

ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΥΡΟΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΩΝ

ΚΟΚΚΩΝ ΚΑΦΕ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ

ΚΑΙΝΟΤΟΜΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

του

ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΥ ΑΝΔΡΙΩΤΗ

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Σχολή Περιβάλλοντος

ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ



Αργοστόλι Κεφαλληνίας

Ιανουάριος, 2021

ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΥΡΟΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΩΝ
ΚΟΚΚΩΝ ΚΑΦΕ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ
ΚΑΙΝΟΤΟΜΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Η πτυχιακή εργασία εγκρίθηκε από:

Νικόλαος Κοψαχείλης

Αικατερίνη Παπαδάκη

Βασιλική Καχριμανίδου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μελέτη επικεντρώνεται στην κυκλική αξιοποίηση των απβλήτων της βιομηχανίας τροφίμων για την παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών με αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε πρωτεΐνη τυρογάλακτος για την παραγωγή των εδώδιμων μεμβρανών στις οποίες ενθυλακώθηκε εκχύλισμα πλούσιο σε φαινολικές ενώσεις το οποίο παραλήφθηκε από επεξεργασμένους κόκκους καφέ. Αρχικά, μελετήθηκε η επίδραση που είχε το pH στις ιδιότητες των μεμβρανών, ρυθμίζοντας το pH του πρωτεϊνικού διαλύματος σε τιμές 7, 8, 9 και 12 πριν την επίστρωση των μεμβρανών. Οι μεμβράνες που παραλήφθηκαν παρουσίασαν διαφορές ως προς την διαλυτότητα, την ικανότητα προσρόφησης νερού, την διαπερατότητα του φωτός και την διαπερατότητα υδρατμών. Οι μεμβράνες που παραλήφθηκαν σε $\text{pH} > 8$ ήταν συνεκτικές και διάφανες. Η ικανότητα προσρόφησης νερού αυξήθηκε με την αύξηση του pH. Η διαπερατότητα υδρατμών ήταν υψηλή στο pH 7 ενώ μειώθηκε στις άλλες τιμές pH. Ακολούθως, τα πειράματα εστίασαν στην εκχύλιση των φαινολικών ουσιών. Για την εκχύλιση των φαινολικών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος εκχύλισης με βοήθεια υπερήχων χρησιμοποιώντας διαλύματα αιθανόλης με διαφορετικές συγκεντρώσεις (40%, 60%, 80% κ.ο.). Τα αποτελέσματα έδειξαν πώς η ολική περιεκτικότητα σε φαινολικά ήταν 8 mg GA/ g καφέ. Επίσης, τα εκχυλίσματα από καφέ έδειξαν υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα παρεμποδίζοντας το 90% (D%) της ελεύθερης ρίζας DPPH. Ακολούθως, το πλούσιο σε φαινολικά εκχύλισμα προστέθηκε στις μεμβράνες σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Αυτό οδήγησε σε μεμβράνες με μεγαλύτερο πάχος (0.16-0.20 mm) και πιο αδιαπέρατες από το φως (41.7-44.6%) σε σχέση με το control (δείγμα χωρίς εκχύλισμα). Είναι αξιοσημείωτο πως και οι μεμβράνες με ενθυλακωμένα φαινολικά και οι μεμβράνες χωρίς φαινολικά είχαν μηδενική διαπερατότητα στα 280 nm επομένως, λειτουργούσαν ως φραγμός της υπεριώδους ακτινοβολίας. Η διαλυτότητα και η ικανότητα προσρόφησης νερού μειώθηκαν με την προσθήκη φαινολικών ουσιών. Επιπροσθέτως, τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι μεμβράνες με φαινολικά είχαν υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα ($\text{D}\% > 70\%$). Η συγκεκριμένη μελέτη έδειξε πως είναι δυνατή η παραγωγή μεμβρανών με αντιοξειδωτικές ιδιότητες

