύτερο ύψος των βροχοπτώσεων του έτους. Αυτό έχει «ευεργητική» επίδραση, αφού προκαλεί μια κάποια αραίωση των αποβλήτων που αποβάλλονται σε χείμαρρους ή ποτάμια, αλλά δρα αρνητικά από την πλευρά εξεύρεσης λύσης με εξάτμιση. Κι αυτό γιατί, από την μια πλευρά η βροχή προστίθεται στις ανοιχτές δεξαμενές ή λίμνες εξάτμισης, ενώ απ' την άλλη, η δεδομένη μείωση της ηλιοφάνειας, παρεμποδίζει την ύπαρξη υψηλού βαθμού εξάτμισης.

Στην Ελλάδα το πρόβλημα είναι εκτεταμένο και οι αρνητικές επιπτώσεις εμφανίζονται εντονότερες οδηγώντας στην υποβάθμιση της ζωής και τη μείωση κάθε δυνατότητας οικονομικής ανάπτυξης.

Οι λόγοι που συντελούν σ' αυτό είναι κυρίως οι εξής:

- Η διάρκεια της ελαιοκομικής περιόδου.
- Ο μεγάλος αριθμός ελαιουργείων και η σημαντική συσσώρευση των αποβλήτων.
- Ανεξέλεγκτη διάθεση των αποβλήτων στο περιβάλλον.
- Η αδυναμία των επικρατούντων μεθόδων να λύσουν ουσιαστικά το πρόβλημα και με οικονομικό τρόπο.

Οι βασικοί αποδέκτες της ρύπανσης που προκαλούν τα απόβλητα είναι κατά ποσοστό στον Ελλαδικό χώρο:

Περιοδικοί χείμαρροι.....	58,3%
Έδαφος.....	19,8%
Ποτάμι	6,0%
Θάλασσα.....	5,3%
Λίμνες.....	0,038%

1.1.1. Υδάτινο Περιβάλλον

Η επίδραση τη ρύπανσης στα υδάτινα οικοσυστήματα (θάλασσα, υφάλμυρα και γλυκών νερών) είναι πολλαπλή και αλυσιδωτή[33]:

Πρώτον, διότι προκαλεί μεταβολές μιας σειράς φυσικοχημικών παραμέτρων, σε βαθμό που να ξεπερνά μερικές φορές τα όρια αντοχής των οργανισμών.

Δεύτερον, διότι οι παραπάνω αλλαγές των φυσικοχημικών παραμέτρων στη συνέχεια, διαταράσσουν τη σύνθεση της βιοκοινωνίας με την καταστροφή, απομάκρυνση ή αυξομείωση του πληθυσμού ορισμένων ομάδων οργανισμών.

Τρίτον, διότι η διατάραξη των υδάτινων οικοσυστημάτων έχει επιπτώσεις και σε οτιδήποτε έχει σχέση, άμεση ή έμμεση, μ' αυτά είτε είναι ζώο ή φυτό της χέρσου, είτε υπόγειοι υδροφόροι ορίζοντες είτε ο άνθρωπος.

Από τα υδάτινα οικοσυστήματα της Ελλάδας εκείνα που πλήττονται άμεσα από τα απόβλητα ελαιουργείων είναι τα ποτάμια και ειδικότερα οι χείμαρροι. Αυτό, βέβαια, δεν σημαίνει ότι τα ποτάμια της μόνιμης ροής δε πλήττονται εξίσου. Απλά τα περισσότερα από αυτά προστατεύονται συμπτωματικά, αφού το νερό τους εξυπηρετεί άμεσες ανάγκες ύδρευσης και άρδευσης και όχι με το σκεπτικό της γενικότερης προστασίας των υδροβιότοπων. Οι χείμαρροι γενικώς αγνοούνται, δεν θεωρούνται αξιόλογα οικοσυστήματα, ενώ η υπάρχουσα νομοθεσία για την προστασία τους καταστρατηγούνται.

Τα ποτάμια μόνιμης ροής με μεγάλη παροχή, επανέρχονται σχετικά γρήγορα και σε σχετικά κοντινή απόσταση από ο σημείο εκροής του κατσίγαρου, ενώ στους χείμαρρους με μικρή ιδιαίτερα παροχή, όσο τουλάχιστον χρονικό διάστημα τροφοδοτούνται με κατσίγαρο, η επάνοδος του οικοσυστήματος τους στη αδιατάραχτη μορφή είναι αδύνατη.

Ειδικά στην περιοχή της Μεσογείου το πρόβλημα της παρουσίας του κατσίγαρου στο περιβάλλον παρουσιάζει πολλές ιδιαιτερότητες. Ειδικά τα οικοσυστήματα της Ελλάδας, ειδικά των νησιών, στην πλειοψηφία τους είναι μικρά σε έκταση, χαρακτηρίζονται όμως από μεγάλη ποικιλότητα χλωρίδας και πανίδας και ειδικά οι νησιωτικοί βιότοποι.

1.1.2. Έδαφος

Η απόρριψη των αποβλήτων στο έδαφος μπορεί, λόγω της περιεκτικότητάς τους σε πολυφαινόλες και λιπαρά οξέα, να προκαλέσει φυτοξικότητα σε ορισμένα είδη φυτών που βρίσκονται σε βλαστική δραστηριότητα. Επίσης, η απόρριψή τους, κάτω από ανεξέλεγκτες συνθήκες, μπορεί να οδηγήσει μέρος απ' αυτά στο υδάτινο περιβάλλον (ρυάκια, λίμνες, υπόγειους υδροφορείς, θάλασσα). Ειδική περίπτωση αποτελεί η απόρριψη σε «χώνες», ειδικές κοιλότητες μέσα σε ασβεστόλιθους, απ' όπου σχεδόν πάντοτε οδηγούνται σε υπόγεια υδροφόρα στρώματα.

Οι ορατές ρυπάνσεις πηγών, γεωτρήσεων, αρδευτικών δικτύων κλπ., φαίνεται να αποτελούν την κορυφή του παγόβουνου. Η βραδεία αλλά συνεχώς αυξανόμενη ρύπανση των εδαφών και υπόγειων υδάτων πρέπει να είναι οπωσδήποτε σοβαρότερη απ' ότι ο πολύς κόσμος εκτιμά και αντιλαμβάνεται.

1.2. ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ

Οι πιο σημαντικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις του κασιόγαρου δίνονται συνοπτικά παρακάτω:

1.2.1. Χρωματισμός των φυσικών νερών

Είναι ένα σημαντικό ένα από τα πιο ορατά προβλήματα που προκύπτουν από την εναπόθεση του κασιόγαρου στο περιβάλλον. Οι tannins που προέρχονται από το φλοιό του ελαιοκάρπου, παραμένουν στα υγρά απόβλητα. Παρόλο που οι ενώσεις αυτές δεν είναι επιζήμιες για τους ζώντες οργανισμούς, κατά την επαφή τους με το νερό το χρωματίζουν βαθύ καστανό-μαύρο. Την ίδια τύχη έχουν και οι φαινόλες.

1.2.2. Διασπασιμότητα των οργανικών ενώσεων

Για την αποικοδόμηση των ενώσεων του άνθρακα (BOD_5), τα βακτήρια εκτός από κάποια άλλα στοιχεία χρειάζονται άζωτο και φώσφορο. Η αναλογία $BOD_5:N:P$ θα έπρεπε να είναι 100:5:1. Η βέλτιστη αυτή αναλογία δεν είναι πάντα δεδομένη, καθώς υπάρχει συνήθως περίσσεια φωσφόρου.

1.2.3. Απειλή για την υδρόβια ζωή

Τα απόβλητα των ελαιουργείων έχουν υψηλή περιεκτικότητα σακχάρων. Το αποτέλεσμα της ανεπεξέργαστης εναπόθεσης τους σε υδάτινους αποδέκτες είναι η αύξηση των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούν τα σάκχαρα σαν θρεπτικό υπόστρωμα. Σαν συνέπεια να αυξάνεται η κατανάλωση του διαλυμένου οξυγόνου ενώ ταυτόχρονα μειώνεται το διαθέσιμο οξυγόνο για τους υπόλοιπους υδρόβιους οργανισμούς. Το γεγονός αυτό μπορεί να προκαλέσει σοβαρή ανισορροπία σε ολόκληρο το οικοσύστημα.

Κάτι ανάλογο συμβαίνει λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε φώσφορο. Ο φώσφορος επιτυγχάνει την ανάπτυξη των αλγών και συνεπώς τις πιθανότητες ευτροφισμού, καταστρέφοντας έτσι την οικολογική ισορροπία των φυσικών νερών. Σε αντίθεση με τις ενώσεις του αζώτου και άνθρακα που κατά την αποικοδόμηση τους μετατρέπεται αντίστοιχα σε διοξείδιο του άνθρακα και ατμοσφαιρικό άζωτο και απομακρύνονται, για τον φώσφορο δεν υπάρχει κάποιος αντίστοιχος μηχανισμός. Αυτό σημαίνει ότι ο φώσφορος μεταφέρεται στους έμβιους οργανισμούς διαμέσου της τροφικής αλυσίδας.

Η ύπαρξη μεγάλων ποσοτήτων θρεπτικών συστατικών στα απόβλητα τα καθιστά το τέλειο μέσο ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών, που πολλαπλασιάζονται και μολύνουν τους υδάτινους αποδέκτες, με σοβαρές συνέπειες στην οικολογία τους.

1.2.4. Αδιαπέραστο φιλμ

Τα λιπίδια των αποβλήτων δημιουργούν ένα αδιαπέραστο, στο φως και το οξυγόνο, φιλμ στην επιφάνεια των ποταμών, των όχθων και των παρακείμενων εδαφών. Η δημιουργία αυτού του φιλμ οδηγεί στην παρεμπόδιση ανάπτυξης των μικροοργανισμών στο νερό, της φυτικής ανάπτυξης στο έδαφος και δημιουργεί διάβρωση.

1.2.5. Ποιότητα εδαφών

Τα απόβλητα εμπεριέχουν πολλά οξέα, μεταλλικά στοιχεία και οργανικά που καταστρέφουν την ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων των εδαφών με τα οποία έρχονται σε επαφή. Το αποτέλεσμα είναι η μεταβολή των φυσικοχημικών ιδιοτήτων αυτών και μείωση της γονιμότητάς τους.

1.2.6. Οσμές

Λόγω αναερόβιων διεργασιών που λαμβάνουν χώρα, αναδύονται οσμηρά αέρια, όπως λόγου χάρη μεθάνιο και υδρόθειο, των οποίων η έντονη οσμή γίνεται αισθητή ακόμη και από μεγάλες αποστάσεις. Η παραγωγή των αερίων γίνεται συνήθως κατά την παραμονή των αποβλήτων σε δεξαμενές εξατμισιοδιαπνοής.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2. ΤΥΠΟΙ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΩΝ

2.1. Συστήματα Απαγωγής Ελαιόλαδου

Το ελαιόλαδο διαχωρίζεται από τα υγρά απόβλητα και από άλλες φάσεις στα μέρη: πολτός ή πάστα, υγρά απόβλητα (κατσίγαρος ή μούργες) και το στερεό υπόλειμμα ακολουθώντας τις παρακάτω μεθόδους: πίεση (κλασσικός τύπος ελαιουργείων), φυγοκέντρωση (διφασικός και τριφασικός decanter) και εκλεκτική φίλτρανση ή διύλιση[30],[34].

2.1.1. Κλασσικά Ελαιουργεία (Pressure)

Η πίεση (κλασσικά ελαιουργεία) είναι η παλαιότερη και μια από τις ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την απαγωγή του ελαιόλαδου. Αυτή η μέθοδος βασίζεται στην αρχή κατά την οποία ο πολτός των ελιών συμπίεζεται κάτω από κατάλληλες συνθήκες, και αποδεδεσμεύεται το ελαιόλαδο από το στερεό υπόλειμμα. Ο διαχωρισμός της υγρής από την στερεή φάση γίνεται κατά την συμπίεση του πολτού, σε μια μηχανή συμπίεσης, και ο οποίος συγκρατείται από τα mats (filter-diaphragms).

Μερικοί συγγραφείς έχουν εξετάσει σε θεωρητικές βάσεις τη ροή του ελαιόλαδου μέσω του πολτού, η οποία λαμβάνει χώρα κατά τη συμπίεση του. Ο M. Moreno έχει περιγράψει την συμπίεση ως μια διεργασία φίλτρανσης, η κινηματική κατά την οποία μπορεί να εκφραστεί από την ακόλουθη σχέση, βασισμένη στην γενική εξίσωση του Carman:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{P}{\eta \beta} A \left(1 - \frac{a \omega}{\beta A} V \right) \quad (2.1)$$

όπου V = υγρός διαχωρισμένος όγκος

t = χρόνος

P = εφαρμοσμένη πίεση

A = περιοχή (πεδίο) φίλτρανσης

η = ιξώδες του υγρού

ω = ποσότητα του στερεού υλικού αποθέματος ανά μονάδα υγρού

α = αντίσταση του υλικού φίλτρανσης

β = αντίσταση του αποθέματος του στερεού υλικού

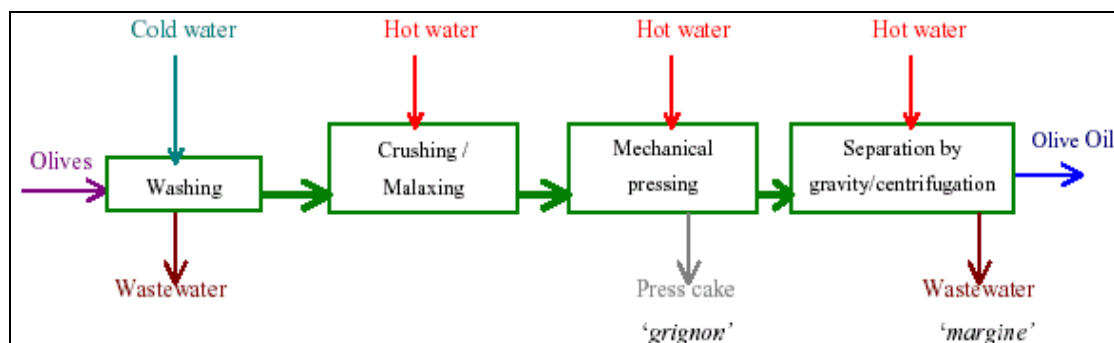
Μετά την ολοκλήρωση της παραπάνω εξίσωσης, αυτή μας δίνει την ακόλουθη εξίσωση:

$$V = \frac{\beta A}{a \omega} \left(1 - e^{-\frac{P \alpha \beta}{\eta \beta^2} t} \right) \quad (2.2)$$

Η απαγωγή μέσω πίεσης βασικά συνεπάγεται η εφαρμογή της πίεσης σε μια στήλη (στοίβα) από απαλειφόμενα mats με τον πολτό των ελιών τα οποία μπορούν να συγκρατηθούν με μεταλλικούς δίσκους (λαμαρίνες) και επανατοποθετούνται με ένα κατάλληλο trolley με ένα κεντρικό άξονα. Οι ικανότητες συμπίεσης έχουν να αλλάξει δραματικά κατά το πέρας του χρόνου: όχι μόνο έχουν βελτιωθεί τα υλικά, αλλά ο μηχανικός εξοπλισμός είναι περισσότερο αποτελεσματικός, αξιόπιστος και κάνει καλό διαχωρισμό του στερεού από τις υγρές φάσεις.

Οι σύγχρονες πρέσες, λειτουργώντας με κυμαινόμενη διάμετρο μεταξύ 35-40cm, μπορούν να συμπίεσουν στήλη 250-350Kg από πολτό ελιών στην οποία υπάρχουν 4 στρώματα από πολτό ελιών τα οποία είναι διανεμημένα μεταξύ 5 mats και 2 μεταλλικών δίσκων και μπορούν να εφαρμόσουν πίεση 350-450Kg/cm² (ειδική πίεση 120-200Kg/cm²).

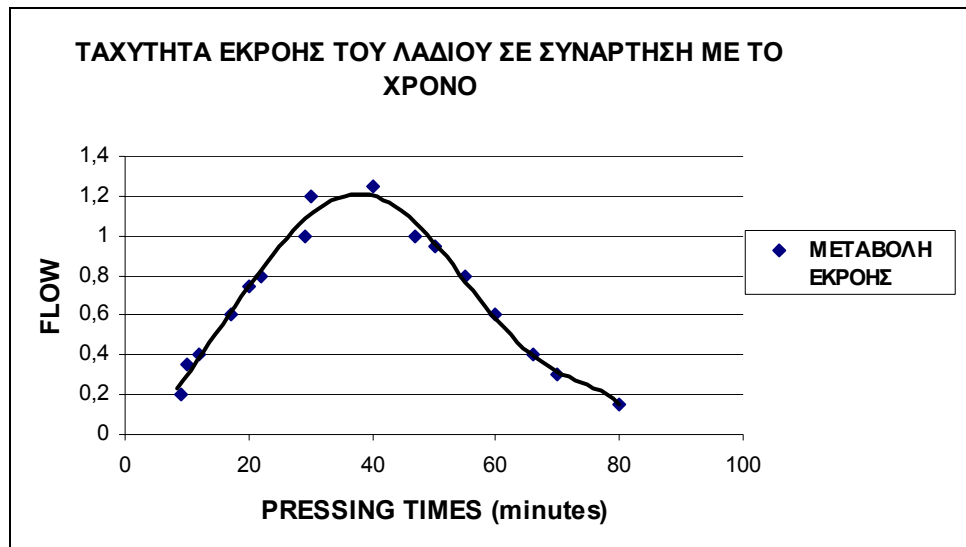
Σχεδόν όλες οι μηχανές κλασσικών ελαιουργείων χρησιμοποιούν την απλή μέθοδο πίεσης παρουσιάζεται στην παρακάτω εικόνα, η υπερπίεση που εφαρμόζεται κατά την συμπίεση, διαρκεί 1,0-1,5hours (hr). με τις κλασσικές μεθόδους μπορούν να επεξεργαστούν περίπου 8-10tn ελιών την ημέρα.



Εικόνα 2.1. Διάγραμμα απαγωγής ελαιολάδου εφαρμόζοντας πίεση (απλή συμπίεση)[4].

Όταν χρησιμοποιείται πίεση, η στερεή φάση διαχωρίζεται από την υγρή φάση κατά την συμπίεση της στήλης κάτω από την κεφαλή του πλαισίου πίεσης. Συμπιέζοντας τον πολτό μεταξύ των συνθετικών ινών των mats (filter-diaphragms), ο όγκος του μειώνεται. Το αποτέλεσμα της πίεσης είναι η υγρή φάση να διαχυθεί διαμέσου του πολτού των ελιών και των πλεγμάτων των ινών των mats, παράγοντας δύο εκροές λαδιού –ή μια κεντρομόλος και η άλλη φυγόκεντρος- οι οποίες συγκεντρώνεται στην πλάκα πίεσης.

Η ταχύτητα κατά την οποία το λάδι διέρχεται λόγω των διαφόρων πιέσεων σε συνάρτηση του χρόνου, παρουσιάζεται στην καμπύλη της εικόνας 2.2. Το σχήμα της καμπύλης βασικά βασίζεται στα χαρακτηριστικά των ελιών και τις συνθήκες λειτουργίας κατά τη διάρκεια της σύνθλιψης και της ανάμιξης. Όσο χαμηλότερη είναι η αναλογία της υγρασίας του πολτού και υψηλότερη ποσοστιαία αναλογία του ασυμπιέστου στερεού υλικού (stones), τόσο καλύτερη είναι η ροή του λαδιού.



Εικόνα 2.2. Μεταβολή της εκροής (L/100Kg ελιών x min) του λαδιού (υγρά απόβλητα+ελαιόλαδο) κατά τη διάρκεια της πίεσης του πολτού.

Αυτοί οι δύο παράγοντες διευκολύνουν τη διοχέτευση των υγρών φάσεων διαμέσου του πολτού. Το επίπεδο της εφαρμοσμένης πίεσης είναι ιδιαίτερα σημαντικό σ' αυτή τη σχέση. Η υπερπίεση, για παράδειγμα, μπορεί να εφαρμόσει μια συγκεκριμένη πίεση περίπου της τάξης 120-200Kg/cm² στον πολτό των ελιών.

Στον πίνακα 2.1 παρουσιάζεται τα αποτελέσματα της εφαρμογής κατά την οποία η ικανότητα συμπίεσης πετυχαίνοντας διάφορες συγκεκριμένη τελική πίεση χρησιμοποιείται για να απαχθεί το ελαιόλαδο. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν τις διαφορές στο λάδι παρέχοντας παρατηρήσεις όταν η χρησιμοποιήσιμη πίεση είναι 35cm (14'') και 40cm (16''). Αρχικά, κατά μέσο όρο, εφαρμόστηκε μια συγκεκριμένη πίεση της τάξης των 136Kg/cm². Δευτερευόντως, ξανά κατά μέσο όρο, εφαρμόστηκε μια συγκεκριμένη πίεση της τάξης των 182Kg/cm².

Πίνακας 2.1. Αποδόσεις και Χαρακτηριστικά των παρατηρούμενων παραπροϊόντων κατά την απαγωγή του ελαιολάδου χρησιμοποιώντας σύστημα πίεσης (Presses of 14'' and 16'')

	PRESSURE PR 14''	PRESSURE PR 16''
YIELD (%)	88,6	90,7
<u>Pomace</u>		
QUANTITY(Kg/100Kg olives)	31,0	29,4
MOISTURE (%)	24,2	23,2
OIL (%)	6,2	5,6
OIL (Kg/100Kg olives)	1,9	1,7
<u>Vegetation water</u>		
OIL (%)	3,8	2,7
OIL (Kg/100Kg olives)	0,23	0,16

Source: Mascolo et. al.

Η εισαγωγή της ημιαυτοματοποιημένης μηχανής για τη φόρτιση και την εκφόρτιση των συμπιεσμένων στηλών προκαλεί σημαντική ελαχιστοποίηση των συνηθισμένων απαιτήσεων (press - operated mills) που αποτιμάται πάνω από 25-30%.

Μερικές μηχανές κλασσικών ελαιουργείων ακόμη εκτελούν δύο συμπιέσεις, αν και αυτές δεν έχουν εκτεταμένη πρακτική και επιτυγχάνουν αποτελεσματικά σε ιδιαίτερη μόνο περιοχή. Αυτές εμπεριέχουν αρχικά συμπίεση της τάξης των $100-150\text{Kg/cm}^2$, το ξηρό κατάλοιπο επανασυνθλίβονται στη μηχανή των κυλιόμενων πετρών και στη συνέχεια επανασυμπιέζονται σε πίεση της τάξης των 450Kg/cm^2 . Το βαθύ πράσινο χρώμα κατά τη δεύτερη συμπίεση του πολτού είναι ευκρινώς διαφορετικό από το πρώτο προϊόν συμπίεσης.

Η συμπίεση έχει τα ακόλουθα πλεονεκτήματα:

1. Χρειάζεται περιορισμένη έκταση εγκαταστάσεων.
2. Οι μηχανικές εγκαταστάσεις είναι απλές και αξιόπιστες.
3. Απαιτείται ελάχιστη ηλεκτρική ισχύς, έτσι η κατανάλωση της ενέργειας είναι χαμηλή.
4. Το ξηρό κατάλοιπο έχει χαμηλή αναλογία υγρασίας.
5. Παράγεται μόνο μια μικρή ποσότητα υγρών αποβλήτων και συγκρατούνται ελάχιστα στο λάδι.

Ωστόσο, αυτός ο τύπος ελαιουργείου έχει και μερικά μειονεκτήματα:

1. Η μηχανές συμπίεσης καταλαμβάνουν μεγάλο χώρο σε σχέση με το σύνολο των εγκαταστάσεων του ελαιουργείου.
2. Χρειάζεται περισσότερη εργασία για την απαγωγή του ελαιολάδου.
3. Τα mats μπορεί να μολυνθούν.
4. Η διεργασία δεν είναι συνεχής.

Ο πίνακας 2.2 παρουσιάζει τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του απαγμένου λαδιού με συμπίεση. Πρέπει να σημειωθεί εδώ πως η συμπίεση των ελιών παράγει καλά μόνο αποτελέσματα, εάν η μηχανική κατεργασία και η μηχανή συμπίεσης κρατιούνται άψογα καθαρά, και εάν αποφεύγονται οι διακοπές κατά τον κύκλο της διεργασίας[30].

Πίνακας 2.2. Χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου που παρατηρήθηκαν από καλή ποιότητα ελιών με τρία πειραματικά συστήματα απαγωγής.

Determination	System ^α	Mean ^β	Minimum	Maximum
Free fatty acids (%)	A	0,23 _a	0,18	0,28
	B	0,23 _a	0,20	0,27
	C	0,22 _a	0,16	0,28
Peroxide value (meq O ₂ /Kg)	A	4,0 _a	2,8	5,5
	B	4,6 _a	3,9	5,3
	C	4,9 _a	4,0	6,3
Total Polyphenols (mg/L as gallic acid)	A	158 _a	111	197
	B	157 _a	103	185
	C	121 _b	87	158
o-diphenols (mg/L as caffeic acid)	A	100 _a	66	154
	B	99 _a	62	149
	C	61 _b	32	92
Induction time (hr)	A	11,7 _a	8,7	16,4
	B	11,2 _a	8,9	15,0
	C	8,9 _{ab}	7,4	10,9
Chlorophyll pigments (ppm)	A	5,0 _a	3,2	8,1
	B	8,9 _{ab}	5,8	18,5
	C	9,1 _b	6,5	13,7
K ₂₃₂	A	1,93 _a	1,82	2,11
	B	2,03 _a	1,889	2,27
	C	2,01 _a	1,90	2,16
K ₂₇₀	A	0,120 _a	0,110	0,132
	B	0,124 _a	0,110	0,132
	C	0,127 _a	0,090	0,153
Panel rest	A	6,9 _a	6,2	7,4
	B	7,0 _a	6,7	7,2
	C	7,0 _a	6,7	7,2

^α: A.pressure; B.percolation; C.centrifugation.

^βValues with the same letter are not significantly different (P<0,05).

2.1.2. Φυγοκέντριση (Centrifugation or Tri-Phase Decanter)

Μετά από πολλά χρόνια ερευνών, βρέθηκε μια λύση στην ερώτηση: Πώς μπορούμε να απάγουμε το λάδι από τις ελιές εφαρμόζοντας φυγοκεντρική δύναμη; Η απάντηση ήταν με μηχανές υψηλής περιστροφικής ταχύτητας.

Ο νόμος του Stoke, δείχνει παρακάτω σε μια τροποποιημένη έκδοση του, εφαρμόζεται για αμιγή υγρά υπό φυγοκεντρική δύναμη:

$$V = \frac{D^2}{18} \frac{(d_2 - d_1) \omega^2 r}{\eta} \quad (2.3)$$

όπου V = ταχύτητα διαχωρισμού

D = διάμετρος των εκροών του υγρού με την υψηλότερη πυκνότητα

d_1 = η πυκνότητα του ελαφρότερου υγρού

d_2 = η πυκνότητα του βαρύτερου υγρού

ω = γωνιακή ταχύτητα

r = απόσταση από το άξονα περιστροφής

η = ιξώδες υγρού με την χαμηλότερη πυκνότητα

Η απόδοση των φυγοκεντρικών διαχωριστών μετρήθηκε σταδιακά από τη σχέση μεταξύ της φυγοκεντρικής επιτάχυνσης και της επιτάχυνσης της βαρύτητας (g):

$$G = \frac{\omega^2 r}{g} \quad (2.4)$$

Στις σύγχρονες εγκαταστάσεις ελαιουργείων, όπου ο πολτός των ελιών υπέστη φυγοκέντριση, ο συντελεστής G είναι τόσο υψηλός όσο 2.000-2.500 βασισμένος στην περιστροφική ταχύτητα και την εσωτερική διάμετρο του ρότορα. Σε πρόσφατες μελέτες που έχουν γίνει πάνω σε θεωρητική βάση είναι δυνατόν να καθοριστούν τα κινητικά και γεωμετρικά χαρακτηριστικά της απόδοσης των σχεδιαζόμενων μηχανών.

Ο χρόνος ιζηματοποίησης των σωματιδίων ορίστηκε ως:

$$t_s = \frac{18\mu \ln\left(\frac{2R_2^2}{R_1^2 + R_2^2}\right)}{2D_p^2 (\rho_s - \rho_l) K_c \omega^2} \quad (2.5)$$

όπου μ = ιξώδες της υγρής φάσης

ρ_l = μάζα της υγρής φάσης

ρ_s = μάζα της στερεής φάσης

D_p = μέση διάμετρος των στερεών σωματιδίων

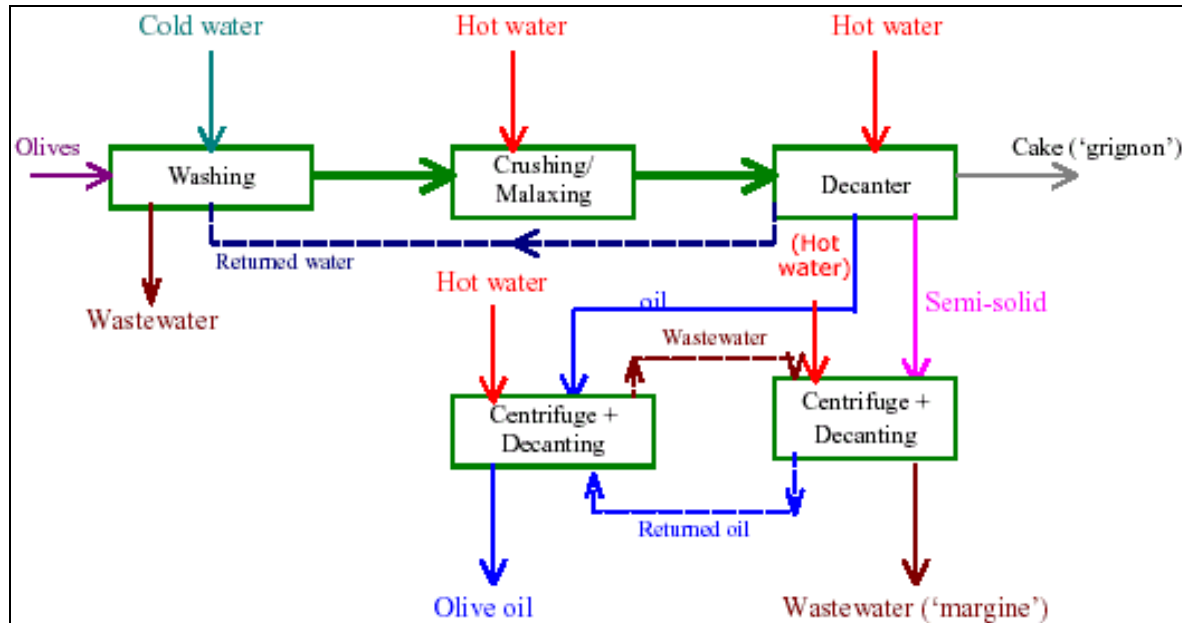
K_c = παράγων διόρθωσης βασιζόμενος στο ιξώδες

R_1, R_2 = ελάχιστη και μέγιστη ακτίνα του δακτυλίου όπου φυγοκεντρίζεται το υγρό

ω = γωνιακή ταχύτητα φυγοκέντρισης

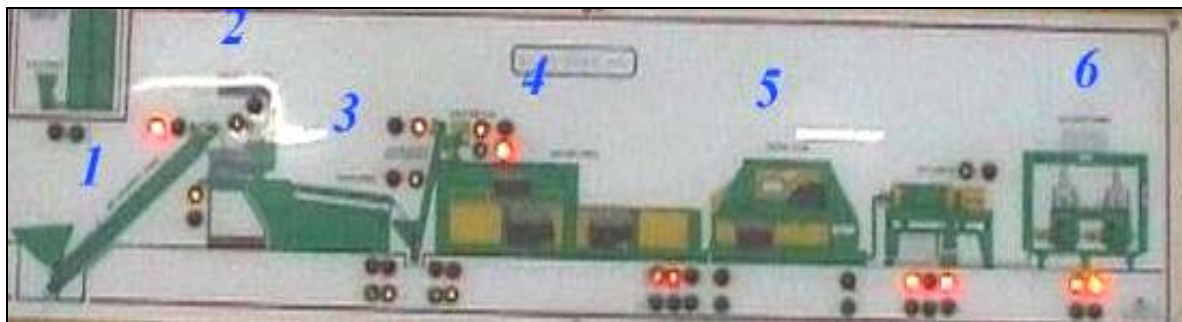
t_s = χρόνος ιζηματοποίησης των σωματιδίων

Η απαγωγή του ελαιολάδου στο σύστημα άμεσης φυγοκέντρισης επιτυγχάνεται σύμφωνα με το διάγραμμα της παρακάτω εικόνας. Όταν το ελαιόλαδο απάγεται από τον πολτό των ελιών με συνεχόμενη άμεση φυγοκέντρωση, οι υγρές φάσεις διαχωρίζονται από τη στερεή φάση εφαρμόζοντας φυγοκεντρική δύναμη η οποία αυξάνεται η διαφορά μεταξύ των ειδικών βαρών των αμιγών υγρών και του στερεού υλικού.



Εικόνα 2.3. Διάγραμμα τριφασικού ελαιουργείου απαγωγής ελαιολάδου[4].

Παρακάτω παρουσιάζεται σχεδιάγραμμα (πίνακας ελέγχου εγκατάστασης) των μηχανολογικών εγκαταστάσεων ενός φυγοκεντρικού ελαιουργείου.



Εικόνα 2.4. Σχέδιο μηχανολογικής εγκατάστασης ελαιουργείου απαγωγής ελαιολάδου[29].

2.1.2.1. Ελαιουργικό συγκρότημα

1. Στάδια επεξεργασίας του ελαιοκάρπου.

Στο παραπάνω σχήμα παρουσιάζεται η σχηματική αναπαράσταση ενός σύγχρονου φυγοκεντρικού ελαιουργείου. Τα επιμέρους στάδια επεξεργασίας του σχήματος υλοποιούνται στην πράξη από αυτόνομα μηχανήματα επεξεργασίας τα οποία διακρίνονται στο παρακάτω σχήμα.

2. Τροφοδοσία του ελαιουργείου

Ο ελαιοκάρπος που προσκομίζεται στα ελαιουργεία συγκεντρώνεται σε μια δεξαμενή κοντά στην αρχή του ελαιουργικού συγκροτήματος. Από εκεί μεταφέρεται με μια μεταφορική ταινία προς το αποφυλλωτήριο, όπου γίνεται η πρώτη επεξεργασία. Άλλος τρόπος που χρησιμοποιείται για την μεταφορά του καρπού για επεξεργασία είναι η χρήση αναβατόριου με ατέρμονα κοχλία. Αυτός ο τρόπος όμως δε θεωρείται τόσο καλός γιατί τραυματίζει τον ελαιοκάρπο και συνεπώς επηρεάζει αρνητικά την ποιότητα του ελαιολάδου.

3. Αποφύλλωση

Ο ελαιοκάρπος που προσκομίζεται από τους ελαιοπαραγωγούς στα ελαιουργεία, ανάλογα με τον τρόπο συλλογής του, περιέχει διαφορετική ποσότητα ξένων υλών, όπως φύλλα, κλαδίσκους, πετραδάκια, κομμάτια φλοιού κλπ., όπου άλλα είναι ελαφρύτερα και άλλα βαρύτερα από τον καρπό. Για την απομάκρυνση των ελαφρών αρχικά ξένων υλών χρησιμοποιούνται τα αποφυλλωτήρια, τα οποία δημιουργούν στο τελικό τμήμα της μεταφορικής ταινίας ένα ανοδικό ρυθμισμένο ρεύμα αέρα και έτσι παρασύρουν οτιδήποτε ελαφρύτερο από τον ελαιοκάρπο. Το βάρος των ελαφρών υλών αποτελεί σε κανονικές συνθήκες το 0,5 – 1,0% του συνολικού αρχικού προϊόντος.

4. Πλύση

Από την μεταφορική ταινία καταλήγουν οι ελιές μέσα στη δεξαμενή του πλυντηρίου, που είναι γεμισμένη με νερό. Το νερό είναι τρεχούμενο και ανανεώνεται διαρκώς. Ταυτόχρονα με το πλύσιμο, κατακάθονται στη δεξαμενή όλα τα βαρύτερα ξένα σωματίδια, όπως τα πετραδάκια, ενώ ο ελαιοκάρπος που επιπλέει παρασύρεται από το ρεύμα του νερού και μεταφέρεται στο στάδιο άλεσης.

Με το πλύσιμο του ελαιοκάρπου απομακρύνεται πλέον και όλες οι υπόλοιπες ξένες ύλες που μεταφέρονται μαζί του (λάσπη, χώμα, σκόνη κλπ.). Το πλύσιμο γίνεται με πόσιμο νερό και έχει ιδιαίτερη σημασία, γιατί η παρουσία ξένων υλών στον καρπό προκαλεί υποβάθμιση στην ποιότητα του ελαιολάδου.

5. Άλεση

Μετά το πλύσιμο ο καρπός αλέθεται (ή θρυμματίζεται) προκειμένου να παραχθεί ο πολτός –η ελαιομάζα–, από τον οποίο εκθλίβεται το ελαιόλαδο. Για την άλεση (θραύση) του ελαιοκάρπου υπάρχουν τρεις βασικοί τύποι σπαστήρων: οι ελαιομυλοί (ή μυλόλιθοι), οι κυλινδροσπαστήρες και οι σφυρόμυλοι. Από πλευράς ποιότητας, οι μυλόλιθοι δίνουν το καλύτερο σε ποιότητα ελαιόλαδο. Παρόλα αυτά, σήμερα στις περισσότερες ελαιοκομικές χώρες έχουν επικρατήσει κυρίως οι σφυρόμυλοι, λόγω ευκολίας στη χρήση τους και του μικρού τους συγκριτικά όγκου.

Τα δύο κύρια μέρη του σφυρόμυλου είναι το κυλινδρικό μεταλλικό κόσκινο και το σφυρί. Το σφυρί περιστρέφεται μέσα στο κόσκινο με ελεγχόμενες στροφές ενώ συνεχώς εισρέει σ' αυτό ο ελαιόκαρπος. Με την περιστροφή του σφυριού θρυμματίζεται ο ελαιόκαρπος και σε μορφή πολτού εξέρχεται από τις οπές του κόσκινου για να οδηγηθεί στη συνέχεια στο μαλακτήρα. Το κόσκινο είναι ανταλλάξιμο και υπάρχει δυνατότητα επιλογής της διαμέτρου των οπών, από την οποία μπορεί να επηρεαστεί σημαντικά η τελική ποιότητα του ελαιολάδου.

6. Μάλαξη

Σε αυτό το στάδιο η ελαιομάζα μαλάσσεται μέσα σε μια δεξαμενή όπου υπάρχουν πτερύγια που περιστρέφονται ανακατεύοντας την συνεχώς. Οι δεξαμενές αυτές ονομάζονται μαλακτήρες, κατασκευάζονται σήμερα από ανοξείδωτο χάλυβα και έχουν διπλά τοιχώματα, διαμέσου των οποίων κυκλοφορεί ζεστό νερό το οποίο εξασφαλίζει την απαιτούμενη θερμοκρασία για γρήγορη και αποτελεσματική μάλαξη.

Η μάλαξη είναι μια διαδικασία προετοιμασίας της ελαιομάζας για αποτελεσματικότερη έκθλιψη και γίνεται με κύριο σκοπό την αύξηση της βιομηχανικής απόδοσης. Ενώ η βιομηχανική απόδοση μπορεί να αυξηθεί σημαντικά, ακατάλληλες συνθήκες μάλαξης μπορούν να αλλοιώσουν την ποιότητα του ελαιολάδου.

Η αποτελεσματικότητα της μάλαξης οφείλεται στην ιδιοσυστασία του ελαιοκάρπου: Στη φυσική του μορφή, το λάδι βρίσκεται εγκλωβισμένο μέσα στη σάρκα της ελιάς διάσπαρτο σε πολλά μικροσταγονίδια ελευθερώνονται σταδιακά και συγκεντρώνονται σε μεγαλύτερες κηλίδες λαδιού που μπορούν πλέον να διαχωριστούν πολύ ευκολότερα.

Ενώ η βιομηχανική απόδοση μόνο να αυξηθεί μπορεί, όποιες και να είναι οι συνθήκες μάλαξης, σε ότι αφορά την ποιότητα του ελαιολάδου, εξαρτάται από τις συνθήκες εάν θα βελτιωθεί ή θα υποβαθμιστεί. Με την μάλαξη διαχωρίζονται καλύτερα τα ωφέλιμα χαρακτηριστικά από την ελαιομάζα και συνεπώς μεταφέρονται κατά τη φυγοκέντρωση που ακολουθεί, ευκολότερα στο λάδι. Αν όμως η μάλαξη είναι παρατεταμένη ή οι συνθήκες ακατάλληλες, αποχωρίζονται και μεταφέρονται στο λάδι και ανεπιθύμητες ουσίες, προκαλώντας την υποβάθμισή του.

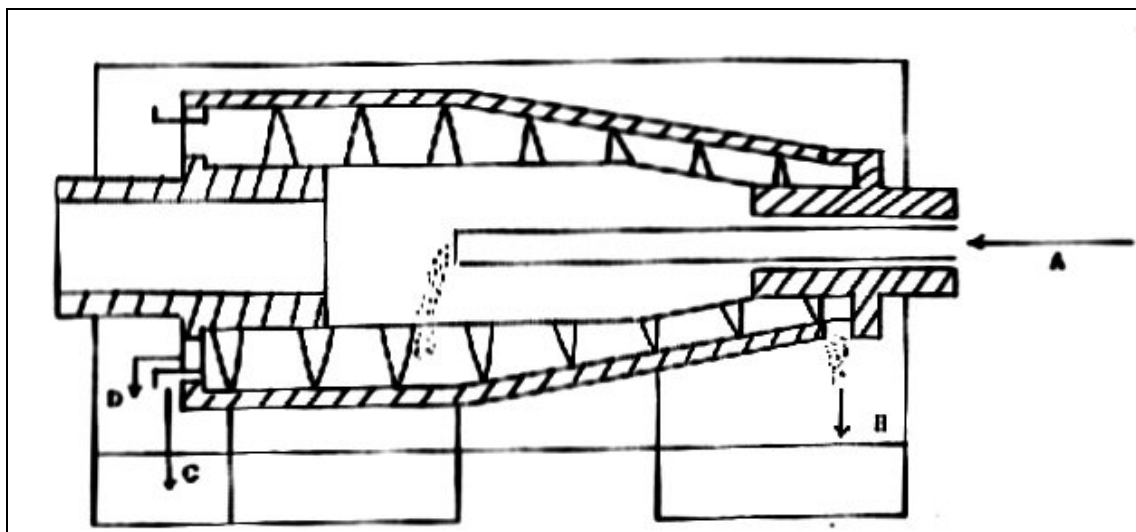
7. Φυγοκεντρική έκθλιψη

Ο τρόπος με τον οποίο γίνεται ο διαχωρισμός του λαδιού από την ελαιομάζα θεωρείται πολύ σημαντικός και καθοριστικός για το αποτέλεσμα τόσο της ποιότητας του ελαιολάδου όσο και της σύστασης των υποπροϊόντων που απομένουν. Ο επικρατέστερος τρόπος στα σύγχρονα ελαιουργεία είναι η εφαρμογή φυγοκεντρικής έκθλιψης με τη χρήση των decanter.

Ο decanter είναι ένα μηχάνημα στο οποίο εισέρχεται σε συνεχή ροή η ελαιομάζα και με τη βοήθεια της φυγόκεντρου δύναμης που αναπτύσσεται με την περιστροφή εσωτερικά ενός οριζόντιου τύμπανου, επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός του ελαιολάδου από τα υπόλοιπα υποπροϊόντα της. Οι decanter χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: στα τριφασικά και τα διφασικά. Η βασική τους διαφορά βρίσκεται στον τρόπο διαχωρισμού της ελαιομάζας. Στα τριφασικά, τα εξερχόμενα υποπροϊόντα είναι τρία: το λάδι, η στεγνή πυρήνα και τα απόνερα. Στο διφασικά, τα υποπροϊόντα που εξέρχονται είναι δύο: το λάδι και η υγρή πυρήνα, ανακατεμένη με τα υγρά της ελαιομάζας. Βέβαια πρέπει να σημειωθεί ότι το λάδι που εξέρχεται από τα

decanter δεν είναι εντελώς καθαρό και υφίσταται στη συνέχεια και δεύτερο διαχωρισμό, ενώ τα υπόλοιπα υποπροϊόντα απομακρύνονται από τη γραμμή έκθλιψης του ελαιολάδου.

Βασισμένες, βασικά, στο μέγεθος τους, αυτές οι μηχανές έχουν ωριαία ικανότητα διεργασίας που κυμαίνεται από 0,5-0,6 έως 3,0-4,0tn (30-32tn ελιών την ημέρα). Αυτό είναι ένα μέγιστο όριο που συνίσταται σε βιομηχανίες, αλλά είναι αναγκαίο να πραγματοποιείται διεργασία χαμηλότερης ποσότητας ελιών ανά ώρα για να αποφεύγονται απώλειες λαδιού στα παραπροϊόντα. Ιδιαίτερα όταν οι ελιές είναι δύσκολο να διεργαστούν, η ικανότητα πρέπει να είναι λιγότερη.



Εικόνα 2.5. Διάγραμμα οριζόντιας φυγοκέντρισης: Α: προμήθεια της ελαιόπαστας και νερού, Β: έξοδος ξερού υπολείμματος, C: έξοδος νερού εκβλάστησης, D: έξοδος λαδιού.

8. Διαχώριση

Μετά τη φυγοκεντρική έκθλιψη το ελαιόλαδο οδηγείται στο τελευταίο στάδιο έκθλιψης: το διαχωρισμό με το φυγοκεντρικό διαχωριστήρα. Ο διαχωριστήρας είναι ένα μηχάνημα στο οποίο εισέρχεται σε συνεχή ροή το ελαιόλαδο που προέρχεται από το decanter και το νερό. Το μίγμα εισχωρεί στο διάκενο πολλών ειδικών κυκλικών δισκίων που βρίσκονται στοιβαγμένα στο εσωτερικό του διαχωριστήρα και περιστρέφονται συνεχώς γύρω από τον κάθετο άξονά τους. Με την περιστροφή αναπτύσσεται φυγόκεντρος δύναμη, ικανή για το διαχωρισμό του καθαρού ελαιολάδου από το υποπροϊόν, που είναι νερό με προσμίξεις φυτικών υγρών και μικροσωματιδίων. Έτσι εξέρχονται από το διαχωριστήρα το καθαρό πλέον ελαιόλαδο και το υποπροϊόν που απομακρύνεται με τα απόνερα.

Αυτός ο δεύτερος διαχωρισμός είναι απαραίτητος για την απομάκρυνση των μικροποσοτήτων των φυτικών υγρών και των μικροσωματιδίων που δεν απομακρύνονται με το decanter και εξακολουθούν να παραμένουν μέσα στο ελαιόλαδο. Με το διαχωριστήρα ολοκληρώνεται η διαδικασία έκθλιψης και το ελαιόλαδο που εξέρχεται είναι κατάλληλο για κατανάλωση. Ο πίνακας 2.3 παρουσιάζει πως όταν η ροή τροφοδοσίας στον decanter μειώνεται, πέφτει η απόδοση απαγωγής. Αυτή η μείωση ακολουθείται από μια σημαντική αύξηση της αναλογίας του λαδιού στα υγρά απόβλητα, το οποίο προκαλείται στην πραγματικότητα διότι τα τεμάχια του πολτού των ελιών περιέχουν λάδι που χάνεται στο νερό.

Πίνακας 2.3. Απόδοση άμεσης φυγοκέντρισης ελαιολάδου (ως % του περιεχόμενου λαδιού στις ελιές) και τα χαρακτηριστικά των αποκομισμένων παραπροϊόντων κατά τη λειτουργία «Εύκολου» και «Δύσκολου» πολτού των ελιών και διάφορων ροών τροφοδοσίας των decanter (Kg/hr).

Olives			Feed Flow (Kg/hr)	Yield (%)	Pomace		Vegetation water	
Variety end characteristics	Water (%)	Oil (%)			Dry matter (Kg/100Kg olives)	Oil (Kg/100Kg olives)	Dry matter (Kg/100Kg olives)	Oil (Kg/100Kg olives)
MIXED ("Easy")	48,8	23,6	420	85,5	22,0	2,25	8,97	1,10
	48,8	23,6	480	84,3	21,9	2,29	9,56	1,40
	48,8	23,6	520	82,5	21,7	2,35	9,99	1,85
	48,8	23,6	580	80,5	21,5	2,40	10,76	2,29
CIPRESSINO ("Difficult")	52,4	17,6	400	82,0	22,9	1,63	10,27	1,52
	52,4	17,6	480	80,2	22,8	1,80	10,76	1,72
	52,4	17,6	530	78,7	22,2	1,86	11,64	2,00
	52,4	17,6	580	74,1	22,2	2,08	12,42	2,49

Source: Di Giovacchino

Κατά τη φυγοκέντρωση, η στερεή φάση διαχωρίζεται από την υγρή φάση κατά τη διαλυτοποίηση του πολτού των ελιών με νερό. Η ροή του διαλυτοποιημένου νερού (το οποίο είναι χλιαρό) παρέχεται με έναν μετρητή ελέγχου, ενώ ο ρυθμός με τον οποίο ο πολτός των ελιών τροφοδοτείται στο decanter ελέγχεται με τη βοήθεια μιας αντλίας. Η ποσότητα του προστιθέμενου νερού στον πολτό των ελιών μπορεί να έχει αντίκτυπο στην απόδοση της απαγωγής του λαδιού. Αυτό, επομένως, είναι αναγκαίο να επιτευχθεί ο σωστός λόγος μεταξύ του πολτού των ελιών και του νερού. Αυτή η αναλογία βασίζεται στον τύπο των εγκαταστάσεων του ελαιουργείου και στα ρεολογικά χαρακτηριστικά των ελιών: όσο περισσότερη είναι η ποσότητα του νερού, τόσο μικρότερη είναι η απόδοση της απαγωγής. Ο βέλτιστος λόγος πολτός / νερό, μπορεί να διαφέρει από 1:0,7 έως 1:1,2, και προσδιορίστηκε εμπειρικά κατά την παρατήρηση των χαρακτηριστικών του λαδιού και του νερού καθώς αυτά ρέουν εκτός του decanter.

Η ακριβής θερμοκρασία του νερού στο διαλυτοποιημένου πολτό των ελιών έχει ελάχιστη επίδραση στην απόδοση απαγωγής, αλλά δεν πρέπει να είναι χαμηλότερη των 20°C ή πάνω από 25°C ώστε να αποφεύγονται ανεπιθύμητα αποτελέσματα στην ποιότητα του απορρέοντος λαδιού.

Για να μειωθεί η ποσότητα του παραγόμενου αποβλήτου όταν φυγοκεντρίζεται ο πολτός της ελιάς, οι βιομηχανικές εγκαταστάσεις έχουν εισάγει έναν αριθμό από χαρακτηριστικά τα οποία μερικώς αντικαθιστούν την κύρια πηγή τροφοδοσίας νερού με το απορρέων υγρό απόβλητο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να χρησιμοποιείται λιγότερο νερό και να παράγεται λιγότερο απόβλητο. Αυτή η μέθοδος έχει δοκιμαστεί κατορθώνοντας εκπληκτικά αποτελέσματα όταν το υγρό απόβλητο ανακυκλώνεται στον decanter. Επίσης έχει θετικά αποτελέσματα στην απόδοση της απαγωγής του λαδιού και στην αναλογία των φαινολικών ουσιών στο λάδι, όταν το υγρό απόβλητο δεν γίνεται τόσο παχύρρευστο ώστε να εμποδίζεται η κυκλοφορία του νερού.

Αυτή η διεργασία έχει γίνει ευρέως αποδεκτή λόγω των παρατηρούμενων αποτελεσμάτων κατά την οριζόντια φυγοκέντρωση η οποία, περιστροφή με ταχύτητες της τάξης 3.500-

3.600rpm, διαχωρίζει με συνεχή τρόπο τη στερεά φάση από την υγρή φάση και παράγει ικανοποιητική απόδοση λαδιού. Δυστυχώς, αυτή η τεχνολογία χρησιμοποιεί περίπου 50% περισσότερο νερό σε σύγκριση με την απλή μέθοδο πίεσης (περίπου 80-100L νερού ανά 100Kg επεξεργασμένου καρπού) και δημιουργεί περίπου 50% ή περισσότερο απόβλητο ανά μονάδα μάζας καρπού (~1,7Kg αποβλήτου ανά Kg επεξεργασμένες ελιές συγκρινόμενο με το 0,9Kg κατά την κλασσική μέθοδο).

Μερικά από τα προσόντα της είναι:

1. Η μηχανική εγκατάσταση δεν είναι τόσο ογκώδης.
2. Η διεργασία είναι ημισυνεχής και αυτοματοποιημένη.
3. Χρειάζεται περιορισμένη εργασία.

Αλλά έχει και μειονεκτήματα:

1. Η περιεχόμενη επένδυση των εγκαταστάσεων είναι αρκετά υψηλή.
2. Μέρος των λειτουργιών πρέπει να είναι εξειδικευμένο.
3. Καταναλώνει ζεστό νερό.
4. Απαιτεί μεγάλη ηλεκτρική τροφοδοσία και καταναλώνει αξιοσημείωτη ποσότητα ενέργειας.
5. Τα υπολείμματα έχουν πολλή μεγάλη ποσότητα υγρασίας.
6. Παράγει αρκετά μεγάλο όγκο αποβλήτων το οποίο περιέχει μια υψηλή κατά μέσο όρο ποσοστιαία αναλογία σε λάδι.

Ο πίνακας 2.4 συνοψίζει τα αποτελέσματα των διεξαγμένων ερευνών για να προσδιοριστεί η απόδοση απαγωγής και των χαρακτηριστικών των παραγόμενων παραπροϊόντων, από τις εγκαταστάσεις ελαιουργείων συνεχής φυγοκέντρισης.

Πίνακας 2.4. Χαρακτηριστικά των παρατηρούμενων παραπροϊόντων κατά την απαγωγή του ελαιολάδου σε συστήματα φυγοκέντρισης και φίλτρανσης-φυγοκέντρισης.

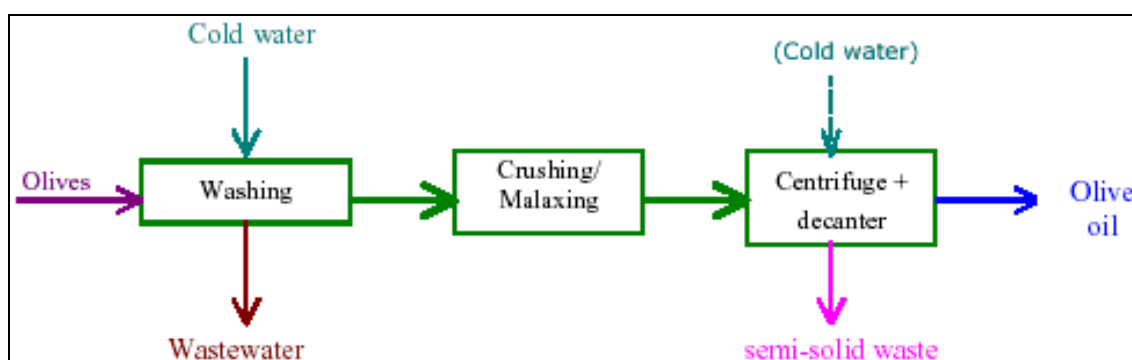
	Centrifugation	Percolation-Centrifugation
YIELD (%)	86,3	87,9
<u>Pomace</u>		
QUANTITY (Kg/100Kg olives)	47,6	49,9
MOISTURE (%)	48,4	46,9
OIL (%)	4,02	3,41
OIL (Kg/100Kg olives)	1,90	1,70
<u>Vegetation water</u>		
OIL (%)	5,9	4,9
OIL (Kg/100Kg olives)	0,9	0,8

Από την άποψη της ποιότητας, η φυγοκεντρική μέθοδος έχει βοηθήσει να βελτιωθεί η απαγωγή λαδιού σε περιοχές όπου η παραγωγή είναι μέτρια ή φτωχή. Σε περιοχές παραγωγής λαδιού με υψηλό ρυθμό, αυτή η μέθοδος έχει χαμηλότερο επίπεδο των παραμένων φυσικών αντιοξειδωτών στο λάδι, η οποία βασίζεται στη διάρκεια του σταδίου ανάμιξης και της ποσότητας του χρησιμοποιούμενου ζεστού νερού όταν ο πολτός των ελιών αντλείται από τον decanter, όπως δείχνεται στον πίνακα 2.2.[30].

2.1.3. Διφασικό Ελαιουργείο (Dual-Phase Decanter)

Στις δεκαετίες του 1970 και 1980 απλοποίηση των εργασιών ενός ελαιουργείου με την ευρεία χρήση φυγοκέντρισης βοήθησε στο γεγονός να ελαττωθεί το κόστος των διεργασιών και να μειωθεί εκπληκτικά ο χρόνος αποθήκευσης των ελιών. Η ποιότητα του ελαιολάδου βελτιώθηκε ιδιαίτερα στις περιοχές όπου η ποιότητα των ελιών ήταν φτωχή.

Στην πραγματικότητα ο πολτός των ελιών διαλυτοποιείται με ζεστό νερό στο σύστημα φυγοκέντρισης, έχοντας ως αποτέλεσμα αναπόφευκτα να μειωθεί το επίπεδο των φυσικών αντιοξειδωτών στο παραγόμενο ελαιόλαδο λόγω του ότι είναι περισσότεροι διαλυτοί στο νερό. Η προσθήκη του νερού αυξάνει τον όγκο του παραγόμενου υγρού αποβλήτου κατά τη διεργασία των ελιών στις εγκαταστάσεις ελαιουργείων, το οποίο απόβλητο επιβαρύνει τα προβλήματα διάθεσης και το κόστος διαχείρισής τους.



Εικόνα 2.6. Διάγραμμα διφασικού ελαιουργείου απαγωγής ελαιολάδου[4].

Μια δυνατότητα που έχει ερευνηθεί για να ελαχιστοποιηθούν αυτά τα μειονεκτήματα είναι να ανακυκλωθεί το υγρό απόβλητο τόσο συντομότερα όσο αυτό παράγεται και να χρησιμοποιηθεί το απαραίτητο νερό για να διαλύσει τον πολτό των ελιών, ο οποίος εν συνεχεία εισέρχεται στον decanter. Τα παρατηρούμενα αποτελέσματα κατά την εφαρμογή αυτής της τεχνικής δείχνουν μια μείωση της τάξης του 35-40% του όγκου του παραγόμενου υγρού αποβλήτου και μια αύξηση περίπου 30% στην αναλογία των total polyphenols στο ελαιόλαδο.

Ωστόσο, μερικές από τις βιομηχανικές εγκαταστάσεις ελαιουργείων έχουν πρόσφατα λανσάρει στην αγορά νέα μοντέλα decanters. Αυτοί είναι ικανοί να διαχωρίσουν την ελαιώδη φάση από τον πολτό των ελιών χωρίς καμιά επιπρόσθετη απαίτηση σε ζεστό νερό. Αυτό σημαίνει ότι δεν παράγουν υγρά απόβλητα, ακόμη το περιεχόμενο νερό στις ελιές παραμένει στο υπόλειμμα στο οποίο συνεπώς υπάρχει υγρασία.

Ο πίνακας 2.5 δίνει τον μέσο όρο των παρατηρούμενων αποβλήτων όταν η διεργασία των ελιών γίνεται σε διφασικούς και τριφασικούς decanters. Τα στοιχεία δείχνουν πως η διφασική λειτουργία του ελαιουργείου δίνει μια απόδοση της τάξης του 86,1% (ποσοστιαία αναλογία του παραγόμενου ελαιολάδου και η ποσότητα μεγαλύτερη από την απόδοση των τριφασικών ελαιουργείων (συμβατικός decanter με προσθήκη νερού) η απόδοση των οποίων είναι 85,5%. Αυτό το αποτέλεσμα αποδίδει το γεγονός ότι το νερό δεν προστίθεται για να διαλύσει τον πολτό των ελιών και αποφεύγεται η ανάπτυξη γαλακτωμάτων από λάδι/νερό.

Πίνακα 2.5. Χαρακτηριστικά των παρατηρούμενων παραπροϊόντων κατά την απαγωγή του ελαιολάδου σε διφασικούς (Environmentally-Friendly) και τριφασικούς decanters (Conventional)^a.

	Dual-Phase Decanter	Tri-Phase Decanter
YIELD (%)	86,1 _a	85,5 _a
<u>Pomace</u>		
QUANTITY (Kg/100Kg olives)	75,5 _a	57,5 _b
MOISTURE (%)	57,3 _a	55,4 _a
OIL (%)	3,47 _a	3,5 _a
OIL (% of dry matter)	8,17 _a	8,00 _a
OIL (Kg/100Kg olives)	2,7 _a	2,0 _b
<u>Vegetation water</u>		
OIL (%)	3,6A	90,0B
OIL (Kg/100Kg olives)	1,1 _a	11,8 _a
	0,06A	1,05B
Total oil in byproducts (Kg/100Kg olives)	2,76	3,05

^aMean values followed by the same letter do not differ significantly at $P \leq 0,05$

Η ικανοποιητική παρατηρούμενη απόδοση απαγωγής είναι αποδεδειγμένη, επιπλέον, κατά τις βρισκόμενες υπολειμματικές τιμές λαδιού στα παραπροϊόντα. Το σύνολο των απωλειών στην ποσότητα των παραπροϊόντων της τάξης των 3,05Kg/100Kg ελιών στην περίπτωση χρησιμοποίησης τριφασικού decanter και της τάξης των 2,76Kg/100Kg ελιών στην περίπτωση χρησιμοποίησης διφασικού decanter. Η δυνατότητα της αποκόμισης ενός μικρού όγκου υγρού αποβλήτου είναι ένα πλεονέκτημα, αν και το υπόλειμμα έχει μια μέση αναλογία υγρασίας της τάξης των 57,3%, η οποία δεν διαφέρει σημαντικά από την παρατηρούμενη αναλογία στο αποκομιζόμενο υπόλειμμα χρησιμοποιώντας συμβατικό τριφασικό decanter (55,4%). Ο πίνακας 2.6 δείχνει πως συγκρινόμενος με το παραγόμενο λάδι από συμβατικό τριφασικό σύστημα, το λάδι από διφασικό σύστημα απαγωγής έχει υψηλότερη αναλογία των total polyphenols και των o-diphenols[30].

Πίνακας 2.6. Σύγκριση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του αποκομισμένου λαδιού χρησιμοποιώντας ένα διφασικό (Environmentally-Friendly) και τριφασικό decanter (Conventional).

Determination	Dual-Phase Decanter	Tri-Phase Decanter
Acidity (%)	0,73	0,62
Peroxide value (meq/Kg)	8,3	8,0
Total polyphenols (mg/L as gallic acid)	160	113
o-diphenols (mg/L as caffeic acid)	116	79
Rancimat stability* (hr)	8,8	7,7
Chlorophyll pigments (ppm)	10,4	11,3
K ₂₃₂	1,82	1,69
K ₂₇₀	0,16	0,15
Organoleptic assessment	6,8	7,0
*Determined at 120°C; air flow 20L/hr		

Το μόνο μειονέκτημα του διφασικού decanter είναι ότι στο αποκομιζόμενο υπόλειμμα έχει υψηλότερη αναλογία υγρασίας σε σχέση με μια συμβατική μηχανή φυγοκέντρισης. Από την άλλη μεριά, τα πλεονεκτήματα είναι:

1. Εξοικονομεί νερό και ενέργεια, αφού ο πολτός των ελιών δεν χρειάζεται να διαλυτοποιηθεί με ζεστό νερό από την κύρια πηγή τροφοδοσίας.
2. Το παραγόμενο λάδι περιέχει περισσότερες total polyphenols και o-diphenols και είναι συνεπώς περισσότερο σταθερό χημικά κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.
3. Εξοικονομεί χρήματα για τη διάθεση των υγρών αποβλήτων, αφού παράγει πολύ μικρή ποσότητα ή σχεδόν καθόλου απόβλητα[30].

2.1.4. Διύλιση ή Επιλεκτική Φίλτραση (Percolation or Selective Filtration)

Η διύλιση βασίζεται στην ακόλουθη αρχή: Μια ανοξείδωτη πλάκα βυθίζεται στον πολτό των ελιών. Όταν αυτή απομακρύνεται είναι επικαλυπτόμενη με λάδι λόγω της διαφορετικής επιφανειακής τάσης της υγρής φάσης του πολτού των ελιών. Το λάδι και τα υγρά απόβλητα έχουν διαφορετική αλληλεπιδρούσα τάση όταν έρχονται σε επαφή με την μεταλλική επιφάνεια που είναι εμβαπτισμένη στον πολτό των ελιών. Κάτω από συνθήκες λειτουργίας, ιδιαίτερα όταν παρόν στον πολτό των ελιών βρίσκεται η στερεή φάση, η αλληλεπιδρούσα τάση του λαδιού είναι χαμηλότερη του υγρού αποβλήτου και η επιφάνεια του μετάλλου καλύπτεται από μια λεπτή στρώση λαδιού.

Το πρώτο λειτουργικό σχέδιο αυτής της μεθόδου έγινε γνωστό ως μέθοδος Ascarulco (1911), η οποία αργότερα τροποποιήθηκε σε μέθοδο Ascarulco-Quintanilla (1929-1930). Ωστόσο, αυτές οι μηχανές δεν ήταν απόλυτα αποτελεσματικές, λόγω των μηχανικών τους μειονεκτημάτων. Αυτές οι μηχανές έπειτα αποσύρθηκαν από τον F.Buendia ο οποίος το 1951 δημιούργησε το πρωτότυπο Alfin.

Η βελτιωμένη έκδοση του εξοπλισμού, τώρα είναι γνωστό ως σύστημα Sinolea, στο οποίο αποτελείται από έναν ημικυλινδρικό δοχείο στη βάση του, στην οποία υπάρχει βυθίζονται αργά μέσα στον πολτό των ελιών. Οι σταγόνες του λαδιού απομακρύνοντας από τις λεπίδες, όπου η διεργασία είναι γνωστή ως διύλιση. Μια τέτοια μηχανή μπορεί να διαχειριστεί 300-350Kg του πολτού των ελιών έχει 5.120 κατανεμημένες πλάκες σε μια συνολική περιοχή περίπου 1,18m². Ένα μηχανικό σύστημα, περιλαμβάνοντας ένα ξυστήρι που περιστρέφεται με ταχύτητα με ταχύτητα 7,5rpm, κινεί τον πολτό των ελιών, συμπιέζοντας τον ομοιόμορφα και με συνεχόμενο τρόπο προς τις επίπεδες εσχαρές.

Ένας απαγωγέας αυτής της δυναμικότητας χρειάζεται ισχύς 2-3KW για να λειτουργήσει. Η ποσοστιαία του λαδιού που ρέει από την μηχανή μειώνεται κατά τη διάρκεια της απαγωγής σύμφωνα με την ακόλουθη σχέση (formula):

$$Q = Q_0 (1 - e^{-bt}) \quad (2.6)$$

όπου Q = ποσότητα του απαγμένου λαδιού σε χρόνο t

Q₀ = ποσότητα του αδέσμευτου λαδιού που μπορεί να απαχθεί σε μια άπειρη περίοδο χρόνου

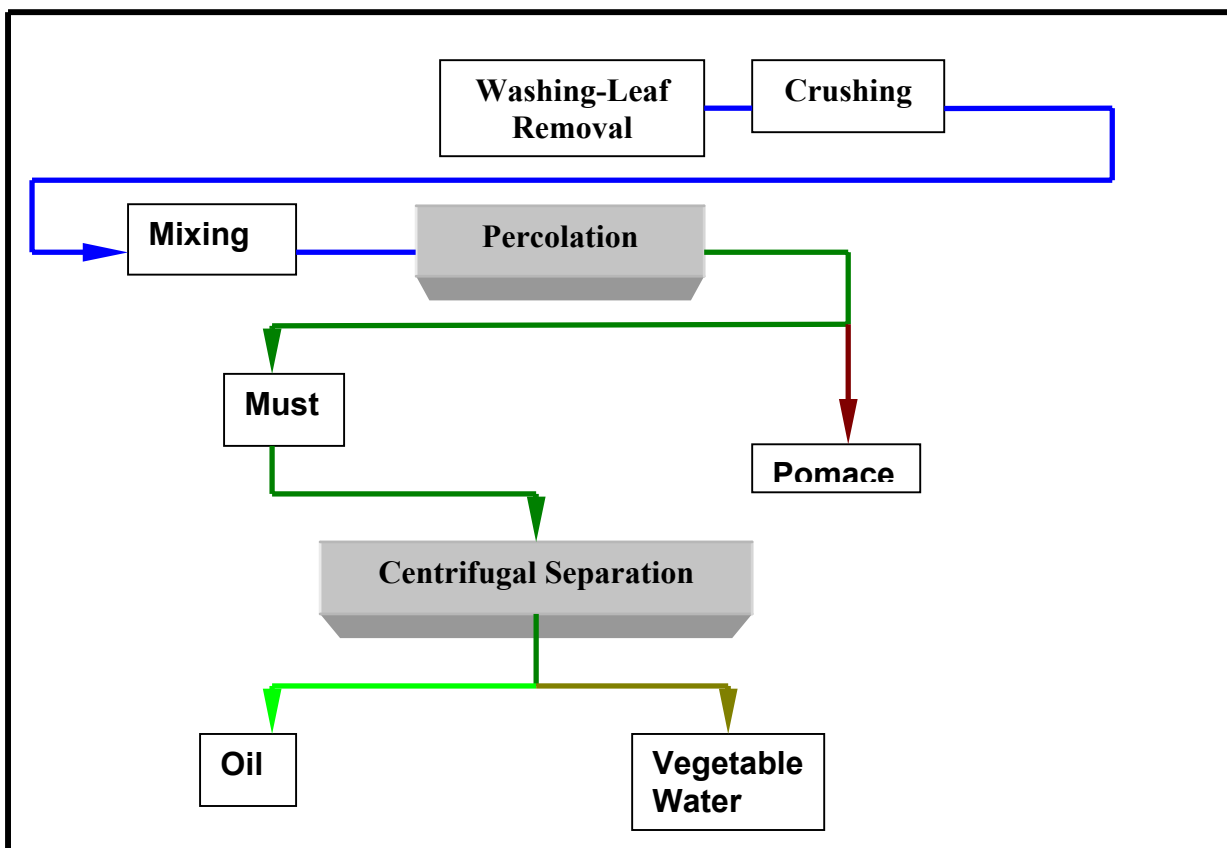
Αν και είναι αποτελεσματικός, όταν τροποποιήθηκε για πρακτικούς λόγους, αυτή η formula αντικαταστάθηκε από τη σχέση:

$$\log \frac{Q_r}{Q_o} = H - h \log \frac{t}{10} \quad (2.7)$$

όπου Q_r = το λάδι που απομένει στον πολτό των ελιών σε μια συγκεκριμένη χρονική στιγμή t

Q_o = συγκρατημένο λάδι στην αρχική ποσότητα του πολτού, υπολογίστηκε από τον μηχανισμό Soxhlet.

όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, στο σύστημα φίλτρανσης, η υγρή φάση διαχωρίζεται από την στερεή φάση λόγω της διαφοράς της αλληλεπιδρούσας τάσης του λαδιού και του υγρού απόβλητου διαμέσου της ανοξειδωτής πλάκας που είναι συνεχόμενα βυθιζόμενη μέσα στον πολτό των ελιών. Η απόδοση της απαγωγής του λαδιού με φίλτρανση βασίζεται σημαντικά στα ρεολογικά χαρακτηριστικά του πολτού των ελιών. Αυτό παρουσιάζεται στην εικόνα 2.6 η οποία δείχνει την ανάκτηση του απαγμένου ελαιολάδου εκφρασμένη ως ποσοστιαία αναλογία του λαδιού στις ελιές. Έχει παρατηρηθεί υψηλότερη απόδοση απαγωγής από «δύσκολες» ελιές, και είναι αξιοσημείωτα χαμηλότερος ο λόγος λάδι / στερεό κατά την αύξηση της ποσοστιαίας αναλογίας της υδρόφιλης φάσης των στερεών.



Εικόνα 2.7. Διάγραμμα απαγωγής ελαιολάδου μέσω διύλισης (φίλτρανσης)[30].

Το απαγμένο λάδι με το σύστημα φίλτρανσης διατηρεί ανέπαφη τη φυσική ποιότητα του αποδίδοντας, ιδιαιτέρως την αναλογία των πολυφαινολών τους. Ακόμη η απαγωγή παίρνει μέρος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, δεν προστίθεται διαλυτοποιημένο νερό και δεν υπάρχει καμιά δυνατότητα μόλυνσης. Η παρούσα διεργασία έχει το επιπρόσθετο πλεονέκτημα ότι είναι αυτοματοποιημένη, απαιτεί μικρό εύρος εργασιών και χρησιμοποιεί περιορισμένη ποσότητα ενέργειας. Παρόλα αυτά, έχει το μειονέκτημα ότι δεν απομακρύνει ολοκληρωτικά το λάδι από τον πολτό των ελιών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα ότι το στερεό υπόλειμμα έχει μεγάλη ποσότητα υγρασίας (50-65%) και έχει μια μεσαία έως υψηλή

αναλογία λαδιού (8-12%). Αυτό το μειονέκτημα ξεπερνάτε κατά τον συνδυασμό του συστήματος φίλτρανσης με μια άλλη μέθοδο απαγωγής.

Στο παρελθόν, η υγρασία, μερικά «αποελαιομένα» υπολείμματα συμπιεζόταν αφού είχε φιλτραριστεί το λάδι, ένα σύστημα που δίνει μια ικανοποιητική απόδοση απαγωγής. Αλλά αυτή η συνδυασμένη μέθοδος έχει μειονεκτήματα: απαιτεί την ίδια δυναμική εργασία όπως στη συμπίεση, διότι περιέχει mats για τον πολτό των ελιών και δε είναι συνεχούς λειτουργίας. Όλα αυτά έχουν τερματιστεί από τη στιγμή που έχει χρησιμοποιηθεί, σε μεγάλο βαθμό και έχει οδηγήσει σε αντικατάσταση του από την περισσότερο ορθολογιστική συνδυασμένη μέθοδο, η μέθοδος της φίλτρανσης-φυγοκέντρισης.

Όταν χρησιμοποιείται αυτή η διπλή μέθοδος, στη μηχανή φίλτρανσης προσαρμόζεται ένας μικρός αριθμός από λεπίδες (4.608 λεπίδες ανά $1,06\text{m}^2$) λόγω της ενσωμάτωσης ενός κοχλία στη βάση του, ο οποίος αυτόματα αποβάλλει τον «αποελαιομένο» πολτό των ελιών, που στη συνέχεια τροφοδοτείται σε έναν φυγοκεντρικό decanter.

Κατά την εισαγωγή του στο σύστημα οριζόντιας φυγοκέντρισης για την διεργασία του πολτού των ελιών, η διαδικασία γίνεται ημισυνεχής με όλες τις θετικές συνέπειες που ο αυτοματισμός συνεπάγεται. Χρειάζεται λιγότερη εργασία, τα mats (filter-diaphragms) έχουν αφαιρεθεί λόγω της διπλής απαγωγής, η απόδοση του απαγμένου λαδιού είναι παρόμοια με εκείνη που παρατηρήθηκε στην περίπτωση της απλής πίεσης[30].

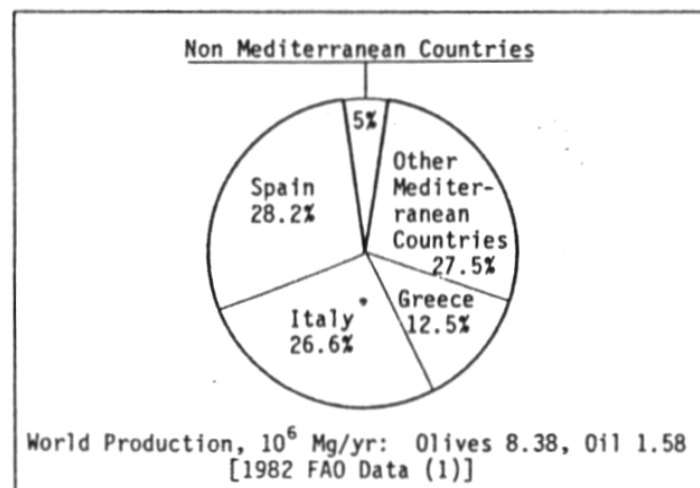
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3. ΠΑΡΑΓΩΓΗ & ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΤΩΝ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΩΝ

Στην Ελλάδα λειτουργούν περίπου 3.000 ελαιοτριβεία και παράγουν το 12,5% της παγκόσμιας παραγωγής ελαιολάδου [1]. Τα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων έχουν υψηλό ρυπαντικό φορτίο και κατατάσσονται στα πολύ ισχυρά βιομηχανικά απόβλητα.