ABSTRACT

The present study focused on circular valorization of food industry side-streams to produce edible films with antioxidant properties. In particular, cheese whey-derived protein concentrate was utilized for the production of edible films, which were supplemented with a phenolic-rich extract obtained from spent coffee grounds. Initially, experiments were performed to evaluate the effect of pH on edible films' properties, PH was regulated from 7-12 in the protein solution prior to casting. The resulted edible films presented differences in solubility, swelling index, transparency and water vapor permeability, which was strongly depended on the pH. In fact, cohesive and transparent films were obtained at $\text{pH} > 8$. Films presented higher swelling index as the pH was increased. Water vapor permeability was high at pH 7 and much lower in the pH range 8-12. Subsequently, experiments were focused on phenolic compounds extraction. Likewise, evaluation of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds, from spent coffee grounds, was carried out using different concentrations of ethanol (40%, 60%, 80%, v/v). The results showed that the extracted total phenolic content (TPC) was about 8 mg GA/g of dry spent coffee ground. Phenolic-rich extracts showed also high antioxidant activity, causing a more than 90% (D%) inhibition in DPPH free radical absorbance. Subsequently, these phenolic-rich extracts were added in different concentrations to whey-derived films. Addition of phenolic compounds led to thicker (0.16-0.20 mm) and less transparent (41.7-44.6%) films, as compared to the control film. It is worth noting that both antioxidant-rich and control films exhibited the same excellent light barrier properties against UV light. Solubility and swelling index were decreased with the addition of the phenolic extracts. Additionally, results showed that edible films enriched with phenolic compounds presented high antioxidant activity (D% > 70%). This study showed the perspective of edible films production with antioxidant properties using food wastes, meeting in this way the guidelines of Circular Economy.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Η ανάγκη προσαρμογής στους κανόνες του περιβάλλοντος	1
1.1.2 Περί βιομηχανίας τροφίμων και ποτών σε ευρωπαϊκό και εγχώριο επίπεδο	2
1.1.3 Γενική ταξινόμηση βιομηχανίας τροφίμων και ποτών	3
1.1.4 Βιωσιμότητα και κυκλική οικονομία	4
1.2 Εισαγωγή στην τυροκομία	6
1.2.1 Απόβλητα της τυροκομίας	6
1.2.2 Τυρογάλα: το κυριότερο απόβλητο της τυροκομίας	8
1.2.3 Επεξεργασία και αξιοποίηση τυρογάλακτος	11
1.3 Παραγωγή καφέ	13
1.3.1 Απόβλητα επεξεργασίας καφέ	14
1.3.2 Σύσταση υπολειμμάτων καφέ και δυνατότητες αξιοποίησης	15
1.4 Παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών	16
1.4.1 Ιδιότητες εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων	17
1.4.2 Χρήσεις και εφαρμογές εδώδιμων μεμβρανών στη βιομηχανία τροφίμων	18
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	21
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	22
3.1 Πρώτες ύλες	22
3.2 Επεξεργασία απόβλητων καφέ για την παραλαβή αντιοξειδωτικών ουσιών	22
3.3 Παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος	23
3.3.1 Προσθήκη αντιοξειδωτικών από απόβλητα καφέ	24
3.4 Αναλυτικές μέθοδοι	24
3.4.1 Προσδιορισμός υγρασίας εδώδιμων μεμβρανών	24
3.4.2 Προσδιορισμός πάχους εδώδιμων μεμβρανών	25
3.4.3 Προσδιορισμός ικανότητας συγκράτησης νερού εδώδιμων μεμβρανών	25
3.4.4 Προσδιορισμός οπτικών ιδιοτήτων εδώδιμων μεμβρανών	26
3.4.5 Μικροσκοπική ανάλυση εδώδιμων μεμβρανών	26
3.4.6 Προσδιορισμός διαπερατότητας υδρατμών εδώδιμων μεμβρανών	26
3.4.7 Προσδιορισμός περιεκτικότητας σε φαινολικά συστατικά και αντιοξειδωτικής ικανότητας	27
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	30
4.1 Επίδραση του pH στην παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος	30
4.1.1 Πάχος και οπτικές ιδιότητες	30
4.1.2 Υγρασία, διαλυτότητα και ικανότητα προσρόφησης νερού	32
4.1.3 Διαπερατότητα υδρατμών	33