Στις εικόνες 2.1 και 2.3 δίνεται το διάγραμμα ροής της παραγωγής διαδικασίας για ελαιοτριβεία κλασσικού και φυγοκεντρικού τύπου. Το κυριότερο ρεύμα αποβλήτων στα φυγοκεντρικά είναι το 1φ (από την φυγόκεντρο τριών φάσεων) και στα κλασσικά το 1κ (από τον πρώτο διαχωριστήρα λαδιού). Τα συνολικά απόβλητα από φυγοκεντρικά ελαιοτριβεία έχουν μέσο όγκο $1,68 \text{ m}^3 / 1000 \text{ Kg}$ ελιών και το ρεύμα 1φ έχει όγκο $0,98 \text{ m}^3 / 1000 \text{ Kg}$ ελιών. Τα συνολικά απόβλητα από κλασσικά ελαιοτριβεία έχουν όγκο $1,18 \text{ m}^3 / 1000 \text{ Kg}$ ελιών και το ρεύμα 1κ έχει μέσο όγκο $0,88 \text{ m}^3 / 1000 \text{ Kg}$ ελιών. Επειδή κατά την μελέτη των πιθανών σεναρίων επεξεργασίας των αποβλήτων έχει μεγάλη αξία η γνώση των χαρακτηριστικών των επιμέρους ρευμάτων, στον πίνακα 3.1 δίνονται τα χαρακτηριστικά για τα συνολικά απόβλητα καθώς και για το κύριο ρεύμα αποβλήτων τόσο για ελαιοτριβεία φυγοκεντρικού όσο και για ελαιοτριβεία κλασσικού τύπου[1],[32].

Η φυγόκεντρος δύο φάσεων λειτουργεί χωρίς προσθήκη νερού τα φυτικά υγρά εξέρχονται μαζί με τον ελαιοπυρήνα και ο όγκος των υγρών αποβλήτων είναι πολύ μικρός (απολασπώσεις, νερά πλύσης).



Εικόνα 3.1. Διανομή της παγκόσμιας παραγωγής των ελιών.

Πίνακας 3.1: Χαρακτηριστικά των αποβλήτων των ελαιουργείων όπως αναφέρονται στη βιβλιογραφία.

Type of mill	BOD ₅	COD	TKN	Total-P	Solids			Oil and grease	pH	Ref
					TS	VTS	SS			
	g/l		gN/l	gP/l	g/l					
Classic	41-62	152-162			86-126	40-77			4.6-4.9	4
	9.2-9.6	98-119	0.56-0.66	0.01-0.23	96-108	64-82		0.2-0.3	4.9-5.2	5
	29	93	0.009	trace	60	52	0.6		4.9	6
	12-41	50-68	0.10-0.14	0.001	66-72	25-26		5-14	6.4-7.0	7
	90-100	120-130	0.8-3.2	1.1	120	105	1.0	0.3-10	4.5-5.0	8
	42	103	0.18	0.08	64	46	36	8.9	4.5	9
	1.5-1.8	6.4-90			28-31	4-20	2.2-7.7	1.2-4.0	5.0-5.4	10
	38-46	62-74	0.12-0.14	1.2-1.4	95-123	42-49	14-24	4.7-6.5	4.2-4.6	11
	1.5-100	6.4-162	0.009-3.2	trace-1.4	28-126	4-82	0.6-24	0.2-10	4.2-7.0	Range
Centrifugal	13-14	39-78			19-37	12-20			5.2-5.3	4
	19	60	0.02	trace	32		0.4		5.0	6
	23-44	25-48	0.27-0.64	0.02-0.26	14-45	12-41	2.7-17	5-23	4.7-5.2	8
	24	45	0.19	0.16	35	24	22	12	4.8	9
	13-44	25-78	0.02-0.64	trace-0.26	14-37	12-41	0.4-22	5-23	4.7-5.3	Range

1. The type of waste, whether total or a specific stream, is not always mentioned.
2. BOD₅ and COD values of 50 and 100 Kg/Mg olives, independent of mill type, have also been reported.¹²

Πίνακας 3.2. Χαρακτηρισμός των εκροών των αποβλήτων στα κλασσικά ελαιουργεία.

Characteristic	Waste stream													Total waste	
	Vegetation water			1st Oil Separator			2nd Oil separator			Separator washing					
										1st		2nd			
	Statistical parameter														
	n	Range	Mean	n	Range	Mean	n	Range	Mean	n	Range	Mean	n	Value	Calculated Mean
Volume m ³ /Mg olives				10	0.76-1.02	0.88	8	0.11-0.39	0.24	6	0.04-0.07	0.05	1	0.01	1.18
pH	4	5.4-5.5		2	5.4-5.5										
TS	8	94.5-130.4	117.7												
VTS	8	73.5-105.5	94.3												
SS	7	3.6-10.8	6.6	14	4.0-17.0	8.2	4	0.50-1.70	0.95	6	19.1-48.0	30.9	1	18.4	7.7
YSS	7	3.4-10.2	6.2	14	3.8-16.0	7.7	4	0.48-1.60	0.90	6	18.0-44.3	28.9	1	17.4	7.2
COD	8	100.6-144.9	127.2	14	71.4-120.0	87.1	8	2.7-12.0	6.0	6	53.2-106.9	83.3	1	104.9	69.7
sCOD	8	84.3-127.8	110.7	13	63.9-87.9	72.9	8	1.3-7.5	3.6	6	5.3-44.0	18.6	1	65.1	56.4
BOD ₅	6	39.5-80.0	63.0	12	26.9-57.5	39.8	5	1.6-2.4	2.1	6	16.9-25.7	20.7	1	33.9	31.3
sBOD ₅	6	40.2-76.2	55.0	12	28.0-48.3	35.2	5	0.9-1.9	1.4	6	5.4-16.6	8.4	1	25.0	27.1
Oil and grease	Total In solids			7	5.2-7.4	6.1	2	0.4-0.5	0.45	5	8.4-14.1	11.5			5.1
				5	1.7-3.6	2.5				5	5.7-12.6	8.9			2.2
TKN	8	540-1340	980	13	630-880	720	5	37-76	49	6	410-1040	660	1	420	580
sTKN	8	470-1050	760	13	340-680	530	5	23-52	34	6	21-140	58	1	12	400
Total-P	7	270-540	390	14	160-400	260	6	4.7-18	11	6	36-97	56	1	20	200
sTotal-P	7	270-500	370	12	150-390	230	6	3.2-19	9.7	6	13-81	32	1	7	170
COD	Kg/Mg olives			10	64.8-81.4	72.0	6	0.4-3.6	2.0	6	2.5-5.8	4.3	1	0.9	79.2
sCOD				9	54.7-63.5	61.0	6	0.3-2.3	1.2	6	0.6-2.2	0.9	1	0.6	63.7

1. Vegetation water is a temporary stream exiting the 1st oil separator while water is not being added (this occurs when separator feed is low in oil); the 1st oil separator waste stream reflects the vegetation water as well as added water.

2. The olive washing step was not being used in the classic mills studied during the period samples were taken; characteristics of olive washing stream are reported in Table 3 (for centrifugal mills).

Τα ελαιοτριβεία είναι δραστηριότητες εποχιακού χαρακτήρα και λειτουργούν κατά την διάρκεια της ελαιοκομικής περιόδου η οποία μπορεί να θεωρηθεί ότι έχει μέση διάρκεια 96 ημέρες κάθε χρόνο (από Νοέμβριο έως Φεβρουάριο). Ο ετήσιος όγκος καθώς και η διακύμανση της παραγωγής αποβλήτων (μέση και μέγιστη ημερήσια παραγωγή) για ελαιοτριβεία κλασσικού και φυγοκεντρικού τύπου δίνεται στον πίνακα 3.1. Είναι φανερό ότι η παραγωγή αποβλήτων εξαρτάται από τον τύπο και την δραστηριότητα του ελαιοτριβείου (δυνατότητα επεξεργασίας ελαιοκάρπου σε τόνους ανά ώρα) καθώς και από τον βαθμό απασχόλησης της εγκατεστημένης δυνατότητας. Πάντως σημειώνεται ότι οι τιμές που αναφέρονται στον πίνακα 3.2 είναι για σχεδιαστικούς λόγους και είναι προφανές ότι ο ακριβής όγκος από την ποσότητα του αποκομιζόμενου καρπού (κατά συνέπεια η ετήσια παραγωγή αποβλήτων πρέπει να εκτιμάται πάντα σε συνεργασία με τον ιδιοκτήτη του ελαιοτριβείου ο οποίος διαθέτει ιστορικά στοιχεία για την ετήσια ποσότητα του ελαιοκάρπου που επεξεργάζεται).

Μερικά από τα συστατικά που περιέχονται στα απόβλητα παρουσιάζουν ενδιαφέρον επειδή έχουν λιπαντικές ιδιότητες για το έδαφος. Αναφέρονται συγκεντρώσεις για τα στοιχεία κάλιο, φώσφορο και μαγνήσιο στις περιοχές τιμών 3-9, 0,2-0,8 και 0,1-0,4 Kg/m³ αντίστοιχα. Το μεγαλύτερο ποσοστό του οργανικού υλικού σε φρέσκα απόβλητα ελαιοτριβείων είναι σάκχαρα και ακολουθούν οι πολύ αλκοόλες, τα οργανικά μη φαινολικά οξέα, οι πολυφαινόλες, τα λίπη και έλαια, οι πηκτίνες, οι τανίνες και οι κολλώδεις ουσίες.

3.1. Υποπροϊόντα Ελαιουργίας

3.1.1. Ελαιοπυρήνας – Απόνερα

Μετά την εξαγωγή του ελαιολάδου από τον ελαιόκαρπο, παραλαμβάνεται σαν κύριο υποπροϊόν η ελαιοπυρήνα και απομακρύνονται τα υγρά απόβλητα.

Το μεγαλύτερο μέρος της ελαιοπυρήνας οδηγείται στο πυρηνελαιουργείο για περαιτέρω επεξεργασία και εξαγωγή του πυρηνελαίου.

Επίσης σαν υποπροϊόν της ελαιουργίας μπορεί να θεωρηθεί και η ποσότητα των φύλλων ελιάς, που απομακρύνονται από το αποφυλλωτήριο. Τα ελαιόφυλλα χρησιμοποιούνται συνήθως για τον εμπλουτισμό του εδάφους του ελαιώνα σε οργανική ουσία.

3.1.2. Σύνθεση Ελαιοπυρήνα

Η ελαιοπυρήνα περιέχει εκτός από λάδι: πρωτεΐνες, κυτταρίνη και ορισμένα άλλα συστατικά. Το λάδι της ελαιοπυρήνας προέρχεται κατά το μεγαλύτερο μέρος, από τον πυρήνα του ελαιοκάρπου και ειδικότερα από το ενδοκάρπιο, ενώ ένα μέρος προέρχεται από το σαρκώδες τμήμα της. Το λάδι αυτό έχει, σε κάποιο βαθμό, παρόμοια ποσοτική και ποιοτική σύνθεση με το ελαιόλαδο αλλά δεν είναι κατάλληλο για κατανάλωση, πριν υποβληθεί σε χημική επεξεργασία (ραφινάρισμα).

Ένας από τους παράγοντες που προωθούν την γρήγορη αλλοίωση του λαδιού της ελαιοπυρήνας, είναι η περιεχόμενη σε αυτήν την υγρασία, η οποία ευνοεί την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων. Η υγρασία της ελαιοπυρήνας κυμαίνεται από 25% έως 50% και εξαρτάται από τον τύπο του ελαιουργείου απασχόλησης του ελαιολάδου, καθώς και από τις συνθήκες λειτουργίας τους. Το μεγαλύτερο ποσοστό υγρασίας περιέχει η ελαιοπυρήνα των φυγοκεντρικών ελαιουργείων, η οποία πλησιάζει το 50%. Επίσης, η υγρασία του πυρήνα των ελαιουργείων δύο φάσεων 40%. Για την παραλαβή του πυρηνελαίου από την ελαιοπυρήνα, γίνεται εκχύλιση της τελευταίας, μετά από ξήρανση της σε ειδικές εγκαταστάσεις. Υπάρχει ένα άριστο ποσοστό υγρασίας, το οποίο και πρέπει να επιδιώκεται για να έχουμε ικανοποιητικά αποτελέσματα.

3.1.3. Σύνθεση Απόνερων

Τα υγρά απόβλητα συνίστανται από το υδάτινο κλάσμα του χυμού του ελαιοκάρπου, το νερό εκπλύσεως και το νερό που προστίθεται κατά την μάλαξη της ελαιομάζας καθώς και στον διαχωριστήρα.

Ο κασίγαρος περιέχει κατά μέσο όρο 83-92% νερό, 7-15% πτητικά και οργανικά συστατικά, 0,5-7,5% proteins, 1,0-1,5% pectins και tannins, 5-17% polyphenols, 35-40g/L αιωρούμενα συστατικά (SS), BOD₅ 65-70g/L, COD 40-400g/L.

Στα χαρακτηριστικά των απόνερων των ελαιοουργείων που αναφέρονται στην βιβλιογραφία υπάρχει ένα μεγάλο εύρος διακύμανσης των τιμών, το οποίο είναι δυνατόν μερικώς να αιτιολογηθεί από τις μεγάλες διακυμάνσεις στην τιμή των οργανικών (λαδιού και σακχάρων) συστατικών του ελαιοκάρπου και στο βαθμό της ωριμότητας του, καθώς και στα θρεπτικά του συστατικά (TKN και total P) που καθορίζονται από τα θρεπτικά στοιχεία που περιέχει το έδαφος. Επίσης η χρήση νερού στα ελαιοουργεία, ο όγκος νερού που απαιτείται καθώς και το στάδιο στο οποίο χρησιμοποιείται, ποικίλει λόγω του εξοπλισμού που χρησιμοποιείται για την άλεση του ελαιοκάρπου. Στα ελαιοουργεία όπου γίνεται φυγοκέντρωση οι ποσότητες νερού που απαιτούνται είναι σημαντικά αυξημένες σε σχέση με τα ελαιοουργεία κλασσικού τύπου[1].

Τα χαρακτηριστικά των απόνερων (μέσες τιμές) από τα ελαιοουργεία κλασσικού τύπου και τα φυγοκεντρικά ελαιοουργεία παρουσιάζονται στον πίνακα 3.3. Ο μέσος όρος των αποβλήτων καθώς και το COD, όπως και το sCOD, εκφράστηκαν σαν όρος ανά μονάδα βάρους ελαιοκάρπου. Τα περισσότερα δείγματα ελήφθησαν από τον πρώτο διαχωριστήρα λαδιού (στα κλασσικού τύπου) και από την πρώτη φυγοκέντρωση (στα φυγοκεντρικά ελαιοουργεία).

Πίνακας 3.3. Μέσος όρος των χαρακτηριστικών τιμών των υγρών αποβλήτων ελαιοουργείων κλασσικού και φυγοκεντρικού τύπου.

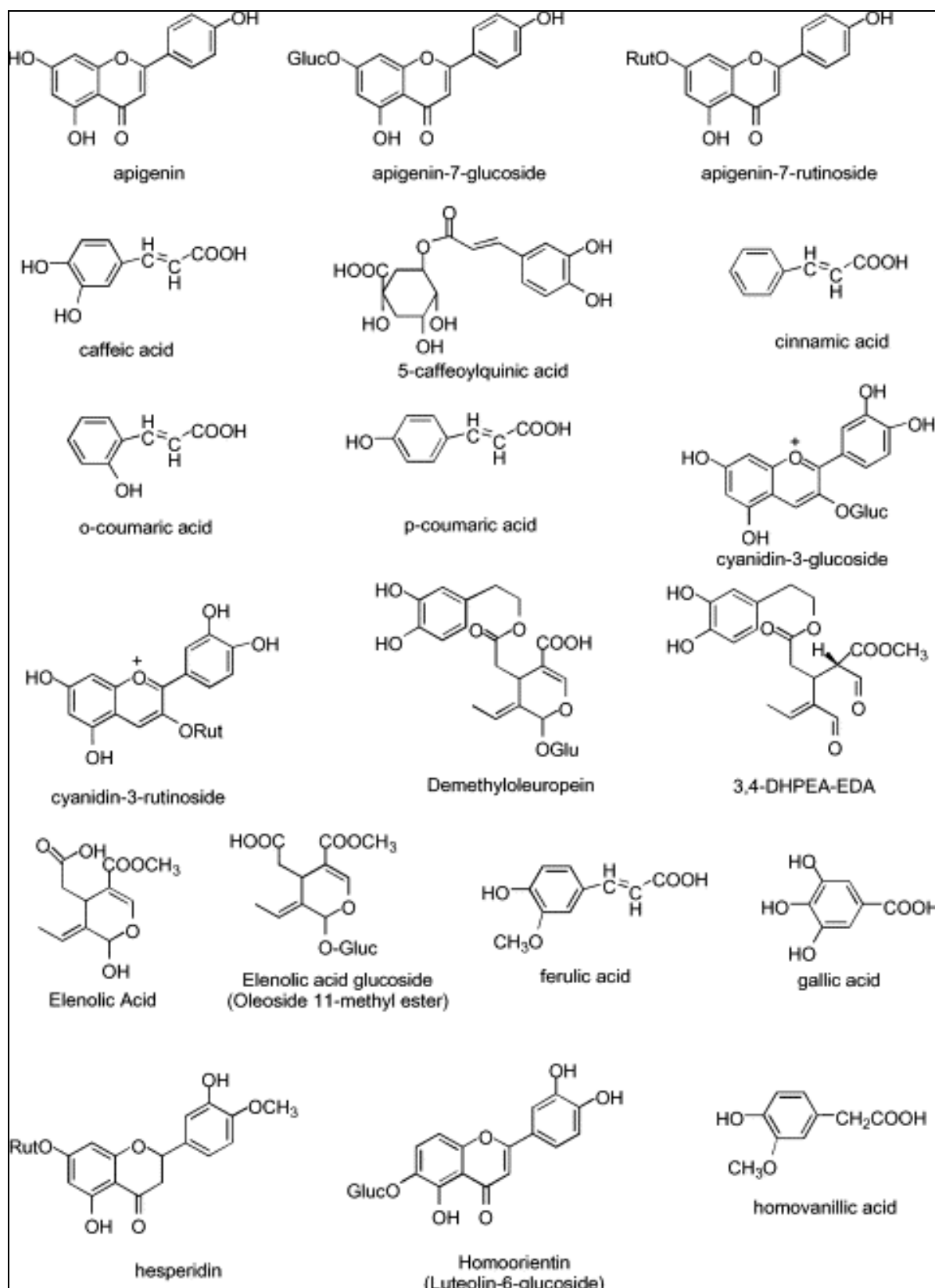
Τύπος Ελαιοουργείων					
Χαρακτηριστικά		Κλασσικός mg/L	Φυγοκεντρικός mg/L	Κλασσικός Kg/100Kg olives	Φυγοκεντρικός Kg/100Kg olives
SS		7.700	18.200	9,1	30,6
VSS		7,200	17.200	8,5	28,9
COD		69.700	72.000	82,2	121,0
Scod		56.400	40.700	66,6	68,4
BOD ₅		31.200	31.800	36,9	53,4
sBOD ₅		27.100	20.000	32,0	33,6
Oil Grease	Total in solids	5.100	7.400	6,0	12,4
		2.200	4.400	2,6	7,4
TKN		580	710	0,68	1,19
STKN		400	290	0,47	0,49
Total-P		200	130	0,24	0,22
sTotal-P		170	120	0,20	0,20

3.2. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΤΩΝ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΩΝ

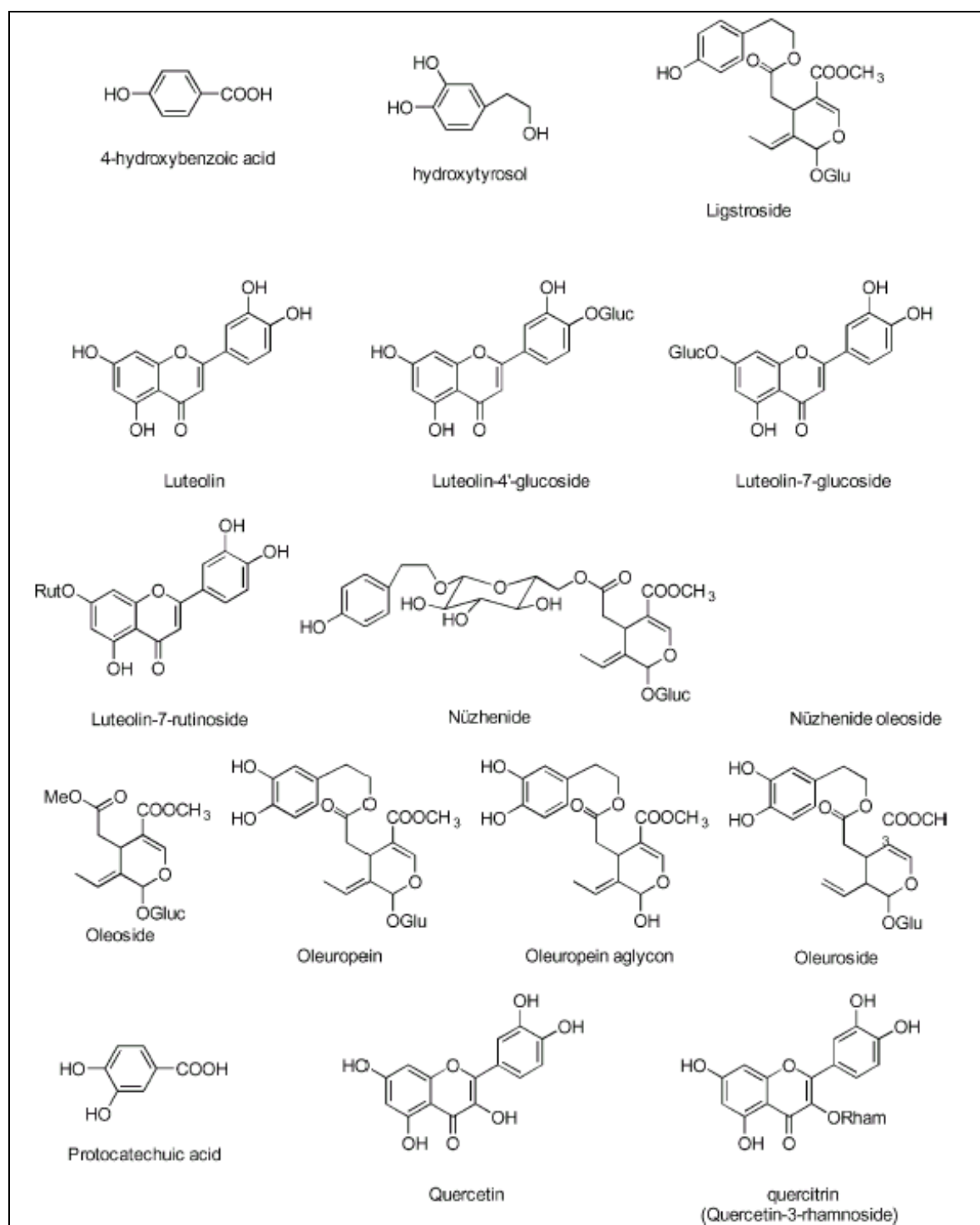
Οι φαινολικές ενώσεις που εμπεριέχονται στο ελαιόλαδο και κατ' επέκταση στα απόβλητα των ελαιουργείων επιδρούν στη σταθερότητα και την πτητικότητα των συστατικών τους. Τα φαινολικά συστατικά που είναι παρόν στα απόβλητα του ελαιολάδου χαρακτηρίζονται ως πολυφαινόλες. Ο όρος πολυφαινόλες είναι συμβατικός διότι εκτός όλων των άλλων είναι πολυόξυπαράγωγα. Η δομή τους είναι ένα σύνθετο μίγμα και η χημική τους φύση δεν έχει ακόμη πλήρως αποκωδικοποιηθεί [3],[6],[8].

Η tyrosol και η hydroxytyrosol είναι τα κυρίως παρατηρούμενες φαινολικές ενώσεις των αποβλήτων των ελαιουργείων. Άλλα φαινολικά συστατικά, τα οποία είναι συχνά παρατηρούμενα στο υγρό απόβλητο του ελαιουργείου, της πολυφαινολικής σύστασης είναι oleuropein, vanillic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, *o*-coumaric acid, caffeic acid, protocatechuic acid, sinapic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid και homovanillic acid. Ο Mannino ισχυρίζεται ότι παρόν βρίσκεται και το gallic acid, αλλά αυτή η φαινολική ένωση δεν αναφέρεται από όλους τους ερευνητές. Τα cinnamic acid, elenolic acid, shikimic acid και quinic acid είναι κατεργασμένες φαινόλες του αποβλήτου, αν και έχουν έλλειψη μιας φαινολικής ομάδας ή ενός αρωματικού δακτυλίου.

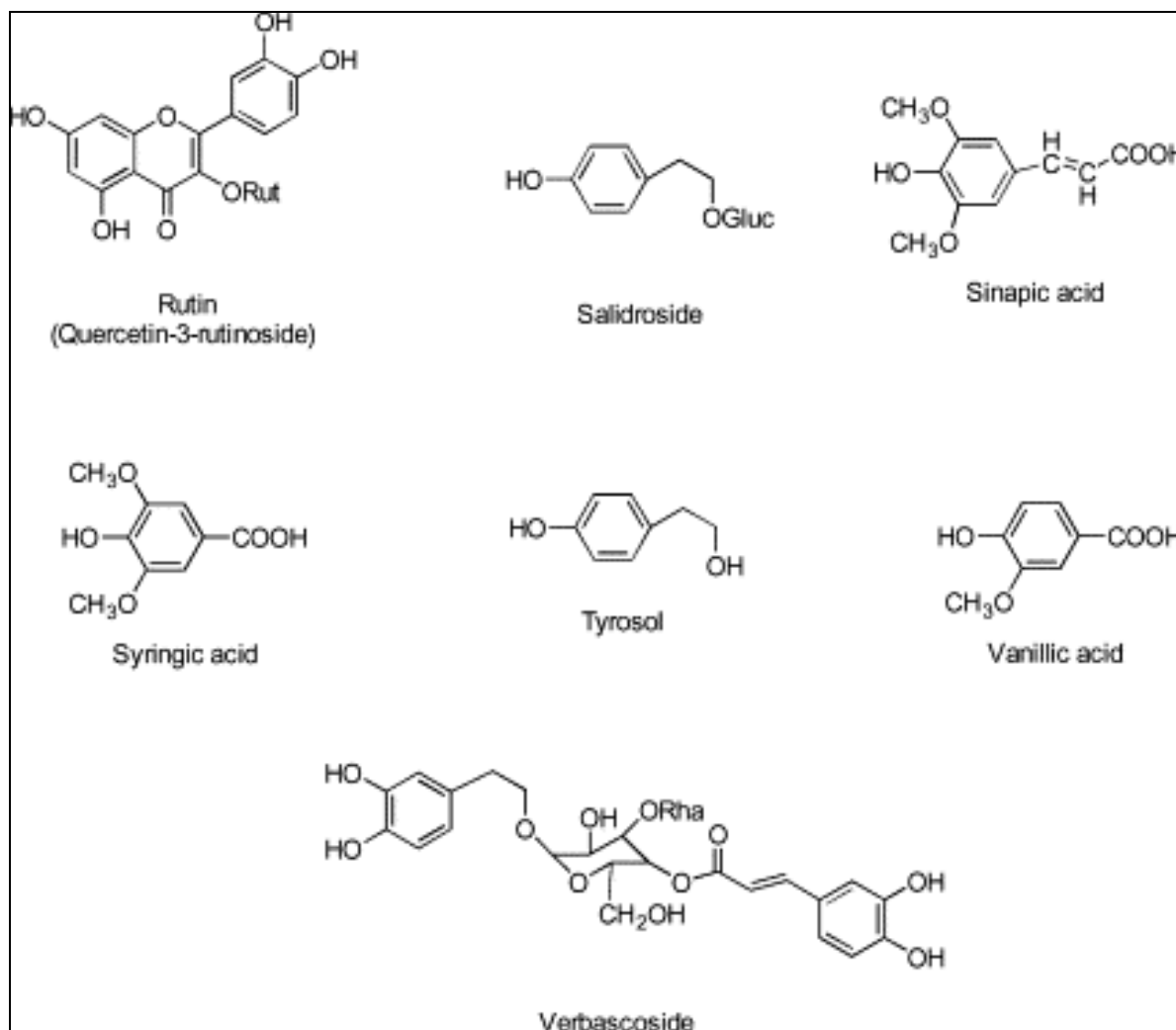
Η δομική κατασκευή ή ο χημικός τύπος των φαινολικών, και σχετικών με αυτές, συστατικών τα οποία, σύμφωνα με τα στοιχεία που αναφέρονται στην βιβλιογραφία, μπορούν να ανιχνευθούν στο απόβλητο του ελαιουργείου παρουσιάζονται με αλφαβητική σειρά στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 3.2. Αλφαβητική σειρά φαινολικών ενώσεων[3].



Εικόνα 3.2. Αλφαβητική σειρά φαινολικών ενώσεων (συνέχεια) [3].



Εικόνα 3.2. Αλφαβητική σειρά φαινολικών ενώσεων (συνέχεια) [3].

Τα φαινολικά συστατικά που αριθμήθηκαν στα απόβλητα του ελαιουργείου μετά το στάδιο του διαχωρισμού, αποδειχτικό ότι μερικά είναι διαφορετικά από εκείνα που έχουν βρεθεί στους καρπούς της ελιάς. Ο πιο πρόσφατος έλεγχος έδειξε ότι εμπεριέχονται τα glycosides όπως verbascoside, lutelin-7-glycosides και rutin. Σύμφωνα με τον Brenes Balbuena οι κύριες συνιστώσες φαινολικών συστατικών του ώριμου καρπού της ελιάς είναι tyrosol, hydroxytyrosol, tyrosol, vanillic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, verbascoside και oleuropein[22].

Το κύριο glycoside που είναι παρόν στα υγρά απόβλητα των ελαιουργείων είναι η oleuropein. Αυτό το glycoside είναι υπεύθυνο για την πικρή γεύση των άγουρων καρπών της ελιάς. Η ποσοστιαία αναλογία τους είναι σημαντικά μειωμένη καθώς ο καρπός φτάνει σε πλήρης ωρίμανση. Σύμφωνα με τον Amiot η αναλογία της oleuropein μπορεί να φτάσει το 14% του ξηρού υπολείμματος κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του καρπού και παραμένει πολύ σημαντική κατά τη διάρκεια της συγκομιδής για μερικές ποικιλίες. Οι ποικιλίες μερικών καρπών έχουν χαρακτηριστεί από υψηλή αναλογία oleuropein και χαμηλή αναλογία verbascoside, ενώ στις ποικιλίες των μεγάλων καρπών συνήθως έχουν χαμηλή αναλογία σε oleuropein και υψηλή αναλογία verbascoside.

Χημικώς, η oleouropein είναι ένας εστέρας του elenolic acid με 3,4-dihydroxyphenylethanol (hydroxytyrosol). Η dimethyloleuropein που είναι διμεθυλιωμένο παράγωγο, έχει βρεθεί επίσης στον πολτό της ώριμης ελιάς. Τα αντίστοιχα aglycons αποδεσμεύονται κατά την υδρόλυση του οξέως όπου η hydroxytyrosol λαμβάνεται κατά την υδρόλυση του αλκαλικού υλικού. Δύο άλλα σημαντικά glycosides των υγρών αποβλήτων είναι το verbascoside και το ligstroside. Το πρώτο είναι ένα caffeoylglycoside της hydroxytyrosol. Το δεύτερο είναι δομικά πανομοιότυπο με τη oleouropein, αλλά μαζί με την tyrosol αντικαθίστανται από την hydroxytyrosol.

Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των καρπών ή κατά τη διάρκεια της διεργασίας των ελιών, λαμβάνουν χώρα χημικές και ενζυμικές αντιδράσεις των οποίων το αποτέλεσμα είναι ο σχηματισμός των αδέσμευτων φαινολών. Τα τελευταία, αν και πολικά συστατικά, προσλαμβάνονται σε σημαντικές ποσότητες στα υγρά απόβλητα. Η συγκέντρωση των συνολικών φαινολών, των αλκοολών, των φαινολικών οξέων κ.α. συνήθως κυμαίνονται μεταξύ 50 και 200 ppm, αλλά υπάρχουν περιπτώσεις όπου η συγκέντρωση ανερχόταν στα 1000 ppm.

Το χρησιμοποιούμενο σύστημα απαγωγής (κλασσικό, φυγοκεντρικό, φίλτρανση), είναι κρίσιμο για την αναλογία των total phenols και των o-diphenols. Υγρά απόβλητα τα οποία παράχθηκαν από συνεχές φυγοκεντρικό σύστημα παρουσιάζουν χαμηλότερη αναλογία πολυφαινολών σε σχέση με την αναλογία των πολυφαινολών των άλλων συστημάτων απαγωγής ελαιολάδου (κλασσικό και φίλτρανση). Ο Di Giovacchino αξιώνει παν η διαφορά είναι περίπου 50%. Οι De Felice et. al. ανάφεραν μια διαφορά μεταξύ 5 - 40% όταν για ίδια δείγματα ελιών διεργάστηκαν σε κλασσικά και φυγοκεντρικά συστήματα.

Παρόλα αυτά δεν φαίνεται να συμφωνούν όλοι οι ερευνητές μ' αυτοί την διαπίστωση, ωστόσο, υπάρχουν ασυμφωνίες στη βιβλιογραφία όσον αφορά το περιεχόμενο της αναλογίας των πολυφαινολών σε σχέση με τον τύπο του ελαιουργείου. Οι τιμές των συνολικών φαινολών βρέθηκαν να κυμαίνονται μεταξύ 50 – 200 ppm. Οι μέσες τιμές είναι σημαντικά χαμηλότερες στην περίπτωση των υγρών αποβλήτων που προέκυψαν κατά την κλασσική συμπίεση των ελιών. Οι μικρές ποικιλίες κατά τη μηχανική σύνθλιψη, οι εφαρμοζόμενες θερμοκρασίες, η διάρκεια της επαφής με το νερό που χρησιμοποιείται και το συνολικό όγκο του νερού ίσως προκαλεί σημαντικές αλλαγές στην αναλογία των συνολικών φαινολών.

Μια σημαντική καινοτομία στη βιομηχανία παραγωγής ελαιολάδου είναι η χρήση διφασικών ή οικολογικών decanters. Σε μερικά συστήματα απαγωγής της ελαιώδους φάσης διαχωρίζεται από τον πολτό χωρίς της απαίτηση προσθήκης ζεστού νερού. Με αυτόν τον τρόπο δεν παράγεται υγρό απόβλητο και το φυσικό νερό των ελιών παραμένει στο στερεό κατάλοιπο. Το ελαιόλαδο που παράγεται σε διφασικούς decanters έχουν σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις σε φαινορικά συστατικά και συνεπώς μια αυξημένη σταθερότητα στην αυτοοξειδωση

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4. ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ

4.1.1. Γενικές Χρήσεις

- Ποσοτική μέτρηση των συγκεντρώσεων διαφόρων ανόργανων και οργανικών στοιχείων.
- Συνήθως συνδέεται με ένα επιλεκτικό φυσικό ή χημικό βήμα όπως η χρωματογραφία, η ηλεκτοφόρηση, οι ενζυμικές αντιδράσεις ή αντιδράσεις αντιγόνων-αντισωμάτων.

4.1.2. Δείγματα

Είναι δυνατόν να εκτελεστούν μετρήσεις Χημειοφωταύγειας σε αέρια, υγρή και στερεή κατάσταση. Ωστόσο, οι μετρήσεις στην υγρή και στην αέρια φάση είναι πιο κοινές. Η χρήση του νερού ή ενός μίγματος διαλύτη εμπεριέχοντας νερό είναι η πιο κοινή για τις μετρήσεις της υγρής φάσης.

4.1.3. Χρόνος Ανάλυσης

Αυτός εξαρτάται από τις απαιτήσεις προετοιμασίας του δείγματος, τις λεπτομέρειες της αναλυτικής μεθόδου και της αντίδρασης Χημειοφωταύγειας. Ωστόσο, η χρήση της ανίχνευσης χημειοφωταύγειας δεν είναι γενικά ο παράγων χρονικά περιοριστικός.

4.1.4. Περιορισμοί

- Στις περισσότερες περιπτώσεις, η αντίδραση είναι καταστρεπτική της ανάλυσης και του αντιδραστήριου της Χημειοφωταύγειας.
- Αν και η Χημειοφωταύγεια είναι μια γενικά σεβαστή φασματοσκοπική μέθοδος, η αναγκαιότητα να εκτελεστεί μια ανάλυση χημικής αντίδρασης εμποδίζει τη δυνατότητα ελάχιστης ευαισθησίας, όπως έχει γίνει με τον Φθορισμό και τον Raman.
- Γενικά κατά τη Χημειοφωταύγεια δεν μπορεί να χρησιμοποιηθούν πολυσύνθετες ανιχνεύσεις των αναλυτικών μιγμάτων χωρίς ενός διαχωριστικού βήματος.

4.1.5. Ακρίβεια

Οι εντάσεις Χημειοφωταύγειας είναι ευαίσθητες όσον αφορά περιβαλλοντικούς παράγοντες. Έτσι μπορεί να υπάρχει ακρίβεια των προβλημάτων εάν οι παράγοντες όπως οι θερμοκρασία, το Ιξώδες, το PH και η παρουσία των κατασταλλόμενων στοιχείων δεν είναι ελεγχόμενα μεταξύ συνεχών σταθερών και των αγνώστων.

4.1.6. Ευαισθησία και Όρια Ανίχνευσης

Η ευαισθησία είναι η ισχύς της Χημειοφωταύγειας. Τα τυπικά όρια ανίχνευσης είναι 10 pmol NO χρησιμοποιώντας O_3 , 0,1 pmol θεϊκών συστατικών χρησιμοποιώντας μια φλόγα υδρογόνου που ακολουθείται από O_3 , 1 fmol fluorophores χρησιμοποιώντας peroxyoxalates και 0,1 fmol peroxidase χρησιμοποιώντας Luminol.

4.1.7. Συμπληρωματικές ή Σχετικές Τεχνικές

Ο Φθορισμός είναι η πιο συγγενική τεχνική στην Χημειοφωταύγεια, διότι είναι επίσης μια μέθοδος Φωταύγειας. Πολλές από τις εμπλεκόμενες μετρήσεις είναι παρόμοιες. Ωστόσο, οι μετρήσεις Φθορισμού δεν παρέχει δυνατή μεταβλητότητα με Χημειοφωταύγεια: Συλλογή της εκπομπής της εκπομπής και της διέγερση του μήκους κύματος παρέχει ρύθμιση επιλογής, ρύθμιση της πηγής έντασης, παρέχει ρύθμιση επιλογής και διέγερσης του μεγέθους της δέσμης φωτός και εξακρίβωση θέσης, επιτρέποντας τον έλεγχο του δείγματος της διεγερμένης περιοχής.

Ευαίσθητες τεχνικές ροής μάζας όπως η Αμπερομετρία, έχει την ίδια ευαισθησία των μετρούμενων ροών της μεταφοράς μάζας, το χρόνο αντίδραση και το χρόνο παρατήρησης, όπως και στη Χημειοφωταύγεια[37].

4.2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ

Οι αντιδράσεις Χημειοφωταύγειας (CL) αποδίδουν φως ως ένα από τα προϊόντα. Μερικά από τα πιο γνωστά συστήματα CL είναι οι fireflies, τα χημικά lightsticks για φωτισμό έκτακτης ανάγκης. Επειδή οι εντάσεις της εκπομπής είναι μια συνάρτηση των συγκεντρώσεων των χημικών στοιχείων που εμπεριέχονται στην CL αντίδραση, η μέτρηση των εντάσεων εκπομπής μπορεί να χρησιμοποιηθούν αναλυτικοί σκοποί για την ποσοτικοποίηση εκείνων των χημικών αντιδράσεων.

Αν και η CL έχει παρατηρηθεί σε ζώα συστήματα (όπως fireflies, βακτήρια και θαλάσσιους μικροοργανισμούς) από την αρχαιότητα ακόμη, και στα συνθετικά CL συστατικά από τα τέλη του 1800, η αναλυτική διερεύνηση της CL άρχισε τη δεκαετία του 1970. Η συνηθισμένη εφαρμογή της CL ως ένα αναλυτικό εργαλείο χρονολογείται από το 1970 για τις αντιδράσεις αέρια φάσης και από το 1980 για τις αντιδράσεις υγρής φάσης. Στα πιο πρόσφατα χρόνια, το αναλυτικό ενδιαφέρον και η εφαρμογή της CL έχει αναπτυχθεί με γοργά βήματα, και η CL βρίσκει εφαρμογή σε μια ποικιλία επιστημονικών περιοχών συμπεριλαμβανόμενου και των περιβαλλοντικών[37].

Η CL περιέχει μια χημική αντίδραση και μια διεργασία φωταύγειας. Σε μια CL αντίδραση μεταξύ των στοιχείων A και B, σημαντικό κλάσμα των παραγόμενων στοιχείων, P, είναι σχηματισμένο σε ηλεκτρονικά διεγερμένη κατάσταση, P*, το οποίο μπορεί να διαδοχικά να μετατραπεί σε βασική κατάσταση με εκπομπή ενός φωτονίου:



Ο αριθμός των αντιδράσεων που καταλήγουν σε σημαντική CL εκπομπή είναι σχετικά μικρός. Μια σημαντική απαίτηση για την CL είναι ότι υπάρχει αρκετή διαθέσιμη ενέργεια για τον σχηματισμό από μια ηλεκτρονικά διεγερμένη κατάσταση. Αυτή η ενέργεια προέρχεται από την χημική αντίδραση. Για εκπομπή στην ορατή περιοχή, μια αντίδραση απελευθερώνει ενέργεια από 40 έως 70 Kcal/mol. Αυτές οι ενεργητικές αντιδράσεις είναι γενικά αντιδράσεις οξειδοαναγωγής. Η απελευθέρωση αυτής της ενέργειας συνήθως προέρχεται από τον διαχωρισμό του δεσμού ή την μεταφορά του ηλεκτρονίου.

Σε συστήματα όπου εμπεριέχεται διαχωρισμό του δεσμού (με τη Luminol και peroxyoxalates), η μοριακή CL μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο μια φορά. Μερικές αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίου (όπως με αρωματικά θεμελιώδη ιόντα από rubrene ή *p*-benzoquinone ή από μεταλλικά σύμπλοκα όπως μεταλλικά σύμπλοκα όπως tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) καταλήγοντας σε εκπομπή της CL χωρίς διαχωρισμό του δεσμού ή επαναδιακανονισμό, έτσι αυτά τα συστήματα μπορούν να ανακυκλωθούν, όπως είναι κοινά με μερικά είδη της ηλεκτροπαραγόμενης Χημειοφωταύγειας.

Μια δεύτερη απαίτηση είναι ότι η διεγερμένη κατάσταση είναι ότι η παρούσα κατάσταση είναι ικανή να χάσει αυτή την ενέργεια κατά την εκπομπή ενός ορατού φωτονίου. Ως ένα αποτέλεσμα, τα προϊόντα των CL αντιδράσεων γενικά να περιλαμβάνουν ένα στοιχείο που είναι υψηλά φθορίζων, και η CL εκπομπή είναι από αυτά τα στοιχεία. Εναλλακτικά, η

σχηματιζόμενη διεγερμένη κατάσταση στην CL αντίδραση μπορεί να μεταφέρει αυτή την ενέργεια σε ένα φθορίζων στοιχείο που έχει προστεθεί στο μείγμα αντίδρασης.

Η ένταση του εκπεμπόμενου φωτός βασίζεται στο ρυθμό της χημικής αντίδρασης, στην αποδοτικότητα της παραγωγής της διεγερμένης κατάστασης και στην αποδοτικότητα της επιταχυνόμενης εκπομπής φωτός από εκείνες τις διεγερμένες καταστάσεις:

$$I_{CL} = \Phi_{CL} \frac{dP}{dt} = \Phi_{EX} \Phi_{EM} \frac{dP}{dt} \quad (4.2)$$

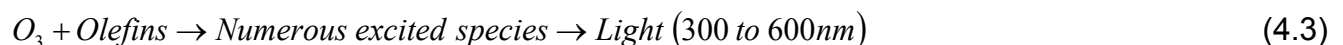
όπου I_{CL} είναι η εκπεμπόμενη ένταση (εκπεμπόμενα φωτόνια ανά δευτερόλεπτο), dP/dt είναι ο ρυθμός της χημικής αντίδρασης (μοριακή αντιδραστικότητα ανά δευτερόλεπτο), Φ_{CL} είναι η κβαντική απόδοση Χημειοφωταύγειας (εκπεμπόμενα φωτόνια ανά αντιδρώντα μόρια), Φ_{EX} είναι η κβαντική διεγερμένη απόδοση (παραγόμενη διεγερμένη κατάσταση ανά αντιδρώντα μόρια) και Φ_{EM} είναι η κβαντική απόδοση της εκπομπής (εκπεμπόμενα φωτόνια ανά διεγερμένη κατάσταση). Τα χρησιμοποιούμενα CL συστήματα γενικά έχουν Φ_{CL} που κυμαίνεται από 0,01 έως 0,20 (1 έως 20%) [37].

4.2.1. Πως Λειτουργεί

Οι απαιτήσεις των βασικών μετρήσεων της CL είναι απλές. Αρχικά χρειάζεται να έρθουν σε επαφή τα αντιδρώντα στοιχεία και μετά μετράται η προκύπτουσα CL εκπομπή. Λόγω της χρήσης των οργάνων που δεν περιέχουν πηγή φωτός, οι CL μετρήσεις δεν υφίστανται από την πηγή διακύμανσης του θορύβου και της πηγής παρεχόμενης δέσμης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, η CL μερικές φορές είναι ικανή για χαμηλά όρια ανίχνευσης από ότι ο Φθορισμός. Αν και δεν υπάρχει καμιά πηγή θορύβου ή υπόβαθρο στη CL, υπάρχει χημικός θόρυβος και υπόβαθρο των ορίων ανίχνευσης. Τα αντιδραστήρια και οι διαλύτες πρέπει να είναι υψηλής καθαρότητας. Για να εκτιμηθούν οι αναλυτικές εφαρμογές, της CL, είναι αναγκαίο να γίνουν κατανοητές οι οργανικές προσεγγίσεις για την μέτρηση και την χημεία των αντιδράσεων που έχουν δοκιμαστεί και τυποποιηθεί για την ανάλυση[37].

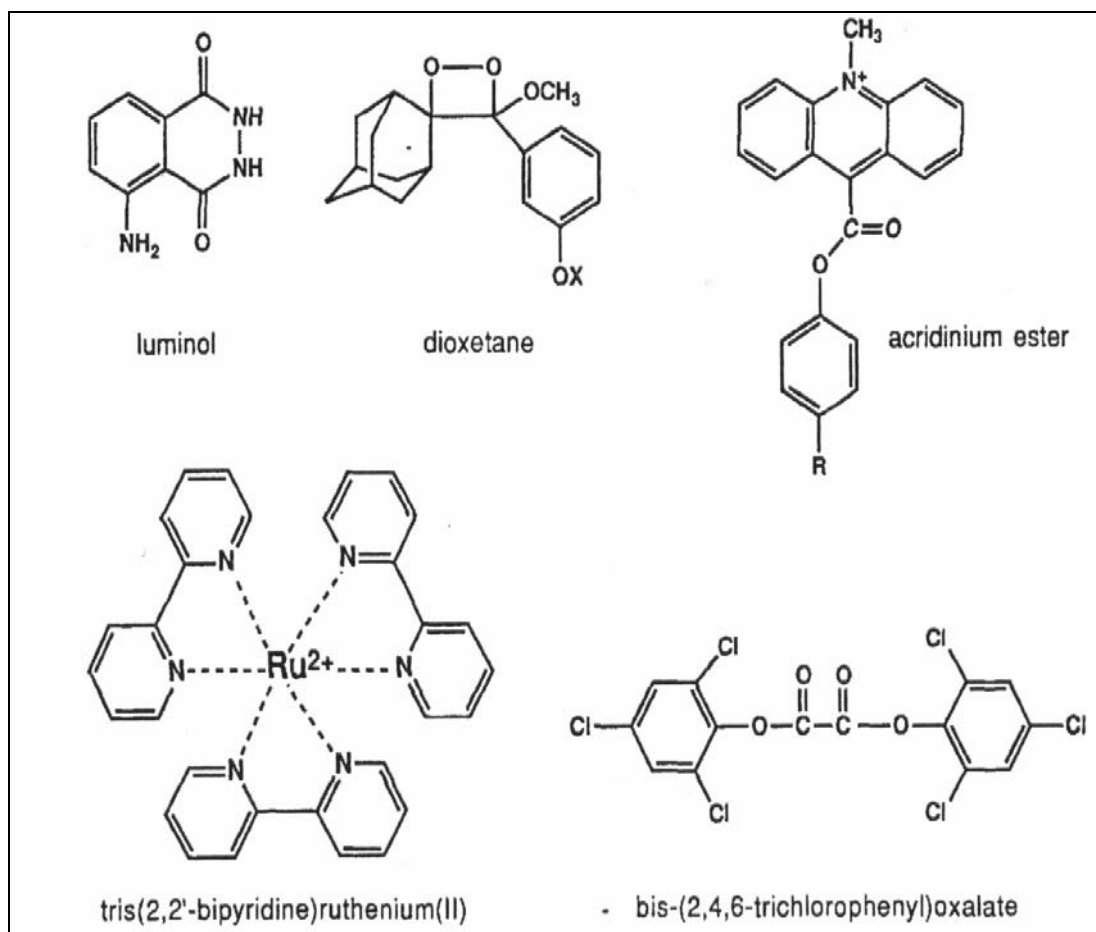
4.2.2. Χημικές Αντιδράσεις

Είναι γνωστός ένας μεγάλος αριθμός CL αντιδράσεων. Μερικές από τις πιο σημαντικές αντιδράσεις που εξηγούνται εδώ είναι και οι εφαρμογές στις οποίες βασίζονται στις αντιδράσεις παρουσιάζονται αργότερα. Στην αέρια φάση, οι πιο σημαντικές αντιδράσεις που εμπεριέχουν O_3 . Μερικές από αυτές ακολουθούν παρακάτω:



Σε αυτά τα τρία παραδείγματα η ένταση εκπομπής είναι γραμμική βασισμένη στην συγκέντρωση των αντιδρώντων πέραν μιας διακύμανσης από 4 ως 6 δεκάδες.

Στη διαλυμένη φάση CL, μερικά από τα πιο χρήσιμα και γνωστά αντιδραστήρια είναι Luminol, acridinium esters, aryl oxalates, dioxetanes και tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(III) ή $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+3}$. Οι δομές αυτών των αντιδραστηρίων παρουσιάζονται στην εικόνα 4.1.



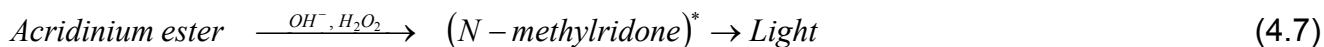
Εικόνα 4.1. Συνθέσεις των αναλυτικώς χρήσιμων CL αντιδραστηρίων για τη χημικώς διαλυτή φάση.

Επίσης άλλα χρησιμοποιούμενα συστατικά είναι η Lucigenin και η isoluminol. Η διαφορά αυτών των δύο συστατικών με την Luminol είναι ότι οι δύο πρώτες δεν μπορούν να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη και έτσι αντιδρούν με τα ανιόντα του υπεροξειδίου εκτός των κυττάρων. Γι' αυτό το λόγο αυτές έχουν εφαρμογή σε μελέτες μακροφασικής δραστηριότητας. Αντίθετα η Luminol μπορεί να διαπεράσει τις βιολογικές μεμβράνες και να γίνει μια πηγή φωτός μετά τη διέγερση σε διάφορα είδη των ελεύθερων ριζών συμπεριλαμβανομένου και των ριζών περοξυλίου. Έτσι αυτό το συστατικό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας των διαφόρων αντιοξειδοτών εντός του κυττάρου.

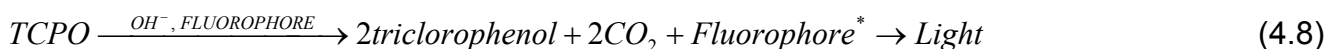
Όταν χρησιμοποιείται η Luminol, η εκπομπή είναι μπλε, επικεντρωμένη στα 430nm. Τα οξειδωτικά μέσα όπως υπερμαγγανικό κάλιο, υποχλωρίτης ή μπορεί να χρησιμοποιηθεί ιώδιο, αλλά το πιο σύνηθες οξειδωτικό μέσο είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂). Με το υπεροξείδιο του υδρογόνου απαιτείται ένας καταλύτης, και τυπικοί καταλύτες είναι μετάπτωσης μεταλλικών ιόντων (Co⁺², Cu⁺² και Fe⁺³), σιδηροκυανίδιο ή κάποιο σύμπλοκο μετάλλου (όπως αμίνη, αιμοσφαιρίνη και υπεροξειδάση).



Η αντίδραση του acridinium ester είναι παρόμοια, εμπεριέχοντας μια οξειδωση με αλκαλικό υπεροξειδίο υδρογόνου και δεν απαιτείται χρήση καταλύτη. Η εκπομπή είναι επικεντρωμένη γύρω στα 440nm.



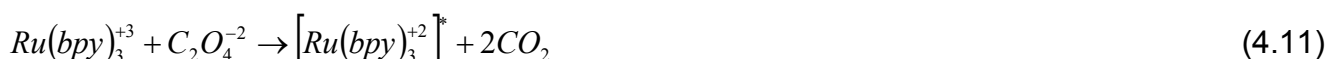
Οι αντιδράσεις του peroxyoxalate CL είναι οξειδώσεις του H_2O_2 των aryl oxalate esters. Αυτές οι αντιδράσεις είναι μεταξύ των πιο αποδοτικών μη βιολογικών CL αντιδράσεων, με κβάντο αποδοτικότητα τόσο υψηλή, όσο 20 έως 30%. Μια ενδεχόμενη υψηλή ενέργεια σχηματίζεται κατά την αντίδραση του aryl oxalate και του H_2O_2 . Εάν είναι παρόν ένα αποδοτικό Fluorophore, η μεταφορά ενέργειας του Fluorophore αυξάνει σε αυτή την κατάσταση. Η εκπομπή αυτή είναι από το Fluorophore. Αντίθετα προς τις περισσότερες άλλες CL αντιδράσεις, εδώ το CL φάσμα εκπομπής δεν ανιχνεύεται από κανένα από τα περιεχόμενα στοιχεία της χημικής αντίδρασης, αλλά από το πρόσθετο Fluorophore. Το TCPO ή bis-(2,4,6-trichlorophenyl)oxalate είναι ένα κοινά χρησιμοποιούμενο oxalate.



Τα dioxetanes είναι ένα τετραμελές κυκλικό υπεροξειδίο. Πολλά είναι ευμετάβλητα και έχουν προταθεί ως μεσάζων σε μερικές CL αντιδράσεις. Τα υποκατεστημένα 1,2-dioxetanes έχουν προετοιμαστεί και σταθεροποιηθεί στη θερμοκρασία δωματίου, αλλά μπορεί να είναι χημικώς ερεθισμένες για να παράγουν CL. Τέτοια dioxetanes έχουν μια ομάδα adamantyl στην μια πλευρά του δακτύλου και μια υποκατεστημένη aryl ομάδα από την άλλη πλευρά. Η δημιουργούμενη CL κατά την αφαίρεση μιας προστατευτικής ομάδας X από την ομάδα aryl-OX αποδίδει ένα ασταθές aryloxide που αυτόματα αποσυντίθεται. Μια κοινή ομάδα είναι το phosphate, το οποίο είναι διαχωρισμένο από την dioxetane κατά την ενζυμοαλκαλική phosphatase. Οι εκπομπές προέρχονται είτε από τον καταλήγων διεγερμένο aryl ester, είτε από ένα πρόσθετο φθορίζων εμπλουτισμό μέσω μεταφορά ενέργειας.



Στο $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+2}$ σύστημα, μια πορτοκαλί εκπομπή εστιάζεται στα 610nm και είναι αποτέλεσμα της διεγερμένης κατάστασης $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+2*}$. Αυτά τα διεγερμένα στοιχεία μπορούν να παρατηρηθούν σε μερικούς τρόπους: Κατά την αντίδραση του $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+3}$ και του $\text{Ru}(\text{bpy})_3^+$, κατά την αντίδραση του $\text{Ru}(\text{bpy})_3^+$ με κάποιους οξειδωτές, και κατά την αντίδραση του $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+3}$ με κάποια αναγωγικά μέσα. Η μεταφορά ηλεκτρονίου, όχι διαχωρισμός του δεσμού και επαναδιακανονισμό των στοιχείων, οδηγεί σε διεγερμένη κατάσταση, και αναγεννούνται τα $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+2}$ στοιχεία. Ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο αναγωγικό μέσο είναι είτε ανιόν του εστέρα του οξαλικού οξέως, είτε μια αλιφατική αμίνη.



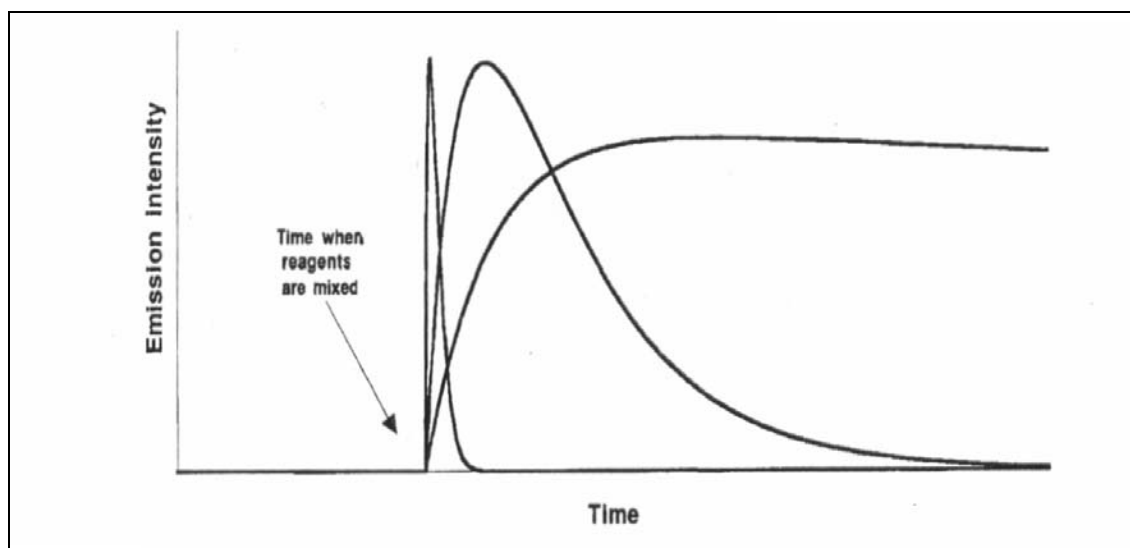
Για όλες αυτές τις αντιδράσεις, η ένταση εκπομπής μπορεί να είναι γραμμικά ανάλογη με τη συγκέντρωση για καθένα από τα αντιδραστήρια, δίνοντας κατάλληλη ρύθμιση των άλλων συγκεντρώσεων του αντιδραστήριου.

Η CL αντιδράσεις περιλαμβάνοντας στερεά είναι πολύ λιγότερο κοινές. Ένα σημαντικό παράδειγμα είναι η αδυναμία της CL να συνοδεύσει το σχηματισμό του υπεροξειδίου, συνδετική αλυσίδα και διάσπαση της αλυσίδας σε πολλά πολυμερή [37].

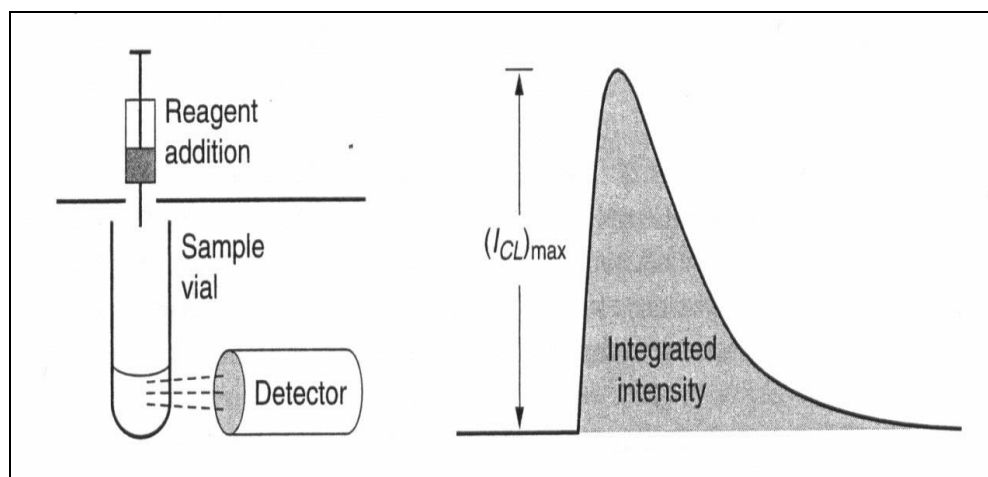
4.3. ΣΥΣΤΑΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ & ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Επ' αυτού αναμειγνύοντας τα απαραίτητα αντιδραστήρια, η CL αντίδραση αρχίζει και αυξάνεται ταχύτατα η ένταση εκπομπής καθώς η CL αντίδραση προάγεται και καταναλώνονται τα αντιδραστήρια. Η ελάττωση της συγκέντρωσης των αντιδραστηρίων προκαλεί μια μείωση του ρυθμού της αντίδρασης και μια σχετική ελάττωση της έντασης της CL. Αυτό σημαίνει πως ο ρυθμός της έντασης της εκπομπής της CL είναι προσωρινά παροδικός, όπως φαίνεται στην εικόνα 4.2, ο οποίος παρουσιάζει μια απόκλιση της έντασης της εκπομπής της CL με το χρόνο μετά την ανάμιξη των διαιρετών των αντιδραστηρίων. Η χρονική κλίμακα για την εκπομπή βασίζεται σε συγκεκριμένη αντίδραση και μερικές φορές οι συγκεντρώσεις των περιεχόμενων αντιδραστηρίων, αλλά μπορεί να κυμανθούν από μια μικρή διαρκή λάμψη, μικρότερη από μια δεύτερη συνεχόμενη αίσθηση ζεστασίας διαρκώντας για λεπτά της ώρας. Υπάρχουν δύο βασικές προσεγγιστικές μετρήσεις με CL: Στατικά δείγματα και ρέοντα ρεύματα. Με την προσέγγιση του στατικού δείγματος, ξεχωριστά τμήματα των CL αντιδραστηρίων, η ανάμιξη γίνεται μπροστά από τον ανιχνευτή και ολόκληρη η CL ένταση εκπομπής παίρνεται ως προς το παρατηρούμενο χρονικό προφίλ της αντίδρασης.

Γενικά, είτε η μέγιστη ένταση ($(I_{CL})_{max}$), είτε η σταδιακή μείωση της έντασης πέραν της κορυφής (αναλογική με τα συνολικά αντιδρώντα moles) είναι μετρημένη και συσχετισμένη με την αναλυτική, αν και μερικές φορές χρησιμοποιούνται άλλες τιμές, όπως το εύρος κορυφής ή ο ρυθμός φθοράς από το μέσο.



Εικόνα 4.2. CL εκπομπή σε συνάρτηση με τον χρόνο για αντιδράσεις μικρής, μεσαίας και μακράς διάρκειας εκπομπής.

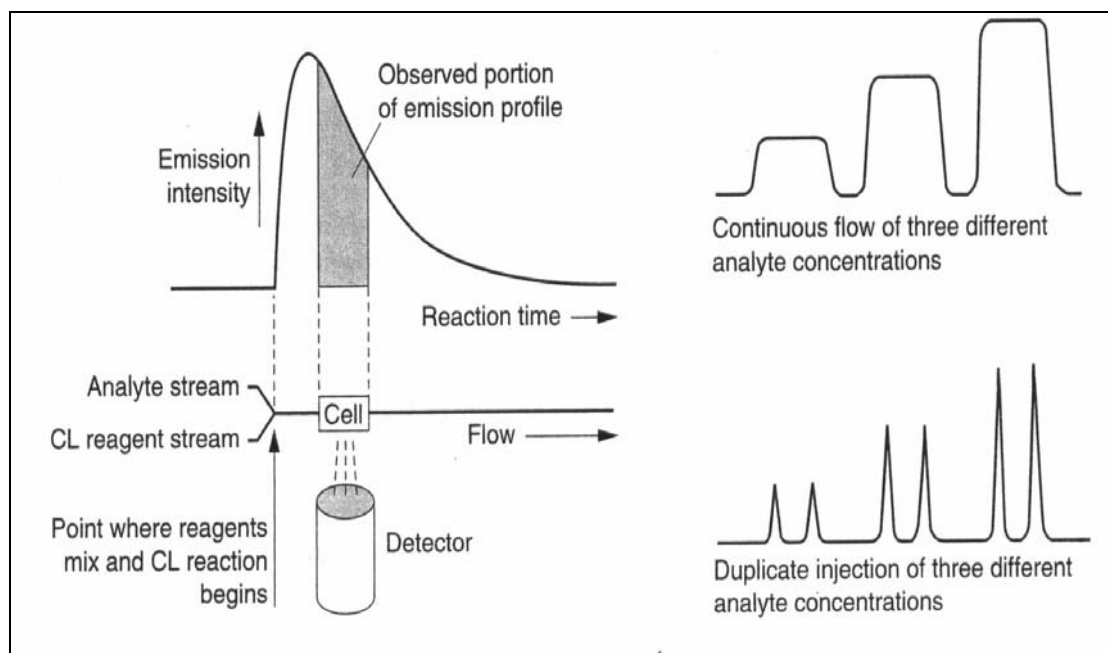


Εικόνα 4.3. Απλοποιημένη χρήση οργάνων CL για μετρήσεις στατικού δείγματος. Στα δεξιά είναι το γράφημα των αποτελεσμάτων της έντασης εκπομπής σε συνάρτηση με το χρόνο, δείχνοντας την μετρούμενη ποσότητα των τυπικών παραμέτρων.

Το monitoring της εκπομπής σε συνάρτηση με το χρόνο με ένα τέτοιο στατικό δείγμα είναι κοινό στη διαλυτή – φάση CL για την αναγνώριση ύλης ως αντιγόνου ή της ποσοτικής ανάλυσης του πυρηνικού οξέως. Το όργανο για τις μετρήσεις των στατικών διαλυμάτων γενικά ονομάζονται Luminometers και μερικά είναι εμπορικά διαθέσιμα.

Οι μέθοδοι ροής ρευμάτων είναι σχεδόν πάντα χρησιμοποιούνται με αέρια φάση CL και είναι πολύ κοινό με διαλυμένη φάση CL. Το αντιδραστήριο της CL και η ανάλυση των ρευμάτων συνεχής ροής αναμιγνύονται μεταξύ τους, με τη συνεχόμενη ανάμιξη του περιεχόμενου ρεύματος.

Η παρατήρηση λαμβάνει χώρα σε μια σταθερή θέση μετά την ανάμιξη. Ο όγκος μεταξύ της θέσης ανάμιξης και του σημείου παρατήρησης προσδιορίζει το χρόνο της CL αντίδρασης σε συνάρτηση με το προφίλ του χρόνου αντίδρασης κατά το οποίο λαμβάνει χώρα η παρατήρηση και η παρατηρούμενη ένταση εκπομπής παραμένει σταθερή σε αυτή την τιμή. Για την μέγιστη ευαισθησία αυτό είναι επιθυμητό για να ρυθμίζει το ρυθμό ροής, της παρατήρησης του όγκου του κελιού και η μεταφορά της γραμμής των όγκων, έτσι αυτό το σημείο της παρατήρησης φτάνει στην κορυφή της CL της έντασης σε συνάρτηση με το χρονικό προφίλ.



Εικόνα 4.4. Απλοποιημένη χρήση οργάνων CL για μετρήσεις στατικού δείγματος. Στα δεξιά είναι τα ίχνη των σημάτων για ένα δείγμα συνεχόμενης ροής (πάνω) και για εγχύσεις ενός δείγματος μέσα στο ρεύμα μεταφοράς (κάτω).

Για εφαρμογές σε χρωματογραφική ανίχνευση (αέρια ή υγρή) ή για εγχυόμενη ροή, η ανάλυση στο ρεύμα μεταφοράς συνεχίζει να ρέει, αλλά η ανάλυση της συγκέντρωσης δεν είναι σταθερή με το χρόνο λόγω του ότι η ανάλυση παρουσιάζεται ως μεταφερόμενες ταινίες έγχυσης κατά τα ρεύματα μεταφοράς είναι μέσα στην αντίδραση και στις ζώνες ανίχνευσης. Το τελικό σήμα είναι μια στενή κορυφή καθώς κάθε διαιρέτης ανάλυσης περνάει διαμέσου του κελιού.

Για ροή ρεύματος της CL με μια συνεχή ροή ανάλυσης, τα αποτελέσματα ενός μεγάλου όγκου κελί στην παρατήρηση ενός μεγάλου τμήματος του προφίλ εκπομπής της CL και συνεπώς ένα μεγάλο σήμα. Ωστόσο, η ροή του ρεύματος της CL με μικρούς εγχυόμενους διαιρέτες της ανάλυσης, είναι γενικά αναγκαίο να χρησιμοποιηθεί ένα πολύ μικρότερο κελί για το λόγω του ότι εμποδίζεται το υπερβολικό διάλυμα του μικρού όγκου ανάλυσης και για να συγκρατεί αρκετή χρονική ανάλυση μεταξύ του σήματος των κορυφών για συνεχόμενες αναλύσεις εγχύσεως ή των χρωματογραφικών ζωνών.

Τα ρέοντα αέριας φάσης συστήματα μπορούν να χρησιμοποιούν μια απλή αντλία κενού κατά τη έξοδο. Με τη ρέουσα διαλυμένης φάσης συστήματα, είναι πιο κοινό να έχουν χωριστή άντληση θετικής πίεσης για κάθε μια ανάλυση και κανάλια αντιδραστηρίων. Η χρήση οργάνων για τη ροή έγχυσης ή η υψηλής απόδοσης υγρής χρωματογραφίας (HPLC) οι εφαρμογές της CL γενικά είναι σχηματισμένο ή προσαρμοσμένο από άλλη χρήση οργάνων. Κατάλληλη ανάμιξη του δείγματος και των ρευμάτων των αντιδραστηρίων πρέπει να είναι ενσωματωμένα. Αυτό μπορεί να είναι ένα ενδιαφέρον σύστημα πολλαπλών διαλυτών, όπως το peroxyoxalate της CL.

Και στις δύο, στατική και ρέουσα μέθοδος, το μέγεθος της παρατηρούμενης της εκπομπής στον ανιχνευτή είναι ανάλογη με τον όγκο του κελιού. Μια κοινή γεωμετρία για τη ροή των ρευμάτων (ιδιαίτερα της διαλυμένης φάσης μετρήσεις) είναι ένα κελί που είναι περίπου 1cm μακρύ κατά τη διεύθυνση της ροής και λεπτό (50 έως 100μm) κάθετα στη διεύθυνση της ροής. Για το κελί απαιτείται ένα κατάλληλο υλικό, το γυαλί και ο χαλαζίας είναι τα πιο ασταθή

υλικά, αλλά τα περιεχόμενα ορατά μήκη κύματος της εκπομπής επιτρέπουν ακριλικό ή άλλα χρησιμοποιούμενα πλαστικά εάν αυτά είναι συμβατά με τα αντιδραστήρια και του διαλύτες [37].

4.4. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΕΚΠΕΜΠΟΜΕΝΟΥ ΦΩΤΟΣ

Είναι πιο κοινό να καθορίσουμε άμεσα της εκπεμπόμενη ακτινοβολία σε έναν φωτοανιχνευτή χωρίς μεσολάβηση μονοχρωμάτορα εκπομπής για την συλλογή του μήκους κύματος. Ο λόγος για αυτό είναι ότι με τις περισσότερες CL αντιδράσεις, η διακύμανση του μήκους κύματος είναι μια συνάρτηση του CL αντιδραστήριου, δεν αναλύεται. Για μια δεδομένη CL αντίδραση, το φάσμα εκπομπής παραμένει σταθερό εις πείσμα όλων των αναλύσεων. Επειδή η CL είναι χημικά αναγεννημένη, η εκπομπή κατά τις ακαθαρσίες των διαλυτών ή παρεμβαίνοντες συνιστώσες του δείγματος είναι λιγότερο συνηθισμένο από τη φθορίζουσα φασματοσκοπία, κατά την οποία η εκπομπή είναι διεγερμένη από μια πηγή φωτός. Αυτός ο παράγοντας επιτρέπει πάνω απ' όλα να αποφευχθεί χρησιμοποιώντας έναν μονοχρωμάτορα εκπομπής στις CL μετρήσεις.

Η ένταση της CL εκπομπής είναι χαμηλή όταν ο χρόνος της ανάλυσης των συγκεντρώσεων είναι σύνθετος. Ως αποτέλεσμα, είναι αναγκαίο να χρησιμοποιηθεί πολύ ευαίσθητος φωτοανίχνευσης, και η πιο κοινή είναι η χρήση κατά τη CL ενός σωλήνα φωτοπολλαπλασιαστή. Για μέτρηση των πολύ χαμηλών εντάσεων εκπομπής είναι επιθυμητή η χρήση οργάνου μετρητή φωτονίων.

Προσομοίωση ανίχνευσης μπορεί να είναι πλεονεκτική στην περίπτωση μετρήσεων στατικού δείγματος. Μερικά απλά όργανα αναγνώρισης ύλης έχουν χρησιμοποιήσει φωτογραφική ανίχνευση, ιδιαίτερα με πολλαπλά δείγματα στις θέσεις των μικροσκοπίων, κατά τον συνυπολογισμό μερικών σταθερών σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, είναι δυνατόν να επιτευχθεί ημιποσοτικοποίηση με σύγκριση των διαφορετικών βαθμών της έκθεσης του δείγματος και των σταθερών σημείων στην ίδια ταινία. Η CL χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των πρωτεϊνών ή των πυρηνικών οξέων, με στρώσεις gel ηλεκτροφόρισης, και επίσης έχει γίνει φωτογραφική ανίχνευση. Οι εφαρμογές προσομοίωσης της CL μπορεί να εκτελεστούν με ευαίσθητη παράταξη μηχανημάτων ζευγωτού φόρτιση (CCD) ανιχνευτών. Η χρήση της παράταξης των ανιχνευτών διευκολύνει τόσο την ποσοτικοποίηση του σήματος όσο την αποθήκευση και λαβητούρα της προσομοίωσης [37].

4.5. ΗΛΕΚΤΡΟΓΕΝΗΜΕΝΗ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ

Μερικές CL αντιδράσεις μπορεί να διεγερθούν ηλεκτροχημικός είτε με άμεση ηλεκτροχημική έναρξη της CL αντίδρασης ή με ηλεκτροχημική δημιουργία ενός αναγκαίου συστατικού της αντίδρασης. Αυτό είναι γνωστό ως ηλεκτρογεννημένη Χημειοφωταύγεια (ECL). Η ηλεκτροχημική έναρξη μιας CL αντίδρασης μπορεί να παράξει έναν τρόπο ελέγχου όταν ή όπου λαμβάνει χώρα η αντίδραση και η εκπομπή. Κατά τον έλεγχο εάν το δυναμικό ηλεκτροδίου έχει την κατάλληλη διακύμανση δυναμικού για να κάνει έναρξη της αντίδρασης, μπορεί να σταματήσει τελείως. Εάν η αντίδραση είναι αρκετά γρήγορη η εκπομπή είναι περιορισμένη στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου, και μόνο η περιοχή του δείγματος που είναι πολύ κοντά στο ηλεκτρόδιο εξετάζεται επισταμένως.

Η χρήση των οργάνων για τις απαιτήσεις της ECL συνίσταται σε κατάλληλα ηλεκτρόδια και μιας potentiostat για τον έλεγχο της διαφοράς δυναμικού μεταξύ αυτών. Ο χρυσός, η πλατίνα ή ο άνθρακας είναι τα λειτουργικά ηλεκτρόδια και είναι τοποθετημένα στο κελί παρατήρησης, στον μετρητή και το σημείο ένδειξης είναι τοποθετημένο στην κατεύθυνση του ρεύματος. Η επιλογή της μερικής λειτουργίας του ηλεκτροδίου βασίζεται στην περιεχόμενη διακύμανση του δυναμικού. Η ένδειξη του ηλεκτροδίου είναι τυπικά Ag/AgCl. Ένα κοινό σχέδιο ροής κελιού είναι όμοιο με μια λεπτή στρώση αμπερομετρικού κελιού για ηλεκτροχημική ανίχνευση στο HPLC, με συνυπολογισμό ενός ανοίγματος μιας θυρίδας, όπου επιτρέπεται της περιοχής των ηλεκτροδίων [37].