4.2 Παραγωγή μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος: επίδραση της προσθήκης αντιοξειδωτικών από καφέ_____	35
4.2.1 Επίδραση του διαλύτη στην εκχύλιση αντιοξειδωτικών ουσιών _____	35
4.2.2 Φυσικές ιδιότητες _____	36
4.2.3 Περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και αντιοξειδωτική ικανότητα _____	38
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ _____	41
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ _____	42

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας	Σελίδα
Πίνακας 1.1: Διάρθρωση υποκατηγοριών στη βιομηχανία τροφίμων	3
Πίνακας 1.2.1: Φυσικοχημικές ιδιότητες τυρογάλακτος από παραγωγή φέτας	10
Πίνακας 1.2.2: Σύσταση τυρογάλακτος	10
Πίνακας 1.4.1 Ενδεικτικές εφαρμογές εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων	20
Πίνακας 4.1.1 Επίδραση της προσαρμογής του pH στο πάχος και τις οπτικές ιδιότητες των μεμβρανών	31
Πίνακας 4.2.1 Επίδραση προσθήκης αντιοξειδωτικών από απόβλητα καφέ στο πάχος και τις οπτικές ιδιότητες των μεμβρανών	37
Πίνακας 4.2.2 Επίδραση προσθήκης αντιοξειδωτικών από απόβλητα καφέ στη διαλυτότητα (S), προσρόφηση νερού (SI) και διαπερατότητα υδρατμών (WVP) των μεμβρανών.	38

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα	Σελίδα
Διάγραμμα 3.4.1 Καμπύλη γαλλικού οξέος με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu	28
Γράφημα 4.1.1 Διαλυτότητα και Ικανότητα προσρόφησης νερού σε μεμβράνες με pH 7, 8, 9, 12	32
Γράφημα 4.1.2 Διαπερατότητα υδρατμών σε μεμβράνες με προσαρμοσμένο pH	34
Γράφημα 4.2.1 Ολική περιεκτικότητα φαινολικών (TPC) και αντιοξειδωτική ικανότητα (D%) του εκχυλίσματος από απόβλητα καφέ με χρήση διαφορετικής συγκέντρωσης διαλύτη (αιθανόλη 40, 60 and 80%) κατά την 1η και 2η εκχύλιση	36
Γράφημα 4.2.2 Ολική περιεκτικότητα φαινολικών συστατικών (TPC) και αντιοξειδωτική ικανότητα (D%) των μεμβρανών που εμπλουτίστηκαν με εκχύλισμα πλούσιο σε αντιοξειδωτικά από τα απόβλητα καφέ	39

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή Νικόλαο Κοψαχείλη για την επιβλεψη και την καθοδήγηση.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στην Κατερίνα για την πολύτιμη βοήθειά της που χωρίς αυτήν δεν θα ήταν δυνατή η εκπόνηση της πτυχιακής εργασίας μου. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλη την ομάδα του εργαστηρίου Βιομηχανικών Ζυμώσεων και Χημείας Τροφίμων.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους μου καθώς και την οικογένεια μου για την συνεχή στήριξη και υπομονή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η ανάγκη προσαρμογής στους κανόνες του περιβάλλοντος

Για να ζουν οι άνθρωποι με βιώσιμο τρόπο, οι φυσικοί πόροι της Γης πρέπει να χρησιμοποιούνται με ρυθμό τέτοιο ώστε να μπορούν να ανανεώνονται. Όμως, η σύγχρονη καταναλωτική κοινωνία ασκεί τεράστιες πιέσεις στον πλανήτη. Το περιβαλλοντικό αποτύπωμα της Ευρώπης είναι ένα από τα μεγαλύτερα στον πλανήτη. Εάν ο υπόλοιπος κόσμος ζούσε όπως οι Ευρωπαίοι, θα χρειαζόνταν οι πόροι περισσότερων από δύο πλανήτες σαν τη Γη για να μπορέσουμε να επιβιώσουμε όλοι.