4.6. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Όπως στο Φθορισμό, οι εντάσεις εκπομπής της Χημειοφωταύγειας μειώνεται κατά την παρουσία των στοιχείων που καταστέλλει την διεγερμένη κατάσταση. Το οξυγόνο είναι περιστασιακά σεβαστό, η χρήση του $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+2}$ σε χαμηλές συγκεντρώσεις είναι αξιοσημείωτα επηρεαζόμενες με την καταστολή του οξυγόνου. Η ένταση εκπομπής της CL είναι επίσης επηρεαζόμενη κατά την συνεισφορά των παραγόντων που μεταβάλλουν το ρυθμό της αντίδρασης ή της κβάντο απόδοσης της ημιδιέγερσης. Έτσι, οι μετρήσεις της CL μπορεί να είναι ευαίσθητες σε περιβαλλοντικές συνιστώσες (όπως το PH, η ιοντική ισχύς, η σύνθεση του διαλύματος και η θερμοκρασία). Όπως άλλες προσεγγίσεις ανίχνευσης της ροής μάζας (αμπερομετρία σε υγρή χρωματογραφία ή ανίχνευση ιονίζουσας φλόγας στη GC) διακύμανσης του ρυθμού ροής προκαλεί διακύμανση του ρυθμού απόδοσης των αντιδραστηρίων, και έτσι τα αποτελέσματα της διακύμανσης στην ένταση του σήματος [37].

4.7. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

Υπάρχει πολύ λίγη ποιοτική διαθέσιμη πληροφόρηση από την CL. Υπάρχουν συχνά μερικά στοιχεία τα οποία μπορούν να παράγουν εκπομπή της CL από το ίδιο αντιδραστήριο της CL. Τα εκπεμπόμενα στοιχεία γενικά προέρχονται από το αντιδραστήριο της CL σχετικά με την ανάλυση, όλες οι αποδόσεις ανάλυσης του ίδιου φάσματος εκπομπής με ένα δοσμένο αντιδραστήριο της CL. Η Luminol, για παράδειγμα, αποδίδει εκπομπή CL με πολλούς οξειδωτές (όπως το H_2O_2 , το οργανικό υπεροξείδιο και ο υποχλωρίτης) μετάβαση μεταλλικών ιόντων (όπως Fe(II), Fe(III), Cr(III) και Co(III)), και οργανομεταλλικά στοιχεία (όπως heraseradist peroxide, αιμογλοβίνη και ανοιγμένη βιταμίνη B12). Για όλα αυτά τα εκπεμπόμενα στοιχεία είναι προϊόν οξειδωσης της Luminol (3-aminophthalate) παρά άλλων των σχετικών στοιχείων του οξειδωτικού μέσου και των μεταλλοιοντικών καταλυτών, έτσι δεν υπάρχει φασματοσκοπικός τρόπος για να ανιχνευτεί ποιο οξειδωτικό ή μεταλλικό στοιχείο είναι υπεύθυνο για την εκπομπή. Μερικές αντιδράσεις είναι ουσιαδώς ιδιαίτερων συστατικών. Αν και πολλά μεταλλοιόντα προκαλούν εκπομπή λάμψης από την Luminol κατά την παρουσία του H_2O_2 , Fe^{+2} είναι τα μόνα στοιχεία που προκαλούν σημαντική εκπομπή κατά την απουσία του H_2O_2 . Άλλα παραδείγματα είναι το tetrakis (dimethylamino)ethylene, το οποίο δίνει CL εκπομπή μόνο το O_2 , και aqueorin, η οποία δίνει CL εκπομπή μόνο με Ca^{+2} .

Ποιοτική πληροφόρηση συνήθως προέρχεται από το φυσικό και το χημικό βήμα που είναι συζευγμένα με τον CL ανιχνευτή. Η CL ανίχνευση μπορεί επίσης να επιτρέψει ανίχνευση της διαθέσιμης ποιοτικής πληροφόρησης από μια χρωματογραφία, ηλεκτροφόριση ή μέθοδος αναγνώρισης ύλης. Συνήθως, η μόνη άμεσα παρατηρούμενη ποιοτική πληροφόρηση από τη CL είναι όπου μπορεί να παρατηρήσει κανείς σημαντική εκπομπή από ένα δείγμα. Υπάρχουν παραδείγματα όπου αυτή η πληροφόρηση είναι διαθέσιμη, ένα παράδειγμα είναι η δικανική χρήση της Luminol CL να καθοριστεί όπου μικρά στίγματα ερυθρά χρωματισμένα αίμα,

βασίζεται στην έντονη CL εκπομπή από την Luminol/H₂O₂ κατά την παρουσία της αιμογλοβίνης [37].

4.8. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

Υπενθυμίζεται ότι η βασική σχέση που επιδρά στις εντάσεις της CL είναι:

$$I_{CL} = \Phi_{CL} \frac{dP}{dt} = \Phi_{EX} \Phi_{EM} \frac{dP}{dt} \quad (4.13)$$

Αυτό είναι διότι ο ρυθμός της αντίδρασης είναι μια λειτουργία των χημικών αντιδράσεων που η CL είναι χρήσιμη για την ποσοτικοποίηση των χημικών συγκεντρώσεων. Η υψηλή ευαισθησία είναι ένα κύριο χαρακτηριστικό της CL. Λόγω του ότι η τεχνική αυτή είναι ταυτόχρονα μια κινητική μέθοδος και μια μέθοδος φωταύγειας, παρέχοντας πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης και ευρείες δυναμικές διακυμάνσεις με την γραμμική ένταση εκπομπής ανάλογη με τη συγκέντρωση πέραν των μερικών δεκάδων της συγκέντρωσης. Τυπικά όρια ανίχνευσης είναι 10 pmol NO χρησιμοποιώντας O₃, 0,1 pmol συστατικών του θείου χρησιμοποιώντας μια φλόγα υδρογόνου ακολουθούμενη από O₃, 1 fmol Fluorophore χρησιμοποιώντας peroxoaltes και 0,1 fmol peroxidase χρησιμοποιώντας Luminol. Οι γραμμικές διακυμάνσεις τυπικά καλύπτουν 3 έως 4 δεκάδες της συγκέντρωσης για αντιδράσεις διαλύματος και 6 έως 7 δεκάδες για αντιδράσεις αέριας φάσης [37].

4.9. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

1. Μέτρηση των Ατμοσφαιρικών Μολυντών.
2. Ανίχνευση στην Αέρια Χρωματογραφία.
3. Ανίχνευση στη HPLC και στα Τριχοειδή Αγγεία της Ηλεκτροφόρησης.
4. Ανίχνευση των Προϊόντων των Ενζυμικών Αντιδράσεων: Flow Streams and Biosensors.
5. Αναγνώριση Υλικού ως Αντιγόνου και Αποτίμηση του Νουκλεϊκού Οξέως.
6. Χαρακτηρισμός Υλικών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5.1. Co(II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence method

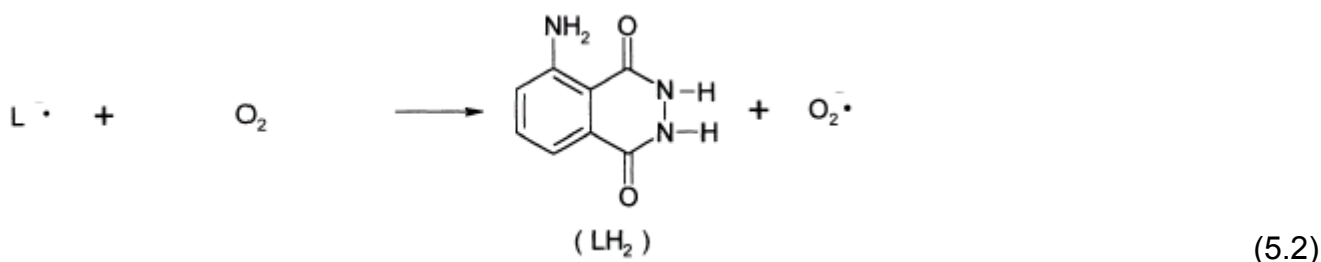
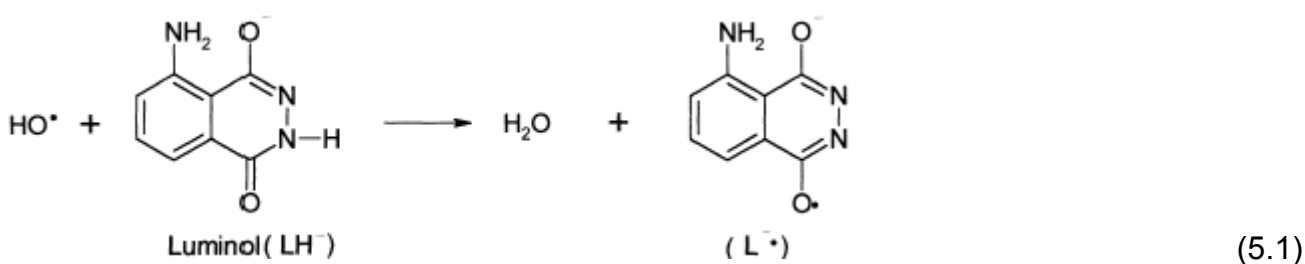
Πρόσφατες μελέτες έχουν αποδείξει μια ευρεία χρήση της Luminol κατά τη διεργασία της Χημειοφωταύγειας ως μια ευαίσθητη χημική ανάλυση για συνεχόμενη παρακολούθηση των ελεύθερων ριζών και της αντιδραστικότητας των προϊόντων μεταβολισμού από συστήματα ελεύθερων κυττάρων και για την προβολή της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας[38],[39].

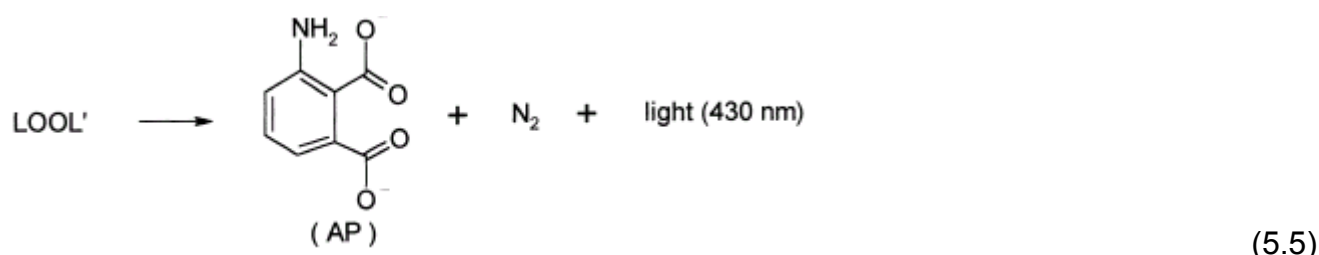
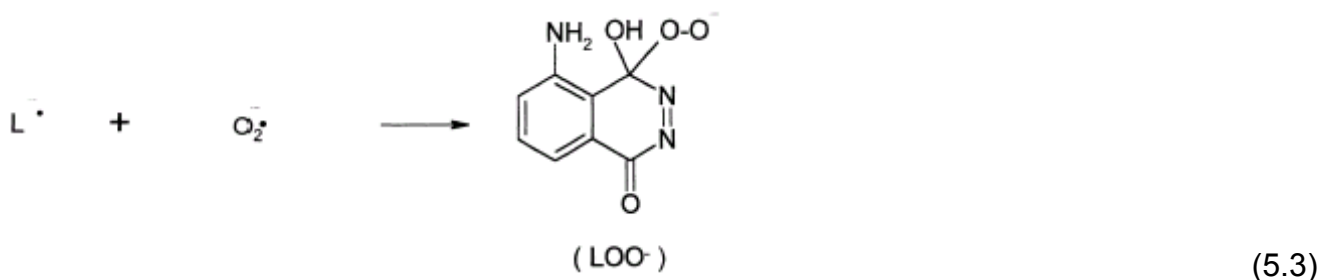
Αυτή η μέθοδος μας επιτρέπει να αποτιμήσουμε το συνολικό αντιοξειδωτικό δυναμικό (TRAP), καθώς και τη συνολική αντιοξειδωτική δραστηριότητα, λαμβάνοντας υπόψη ότι η Luminol είναι ένας δείκτης των θεμελιωδών αντιδράσεων. Η Luminol Φωταύγειας έχει χρησιμοποιηθεί ως ένα ενδιάμεσο συστατικό της HPLC ανίχνευσης μετά την ανάμιξη της post-column.

Στη βιβλιογραφία, οι αναφερόμενες πηγές των ελεύθερων ριζών είναι: Τα ένζυμα, η μικρόυπεροξειδάση, το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), η οργανική περοξειδάση, η υδρογονωμένη peroxide/p-iodophenol και το 2,2'-azo-bis(2-amidinopropane). Στα χημικά αντιδραστήρια της CL, μπορούν να χρησιμοποιηθούν δύο ευαισθητοποιητές: Η Luminol, η οποία δεν είναι ειδική και η Lucigenin η οποία είναι ειδική για O_2^- [38],[39],[46].

Η συγκεκριμένη νέα μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την παρούσα εργασία μπορεί να χαρακτηριστεί ως μια απλή μέθοδος μετρήσεων της CL έντασης για την ανίχνευση του H_2O_2 ποσοτικά και ποιοτικά. Η συγκεκριμένη προσέγγιση δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ένζυμα και integrators λόγω της μετρούμενης ποσότητας, η οποία η CL ένταση, παραμένει σταθερή για ένα λογικό χρονικό εύρος[38].

Η διαδικασία βασίζεται στην μέτρηση των αποτελεσμάτων Χημειοφωταύγειας από την οξείδωση της Luminol με το H_2O_2 κατά την παρουσία ενός μεταβαλλόμενου μετάλλου (EDTA), ενός μεταλλικού ιόντος (Co(II)) και της οργανικής φάσης του κατσίγαρου τριών τριφασικών και δύο διφασικών ελαιουργείων με σταθερό PH 9.





Εικόνα 5.1: CL ένταση vs. mmol H₂O₂ για borate buffer για διαλύματος με σταθερό PH 9 για Co(II) και EDTA.

Παραπάνω παρουσιάζεται η αντίδραση Luminol της CL (Miyazawa et al 1994):

Η monodossociate Luminol, σε βασικό PH (LH^-) αντιδρά με ρίζες υδροξυλίου προς H₂O και ρίζα diazamiquinone ($L^{\bullet-}$) (αντίδραση 5.1, εικόνα 5.1). Η $L^{\bullet-}$ μειώνει το O₂ προς ανιόν περοξειδίου ($O_2^{\bullet-}$) και είναι οξειδωμένο προς 5-aminohyphenanthalazine-1,4dione (LH_2) (αντίδραση 5.2, εικόνα 5.1). Η $L^{\bullet-}$ και το $O_2^{\bullet-}$ απόφεραν το άνθρακο-κεντρικό ανιόν του υδροπεροξειδίου ($LOO^{\bullet-}$) (αντίδραση 5.3, εικόνα 5.1). Το $LOO^{\bullet-}$ επαναδιευθετείται προς ένα μεταβατικό ενδοπεροξειδίο (αντίδραση 5.4, εικόνα 5.1) το οποίο καθώς αποσυντίθεται δίνει εκπομπή φωτός και τα προϊόντα, ένα aminophthalate (AP) και N₂ (αντίδραση 5.5, εικόνα 5.1)[38].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

6. Η ΧΡΗΣΗ ΥΠΕΡΗΧΩΝ ΣΤΗ ΧΗΜΕΙΑ

6.1. Εισαγωγή

Στο δεύτερο μισό του τελευταίου αιώνα παρουσιάστηκε μια γρήγορη χειροτέρευση του υδάτινου περιβάλλοντος σαν αποτέλεσμα της αλόγιστης χρήσης πολύπλοκων οργανικών ενώσεων, των οποίων τα κατάλοιπα καταλήγουν να φορτίζουν συμβατικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας αστικών αποβλήτων. Η έρευνα και η ανάπτυξη πρωτοποριακών τεχνικών κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας έδειξε ότι οι εξελιγμένες διεργασίες οξειδωσης (Advances Oxidation Process-AOP) είναι πολύ ελπιδοφόρες για την αποικοδόμηση τέτοιων ρυπασμένων εκροών νερού χωρίς την παραγωγή ιλύος ή επικίνδυνων στερεών υλικών. Η καταστροφή ή η απολιθοποίηση των οργανικών ενώσεων από τέτοιου είδους διεργασίες, βασίζεται στην οξειδωτική αποικοδόμηση με επίθεση ελεύθερων ριζών υδροξυλίου, η οποία είναι μακράν το χειρότερο οξειδωτικό μέσο από όλα τα γνωστά οξειδωτικά μέσα[23],[35].

Οι ελεύθερες ρίζες στις τεχνικές εξελιγμένων διεργασιών οξειδωσης δημιουργούνται με μια ποικιλία μεθόδων όπως: 1. Φωτοχημική ακτινοβολία με υπεριώδη φωτισμό (σε σύζευξη με ένα ισχυρό οξειδωτικό μέσο ή/και έναν ημιαγωγό), 2. Καταλυτικές διεργασίες με Fenton ($\text{FeSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$) και Φωτο-Fenton, 3. Αποικοδόμηση με χρήση ακτινοβολίας-γ, 4. Τεχνικές ακτινοβολήσης με εκπομπή ηλεκτρονίων, 5. Αποικοδόμηση υπερήχων. Ανάμεσα σε αυτές, η αποικοδόμηση με υπερήχους χρησιμοποιούνται σπάνια, παρά τις μοναδικές και «ακραίες» συνθήκες που δημιουργούν τα κύματα υπερήχων σε υγρό μέσο, και οι οποίες τα μετατρέπουν σε ένα εξαιρετικά κατάλληλο μέσο για την «χημεία υψηλής ενέργειας». Κάτω από καλά προσδιορισμένες συνθήκες τα «ακραία» αυτά φαινόμενα, όχι μόνο βοηθούν την οξειδωτική καταστροφή των ρυπαντών μέσω αντιδράσεων με ελεύθερες ρίζες, αλλά παρέχουν επίσης ένα εξαιρετικό μέσο για τη θερμική διάσπαση τους στην αέρια φάση. Γι' αυτό το λόγο, η παραγωγή ελεύθερων ριζών από τη χρήση υπερήχων επεκτείνει τους στόχους των εξελιγμένων διεργασιών οξειδωσης πέρα από την υγρή φάση οξειδωτικής καταστροφής και στην αέρια διάσπαση, εξαιτίας των πολύ ειδικών επιδράσεων που δημιουργούνται από το σχηματισμό και την κατάρρευση ακουστικών κοιλοτήτων σε νερό που εφαρμόζονται υπερήχοι [23],[35].

Η χημεία των υπερήχων ορίζεται ως η χημική δραστηριότητα που προκαλείται ή/και καταλύεται από την έντονη πίεση των κυμάτων σε ένα υγρό μέσο. Τα συστήματα υπερήχων είναι εξαιρετικά και εύθραυστα σε λειτουργικές παραμέτρους, και δεν μπορούν να ελεγχθούν χωρίς την ολοκληρωμένη γνώση και κατανόηση των φυσικών και χημικών φαινομένων.

6.2. Θεωρητικό Υπόβαθρο

Ως υπέρηχος ορίζεται κάθε ήχος με συχνότητα μεγαλύτερη από τη μέγιστη συχνότητα στην οποία το ανθρώπινο αυτί αντιδρά (π.χ. 16 KHz). Στην πράξη, τρεις ζώνες συχνοτήτων έχουν αναφερθεί για τρεις ξεχωριστές εφαρμογές υπερήχων: 1. Υψηλής συχνότητας ή διαγνωστικοί υπέρηχοι (2-10 MHz), 2. Χαμηλής συχνότητας ή συμβατικής ισχύος υπέρηχοι (20-100 KHz) και 3. Μεσαίας συχνότητας υπέρηχοι ή «υπέρηχοι χημικών επιδράσεων» (300-1000 KHz). Αυτή είναι και η ζώνη μέσα στην οποία οι διεργασίες χημικών αντιδράσεων καταλύονται με ένα τρόπο μοναδικό διαμέσου πολύ «ακραίων» θερμοκρασιών και πιέσεων που

δημιουργούνται από το σχηματισμό, την ανάπτυξη και την καταστροφή σπηλαιώσεων σε νερό το οποίο ακτινοβολείτε με υπερήχους [23].

Όταν ένα υγρό εκτεθεί σε ένα ακουστικό πεδίο, τα κύματα πίεσης των ηχητικών δονήσεων δημιουργούν ένα είδος ακουστικής πίεσης το μέγεθος της οποίας εξαρτάται από το χρόνο που εφαρμόζεται το πεδίο και τη συχνότητα του και που αποτελείται από εναλλασσόμενους κύκλους συμπίκνωσης και αραιώσης. Αν η εφαρμοζόμενη πίεση είναι ίση με την αρνητική πίεση που αναπτύσσεται στον κύκλο αραιώσης των κυμάτων και τόση ώστε η απόσταση μεταξύ των μορίων του ρευστού να ξεπεράσει την κρίσιμη μοριακή απόσταση στην οποία το μόριο συγκρατείται ενωμένο, το υγρό διασπάται σχηματίζοντας κοιλότητες που περιέχουν ατμό και μικρό-φουσαλίδες γεμισμένες με αέριο. Το φαινόμενο ονομάζεται «ακουστική σπηλαιώση» και αποτελείται από τρία ξεχωριστά και διαδοχικά στάδια: σχηματισμός πυρήνα, ανάπτυξη φουσαλίδας (διαστολή) και κάτω από κατάλληλες συνθήκες κατάρρευση προς το εσωτερικό. Το πρώτο στάδιο είναι μια είναι μια διεργασίας πυρηνοποίησης, μέσω της οποίας σπηλαιωμένοι πυρήνες δημιουργούνται από μικρό-φουσαλίδες που είναι εγκλωβισμένες σε μικρό-ρωγμές αιωρούμενων σωματιδίων που βρίσκονται μέσα στο υγρό. Στο δεύτερο στάδιο, οι φουσαλίδες αναπτύσσονται και διαστέλλονται με τρόπο που υπαγορεύονται από την ένταση του εφαρμοζόμενου ηχητικού κύματος. Με τους υπέρηχους υψηλής έντασης, μια μικρή κοιλότητα μεγαλώνει γρήγορα εξαιτίας αδρανειακών συνεπειών, ενώ σε χαμηλότερες εντάσεις η ανάπτυξη συμβαίνει διαμέσου της «διορθωμένης διάχυσης» (rectified diffusion), με ρυθμό πολύ αργότερο που διαρκεί πολλούς περισσότερους ακουστικούς κύκλους πριν τη διαστολή. Το τρίτο στάδιο της δημιουργίας κοιλοτήτων συμβαίνει μόνο αν η συχνότητα των υπερήχων ξεπερνάει το λεγόμενο ακουστικό επίπεδο σπηλαιώσης -acoustic cavitation threshold- (συνήθως λίγα watts/cm^2 για συνηθισμένα υγρά που εκτίθενται σε 20 KHz συχνότητας υπερήχων). Κάτω από αυτές τις συνθήκες, οι μικρό-φουσαλίδες γίνονται πολύ μεγάλες, σε τέτοιο βαθμό που δεν μπορούν πλέον να απορροφήσουν αποτελεσματικά ενέργεια από το ηχητικό περιβάλλον για να διατηρηθούν, και συμπιέζονται βίαια, οδηγούμενα στην αποκαλούμενη καταστροφική κατάρρευση [23],[35].

Κατά τη διάρκεια του σταδίου της κατάρρευσης, οι θερμοκρασίες και οι πιέσεις που απελευθερώνονται είναι τόσο ακραίες που τα εγκλωβισμένα στις μικρό-φουσαλίδες αέρια υφίστανται μοριακό θρυμματισμό, που είναι το θεμελιώδες φαινόμενο στην ομοιογενή χημεία υπερήχων. Πέρα από αυτό, έχει παρατηρηθεί ότι ακριβώς πριν την καταστροφική κατάρρευση των συμπιεσμένων και γεμισμένων με αέριο κοιλοτήτων του νερού, οι φουσαλίδες παράγουν ένα στιγμιαίο φως που αποκαλείται φωτοβολία υπερήχων (sonoluminescence), όπως ανιχνεύεται από μια κορυφή στα 310nm και μια συνεχή σειρά σε όλο το ορατό φάσμα. Το φάσμα του υπερήχοφωτοβολίζοντος νερού συνδέθηκε με τη δημιουργία ενώσεων υψηλής ενέργειας (π.χ. ριζών υδροξυλίου) από μοριακό θρυμματισμό συμπιέσεων αερίων, παρά με την ακτινοβολία μέλανου σώματος (black body radiation). Γι' αυτό το λόγο, όπως και η φωτοχημεία, η χημεία των υπερήχων εμπλέκει την εισαγωγή πολύ μεγάλων ποσοτήτων ενέργειας σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα, αλλά ο τρόπος της μοριακής διέγερσης είναι θερμικός, σε αντίθεση με τη ηλεκτρονική διέγερση που υφίστανται τα μόρια στις φωτοχημικές διεργασίες. Όπως έχει περαιτέρω διατυπωθεί, η χημεία των υπερήχων βρίσκεται μεταξύ τη υψηλής ενέργειας και μοριακής φυσικής και γι' αυτό το λόγο απαιτεί τη χρήση μικροσκοπικής περιγραφής των πραγμάτων [23],[35].

Προς το παρόν, δεν έχει υπάρξει ομοφωνία για τη φυσική εξήγηση της φάσης κατάρρευσης, εκτός από το ότι ακραίες και μη-ισορροπίας συνθήκες υπάρχουν κατά τη διάρκεια της βίαιης συμπίεσης των φουσαλίδων. Η περισσότερο ευνοούμενη εξήγηση δίνεται από τη θεωρία του

καυτού σημείου (hot spot theory), η οποία προτείνει ότι η κατάρρευση είναι τόσο γρήγορη που η συμπίεση του ατμού και του αερίου στο εσωτερικό της φυσαλίδας είναι αδιαβατική. Συνεπώς, οι θερμοκρασίες και οι πιέσεις που αναπτύσσονται στο εσωτερικό μιας καταστρεφόμενης φυσαλίδας μπορούν να φτάσουν σε τιμές τόσο υψηλές όσο οι 4200-5000 °K και 200-500 atm, αντίστοιχα, ακριβώς πριν τον θρυμματισμό. Το εντοπισμένο καυτό σημείο δημιουργείται από την αστραπιαία κατάρρευση των ακουστικών κοιλοτήτων, έχει πολύ μικρή διάρκεια ζωής (10ms) και υποδηλώνει την ύπαρξη ακραίων ρυθμών θέρμανσης και ψύξης της περιοχής του 10^{10} K/s.

Λιγότερο δημοφιλές από τη θεωρία του καυτού σημείου, είναι η θεωρία του συγκλίνοντος σοκ του κύματος – convergent shock-wave και της ηλεκτρικής διατάραξης, που προτιμούνται για την εξήγηση της φωτοβολίας της φυσαλίδας. Η εκπομπή φωτός από μια απλή φυσαλίδα κατά τη διάρκεια της κατάρρευσης μοντελοποιήθηκε από τους Hickling και Le Point, οι οποίοι σύγκριναν το φαινόμενο με το πάγωμα του νερού και το σχηματισμό μικροπλάσματος από μικροσκοπικούς πίδακες αερίου που εκτοξεύονται στο εσωτερικό της κοιλότητας, αντιστοίχως. Τέλος, στο νέο ηλεκτρικό μοντέλο που προτάθηκε από τον Marquillis, η διαστροφή και ο διαχωρισμός μιας κοιλότητας σε μικρότερες οντότητες συγκρίθηκαν με την αρνητική εικόνα του πίδακα της διαστροφής του ρευστού σε σπρέι αεροζόλ.

6.3. Φυσικοχημικά Ζητήματα της Χημείας των Υπερήχων

Η μεγάλη πλειοψηφία των συστημάτων χημείας υπερήχων με ενδεχόμενη βιομηχανική εφαρμογή είναι ετερογενή, όπου η έναρξη της χημικής δραστηριότητας είναι συνδεδεμένη με τις φυσικές συνέπειες των υπερήχων, όπως η μεταφορά μάζας και θερμότητας, η επιφανειακή ενεργοποίηση και η ανάμειξη φάσεων. Η κατάλυση με υπερήχους ετερογενών αντιδράσεων υγρού-υγρού βασίζεται στο αποτέλεσμα της ανάμειξης της ακουστικής ροής, που βοηθάει τη γαλακτοποίηση μη αναμίξιμων υγρών διαμέσου της επαύξησης των ρυθμών αντίδρασης στη διεπιφάνεια. Όταν το σύστημα από διφασικό μέσο στερεού-υγρού, η κατάλυση είναι μια συνέπεια της διάσπασης του στερεού εξαιτίας του φαινομένου του πίδακα που συνδέεται με την καταστροφή των φυσαλίδων. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι πολλά από αυτά τα φαινόμενα παρατηρούνται όταν το ετερογενές μέσο ακτινοβολεί με χαμηλή συχνότητα ή με υπερηχητική ισχύ στη ζώνη των 20-100 KHz [23],[35].

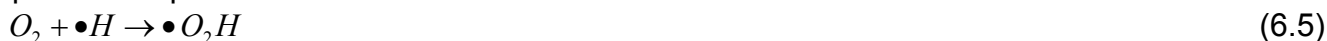
Η ομοιογενής χημεία των υπερήχων, παρόλα αυτά, προέρχονται καθαρά από το αποτέλεσμα των ακραίων συνθηκών κατάρρευσης των μικρό-φυσαλίδων. Τέτοιες ακραίες συνθήκες έχει αναφερθεί ότι δημιουργούν μοναδικά καταλυτικά αποτελέσματα, που προέρχονται από τα έμφυτα πλεονεκτήματα τέτοιων συστημάτων, όπως είναι: 1. Η ικανότητα δημιουργίας στοιχείων υψηλής ενέργειας 2. Η απομίμηση συνθηκών αντιδράσεων διαχωρισμού (π.χ. υψηλές θερμοκρασίες και πιέσεις) σε μικροσκοπική κλίμακα. Αυτά τα φαινόμενα ξεκινούν μέσα στις κοιλότητες, που αποτελούνται από μικρό-φυσαλίδες γεμισμένες με ατμό από το υγρό μέσο ή/και διαλυμένα πτητικά συστατικά και αέρια που έχουν διαλυθεί μέσα σε αυτές. Κατά τη διάρκεια της κατάρρευσης αυτών των κοιλοτήτων σε υδάτινα συστήματα, τα αεριοποιημένα υγρά μόρια που έχουν παγιδευτεί στις διασταλμένες μικρό-φυσαλίδες θρυμματίζονται όπως συμβαίνει στην πυρόλυση και δημιουργούν ισχυρώς αντιδραστικές ρίζες, όπως οι ρίζες υδροξυλίου. Ο σχηματισμός αυτών των ριζών σε νερό στο οποίο εφαρμόζονται υπέρηχοι αποδείχτηκε σε διάφορα εργαστήρια, με τη χρήση συνδυασμένων τεχνικών παγίδευσης της περιστροφής και ηλεκτρικού παραμαγνητικού συντονισμού (EPR), την αντίδραση Weissler, μετρήσεις του φθορισμού από 2-hydroxy-terephthalate που παράγεται από την υδροξυλίωση του ιόντος terephthalat, παγίδευση DMPO, και μετρήσεις φωτοβολίας υπερήχων που βασίζονται στην οξειδωτική αποικοδόμηση της luminol σε

aminophthalate από υπερηχολητική παραγωγή ριζών υδροξυλίου. Σε μη υδατίνους οργανικούς διαλύτες από υγρά μέσα που περιέχουν πτητικά οργανικά αέρια και διαλυμένα σωματίδια, η καταστροφή των κοιλοτήτων όχι μόνο οδηγεί στον θρυμματισμό των υγρών μορίων σε ρίζες υδροξυλίου και υδρογόνου, αλλά και στο σχηματισμό οργανικών ριζών, όπως επιβεβαιώνεται και από πειραματικές μελέτες φασματοσκοπίας ESR [23],[35].

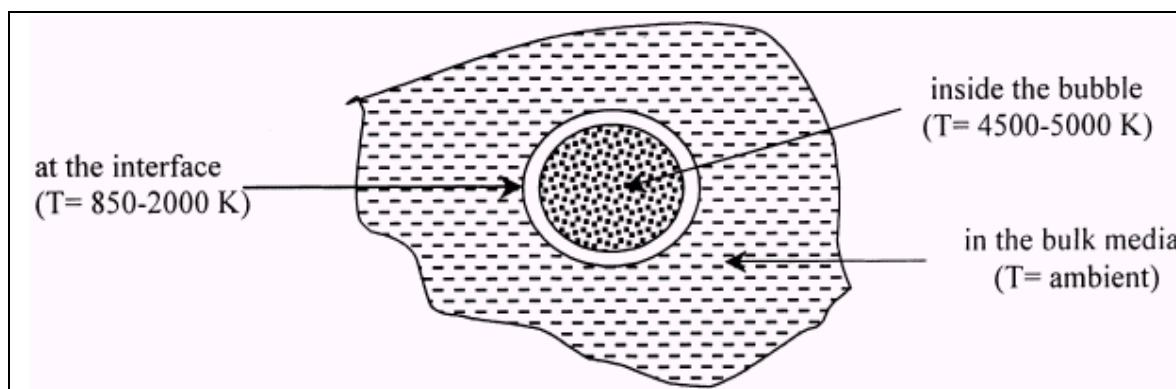
Οι ρίζες υδροξυλίου που παράγονται από την υπερηχητική διάλυση του νερού μπορούν είτε να αντιδράσουν στην αέρια φάση, είτε να επανασυνδυαστούν στην ψυχρότερη διεπιφάνεια αερίου-υγρού ή/και μέσα στο σώμα του διαλύματος για τη παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και νερού, όπως φαίνεται παρακάτω:



Αν το διάλυμα είναι κορεσμένο σε οξυγόνο, περοξικές και άλλες υδροξυλικές ρίζες σχηματίζονται στην αέρια φάση (πάνω στη διάλυση του μοριακού οξυγόνου) και ο επανασυνδυασμός του προηγούμενου στις ψυχρότερες περιοχές (διεπιφάνεια ή στο σώμα του διαλύματος) οδηγεί στην παραγωγή επιπλέον υπεροξειδίου του υδρογόνου, όπως φαίνεται παρακάτω:



Η εμπειρία στην ομοιογενή χημεία των υπερήχων έχει αποδείξει ότι υπάρχουν τρία πιθανά σημεία για τις χημικές αντιδράσεις σε υγρά που τους έχει εφαρμοστεί ακτινοβολία υπερήχων όπως φαίνεται στην εικόνα 6.1: 1) η ίδια η φυσαλίδα, 2) η διεπιφάνεια που σχηματίζεται μεταξύ της αέριας φυσαλίδας και του περιβάλλοντος υγρού και 3) το σώμα του διαλύματος [23],[35].



Εικόνα 6.1. Πιθανά σημεία αντιδράσεων σε ομοιογενή μέσα.

Σε πρακτικές που αφορούν νερό ή εκροές επεξεργασίας, οι οργανικοί ρυπαντές μπορεί να καταστραφούν είτε στα πρώτα δύο σημεία με συνδυαζόμενα αποτελέσματα πυρολυτικής διάλυσης και υδροξυλίωσης είτε μάζα στο σώμα του διαλύματος διάμεσο οξειδωτικής αποικοδόμησης από ρίζες υδροξυλίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου. Η έκταση της οξείδωσης σε αυτό το στάδιο περιορίζεται από την ποσότητα των αδέσμευτων ριζών υδροξυλίου που είναι διαθέσιμες στο διάλυμα, που με τη σειρά του είναι θέμα του χρόνου ζωής του αντιδραστήρα [23],[35].

Το περισσότερο σημαντικά αποτελέσματα της σπηλαιώσης αναφέρονται να συμβαίνουν όταν η συχνότητα των κυμάτων είναι ίση με τη συχνότητα συντονισμού της φυσαλίδας. Το εύρος συντονισμού μιας φυσαλίδας που διεγείρεται από χαμηλής συχνότητας κύματα αναφέρεται να είναι $\sim 170 \mu\text{m}$ (στα 20 KHz) και οι κοιλότητες που παγιδεύουν τέτοιες φυσαλίδες εικάζεται να είναι σταθερές ή μακράς ζωής, με μέσο χρόνο ζωής γύρω στα $10\mu\text{s}$. Σε αυτού του είδους σπηλαιώσης, το στάδιο της κατάρρευσης καθυστερεί μέχρι να παρέλθει ένας αριθμός κύκλων συμπύκνωσης και αραίωσης, κατά τη διάρκεια των οποίων επαρκείς όγκοι πτητικών συστατικών και ατμών διαλύτη μέσα στο υγρό μπορεί να εισέλθουν στην αέρια φάση. Η καθυστερημένη ανάπτυξη και η μακρά διάρκεια κατάρρευσης των γεμισμένων με αέριο φυσαλίδων επιτρέπουν την απομάκρυνση των ριζών και τον ανασυνδυασμό αντιδράσεων στη διεπιφάνεια του περιβλήματος, με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η μεταφορά υδροξυλίου και άλλων αντιδραστικών στοιχείων μέσα στο διάλυμα. Γι' αυτό το λόγο, οι χαμηλής συχνότητας υπέρηχοι αναμένεται να επιφέρουν καταστρεπτικά αποτελέσματα σε υδρόφοβα στοιχεία, τα οποία εύκολα διαχέονται στις φυσαλίδες για να υποστούν πυρολυτική καταστροφή στο εσωτερικό της υπό κατάρρευση φυσαλίδας, ή υδροξυλίωση και θερμική διάσπαση στο περίβλημα της διεπιφάνειας, όπου οι βαθμίδες τις πίεσης και της θερμοκρασίας είναι αρκετά υψηλές για να προκαλέσουν θερμικά αποτελέσματα [23].

Αντιθέτως, το εύρος συντονισμού των φυσαλίδων που διεγείρονται από μεσαίας συχνότητας (300-1000 KHz) κύματα υπερήχων είναι εξαιρετικά μικρό ($4,6 \mu\text{m}$ στα 500 KHz) που δημιουργούν πολύ μικρού χρόνου ζωής ($0,4 \mu\text{s}$ κατά μέσο όρο) και κατά κύριο λόγο κενές ή γεμισμένες με ατμό κοιλότητες. Οι πιέσεις και οι θερμοκρασίες που αναπτύσσονται σε τέτοιες κοιλότητες είναι πολύ υψηλότερες από αυτές που βρέθηκαν σε σταθερές κοιλότητες, και μεγαλύτερες ποσότητες ενέργειας απελευθερώνονται στο περιβάλλον υγρό κατά τη διάρκεια της αστραπιαίας και βίαιης κατάρρευσης τους. Πέρα από αυτό, τέτοιες σπηλαιώσεις είναι τόσο μικρής διάρκειας και η καταστροφή τους είναι αστραπιαία που ο χρόνος για αντιδράσεις απομάκρυνσης των ριζών στη θερμή φυσαλίδα ή στη διεπιφάνεια και είναι ανεπαρκής. Σαν συνέπεια, τα μεσαίας συχνότητας κύματα υπερήχων είναι εξαιρετικά αποτελέσματα για την κατάλυση εξελιγμένων διεργασιών οξείδωσης, που στοχεύουν στη καταστροφή μη πτητικών οργανικών ενώσεων στο διάλυμα. Το καταστροφικό αποτέλεσμα των υπερήχων υπό αυτές

τις συνθήκες είναι αποτέλεσμα της υψηλής πιθανότητας μεταφοράς των ριζών υδροξυλίου στο περιβάλλον υγρό κατά τη διάρκεια του σταδίου της κατάρρευσης των ακουστικών σπηλαιώσεων [23],[35].

Είναι προφανές λοιπόν, ότι η εκλογή της κατάλληλης ζώνης συχνотήτων (η περιοχή της συμβατικής ισχύς των υπερήχων ή των υπερήχων για χημικούς σκοπούς) είναι εξαιρετικής σπουδαιότητας για την επίτευξη του επιθυμητού βαθμού απορρύπανσης. Η εκλογή βασίζεται πρωταρχικά στις φυσικοχημικές ιδιότητες των ρυπαντών, όπως η τάση ατμών (ή η σταθερά του Henry), η διαλυτότητα και ο συντελεστής διαχωρισμού οκτανόλης-νερού. Οι υδρόφοβες χημικές ενώσεις με υψηλές τάσεις ατμών δείχνουν μια ισχυρή τάση να διαχέονται στο εσωτερικό της αέριας φυσαλίδας και γι' αυτό το λόγο, το πιο αποτελεσματικό μέρος για την καταστροφή τους είναι η διεπιφάνεια της φυσαλίδας-υγρού ή/και στη φυσαλίδα την ίδια. Έτσι, τα υδατικά διαλύματα που είναι ρυπασμένα με πτητικούς ρυπαντές θα πρέπει κατά προτίμηση να εκτίθενται σε ισχυρούς υπερήχους (μέσω των οποίων δημιουργούνται μακράς ζωής σταθερές σπηλαιώσεις) για πρόκληση θερμικών και οξειδωτικών αποτελεσμάτων στην αέρια φάση και στη διεπιφάνεια αερίου-υγρού. Σε αντίθεση, τα υδρόφιλα συστατικά χαμηλής τάσης ατμών και χαμηλές συγκεντρώσεις τείνουν να παραμείνουν στο σώμα του υγρού κατά τη διάρκεια της ακτινοβολήσης με υπερήχους, εξαιτίας των απωστικών δυνάμεων που ασκούνται από και προς τις ελάχιστες υδρόφοβες επιφάνειες των φυσαλίδων. Η κυρία περιοχή αντίδρασης αυτών των ενώσεων, είναι για το λόγο που αναλύθηκε παραπάνω, το υγρό μέσο, όπου μπορούν αποτελεσματικά να καταστραφούν με οξειδωτική αποικοδόμηση, υπό τον όρο ότι αρκετές ποσότητες ριζών υδροξυλίου θα εκτοξευθούν προς το διάλυμα κατά τη διάρκεια της κατάρρευσης των φυσαλίδων. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η μέγιστη μεταφορά ριζών στο σώμα του μέσου εμφανίζεται όταν η κατάρρευση είναι γρήγορη, ή όταν εφαρμόζονται υπέρηχοι μεσαίας συχνότητας. Επιπρόσθετα, σε αυτή τη συχνότητα και για υψηλές συγκεντρώσεις τέτοιων ενώσεων, μια επιπλέον καταστροφική οδός μέσω θερμικής διάσπασης παρατηρείται, με το σχηματισμό προϊόντων πυρόλυσης μαζί με υδροξυλιώμενες ενδιάμεσες ενώσεις κατά τη διάρκεια της εφαρμογής υπερήχων στα 300-500 KHz. Ο βαθμός καταστροφής μέσω πυρολυτικού θρυμματισμού των μη πτητικών ρυπαντών συνδέεται άμεσα με την συγκέντρωσή τους και την υδροφοβικότητα τους, η οποία υπαγορεύει την ικανότητα τους να μεταναστεύουν προς τη φυσαλίδα ή/και να συσσωρεύονται στη διεπιφάνεια φυσαλίδας-υγρού. Συνεπώς, η πιθανή περιοχή για θερμική διάσπαση των μη πτητικών ενώσεων είναι η διεπιφάνεια του περιβλήματος της φυσαλίδας, στην οποία οι ενώσεις μπορούν να συσσωρευτούν μέσω διεργασιών προσρόφησης κατά τη διάρκεια του σχηματισμού και της ανάπτυξης των ακουστικών σπηλαιώσεων. Σε ικανές συγκεντρώσεις, η προσροφητική τάση των μη πτητικών ενώσεων στις μη πολικές επιφάνειες των φυσαλίδων επιβεβαιώθηκε από την εφαρμογή μοντέλων κορεσμού, τυπικής Langmuirian συμπεριφοράς, που είναι η συνηθέστερα προτεινόμενη για την περιγραφή φωτοκαταλυτικών κινητικών διεργασιών [23],[35].

6.4. Βελτιστοποίηση Υπερηχητικών Συστημάτων Αντίδρασης

Το κύριο ενδιαφέρον των επιστημόνων και των μηχανικών που εργάζονται με συστήματα υπερήχων είναι να επιτύχουν μέγιστες αποδόσεις αντίδρασης ή/και μέγιστη καταστροφή των ρύπων σε ευνοϊκότερες συνθήκες. Η έρευνα και η ανάπτυξη στα συστήματα υπερήχων φανέρωσε τη σπουδαιότητα δύο βασικών στρατηγικών για την μεγιστοποίηση της αποδοτικότητας των αντιδράσεων: 1) βελτιστοποίηση της ισχύος και της τεχνικής σύνθεσης του αντιδραστήρα ή/και 2) διέγερση της δημιουργίας σπηλαιώσεων. Η πρώτη στρατηγική απαιτεί μια μηχανιστική προσέγγιση με χαρακτηριστικά όπως: 1) την εκλογή του μετατροπέα (πιεζοηλεκτρικό ή μαγνητικό υλικό που μετατρέπει τους ηλεκτρικούς παλμούς σε μηχανικές

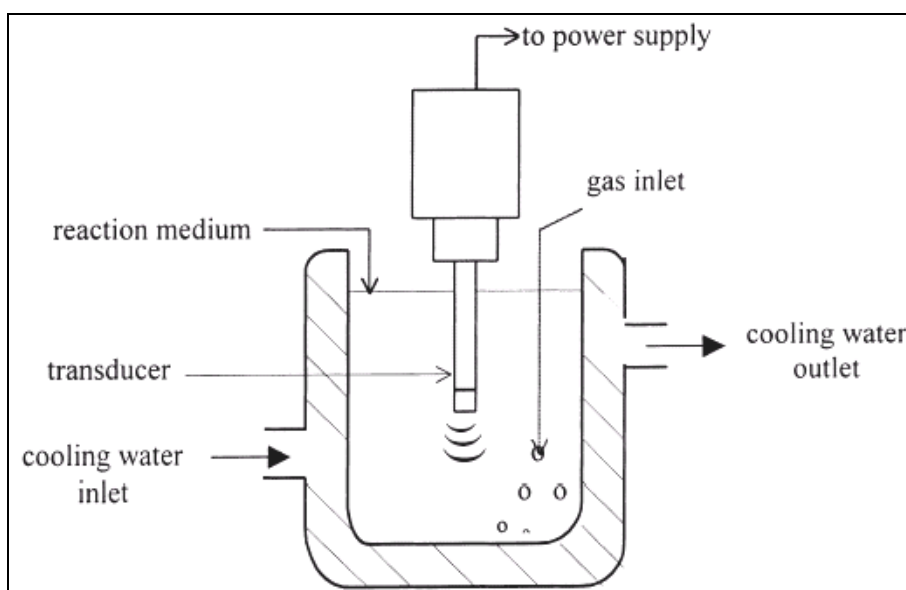
δονήσεις) και της γεννήτριας (τύπος ακροσωληνίου για χαμηλή συχνότητα και τύπους πλακών για αποτελέσματα υψηλής συχνότητας), 2) σχεδιασμός και διαστασιολόγηση πεδίου αντίδρασης & 3) βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητας της ισχύος (π.χ. η πυκνότητα της αποτελεσματικής ισχύος που μεταφέρεται στο μέσο αντίδρασης). Η δεύτερη στρατηγική, δηλαδή η διέγερση της σπηλαιώσεως για την μεγιστοποίηση της χημικής αντιδραστικότητας εμπλέκει την προσθήκη διαφορετικών αερίων και στερεών σωματιδίων στο σύστημα για να δοκιμαστούν και να συγκριθούν οι αποτελεσματικότητες τους στην αύξηση των ρυθμών αντίδρασης [23],[35].

Τα υγρά μέσα που είναι από ακαθαρσίες είναι γνωστά για το πολύ υψηλό όριο σπηλαιώσεων που μπορούν να ανεχτούν. Επιπρόσθετα κάθε είδος παρεμβολής για τη δημιουργία ατελειών του υγρού στη δομή του αναφέρεται να ευνοεί γεγονότα σπηλαιώσεως. Ο ευκολότερος τρόπος για τη δημιουργία ακαθαρσιών σε νερό που εφαρμόζονται υπέρηχοι είναι ο κορεσμός του διαλύματος με ένα διαλυτό αέριο, γεγονός που επιταχύνει την έναρξη του σχηματισμού σπηλαιώσεων με την προσθήκη μεγάλου αριθμού πυρήνων, ενώ επαυξάνει τις συνθήκες κατάρρευσης με την αύξηση της θερμοκρασίας στο εσωτερικό των φυσαλίδων σπηλαιώσεως. Παρόλα αυτά, επειδή το πρώτο αποτέλεσμα της σπηλαιώσεως είναι η αφαίρεση αερίου, το διάλυμα θα χάσει γρήγορα τη διαλυμένη ποσότητα αερίου, εάν η εισαγωγή αερίου παύσει κατά τη διάρκεια εφαρμογής των υπερήχων. Αποτελεί, γι' αυτό ακριβώς το λόγο, κοινή πρακτική η ακατάπαυστη τροφοδότηση του υγρού με μια ροή αερίου καθόλη τη διάρκεια εφαρμογής υπερήχων, ούτως ώστε να διατηρείται ένας σταθερός ρυθμός ροής αερίου στο εσωτερικό των μικρό-φυσαλίδων με συνέπεια τη διατήρηση των ακραίων συνθηκών κατάρρευσης. Η εκλογή αυτού του αερίου είναι επίσης μεγάλης σημασίας, επειδή η τελική θερμοκρασία της υπό κατάρρευση φυσαλίδας συνδέεται στενά (με μια εκθετική συνάρτηση) με μια παράμετρο αερίου, που καλείται πολυτροπικός λόγος, για παράδειγμα η αναλογία των ειδικών θερμοτήτων (C_p/C_v) των περιβαλλόντων αερίων που βρίσκονται παγιδευμένα στη φυσαλίδα. Η φύση των αερίων κορεσμού είναι επίσης σημαντική, εξαιτίας της αντίστροφης σχέσης που υπάρχει μεταξύ της θερμικής αγωγιμότητας ενός αερίου και της θερμοκρασίας που αναπτύσσεται στη φυσαλίδα κάποιας σπηλαιώσεως. Μελέτες φωτοβολίας υπερήχων με τη χρήση ευγενών αερίων απέδειξαν ότι καθώς η θερμική αγωγιμότητα μειώνεται με την εξής σειρά: $\text{Xe} < \text{Kr} < \text{Ar} < \text{Ne} < \text{He}$, η ποσότητα της θερμότητας που χάνεται στο περιβάλλον υγρό (εξαιτίας της αγωγής της θερμότητας μέσα στο αέριο) μειώνεται επίσης, με την κατάρρευση να προσεγγίζει τέλειες αδιαβατικές συνθήκες. Γι' αυτό το λόγο, οι καταλυτικές περιοχές των ριζών από υπερήχους αυξάνουν με αύξηση των λόγων, αλλά μειώνονται με την αύξηση των φυσαλίδων θερμοκρασίας, για παράδειγμα με αύξηση των λόγων, αλλά μειώνονται με την αύξηση των θερμικών αγωγιμοτήτων των αερίων του περιβάλλοντος. Πέρα από αυτό, ευγενή αέρια είναι περισσότερο αποτελεσματικά από ότι τα διατομικά αέρια (και του αέρα), εξαιτίας των υψηλότερων αναλογιών που μπορούν να επιτευχθούν με μονατομικά αέρια μέσα στο νερό. Πάντως, παρά τις ίσες αναλογίες του Αργού ή του Ήλιου στο νερό, πολύ υψηλότερες αποδόσεις προϊόντων πυρόλυσης ανιχνεύθηκαν με το προηγούμενο, και αποδίδονται στην υποδεκαπλάσια θερμική αγωγιμότητα του [23],[35].

Η προσθήκη στερεών καταλυτών, όπως γυάλινα σφαιρίδια, κεραμικοί δίσκοι, SiO_2 , Al_2O_3 και ταλκ στο μέσο αντίδρασης είναι μια άλλη συνηθισμένη μέθοδος για την ενίσχυση των φαινομένων σπηλαιώσεως. Η παρουσία τέτοιων υλικών έχει αναφερθεί να είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για τη διάσπαση των ενώσεων και για την απόξεση, την ενεργοποίηση και την αλλαγή των χημικών ιδιοτήτων της επιφάνειας του καταλύτη κατά τη διάρκεια της ακτινοβολίας με υπερήχους του υγρού μέσου.

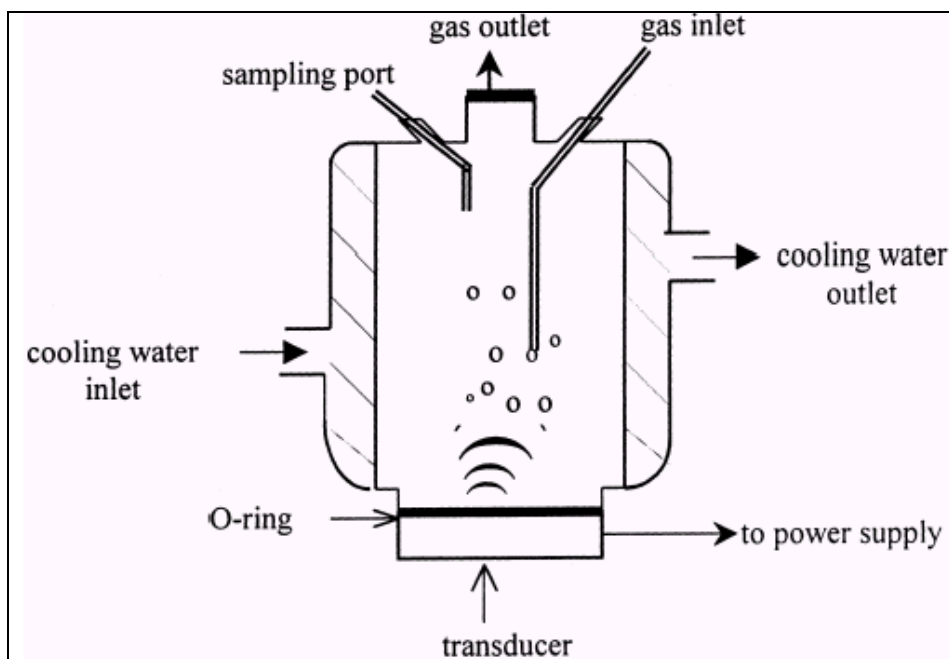
6.5. Περιβαλλοντικές Εφαρμογές

Τα αρχικά βήματα, πριν τη εφαρμογή, είναι η εκλογή του υλικού, του εξοπλισμού και του εξαρτήματος που θα παράγει τους υπερήχους, ακολουθούμενα από τα σχέδια και την τεχνική συναρμολόγησης του αντιδραστήρα. Για τα βέλτιστα αποτελέσματα, είναι πολύ σημαντικό, αυτά τα ζητήματα να επιλύονται με συνεργασία μεταξύ του ερευνητή και του κατασκευαστή, ανταλλαγή ιδεών, προσδιορισμό των στόχων και συζήτηση των μη αναμενόμενων αποτελεσμάτων. Τα πειραματικά σχέδια έχουν συνήθως προσδιορισμένους στόχους, αλλά μπορεί να είναι ευρύτερα γενικευμένα, ανάλογα με τη συχνότητα λειτουργίας, η οποία καθορίζει τον τύπο της συσκευής υπερήχων που είναι συμβατή με το μέσο αντίδρασης και τους ρύπους που θέλουμε να αντιμετωπίσουμε. Τυπικά σχέδια αντιδραστήρων που χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές εργαστηριακής κλίμακας για την υπερηχητική διάσπαση πτητικών και μη πτητικών ουσιών, παρουσιάζονται στις εικόνες 6.2 και 6.3 αντίστοιχα [23]



Εικόνα 6.2. Ένας τυπικός αντιδραστήρας σταθερού όγκου που χρησιμοποιεί έναν μακρόστενο γεννήτορα υπερήχων, για την εκπομπή χαμηλής συχνότητας υπερηχητικών κυμάτων στο μέσο αντιδραστήρα.

Η δημιουργία συνθηκών πρόκλησης χημικών αντιδράσεων με χρήση υπερήχων στις περιβαλλοντικές διεργασίες αποικοδόμησης παρέχει καταστροφή των ρυπαντών, είτε άμεσα διαμέσου αντιδράσεων θερμικής αποικοδόμησης, είτε έμμεσα από την παραγωγή ή/και τη διέγερση ριζών υδροξυλίου σε διεργασίες εξελιγμένης οξειδωσης. Πολλές τέτοιες μελέτες επικεντρώνονται σε παραμετρικές ή κινητικές αναλύσεις της αποικοδόμησης των ρυπαντών και σε σύγκριση της αποτελεσματικότητας των αντιδράσεων με αυτές που πραγματοποιούνται χωρίς την παρουσία υπερήχων. Οι συγκεντρώσεις εισόδου είναι γενικώς χαμηλές (10^{-9} - 10^{-3} moles/L), όσο είναι και οι τυπικές συγκεντρώσεις των οργανικών ρύπων σε φυσικά νερά ή σε τυπικώς επεξεργασμένες εκροές. Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες αρωματικές ομάδες, όπως φαινόλες, νιτροφαινόλες, χλωροφαινόλες, αζο-βενζόλια και τολουόλιο. Επιπρόσθετα, έχουν πραγματοποιηθεί κάποιες μελέτες με χλωριωμένους διαλύτες, υποκατεστημένους αιθέρες, φυσικό οργανικό υλικό, απορρυπαντικά, δραστικές χρωστικές ουσίες υφασμάτων και χλωριοφθοριωμένους υδρογονάνθρακες [23].



Εικόνα 6.3. Ένα τυπικό σχέδιο αντιδραστήρα με υπερήχους που χρησιμοποιεί έναν μετατροπέα τύπου πλάκας για την εκπομπή υψηλής συχνότητας υπερήχων από τον πυθμένα σταθερού όγκου.

Η ακτινοβολήση, με χαμηλής αλλά και υψηλής συχνότητας υπερήχων αραιών διαλυμάτων φαινόλης έδειξε ότι η αποικοδόμηση ήταν γρηγορότερη με των υψηλής συχνότητας υπέρηχο (487 KHz), με το μονοπάτι της διάσπασης να είναι η εξελεγμένη οξειδωση, όπως επιβεβαιώνεται από το σχηματισμό τυπικών οξειδωτικών ενδιάμεσων ενώσεων (hydroquinone, catechol και benzoquinone) και την απουσία προϊόντων πυρόλυσης. Σε μια άλλη μελέτη που έγινε από τον Drijvers et. al., ερευνήθηκε η διάσπαση της φαινόλης και του τριχλωροαιθυλενίου (TCE) κάτω από συνδυασμένα γεγονότα κατάλυσης με υπερήχους στα 529 KHz και χημική οξείδωση με υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), χρησιμοποιώντας στερεούς καταλύτες Al_2O_3 , ZnO , Ni_2O_3 και CuO . Οι συγγραφείς αναφέρουν ότι το TCE δεν επηρεάζεται καθόλου από την προσθήκη του H_2O_2 και στερεών καταλυτών, η αποικοδόμηση της φαινόλης επιτεύχθηκε σε μεγάλο βαθμό από την παρουσία H_2O_2/CuO . Η διαφορετικότητα αυτή στη συμπεριφορά της φαινόλης και TCE αποδόθηκε στη διαφορά της υδροφοβικότητας των δύο ενώσεων [23],[35].

Σε μια άλλη μελέτη που ασχολούταν με τη διάσπαση χρησιμοποιώντας υπερήχους των p-νιτροφαινόλων (p-NP) με την παρουσία και τη απουσία ισχυρών ουσιών απομάκρυνσης ριζών υδροξυλίου όπως χουμικού οξέος, αναφέρθηκε ότι ο ρυθμός αποικοδόμησης δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τη συγκέντρωση των ουσιών απομάκρυνσης των ριζών υδροξυλίου μέχρι μια οριακή τιμή. Έτσι, διατυπώθηκε ότι η πυρόλυση ήταν ο κύριος μηχανισμός αποικοδόμησης αυτού του συστατικού με τη χρήση υπερήχων. Αυτό το συμπέρασμα έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες και δείχνει ότι το p-NP καταστρέφεται με μια πρώτης τάξης κινητικές αντίδρασης κοντά στη θερμή διεπιφάνεια των φυσαλίδων της σπηλαιώσης εξαιτίας της θερμικής του αστάθειας, σε θερμοκρασίες που ξεπερνούν τους 160 °C.

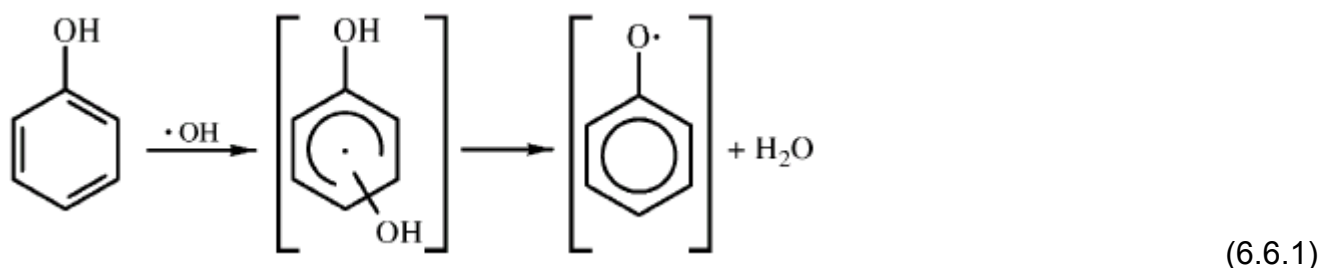
Αν οι τεχνικές χρήσης υπερήχων χρησιμοποιηθούν σε περιβαλλοντικές εφαρμογές, σαν στάδια περαιτέρω επεξεργασίας για την καταστροφική απομάκρυνση δύσκολα αποικοδομήσιμων ενώσεων, τότε θα απαιτούν κυρίως τη χρήση μεσαίας συχνότητας

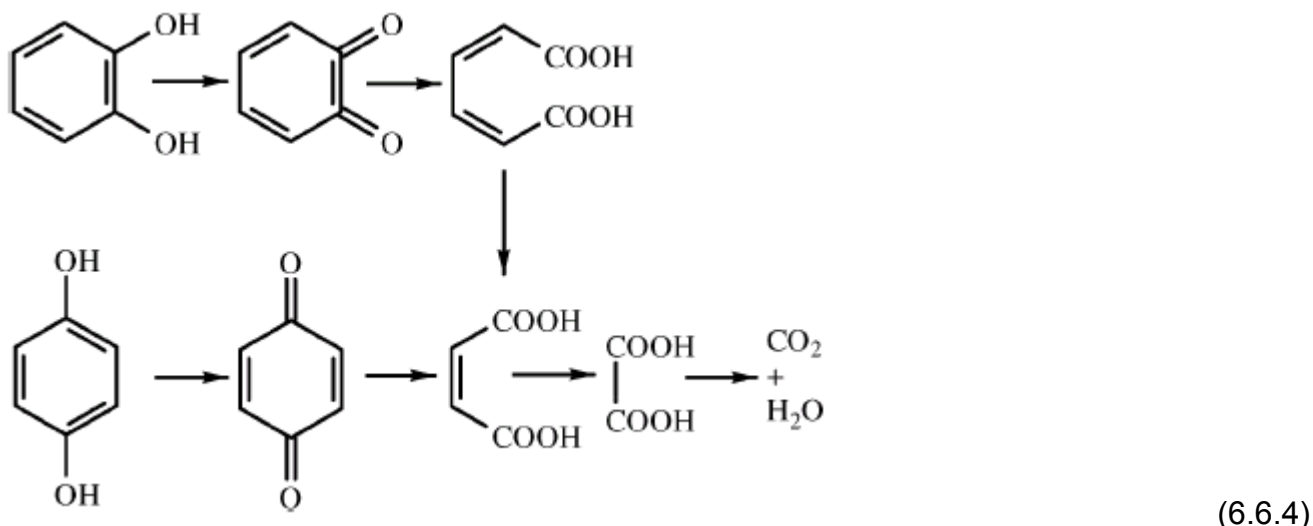
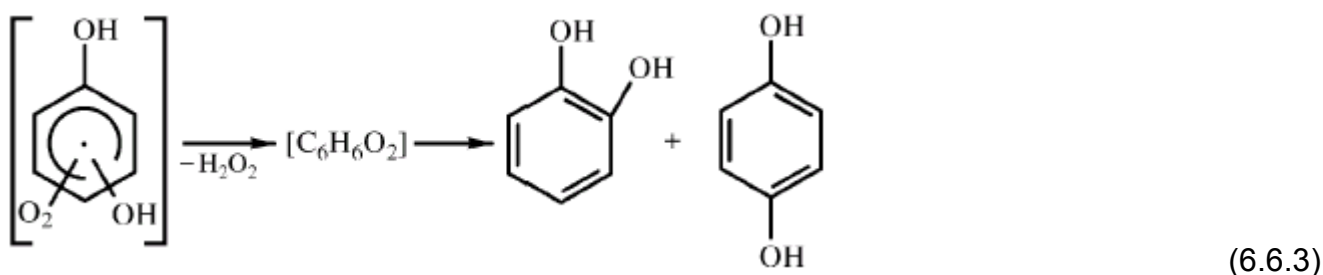
υπερήχων, εφόσον τέτοιου είδους χημικές ενώσεις συνήθως μακρομόρια με πολύπλοκη δομή και υδροφιλικές ιδιότητες. Είναι ευτυχές το γεγονός ότι τα συστήματα των υπερήχων που είναι σχεδιασμένα για μεσαίας συχνότητας υπερηχητική ακτινοβολή διατηρούνται εύκολα σε σχέση με αυτά που λειτουργούν σε υψηλή συχνότητα υπερήχων, εξαιτίας των μειονεκτημάτων που συνδέονται με αυτά τα συστήματα από το θόρυβο και τη διάβρωση από τα δημιουργούμενα φαινόμενα σπηλαίωσης. Τέτοια προβλήματα, πάντως, μπορεί να ξεπεραστούν με υλικά ηχομόνωσης και κατάλληλη εκλογή, συναρμολόγηση και συντήρηση των εξοπλισμών.

6.6. Μηχανισμός sonolysis των φαινολικών ενώσεων.

Η sonolytic αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων έχουν παρουσιαστεί από μερικές ερευνητικές ομάδες (Okouchi et.al 1992; Petriet et. al 1994; Serpone et. al 1992). Τα πειραματικά αποτελέσματα έχουν δείξει ότι η αντίδραση οξείδωσης των hydroxyl ριζών με τις φαινολικές ενώσεις είναι η πιο σημαντική μεταξύ των τριών κυρίων πορειών αποικοδόμησης.

Η αντίδραση των φαινολικών ενώσεων με τις ρίζες OH οδηγεί στον σχηματισμό των dihydroxyl cyclohexadienyl ριζών (εξίσωση 6.6.1) [20]. Κατά την παρουσία του οξυγόνου, επακολουθεί αντίδραση των dihydroxyl cyclohexadienyl ριζών οδηγεί στο σχηματισμό των peroxy ριζών (εξίσωση 6.6.2). Οι peroxy ρίζες είναι γνωστές για το σχηματισμό hydroquinone και catechol μετά την εξάλειψη των superoxide ριζών και επαναδιευθετούν το αρωματικό σύστημα (εξίσωση 6.6.3) (Janet et. al 1999). Αυτά τα προϊόντα απώτερα εκφυλίζονται σε βιοδιασπάσιμα προϊόντα όπως τα carboxylic οξέα (εξίσωση 6.6.4) (Serpone et. al 1992)[20].



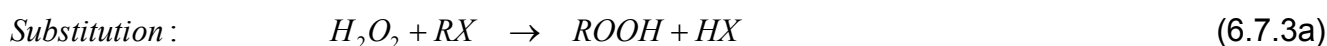
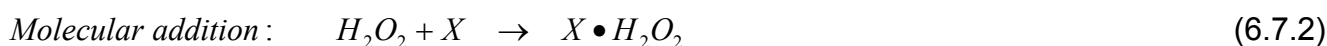


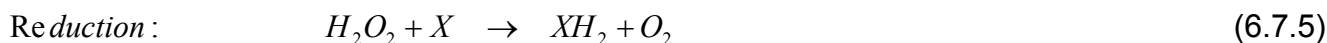
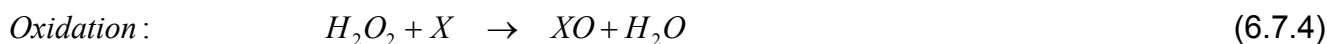
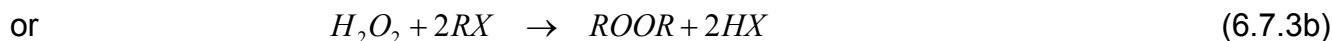
Η πυρόλυση των φαινολικών ενώσεων τις σχηματισμένες κοιλότητες μέσα στο υπερηχητικό πεδίο έχει επίσης μια συμβολή, διότι το acetylene, το οποίο είναι ένα προϊόν της ηχοχημικής καταστροφής των ασταθών αρωματικών συστατικών έχει ανιχνευθεί σε σημαντική απόδοση (Curell and Zechmeister 1958) [20].

6.7. Χαρακτηριστικά του hydrogen peroxide

Το hydrogen peroxide είναι ένα οξύ, ένας ισχυρός οξειδωτικός παράγοντας, και μια δραστική πηγή ελεύθερων ριζών υδροξυλίου. Είναι ευρέως χρησιμοποιούμενο σε λειτουργίες όπως την λεύκανση (αποχρωματισμός) των υφασμάτων, πολτού και χαρτιού, χρησιμοποιείται σε διάφορες περιβαλλοντικές εφαρμογές και στη μεταποίηση μεγάλου αριθμού οργανικών και ανόργανων χημικών (Grayson, 1981). Είναι ένα οικολογικά επιθυμητός παράγοντας ελέγχου της μόλυνσης[32].

Έτσι, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλο και περισσότερες περιβαλλοντικές εφαρμογές όπως απόβλητα και επεξεργασία εκροών βιοβιομηχανιών, στα εργοστασιακά υγρά, στην αποτοξίνωση αερίων κ.λ.π. Οι σχετικές αντιδράσεις για το hydrogen peroxide μπορούν να συνοψιστούν σε 5 κύριες αντιδράσεις (Snell and Ettre, 1971).





Το hydrogen peroxide μπορεί να αντιδράσει άμεσα ή μετά από πρωτοϊονισμό ή διαχωρισμό των ελεύθερων ριζών. Παρά την ισχυρή οξειδωτική ικανότητα του hydrogen peroxide, δρα ως ένα αναγωγικό μέσο όταν αντιδρώντας με ισχυρούς οξειδωτικούς παράγοντες όπως chlorine, potassium permanganate και potassium dichromate. Ο μηχανισμός αντίδρασης είναι πολύ πολύπλοκος και μπορεί να είναι επιτηδευμένος με τις συνθήκες αντίδρασης και τον τύπο των καταλυτών. Η σταθερότητα των διαλυμάτων του hydrogen peroxide βασίζεται σε πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου της συγκέντρωσης, τη θερμοκρασία, το PH, τη συγκέντρωση του σταθεροποιητή και η παρουσία του μολυσματικού υλικού όπως χρωμίου, χαλκού, σιδήρου, ψευδαργύρου και έχει ένα μέγιστο PH 2,5-4,5 (Grayson, 1981) [32].

Εάν το αντιδρών X, υποτεθεί ότι είναι ένα οργανικό συστατικό, στις παραπάνω αντιδράσεις, η τιμή του COD δεν είναι επιτηδευμένη με αυτό-αποσύνθεση του hydrogen peroxide και μειώνεται με τις άλλες τρεις αντιδράσεις. Αναλυτικές μέθοδοι για τον ποσοτικό προσδιορισμό του hydrogen peroxide είναι κανονικά βασισμένες στις οξειδοαναγωγικές του ιδιότητες (Jeffery et. al, 1989) [32].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

7.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ Α

Κατά την διάρκεια της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκαν πειράματα για τον έλεγχο της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων των υγρών αποβλήτων ελαιουργείων με τη βοήθεια της μεθόδου της Χημειοφωταύγειας (Chemiluminescence). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στη συσκευή Jenway 6200 Fluorimeter.



Εικόνα 7.1: Jenway 6200 Fluorimeter.

7.1.2. Δείγματα προς Επεξεργασία

Για την εκτέλεση των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν πέντε διαφορετικά δείγματα υγρών αποβλήτων ελαιουργείων (κατσιγάρος) της ευρύτερης περιοχής του Δήμου Χανίων. Από αυτά τα δείγματα τρία ήταν από τριφασικά ελαιουργεία (three-phase decanter) ή 3Φ και τα άλλα δύο ήταν από διφασικά ελαιουργεία (dual-phase decanter) ή 2Φ. Συγκεκριμένα τα δείγματα συλλέχθηκαν από το τελικό στάδιο απαγωγής του λαδιού από τις ελιές, φάση διαχωρισμού και από την έξοδο των decanter. Στη συνέχεια αριθμήθηκαν με τυχαία σειρά αλλά σε κατηγορίες (3Φ1, 3Φ2, 3Φ3, 2Φ1 και 2Φ2). Τα απόβλητα μεταφέρθηκαν σε φιάλες νερού (0,5L) και φυλάχτηκαν στον καταψύκτη σε θερμοκρασία -20°C ώστε να αποφευχθεί η ανάπτυξη των ενζυμικών αντιδράσεων.

Μετά το πέρας της εκτέλεσης των πειραμάτων διαπιστώθηκε μια διαφοροποίηση στην ποσότητα των φαινολικών συστατικών στα δείγματα και των δύο ειδών ελαιουργείων. Παρακάτω γίνεται εκτενής αναφορά σε αυτά τα συμπεράσματα.

7.1.3. Περιγραφή της Διαδικασίας

Μετά τη διαδικασία τη απόψυξης διαπιστώθηκε ότι μέρος των δειγμάτων, κυρίως όσα προέρχονταν από τριφασικά ελαιουργεία, περιείχαν αρκετή ποσότητα στερεών. Για την απομάκρυνση των στερεών χρησιμοποιήθηκε μηχανή φυγοκέντρισης (MLW T23D). Τα δείγματα τοποθετήθηκαν falcons σε ίσους όγκους. Πριν την έναρξη της διαδικασίας φυγοκέντρισης ζυγίστηκαν ώστε να μην υπάρξει πρόβλημα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας με δείγματα διαφορετικού όγκου και τοποθετήθηκαν αντιδιαμετρικά. Πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρωση όλης της ποσότητας των δειγμάτων τις 4000 U/min και για χρονική διάρκεια 10min.

Μετά το πέρας της διαδικασίας διηθήθηκε η μεσαία φάση των δειγμάτων στα falcons μέσω κατάλληλου διηθητικού χαρτιού και απομακρύνθηκαν τα στερεά της πάνω και κάτω φάσης. Τα διηθήματα φυλάχθηκαν στο ψυγείο για μια μέρα σε συνθήκες συντήρησης.

7.1.3.1. Εκχύλιση

Εν συνεχεία πραγματοποιήθηκε εκχύλιση όλων των διηθημάτων σε κωνικές φιάλες εκχύλισης ενσωματωμένης προχοϊδας τύπου HERKA® INTERFIT NS 29, 2/32. Τα δείγματα χωρίστηκαν σε ισόποσα μέρη των 50mL, για τον καλύτερο έλεγχο της διαδικασίας. Για όλα τα μέρη ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα.

Μέσα στην κωνική φιάλη εκχύλισης τοποθετήθηκαν:

- 50mL διήθημα κατσίγαρου.
- 1 κουταλιά NaCl.
- 40-50mL ethylester (διαλύτης).

Το διάλυμα ανακινήθηκε 3-4 φορές με ενδιαμέσα στάδια εξαέρωσης μέσω της προχοϊδας. Η προσθήκη του NaCl αποσκοπεί στην επίτευξη του διαχωρισμού των δύο φάσεων.

Μετά το πέρας της διεργασίας το διάλυμα αφέθηκε σε ηρεμία ώστε να διαχωριστούν πλήρως οι δύο φάσεις. Στην περίπτωση που δεν ήταν ευκρινής ο διαχωρισμός των δύο φάσεων προστέθηκαν 1-3 σταγόνες HCl 6N. Η κάτω φάση (υδατική φάση) απομακρύνθηκε, ενώ η πάνω φάση (οργανική φάση + διαλύτης) των δειγμάτων τοποθετήθηκε σε κωνικές φιάλες. Το αυτό επαναλήφθηκε για όλα τα δείγματα.

Στις 5 κωνικές φιάλες των οργανικών φάσεων, προστέθηκε ικανή ποσότητα Na_2SO_4 . Η χρήση του Na_2SO_4 αποσκοπεί στην απομάκρυνση των αιωρούμενων στερεών, που παρέμειναν στην οργανική φάση από το στάδιο της εκχύλισης, και εγκλωβισμένα στη στερεά κρυσταλλική μορφή παραμένουν στον πυθμένα των κωνικών φιαλών. Αφού απομακρύνθηκαν εντελώς οι ποσότητες των αιωρούμενων στερεών από το διάλυμα η υγρή φάση διηθήθηκε και τοποθετήθηκε σε προζυγισμένες σφαιρικές φιάλες, τύπου DURAN.

Οι σφαιρικές φιάλες τοποθετήθηκαν στη συσκευή εξάτμισης, BUCHI Waterbath B-480, ώστε μέσω εξάτμισης να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα στην σφαιρική φιάλη να παραμείνει μόνο η οργανική φάση. Εν συνεχεία προστέθηκε ανάλογη ποσότητα μεθανόλης (MeOH) με τον αρχικά διηθημένο όγκο των δειγμάτων, ώστε να διαλυθεί η οργανική φάση. Το προκύπτον διάλυμα διηθήθηκε και φυλάχθηκε σε falcons. Εν συνεχεία τα δείγματα ονομάστηκαν και φυλάχθηκαν στο ψυγείο σε συνθήκες συντήρησης.

$$\begin{array}{rcll} \text{Βάρος οργανικής} & & \text{Βάρος φιάλης} & \\ \text{φάσης} & = & + & \text{Βάρος οργ. φάσης} - \text{Βάρος φιάλης} & (7.1) \end{array}$$

1. **3Φ1:** → $V_{\text{tot}} = 280\text{mL}$ (μετά την εκχύλιση)

(1) → $B_{3\Phi 1} = 97,75 - 97,15 \rightarrow B_{3\Phi 1} = 0,58\text{g}$ σε 28mL MeOH

2. **3Φ2:** → $V_{\text{tot}} = 200\text{mL}$

(1) → $B_{3\Phi 2} = 0,48\text{g}$ σε 20mL MeOH

3. **3Φ3:** → $V_{\text{tot}} = 230\text{mL}$

(1) → $B_{3\Phi 3} = 0,52\text{g}$ σε 23mL MeOH

4. **2Φ1:** → $V_{\text{tot}} = 250\text{mL}$

(1) → $B_{3\Phi 1} = 0,09\text{g}$ σε 25mL MeOH

5. **2Φ2:** → $V_{\text{tot}} = 250\text{mL}$

(1) → $B_{3\Phi 1} = 0,07\text{g}$ σε 25mL MeOH

7.1.3.2. Luminol Chemiluminescence Method

Αντιδραστήρια

- Boric Acid
SigmaUltra, Minimum 99,5%, Steinhein, Germany ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$).
- 5-Amino-2,3-Dihydro-1,4-Phthalazinedione ($100\mu\text{M/mL}$ ή $5,6 \times 10^{-4}\text{M}$)
3-Aminophthalhydrazide; Luminol, Minimum 97% (HPLC),
Steinhein, Germany ($\text{C}_8\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2$).
- * Cobalt (II) – Chloride-hexahydrate ($0,2\text{mg/mL}$ ή $8,4 \times 10^{-4}\text{M}$)
MERCK ($M=237,93\text{g/mol}$), Darmstant, Germany ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
- * SIGMA
Ethylenediamine-Tetraacetic Acid (EDTA)
Tetrasodium Salt: Hydrate, Practical Grade,
St.Louis USA ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}$).
- Hydrogen Peroxide Solution 35% ($10,3\text{M}$)
MERCK
Darmstant, Germany.

7.1.3.3. Παρασκευή Αντιδραστηρίων

Ζυγίστηκαν 3,1g Boric Acid, σε ζυγαριά ακριβείας g, και διαλύθηκαν σε ποσότητα 1L υπεραπιονισμένου νερού χρησιμοποιώντας μια ογκομετρική φιάλη. Για την ομογενοποίηση του διαλύματος A η φιάλη τοποθετήθηκε σε συσκευή υπερήχων (Bandelin Sonorex TK52H) η οποία πληρώθηκε με νερό βρύσης, έχει διαπιστωθεί ότι η συγκεκριμένη συσκευή λειτουργεί καλύτερα με νερό βρύσης παρά με απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια το ομογενοποιημένο διάλυμα A τιτλοδοτήθηκε μερικές σταγόνες διαλύματος NaOH 1M έως ότου το τελικό διάλυμα να έχει PH 9.

Ζυγίστηκαν 25mg, σε ζυγαριά ακριβείας mg, Luminol. Αυτή η ποσότητα διαλύθηκε σε ποσότητα αρχικού διαλύματος A σε ογκομετρική φιάλη των 250mL. Στο νέο διάλυμα B, προστέθηκε ποσότητα του διαλύματος A μέχρι σημείου πλήρωσης των 250mL. Το διάλυμα B τοποθετήθηκε σε σκουρόχρωμη φιάλη, διότι η Luminol είναι πολύ ευαίσθητη στο φως. Όπως φαίνεται και στην αντίδραση της Luminol, $\text{Luminol} + \text{HO}^\bullet$ (βλέπε θεωρητικό μέρος), μετά από κατάλληλα βήματα καταλήγουμε να έχουμε ως αποτέλεσμα (AP) + N_2 + light (430nm). Στην περίπτωση που το διάλυμα B δεν φυλαχτεί σε σκουρόχρωμη φιάλη τότε λόγω παρουσίας του φωτός μπορεί να παραληφθούν τα ενδιάμεσα στάδια αντίδρασης της Luminol και να γίνει φωτοδιάσπαση.

Ζυγίστηκαν 50mg EDTA, σε ζυγαριά ακριβείας mg, και 10mg Co(II). Οι παραπάνω ποσότητες διαλύθηκαν με ποσότητα 50mL του αρχικού διαλύματος A μέσα σε μια ογκομετρική φιάλη των 50mL. Το διάλυμα C που προέκυψε φυλάχτηκε σε δοχείο.

D1: Με τη χρήση ογκομετρικών σωλήνων απάχθηκε ποσότητα 11mL έτοιμου διαλύματος 30% (w/w) (9,8M) και τοποθετήθηκε σε ογκομετρική φιάλη 100mL. Η φιάλη πληρώθηκε με υπεραπιονισμένο νερό έως τα 100mL. Το διάλυμα D1 που προέκυψε τοποθετήθηκε σε δοχείο που τυλίχθηκε με αλουμινόχαρτο, διότι το hydrogen peroxide είναι ευαίσθητο στο φως.

D2: Εν συνεχεία απάχθηκε ποσότητα 5mL του διαλύματος D1 και τοποθετήθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 100mL. Η φιάλη πληρώθηκε έως τα 100mL με ποσότητα υπεραπιονισμένου νερού.

D3: Από το προηγούμενο διάλυμα D2 απάχθηκε ποσότητα 5mL και τοποθετήθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 50mL. Στη συνέχεια η φιάλη πληρώθηκε με απιονισμένο νερό έως τα 50mL. Επίσης το διάλυμα D3 τοποθετήθηκε σε δοχείο τυλιγμένο με αλουμινόχαρτο. Τελικώς τα διαλύματα B, C, D1, D2 και D3 φυλάχθηκαν στο ψυγείο σε συνθήκες συντήρησης.

7.1.3.4. Calibration Jenway 6200 Fluorimeter

Σε πειραματικό σωλήνα τοποθετήθηκε ποσότητα 1mL του διαλύματος C και 100μL του διαλύματος B και αναμίχθηκαν ισχυρά σε μηχανή ανάμιξης REAX 2000 για 5sec. Στον ίδιο πειραματικό σωλήνα τοποθετήθηκε ποσότητα 25μL του υδατικού διαλύματος D3, χωρίς την προσθήκη ποσότητας δείγματος, και πραγματοποιήθηκε νέα ισχυρή ανατάραξη για 5sec. Αυτή η διαδικασία πραγματοποιείται για να επιταχυνθούν τα πρώτα βήματα της αντίδρασης. Στη συνέχεια με τη βοήθεια Pasteur's pipette μεταφέρθηκε το τελικό διάλυμα στο κελί, που τοποθετήθηκε στη μηχανή ανίχνευσης (Jenway 6200Fluorimeter). Περιμένουμε έως ότου να τελειώσει η αντίδραση (plateau) και αυτή η τιμή επιλέγεται ως 100 στην κλίμακα μας. Με αυτό τον τρόπο προσδιορίζουμε την κλίμακα μετρήσεων 0-100.

Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται άλλες δύο φορές ώστε να επιτευχθεί το καλύτερο calibration του μηχανήματος.

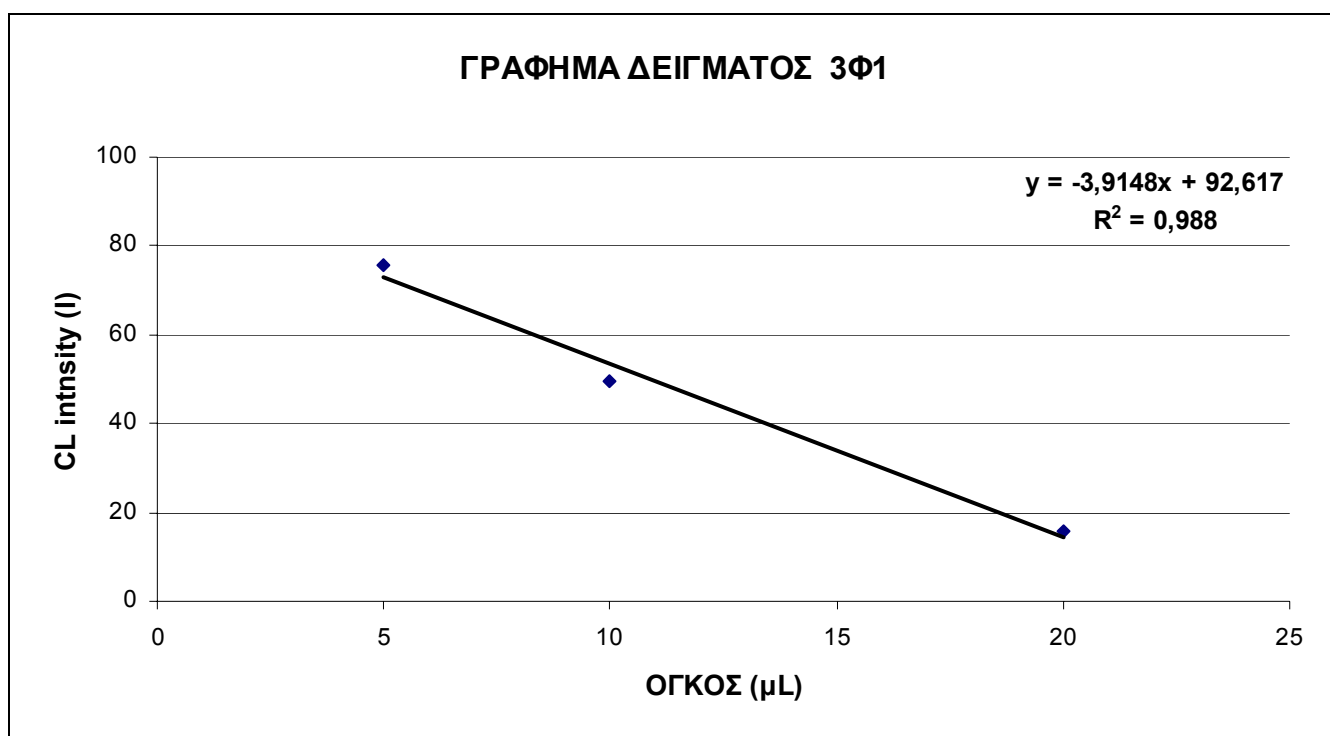
7.1.4. ΠΡΟΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

Σε πειραματικό σωλήνα τοποθετήθηκε ποσότητα 1mL του διαλύματος C και 100μL του διαλύματος B και αναμίχθηκαν ισχυρά σε μηχανή ανάμιξης REAX 2000 για 5sec. Σε δεύτερο πειραματικό σωλήνα τοποθετήθηκε ποσότητα 25μL του υδατικού διαλύματος D3 και ποσότητα της οργανικής φάσης των δειγμάτων μας. Για κάθε δείγμα πάρθηκαν τρεις διαφορετικοί όγκοι, και για κάθε όγκο έγιναν τρεις διαφορετικές μετρήσεις, ώστε να ελεγχθεί η επαναληψιμότητα των μετρήσεων και η ακρίβεια της μεθόδου. Η ποσότητα του κάθε δείγματος προστέθηκε στον δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε 25μL του υδατικού διαλύματος D3. Στη συνέχεια με τη βοήθεια της Pasteur pipette μεταφέρθηκε η ποσότητα του πρώτου δοκιμαστικού σωλήνα στον δεύτερο. Ο δεύτερος πειραματικός σωλήνας αναταράχθηκε ισχυρά στην μηχανή ανάδευσης REAX 2000 για 5-7sec. Τέλος το τελικό διάλυμα του δεύτερου πειραματικού σωλήνα, με τη βοήθεια της Pasteur pipette, μεταφέρθηκε στο κελί, τοποθετήθηκε στη συσκευή και ελήφθησαν οι μετρήσεις. Παίρνεται η τιμή της CL intensity όταν ολοκληρωθεί η αντίδραση (plateau).

Παρακάτω παρουσιάζονται αναλυτικά οι όγκοι των δειγμάτων, καθώς και οι μετρήσεις που πάρθηκαν με το πέρας της διαδικασίας.

Πίνακας 7.1. Αποτελέσματα μετρήσεων.

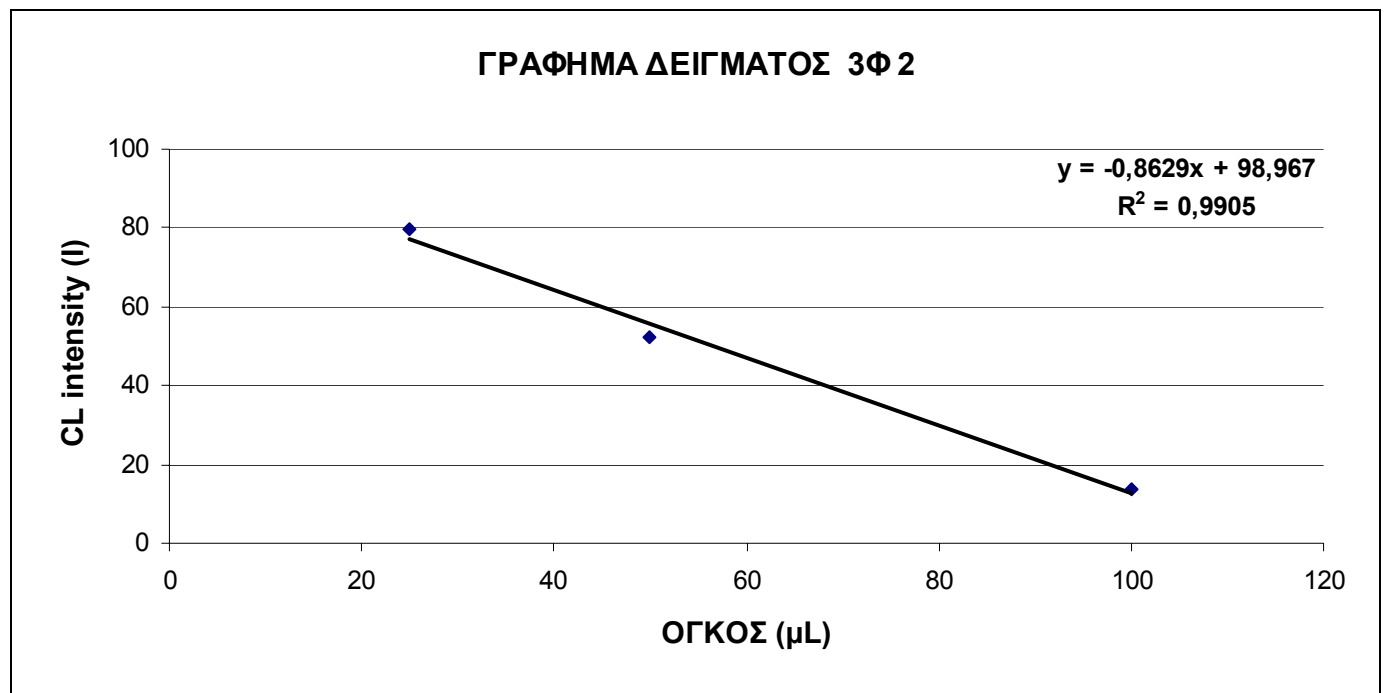
3Φ1				
μL	1 ^η	2 ^η	3 ^η	average
5	75	76,2	75,4	75,53
10	51,6	46,5	51,1	49,73
20	15,5	16	15,2	15,57



Διάγραμμα 7.1. Γράφημα δείγματος 3Φ1, CL intensity (I) σε συνάρτηση με τον όγκο δείγματος (μL).

Πίνακας 7.2. Αποτελέσματα μετρήσεων.

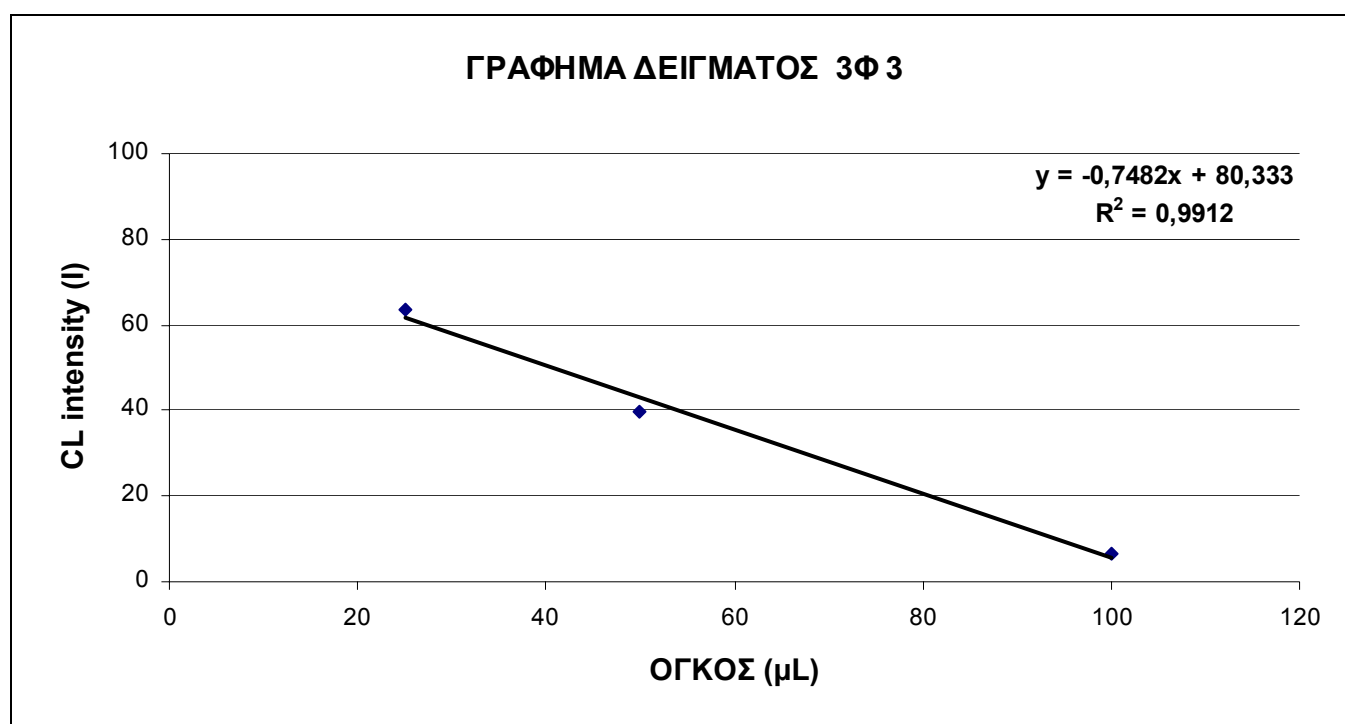
3Φ2				
μL	1 ^η	2 ^η	3 ^η	average
25	80,1	79,9	79,5	79,83
50	50,7	55,6	50,2	52,17
100	14,5	13,8	13,4	13,9



Διάγραμμα 7.2. Γράφημα δείγματος 3Φ2, CL intensity (I) σε συνάρτηση με τον όγκο δείγματος (μL).

Πίνακας 7.3. Αποτελέσματα μετρήσεων.

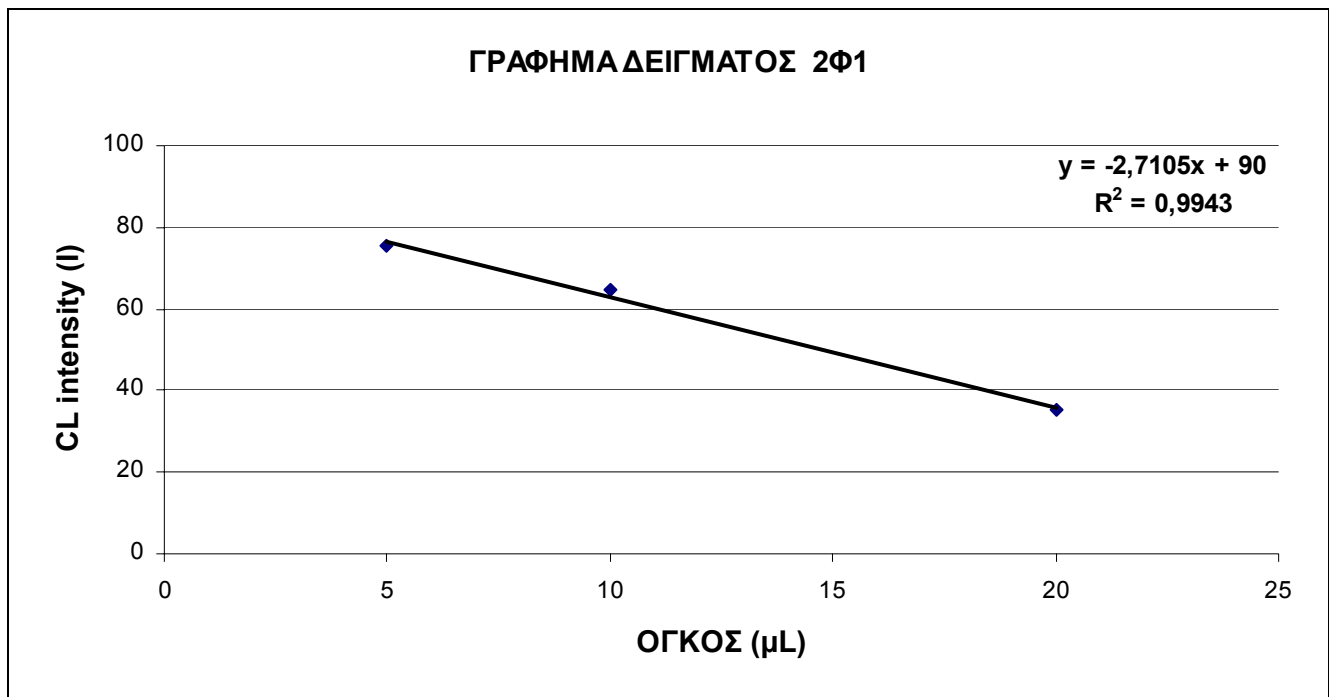
3Φ3				
μL	1 ^η	2 ^η	3 ^η	average
25	62,5	65,2	63,3	63,67
50	41,4	39	39,2	39,87
100	6,3	6,1	7,2	6,53



Διάγραμμα 7.3. Γράφημα δείγματος 3Φ3, CL intensity (I) σε συνάρτηση με τον όγκο δείγματος (μL).

Πίνακας 7.4. Αποτελέσματα μετρήσεων.

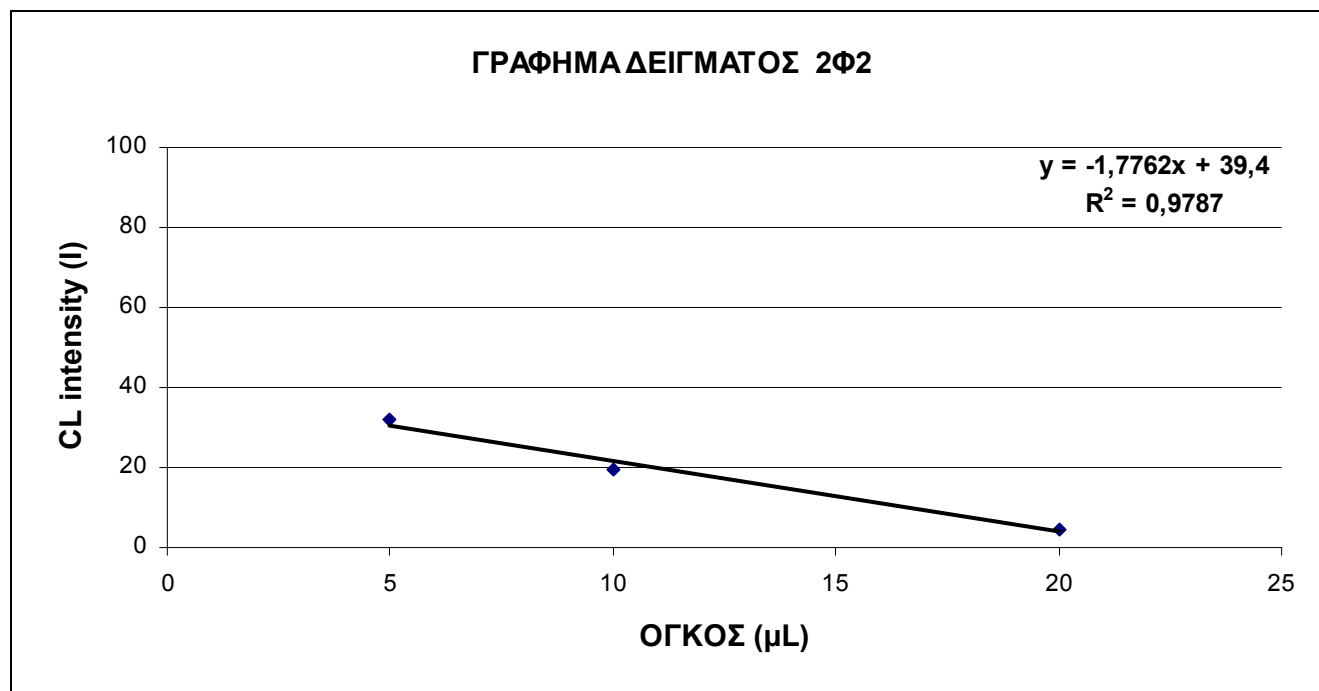
2Φ1				
μL	1 ^η	2 ^η	3 ^η	average
5	76,1	75	74,7	75,27
10	66	63,9	64,1	64,67
20	35,5	35,1	35	35,2



Διάγραμμα 7.4. Γράφημα δείγματος 2Φ1, CL intensity (I) σε συνάρτηση με τον όγκο δείγματος (μL).

Πίνακας 7.5. Αποτελέσματα μετρήσεων.

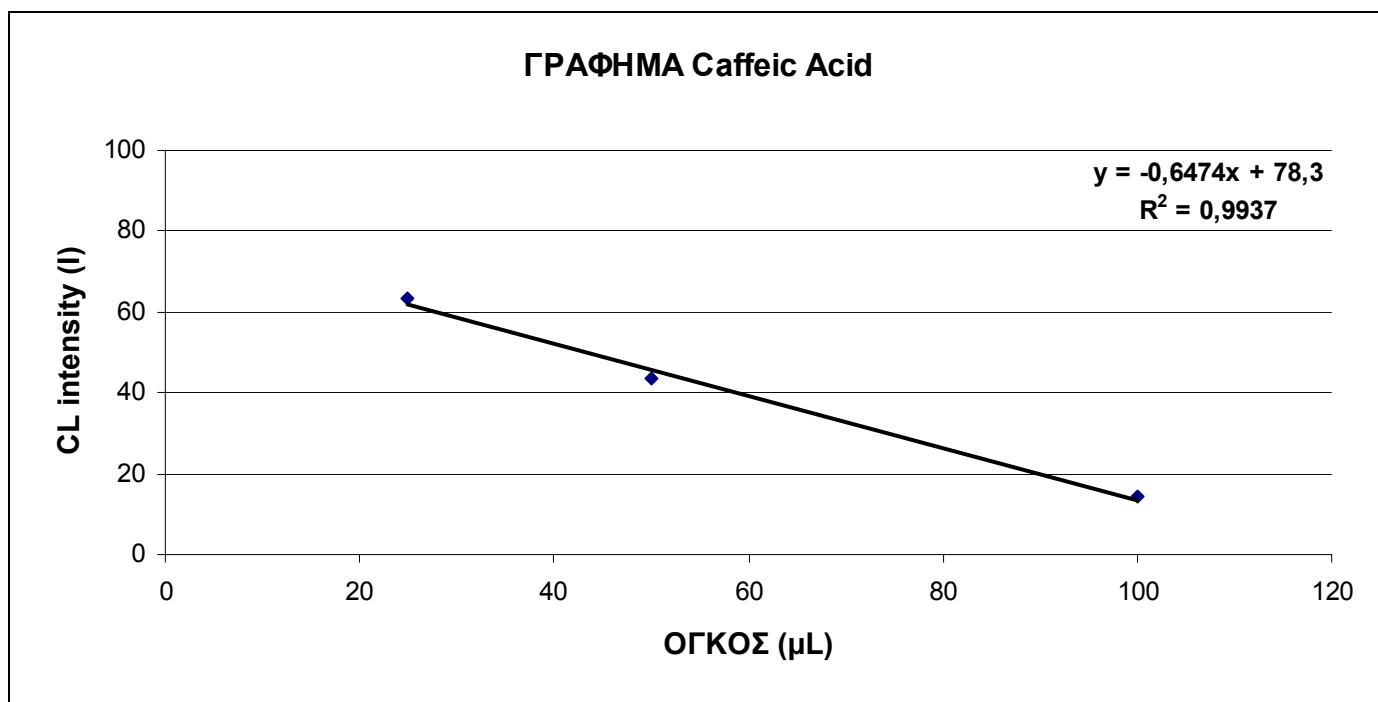
2Φ2				
μL	1 ^η	2 ^η	3 ^η	average
5	31,5	30,7	33,9	32,03
10	18,6	19,2	20,3	19,37
20	4,9	4,3	4,7	4,63



Διάγραμμα 7.5. Γράφημα δείγματος 2Φ2, CL intensity (I) σε συνάρτηση με τον όγκο δείγματος (μL).

Όπως φαίνεται στους παραπάνω πίνακες τα δείγματα 3Φ1, 2Φ1 και 2Φ2 οι ποσότητες ήταν αντίστοιχα 5μL, 10μL και 20μL, ενώ για τα δείγματα 3Φ2 και 3Φ3 οι μετρήσεις για τους παραπάνω όγκους βγαίνουν εκτός κλίμακας, διότι τα συγκεκριμένα δείγματα ήταν ισχυρά αντιοξειδωτικά. Για τις περιπτώσεις αυτές αντί να γίνει περαιτέρω αραίωση και να γίνουν μετρήσεις με τους ίδιους όγκους, επιλέχθηκε να ληφθούν μεγαλύτερες ποσότητες, δηλαδή 25μL, 50μL και 100μL.

Ακολουθώντας τα βήματα του προπαρασκευαστικού μέρους των μετρήσεων (ενότητα 7.1.4) μόνο που αυτή τη φορά αντί για την οργανική μας φάση χρησιμοποιήθηκε caffeic acid, πραγματοποιήθηκε η καμπύλη του caffeic acid.



Διάγραμμα 7.6. Γράφημα καμπύλης βαθμονόμησης caffeic acid.

7.1.5. Υπολογισμός των Total Phenols στα αποστάγματα.

A. Αντιδραστήρια

Folin-Ciocalteu reagent (Merck 09001)
Sodium carbonate saturated solution (~35% W/V)
Distilled water
Methanol
Caffeic acid (Sigma C0625)

B. Μηχάνημα και Γυαλικά

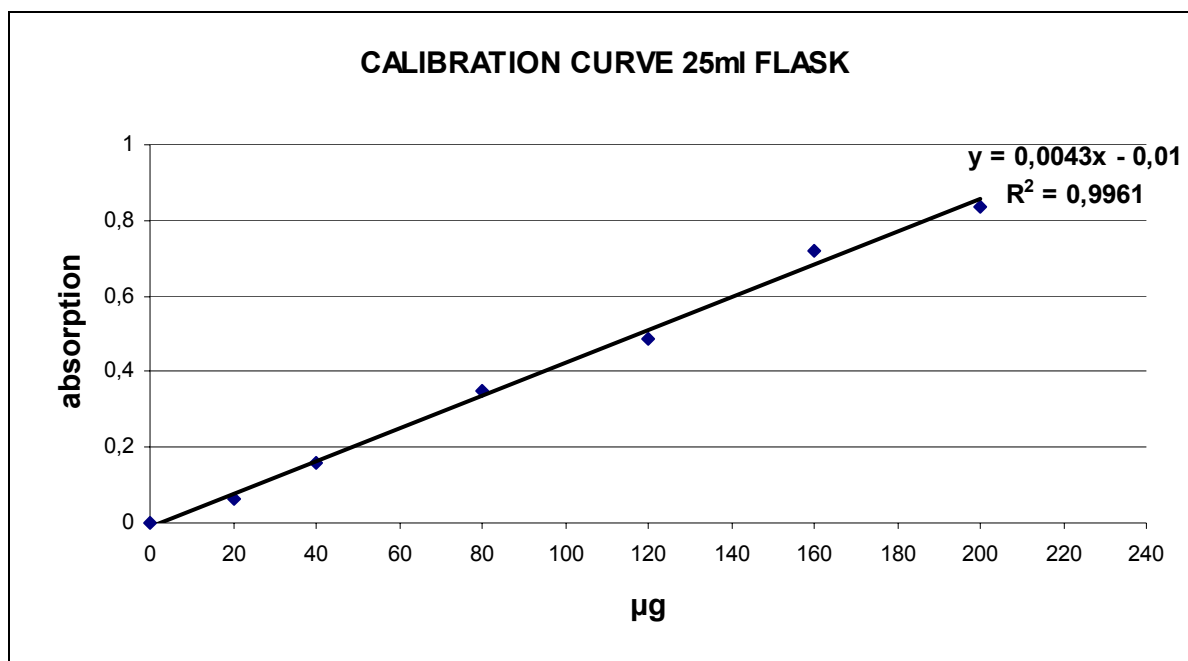
Analytical balance (accuracy 0,0001g)
Spectrophotometer UV-VIS
Γυάλινα κελιά με οπτικό μονοπάτι μήκους 1cm
Γυάλινες ογκομετρικές φιάλες A 50mL, 25mL και 10mL
Διαβαθμισμένες pipettes 1mL, 2mL, 5mL και 10mL
Eppendorf pipettes 200-1000μL

C. Προετοιμασία των standards διαλυμάτων

- Zυγίζω 50mg (± 1 mg) caffeic acid. Η ποσότητα του caffeic acid μεταφέρεται σε μια ογκομετρική φιάλη 50mL η οποία συμπληρώνεται με διάλυμα μεθανόλης (Διάλυμα A: 1mg/mL).
- Με μια ογκομετρική pipette μεταφέρω 1mL από το διάλυμα A σε μια ογκομετρική φιάλη των 25mL και συμπληρώνω με απιονισμένο νερό (Διάλυμα B: 40μg/mL).

D. Προετοιμασία της καμπύλης βαθμονόμησης.**1. Χρησιμοποιώντας ογκομετρικές φιάλες των 25mL.**

- Παίρνω 7 ογκομετρικές φιάλες των 25mL και προσθέτω σε κάθε μια 10mL απιονισμένο νερό. Προσθέτω στην πρώτη φιάλη 1mL απιονισμένο νερό. Με τη βοήθεια της κατάλληλης ογκομετρικής pipette, προσθέτω μέσα στις 6 εναπομένουσες ογκομετρικές φιάλες 0,5mL, 1mL, 2mL, 3mL, 4mL και 5mL αντίστοιχα από το διάλυμα Β (η τελική ποσότητα είναι 20μg, 40μg, 80μg, 120μg, 160μg και 200μg αντίστοιχα).
- Προσθέτω μέσα σε κάθε ογκομετρική φιάλη 0,5mL από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu και αναμιγνύω καλά.
- Μετά από 3min, προσθέτω μέσα σε κάθε ογκομετρική φιάλη 1mL κορεσμένου διαλύματος sodium carbonate. Αναμιγνύω καλά και συμπληρώνω τον όγκο με απιονισμένο νερό.
- Μετά από 1hr, μετρώ την απορρόφηση στα 725nm, χρησιμοποιώντας ως τυφλό το διάλυμα της πρώτης ογκομετρικής φιάλης.

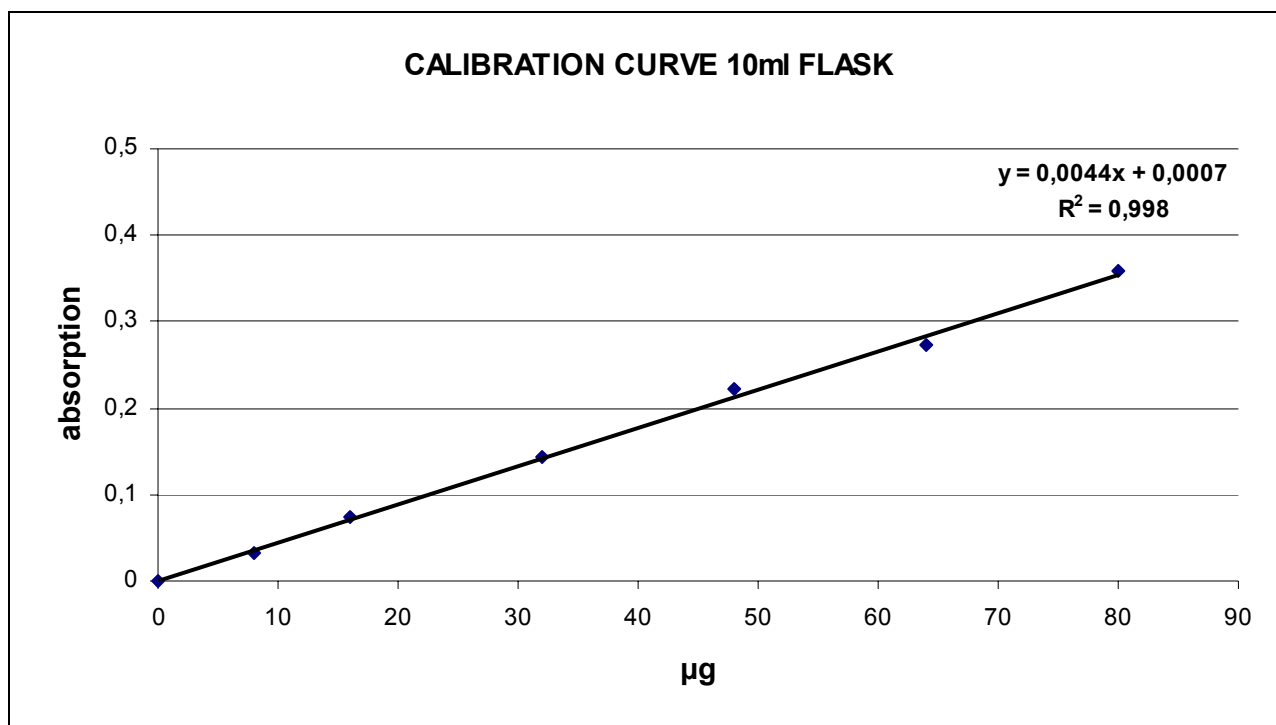


Διάγραμμα 8.7. Γράφημα καμπύλης βαθμονόμησης caffeic acid για ογκομετρικές φιάλες των 25mL.

2. Χρησιμοποιώντας ογκομετρικές φιάλες των 10mL.

- Παίρνω 7 ογκομετρικές φιάλες των 10mL και προσθέτω στην πρώτη φιάλη 5mL απιονισμένο νερό. Προσθέτω στην πρώτη φιάλη 1mL απιονισμένο νερό. Με τη βοήθεια της Eppendorf pipette προσθέτω μέσα στις εναπομένουσες φιάλες 200μL, 400μL, 800μL, 1200μL, 1600μL και 2000μL αντίστοιχα από το διάλυμα Β (η τελική ποσότητα είναι 8μg, 16μg, 32μg, 48μg, 64μg και 80μg αντίστοιχα).
- Προσθέτω μέσα σε κάθε ογκομετρική φιάλη 0,2mL από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu και αναμιγνύω καλά.

- c. Μετά από 3min, προσθέτω μέσα σε κάθε ογκομετρική φιάλη 0,4mL κορεσμένου διαλύματος sodium carbonate. Αναμιγνύω καλά και συμπληρώνω με απιονισμένο νερό.
- d. Μετά από 1hr, μετρώ την απορρόφηση στα 725nm, χρησιμοποιώντας ως τυφλό το διάλυμα της πρώτης ογκομετρικής φιάλης.



Διάγραμμα 7.8. Γράφημα καμπύλης βαθμονόμησης caffeic acid για ογκομετρικές φιάλες των 10mL.

3. Η καμπύλη βαθμονόμησης που πάρθηκε πρέπει να έχει συντελεστής συσχέτισης $\geq 0,995$.

Ε. Ανάλυση των δειγμάτων.

Προσθέτω 10mL απιονισμένου νερού μέσα σε μια ογκομετρική φιάλη των 25mL (ή 5mL μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 10mL). Μεταφέρω 100μL έως 1000μL (400μL για ογκομετρική φιάλη των 10mL) του μεθανολικού αποστάγματος (βλέπε σημείωση). Ακολουθώ την ίδια διαδικασία όπως κατά την προετοιμασία της καμπύλης βαθμονόμησης (βήματα b, c και d). Χρησιμοποιώντας την καμπύλη βαθμονόμησης υπολογίζουμε την ποσότητα μg ανά όγκο του χρησιμοποιούμενου αποστάγματος.

Στην παρούσα εργασία το δείγμα που προστέθηκε ήταν 100μL, εκτός από την περίπτωση των δειγμάτων 3Φ2 και 3Φ3 όπου προστέθηκε 200μL. Οι απορροφήσεις (Abs) των δειγμάτων ήταν: 3Φ1: Abs: 1,0968, 3Φ2: Abs: 1,9946, 3Φ3: Abs: 1,5612, 2Φ1: Abs: 0,3474, 2Φ2: Abs: 0,3023.

F. Υπολογισμός της συγκέντρωσης.

$$\text{Συγκέντρωση } C \text{ (ppm} = \mu\text{g/g)} = \frac{m}{V} \frac{V}{w}$$

όπου:

m = μg standard (με τη βοήθεια της καμπύλης βαθμονόμησης).

V = ολικός όγκος του αποστάγματος σε μL .

v = όγκος του αποστάγματος που προστέθηκε μέσα στην ογκομετρική φιάλη σε μL .

w = βάρος του δείγματος σε g (το οποίο αποστάξαμε για να παρατηρήσουμε το τελικό απόσταγμα με όγκο V).

Σημείωση:

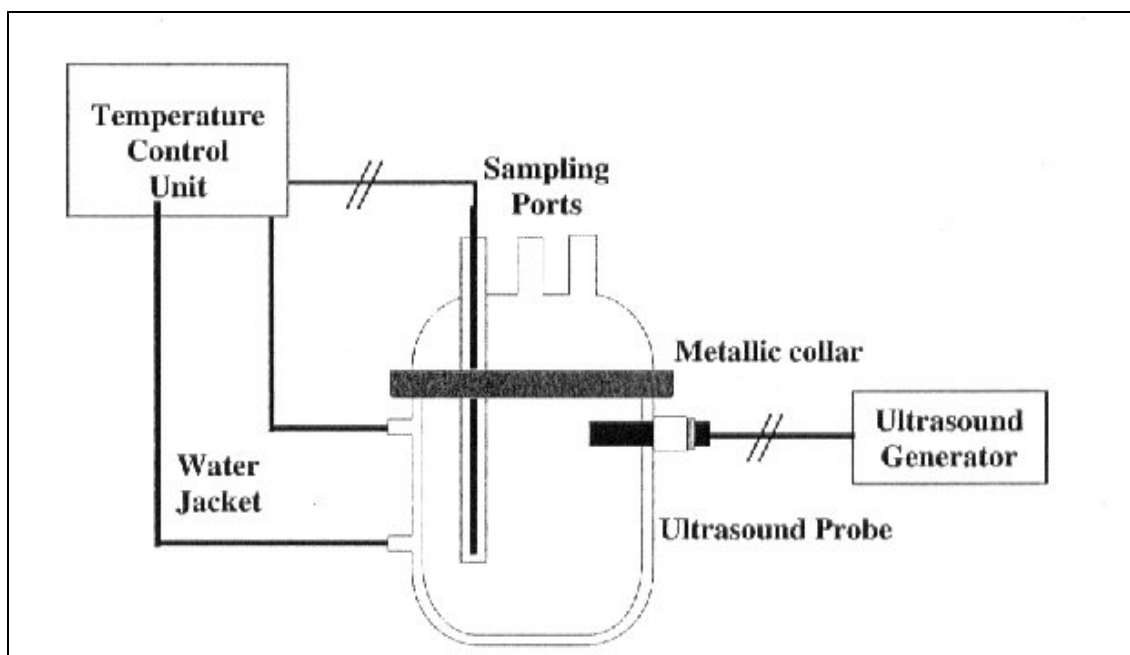
Ο μέγιστος επιτρεπόμενος όγκος του μεθανολικού αποστάγματος είναι 1mL όταν χρησιμοποιούμε ογκομετρικές φιάλες 25mL ή 0,4mL όταν χρησιμοποιούμε ογκομετρικές φιάλες των 10mL. Υψηλότερες ποσότητες μεθανόλης, δίνει θολούρα στο διάλυμα λόγω της καθίζησης (ιζηματοποίησης) του sodium carbonate.

7.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ Β

Κατά τη διάρκεια της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκαν πειράματα για τον έλεγχο αποικοδόμησης των φαινολικών ενώσεων των αποβλήτων διφασικών ελαιουργείων χρησιμοποιώντας υπερήχους.

7.2.1. Οργανολογία

Για την παραγωγή των υπερηχητικών κυμάτων χρησιμοποιήθηκε συσκευή LabPlant, Ultrason 250 της LabPlant Ltd (Huddersfield-West Yorkshire, England UK). Η συσκευή παράγει υπερηχητικά κύματα σταθερής συχνότητας 80kHz, ενώ παράλληλα διαθέτει τη δυνατότητα ρύθμισης της ισχύος εξόδου μεταξύ το 0 και 100% της μέγιστης ονομαστικής ισχύος, η οποία είναι 150 Watt. Η διάδοση των υπερηχητικών κυμάτων στο διάλυμα γίνεται με τη βοήθεια ενός ανοξειδωτού μακρόστενου κυλίνδρου από μίγμα τιτανίου. Η συσκευή υπερήχων έχει τη δυνατότητα ρύθμισης της ισχύος εξόδου. Το διάλυμα που παρασκευάζεται τοποθετείται στο εσωτερικό της κοίλης γυάλινης διάταξης με υδατοχυτώνιο, μέσα από το οποίο διέρχεται νερό για τον έλεγχο της θερμοκρασίας. Η κοίλη διάταξη κλείνει με γυάλινο καπάκι, το οποίο διαθέτει ειδική είσοδο για θερμόμετρο καθώς και οπή για την λήψη δειγμάτων, χωρίς να είναι απαραίτητη η αποσφράγιση του. Στο πάνω μέρος διαθέτει οπή για την εισαγωγή του μακρόστενου κυλίνδρου παραγωγής των υπερηχητικών κυμάτων. Η θερμοκρασία του διαλύματος ελέγχεται με θερμοστοιχείο λευκόχρυσου (Pt100) με ανιχνευτή θερμοκρασίας εγκατεστημένο μέσα στο υδάτινο λουτρό ελέγχου της θερμοκρασίας της μονάδας (Polystat cc2 model, Huber, Germany) που ανήκει στον εξοπλισμό [31],[35].



Εικόνα 7.1. Σχηματικό διάγραμμα του αντιδραστήρα υπερήχων[36].

Στις εικόνες που ακολουθούν παρουσιάζονται η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή υπερήχων καθώς και η κοίλη γυάλινη με τη συσκευή σταθεροποίησης της θερμοκρασίας που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή των πειραμάτων[35].

7.2.2. Δείγματα προς Επεξεργασία

Για την εκτέλεση των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικά δείγματα υγρών αποβλήτων διφασικών ελαιουργείων (2Φ) της ευρύτερης περιοχής του Δήμου Χανίων. Συγκεκριμένα τα δείγματα συλλέχθηκαν από το τελικό στάδιο απαγωγής του λαδιού από τις ελιές, φάση διαχωρισμού. Στη συνέχεια αριθμήθηκαν 2Φ1 και 2Φ2. Τα απόβλητα μεταφέρθηκαν σε φιάλες νερού (1,5L) και φυλάχτηκαν στον καταψύκτη σε θερμοκρασία -20°C ώστε να αποφευχθεί η ανάπτυξη των ενζυμικών αντιδράσεων.

7.2.3. Περιγραφή της Διαδικασίας

Αρχικά στα δύο δείγματα έγινε διήθηση, με χρήση αντλίας κενού, για την απομάκρυνση των στερεών υπολειμμάτων. Για τα δύο δείγματα έγινε μέτρηση της αρχικής τιμής του COD.

Για τον προσδιορισμό των τιμών του COD χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του διχρωμικού καλίου. Σε κάθε μέτρηση το κατάλληλο ποσό δείγματος αραιώθηκε με απιονισμένο νερό, μετά από καλή ανάδευση και με τη βοήθεια κατάλληλης pipette 1mL του αιωρήματος προστέθηκε στο εμπορικό διαθέσιμο διάλυμα (Hach Europe, Belgium) και το μίγμα επωάστηκε για 180min στους 150°C σε αντιδραστήρα COD (Model 45600-Hach Company, USA). Η συγκέντρωση COD μετρήθηκε χρωματομετρικά χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο DR/2010 (Hach Company, USA)[36].

2Φ1: COD = 10.800 mg/L

2Φ2: COD = 12.600 mg/L

Λόγω των παραπάνω αποτελεσμάτων επιλέχθηκε το δείγμα 2Φ1 για επεξεργασία με χρήση υπερήχων. Αυτή η επιλογή έγινε διότι αυτό το δείγμα είχε μικρότερο οργανικό φορτίο. Εν συνεχεία ακολούθησε η χρήση υπερήχων.

Στο δείγμα 2Φ1, όπου προέκυψε από διήθηση, έγινε αραίωση 1:100 με απιονισμένο νερό. Ο συνολικός όγκος του αιωρούμενου διαλύματος που μπήκε στους υπερήχους (συσκευή Ultrason 250) ήταν $V = 200\text{mL}$.

Πείραμα 1^ο

Κατά τη χρονική διάρκεια (240min) της εφαρμογής των υπερήχων στο διάλυμα η ισχύς της συσκευής ρυθμίστηκε στα $P=150\text{Watt}$ και η συχνότητα των υπερήχων ήταν $\nu = 80\text{KHz}$. Η εφαρμογή των υπερήχων έγινε με έλεγχο της θερμοκρασίας του διαλύματος ($T=25^\circ\text{C}$). Κατά τη διάρκεια του πειράματος η θερμοκρασία διακυμάνθηκε από 24-25,5 $^\circ\text{C}$.

Πείραμα 2^ο

Κατά τη χρονική διάρκεια (240min) της εφαρμογής των υπερήχων στο διάλυμα η ισχύς της συσκευής ρυθμίστηκε στα $P=75\text{Watt}$ και η συχνότητα των υπερήχων ήταν $\nu = 80\text{KHz}$. Η εφαρμογή των υπερήχων έγινε με έλεγχο της θερμοκρασίας του διαλύματος ($T=25^\circ\text{C}$). Κατά τη διάρκεια του πειράματος η θερμοκρασία διακυμάνθηκε από 24,2-25,4 $^\circ\text{C}$.

Μετά το πέρας του πειράματος 1^ο έγινε μέτρηση της τελικής τιμής του COD, όπως και προηγουμένως.

2Φ1: COD = 15.200 mg/L

Μετά το πέρας του πειράματος 2^ο έγινε μέτρηση της τελικής τιμής του COD, όπως και προηγουμένως.

2Φ1: COD = 14.400 mg/L

Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι η τελική τιμή COD είναι μεγαλύτερη από την αρχική τιμή COD. Αυτό βέβαια μας οδηγεί στο ερώτημα, πώς αυξήθηκε η τιμή του COD ενώ πραγματοποιήθηκε αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων και χωρίς να υπάρξει προσθήκη άνθρακα?

Η απάντηση σ' αυτό το ερώτημα είναι ότι η αύξηση της τιμής COD επιτεύχθηκε λόγω της αύξησης της συγκέντρωσης του hydrogen peroxide, το οποίο προέκυψε στο διάλυμα λόγω της εφαρμογής των υπερήχων.

Η χρήση υπερήχων οδηγεί στο σχηματισμό ελεύθερων ριζών υδροξυλίου ($\bullet\text{OH}$). Οι ρίζες υδροξυλίου που παράγονται μπορούν είτε να αντιδράσουν στην αέρια φάση, είτε να επανασυνδυαστούν στην ψυχρότερη διεπιφάνεια αερίου-υγρού ή/και μέσα στο σώμα του διαλύματος για την παραγωγή hydrogen peroxide (H_2O_2) και νερό. Εκτενής αναφορά για τα χαρακτηριστικά του hydrogen peroxide γίνεται στο θεωρητικό μέρος. Παρόλα αυτά έχει παρατηρηθεί ότι όταν τα δείγματα περιλαμβάνουν hydrogen peroxide, η πραγματική τιμή του COD απαλλαγμένη από την παρεμβολή του hydrogen peroxide μπορεί να υπολογιστεί από την ακόλουθη σχέση[31]:

$$COD (mg / L) = COD_m - f[H_2O_2] \quad (7.2)$$

$$\text{με } f = 0,4706 - 4,06 \cdot 10^{-5} [H_2O_2]$$

όπου f είναι παράγοντας διόρθωσης οποίος εισάγει την αναλογία της τιμής του COD με τη συγκέντρωση του hydrogen peroxide και COD_m είναι η μετρούμενη τιμή του COD (mg/L) όταν το δείγμα περιέχει hydrogen peroxide.

Όταν η συγκέντρωση του hydrogen peroxide είναι χαμηλότερη από 200 mg/L, ο παράγοντας διόρθωσης f , μπορεί να πάρει την τιμή 0,4706 λόγω της διαφοράς μεταξύ της υπολογίσιμης τιμής του COD με παράγοντα διόρθωσης 0,4706 και με τη βοήθεια της εξίσωσης 8.2 δεν είναι πάνω από 0,8 mg/L.

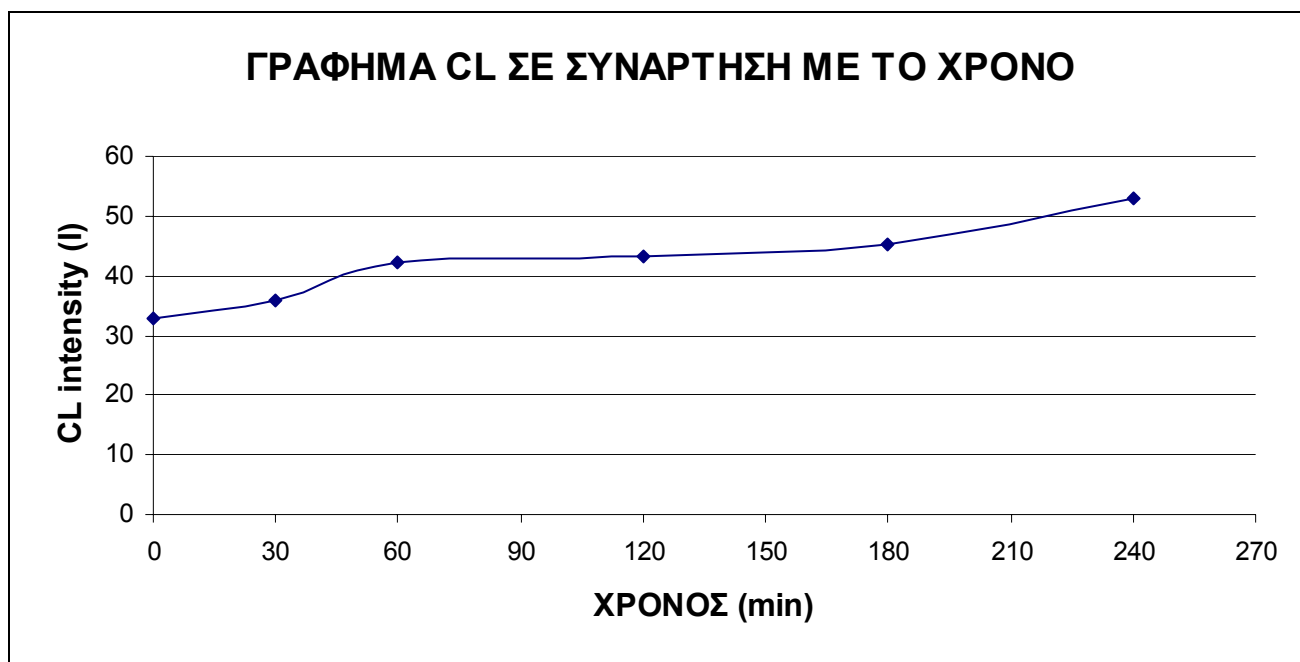
Κατά τη διάρκεια του πείραμα 1^ο και σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα, ανά μισή ώρα, λήφθηκε ποσότητα διαλύματος και χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της Χημειοφωταύγειας (βλέπε ενότητα 8.1.) για τον έλεγχο της αποικοδόμησης των φαινολικών ενώσεων των υγρών αποβλήτων των διφασικών ελαιουργείων. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων.

Πίνακας 7.6. Αποτελέσματα πειραματικών μετρήσεων.

Treatment t time (min)	KHz	Watts	Temp. °C	CL intensity
0	80	150	25	33,0
30	80	150	25	36,0
60	80	150	25	42,1
120	80	150	25	43,1
180	80	150	25	45,1
240	80	150	25	52,8

Πηγή: Ελευθερία Ψυλλάκη

Παρακάτω παρουσιάζεται το γράφημα της έντασης της Χημειοφωταύγειας σε συνάρτηση με το χρόνο. Όπου φαίνεται πραγματοποιείται αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων, εκτενής αναφορά γίνεται παρακάτω.



Διάγραμμα 7.1. Ένταση CL σε συνάρτηση με το χρόνο.

Στον πίνακα 7.6. βλέπουμε ότι κατά την παρατεινόμενη εφαρμογή υπερηχητικών κυμάτων (στα 80KHz και 150Watt) στο υδατικό διάλυμα πραγματοποιείται διάσπαση των φαινολικών ενώσεων των διφασικών ελαιουργείων. Με τη βοήθεια της μεθόδου της Χημειοφωταύγειας πάρθηκαν μετρήσεις της έντασης CL απ' όπου παρατηρείται αύξηση αυτής με το πέρασμα του χρόνου. Από αυτό το συμπέρασμα διαπιστώνεται αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων των διφασικών ελαιουργείων. Η εξήγηση είναι ότι η μείωση του οργανικού φορτίου στο διάλυμα, αυξάνει την ένταση CL τείνοντας προς την τιμή CL intensity (I) 100 που αντιστοιχεί στο στην αντίδραση calibration του μηχανήματος κατά την οποία δεν έχουμε οργανικό φορτίο.

Όσον αφορά τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων των φαινολικών ενώσεων των δειγμάτων δεν παρουσιάζονται γιατί όπως αναλύεται στην ενότητα 7.1 δεν δίνει αξιόπιστα αποτελέσματα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

8.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων για τα δείγματα 3Φ2 και 3Φ3 διαπιστώθηκε ότι οι μετρήσεις του (I) έβγαιναν εκτός των ορίων 0–100 του βαθμονόμησης του μηχανήματος για τις επιλεγθείσες ποσότητες 5μL, 10μL και 20μL του οργανικού δείγματος. Γι' αυτό το λόγο επιλέχθηκαν οι τιμές 25μL, 50μL και 100μL. Αυτό βέβαια αποδεικνύει ότι τα δείγματα 3Φ2 και 3Φ3 ήταν πολύ ισχυρά αντιοξειδωτικά. Τα γραφήματα που προέκυψαν από τις μετρήσεις στην παραπάνω ενότητα δείχνουν την παραγωγή της Χημειοφωταύγειας ακολουθώντας την συγκεκριμένη μέθοδο. Η απόδοση της Χημειοφωταύγειας μειώθηκε κατά την αύξηση της ποσότητας των προστιθέμενων αντιοξειδωτικών (πολυφαινόλες) στο μείγμα της αντίδρασης.

Όπως φαίνεται και παραπάνω, στην περίπτωση των δειγμάτων των Τριφασικών ελαιουργείων: για το δείγμα 3Φ1 η επαναληψιμότητα των τιμών των μετρήσεων ήταν αρκετά καλή και η γραμμικότητα, $R^2_{3\Phi1} = 0,988$, ήταν μέτρια, για το δείγμα 3Φ2 η επαναληψιμότητα των τιμών των μετρήσεων αρκετά καλή όπως η γραμμικότητα, $R^2_{3\Phi2} = 0,9905$, ήταν καλή, για το δείγμα 3Φ3 η επαναληψιμότητα των τιμών των μετρήσεων ήταν μέτρια καλή, αλλά μετά από τη λογική λήψη του μέσου όρου των τιμών των μετρήσεων η γραμμικότητα, $R^2_{3\Phi3} = 0,9912$, ήταν καλή. Στην περίπτωση των Διφασικών ελαιουργείων: για το δείγμα 2Φ1 η επαναληψιμότητα των τιμών των μετρήσεων για τις ποσότητες των 5μL και 10μL δεν ήταν καλή, αλλά μετά από τη λογική λήψη του μέσου όρου των τιμών των μετρήσεων η γραμμικότητα, $R^2_{2\Phi1} = 0,9943$, ήταν καλή, ενώ τέλος για το δείγμα 2Φ3 η επαναληψιμότητα δεν ήταν καλή και η γραμμικότητα, $R^2_{2\Phi2} = 0,9787$, δεν ήταν επίσης καλή.

Όσον αφορά το γράφημα της καμπύλης βαθμονόμησης του caffeic acid η γραμμικότητα, $R^2 = 0,9937$, ήταν καλή.

Εν συνεχεία πραγματοποιήθηκαν πειράματα, με τη χρήση του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu, για την κατασκευή των καμπυλών βαθμονόμησης του caffeic acid για ογκομετρικές φιάλες των 25mL και 10mL, ώστε να υπολογιστεί η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων των αποβλήτων των ελαιουργείων. Στην περίπτωση των 25mL η γραμμικότητα ήταν $R^2 = 0,9961$, ενώ στην περίπτωση των 10mL η γραμμικότητα ήταν $R^2 = 0,998$.

Μετά την επεξεργασία των τιμών των μετρήσεων της μεθόδου της Χημειοφωταύγειας η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων για το δείγμα 3Φ1 ήταν 176,2mg/L caffeic acid, για το δείγμα 3Φ2 ήταν 32,4mg/L caffeic acid, για το δείγμα 3Φ3 ήταν 47,5 mg/L caffeic acid, για το δείγμα 2Φ1 ήταν 84,2 mg/L caffeic acid, ενώ για το δείγμα 2Φ2 ήταν 364 mg/L caffeic acid.

Από την άλλη μεριά, με τη μέθοδο αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων για το δείγμα 3Φ1 ήταν 2.574mg/L caffeic acid, για το δείγμα 3Φ2 ήταν 2.331 mg/L caffeic acid, για το δείγμα 3Φ3 ήταν 1.827 mg/L caffeic acid, για το δείγμα 2Φ1 ήταν 831 mg/L caffeic acid, ενώ για το δείγμα 2Φ2 ήταν 726 mg/L caffeic acid.

Πίνακας 8.1. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα των συγκεντρώσεων των φαινολικών ενώσεων.

ΔΕΙΓΜΑ	Folin-Ciocalteu C (mg/L)	Χημειοφωταύγεια C (mg/L)
3Φ1	2.574	176,2
3Φ2	2.331	32,4
3Φ3	1.827	47,5
2Φ1	831	84,2
2Φ2	726	364,0

Συγκρίνοντας τα παραπάνω αποτελέσματα διαπιστώνεται ότι με τη μέθοδο της Χημειοφωταύγειας οι συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων ως caffeic acid είναι πολύ μικρότερες από τις συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων όπως προέκυψαν με τη μέθοδο του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu.

Συνυπολογίζοντας το γεγονός ότι η μέθοδος του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu είναι δοκιμασμένη και αξιόπιστη για των υπολογισμό των φαινολικών ενώσεων των αποβλήτων των ελαιουργείων, μπορούμε να πούμε ότι οι συγκεντρώσεις που προέκυψαν μ' αυτή τη μέθοδο ανταποκρίνονται στην πραγματικότητα.

Βέβαια σ' αυτή την περίπτωση πρέπει να επισημανθεί: α) η μη σωστή λειτουργία της συγκεκριμένης μεθόδου της Χημειοφωταύγειας για τον υπολογισμό των φαινολικών ενώσεων των ελαιουργείων, β) τα πιθανά πειραματικά λάθη και γ) τα πιθανά πειραματικά λάθη στην κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης του caffeic acid για τον υπολογισμό των φαινολικών ενώσεων.

8.2. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη ενότητα η συγκεκριμένη μέθοδος δεν δουλεύει τέλεια για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των πολυφαινολών των αποβλήτων των ελαιουργείων με χρήση της Χημειοφωταύγειας. Παρά ταύτα θα μπορούσε η μέθοδος να δώσει καλύτερα αποτελέσματα αν αλλάξουν κάποιοι παράμετροι στο προπαρασκευαστικό στάδιο των πειραμάτων. Για παράδειγμα αύξηση του PH του buffer από 9 σε 10.

Σε παλαιότερα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στη θέση των δειγμάτων των αποβλήτων των ελαιουργείων είχε προστεθεί caffeic acid (που είναι μία φαινολική ένωση). Αυτό που παρατηρήθηκε ήταν ότι για ίδιες ποσότητες ανάμιξης οργανικού υλικού των αποβλήτων των ελαιουργείων και caffeic acid για PH 10 η επαναληψιμότητα των πειραμάτων ήταν καλύτερη καθώς και ο χρόνος ολοκλήρωσης της αντίδρασης (σημείο plateau) ήταν μικρότερος από ότι για PH 9.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. S.P.Tsonis, V.Tsola & S.G.Grigoropoulos, **“Systematic characterization and chemical treatment of olive oil mill wastewater”**, Toxicological and Environmental Chemistry, Vol.29, p.437-457.
2. M.Sivakumar and A.B.Pandit, **“Wastewater treatment: a novel energy efficient hydrodynamics cavitation technique”**, Ultrasonics Sonochemistry (2002), Vol.9, p.123-131.
3. K.L.Tuck and P.J.Hayball, **“Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects”**, Journal of Nutritional Biochemistry (2002), Vol.13, p.636-644.
4. G.Skerratt and E.Ammar, **“The application of reedbed treatment technology to the treatment of effluents from olive oil mills”**, Final Report, Center for Environmental Technology, Staffordshire University.
5. M.Esti, L.Ciquanta and E. la Notte, **“Phenolic compounds in different olive varieties”**, Journal of Agricultural and Food Chemistry (1998), p.32-35.
6. T.Gutfinger, **“Polyphenols in Olive Oil”**, Journal of Agricultural and Food Engineering.
7. M.Tsimidou, **“Polyphenols and quality of virgin olive in retrospect”**, Review, Journal of Food Science (1998), Vol.10, p.99-116.
8. N.Mulivacci, A.Romani, C.Galardi, P.Pinelli, C.Giaccherini and F.F.Vicieri, **“Polyphenolic content in olive oil waste waters and related olive samples”**, Journal of Agricultural and Food Chemistry (2001), Vol.49, No.8, p.3509-3514.
9. D.Ryan and K.Robards, **“Phenolic compounds in olives”**, The Analyst (1998), Vol.123, p.31R-44R.
10. D.Ryan, K.Robards and S.Lavee, **“Changes in phenolic content of olive during maturation”**, International Journal of Food Science and Technology (1999), Vol.34, p.265-274.
11. N.P.Vichare, P.Senthilkumar, V.S.Moholkar, P.R.Gogate and A.B.Pandit, **“Energy Analysis in Acoustic Cavitation”**, Industrial Engineering Chemistry Research (2000), Vol.39, p.1480-1486.
12. C.E.Brennen, **“Fission of collapsing cavitation bubbles”**, California Institute of Technology (2001), Pasadena, CA 91125.
13. F.Favati, G.Caporale and M.Bertuccioli, **“Rapid determination of phenol content in extra virgin olive oil”**, Grassas Aceites (1994), Vol.45, p.68-70.
14. C.Paredes, J.Cegarra, A.Roig, M.A.Sanchez-Monedero, M.P.Bernal, **“Characterization of olive mill wastewater (alpechin) and its sludge for agricultural purposes”**, Bioresource Technology (1999), Vol.67, p.111-115.
15. E.S.Aktas, S.Imre and L.Ersoy, **“Characterization and lime treatment of olive mill wastewater”**, Water Research (2001), Vol.35, No.9, p.2336-2340.
16. F.Chemat, I.Grodin, A.Shum Cheong Sing, J.Smadja, **“Deterioration of edible oils during food processing by ultrasound”**, Ultrasonics Sonochemistry (2003).
17. V.Balice and O.Cera, **“Acidic phenolic fraction of the olive vegetation water determined by a gas chromatographic method”**, Grassas Aceites (1984), Vol.35, p.178-180.
18. S.Goskonda, W.James Catallo and T.Junk, **“Sonochemical degradation of aromatic pollutants”**, Water Management (2002), Vol.22, p.351-356.
19. E.Naffrechoux, S.Chanoux, C.Petrier and J.Suptil, **“Sonochemical an photochemical oxidation of organic matter”**, Ultrasonics Sonochemistry (2000), Vol.2, p.255-259.
20. Chunde Wu, Xinhui Liu, Dongbin Wei, Jinchu Fan and Liansheng Wang, **“Photochemical Degradation of Phenol in Water”**, Water Research (2001), Vol.35, Issue 16, p.3927-3033.

21. M.Tsimidou, G.Papadopoulos and D.Boskou, **“Determination of phenolic compounds in virgin olive oil by reversed-phase HPLC with emphasis on UV detection”**, Food Chemistry (1992), Vol.44, p.53-60.
22. M.Kemal Unal, **“Total polyphenols, O-diphenols and phenolic acids in olive pomace and olive vegetation water”**, Science and Techniques (1994), No.51, p.34-35.
23. N.H.Ince, G.Tezcanli, R.K.Belen and I.C.Apikyan, **“Ultrasound as a catalyzer of aqueous reaction systems: the state of art and environmental applications”**, Applied Catalysis B: Environmental (2001), Vol.29, p.167-176.
24. V.S.Moholkar, M.Huitema, S.Rekvelde and M.M.C.G.Warmoeskerken, **“Characterization of an ultrasonic system using wavelet transforms”**, Chemical Engineering Science (2002), Vol.57, p.617-629.
25. N.K.Broune, **“On the collapse of cavities”**, Shock Waves (2002), Vol.11, p.447-455.
26. W.Lauterborn and Claus-Dieter Ohl, **“Cavitation bubble dynamics”**, Ultrasonics Sonochemistry (1997), Vol.4, p.65-75.
27. A.Shima, **“Studies on bubble dynamics”**, Shock Waves (1997), Vol.7, p.33-42
28. T.G.Leighton, **“Bubble population phenomena in acoustic cavitation”**, Ultrasonics Sonochemistry (1995), Vol.2, No.2, p. S123-S-136.
29. N.Uccella, **“Olive biophenols: novel ethnic and technological approach”**, Trends in Food Science & Technology (2001), Vol.11, p.328-339.
30. D.Boskou, **“Olive Oil: Chemistry and Technology”**.
31. Eleftheria Psillakis, Dionissios Mantzavinos, Nikolas Kalogerakis, **“Monitoring the Sonochemical degradation of phthalate esters in water using solid-phase microextraction”**, Chemosphere 54 (2004), p.849-857.
32. Yun Whan Kang, Min-Jung Cho and Kyung-Yup Hwang, **“Correction of Hydrogen Peroxide Interference on Standard Chemical Oxygen Demand Test”**, Division of Environment and CFC Technology (1999), Vol.33, No.5, pp.1247-1251.
33. Τεχνικό Επιμελητήριο της Ελλάδας, **“Ρύπανση Περιβάλλοντος από Υγρά Απόβλητα των Ελαιουργείων”**, Τμήμα Ανατολικής Κρήτης, Ηράκλειο (1980).
34. Α.Κουτσαυτάκης και Ε.Στεφανουδάκη-Κατζουράκη, **“Μηχανική Κατεργασία Αποβλήτων Ελαιουργείων με Φυγοκεντρικά Μηχανήματα”**, Πρακτικά Διεθνούς Σεμιναρίου «Διαχείριση Αποβλήτων Ελαιουργείων», Χανιά (1991), p.153-155.
35. Αλέξανδρος Α. Ντελέκος, **“Τεχνική SPME-GC/MS για τον προσδιορισμό πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAH) σε δείγματα νερού και αποικοδόμηση αυτών με χρήση υπερήχων”**, Διπλωματική Εργασία, Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος, Χανιά 2002.
36. Ελένη Μανουσάκη, **“Αποδόμηση δωδεκυκλοβενζολοσουλφονικού νατρίου σε νερό με εφαρμογή υπερήχων: Μελέτη επίδρασης συνθηκών λειτουργίας και σύζευξη με άλλες εξελιγμένες τεχνικές οξειδωσης και βιοαποδόμησης”**, Μεταπτυχιακή Διατριβή, Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος, Χανιά 2003.
37. Frank Settle, **“Chemiluminescence”**, Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry, ([http:// www.prenhall.com](http://www.prenhall.com)).
38. I.Parejo, C.Petrakis and P.Kefakas, **“A transition metal enhanced luminol chemiluminescence in the presence of a chelator”**, Journal of Pharmacological and Toxicological Methods 43 (2000), p.183-190.
39. I.Parejo, C.Codina, C.Petrakis and P.Kefalas, **“Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH[•] (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay”**, Journal of Pharmacological and Toxicological Methods 44 (2000), p.507-512.
40. O.Hirayama, M.Tagaki, K.Hukumoto and S.Katoh, **“Evaluation of Antioxidant Activity by Chemiluminescence”**, Analytical Biochemistry 247 (1997), p.237-241.

41. C.Desmarchelier, F.Witting Schaous, J.Coussio and G.Cicca, **“Effects of sangre de Drago from *Croton lechleri* Muell.-Arg. on the production of active radicals”**, Journal of Ethnopharmacology 58 (1997), p.103-108.
42. E.Lissi, M.Salim-Hanna, C.Pascual and M.D. del Castillo, **“Evaluation of total antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements”**, *Original Contribution*, Free Radical Biology & Medicine Vol.18, No 2 (1995), p.153-158.
43. E.Lissi, C.Pascual and M.D. del Castillo, **“Luminol luminescence by 2,2'-azo-bis(2-amidinopropane) thermolysis”**, Free Radical Research Communications 17 (1992), p.299-311.
44. A.Krasowska, D.Rosiak, K.Szkapiak, M.Oswieciska, S.Witek and M.Lukaszewicz, **“The antioxidant activity of BHT and new phenolic compounds PYA and PPA measured by chemiluminescence”**, Cellular & Molecular Biology Letters Vol. 6 (2001), p.71-81.
45. M.Nissiotis and M.Tasioula-Margati, **“Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation”**, Food Chemistry 77 (2002), p.371-376.
46. S.Hanaoka, Jin-Ming Li and M.Yamada, **“Chemiluminescence flow sensor for H₂O₂ based on the determination of H₂O₂ catalyzed by Co(II)-ethanolamine complex immobilized on resin”**, Analytical Chimica Acta 426 (2001), p.57-64.
47. L.Wang, Y.Li, D.Zhao and C.Zhu, **“A novel enhancing flow-injection chemiluminescence of Glutathione using the reaction of luminol and hydrogen peroxide”**, Microchimica Acta 141 (2003), p.41-45.
48. P.Fletcher, K.N.Adrew, A.C.Calokerinos, S.Forbes and P.J.Worsfold, **“Analytical applications of flow injection with chemiluminescence detection – a review”**, Luminescence 16 (2001), p.1-23.
49. F.Visioli, A.Poli and C.Galli, **“Antioxdiant and Other Biological Activities of Phenols from Olives and Olive Oil”**, Medical Research Reviews, Vol.22, No 1, (2002), p.65-75.
50. A.N.Diaz, F.G.Sanchez and J.A.G.Garcia, **“Chemical indicators as enhancers of the chemiluminescent luminol-H₂O₂-horseradish peroxidase reaction”**, Journal of Photochemistry and Photobiology, A:Chemistry 87 (1995), p.99-103.
51. F.G.Sanchez, A.N.Diaz and J.A.G.Garcia, **“P-phenol derivatives as enhancers of chemiluminescence luminol-horseradish peroxidase-H₂O₂ reaction: substituent effects”**, Journal of Luminescence 65 (1995), p.33-39.
52. S.McDonald, P.D.Pezler, M.Antolovich and K.Robards, **“Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts”**, Food Chemistry (2001), Vol.73, p.73-84.