Η οικονομική ανάπτυξη και η εξέλιξη των σύγχρονων τεχνολογιών εδώ και πολλές δεκαετίες έχει επιτρέψει να απολαμβάνονται νέες ανέσεις στην καθημερινή ζωή, με αποτέλεσμα να αυξάνεται διαρκώς η ζήτηση σε προϊόντα και υπηρεσίες κατά συνέπεια και σε ενέργεια και πόρους.

Πολλά από τα περιβαλλοντικά προβλήματα που αντιμετωπίζονται σήμερα, όπως η υπερθέρμανση του πλανήτη, η ρύπανση, η εξάντληση των φυσικών πόρων και η απώλεια της βιοποικιλότητας, οφείλονται στον τρόπο με τον οποίον παράγουμε και καταναλώνουμε. Οι επιπτώσεις των καταναλωτικών συνηθειών είναι αισθητές σε ολόκληρο τον πλανήτη, η Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ) εξαρτάται από εισαγωγές ενέργειας και φυσικών πόρων, ενώ ολοένα και μεγαλύτερο ποσοστό των προϊόντων που καταναλώνονται στην Ευρώπη παράγεται σε άλλα μέρη του κόσμου. Οι μη βιώσιμοι τρόποι κατανάλωσης και παραγωγής επηρεάζουν ολοένα και περισσότερο το φυσικό περιβάλλον, την κοινωνία, την οικονομία και τις επιχειρήσεις. Η ανάγκη για ζωή με βιώσιμο τρόπο είναι επιτακτική. Αυτό σημαίνει ότι ο πλανήτης καλείται να επιτύχει περισσότερα αποτελέσματα με λιγότερα μέσα.

Η ποιότητα ζωής, η ευημερία και η οικονομική ανάπτυξη εξαρτώνται από την ικανότητά επιβίωσης βάσει των διαθέσιμων πόρων. Πρέπει, επομένως, να αλλάξει ο τρόπος σχεδιασμού, παραγωγής, χρήσης και διάθεσης των προϊόντων. Για να επιτευχθεί αυτή η αλλαγή χρειάζεται η συμμετοχή όλων-ατόμων, νοικοκυριών, επιχειρήσεων, τοπικών αρχών και εθνικών κυβερνήσεων- καθώς και της παγκόσμιας κοινότητας. (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2010).

1.1.2 Περί βιομηχανίας τροφίμων και ποτών σε ευρωπαϊκό και εγχώριο επίπεδο

Η βιομηχανία Τροφίμων και Ποτών συνιστά έναν από τους μεγαλύτερους τομείς της μεταποιητικής βιομηχανίας στην Ευρωπαϊκή Ένωση, όσον αφορά τον κύκλο εργασιών, την ακαθάριστη προστιθέμενη αξία, τον αριθμό των επιχειρήσεων και την απασχόληση. Αναδεικνύεται σταθερά ανάμεσα στους πρώτους κλάδους σε σχέση με τους άλλους σημαντικούς τομείς της ευρωπαϊκής οικονομίας, όπως η αυτοκινητοβιομηχανία, τα χημικά, τα βιομηχανικά μηχανήματα και τα μεταλλικά προϊόντα. Σε όρους πωλήσεων και απασχόλησης στη βιομηχανία Τροφίμων και Ποτών σε επίπεδο χωρών, η Γερμανία έχει σταθερά το προβάδισμα, ακολουθούμενη από τη Γαλλία, την Ιταλία, το Ηνωμένο Βασίλειο και την Ισπανία. Οι χώρες αυτές καλύπτουν συνολικά το 65-70% του Κύκλου εργασιών των χωρών της ΕΕ τα τελευταία χρόνια. Ο συνολικός κύκλος. Ο κύκλος εργασιών της ευρωπαϊκής βιομηχανίας τροφίμων και ποτών καλύπτει το 16% της συνολικής ευρωπαϊκής παραγωγής (στοιχεία 2010), ενώ η ακαθάριστη προστιθέμενη αξία του τομέα καλύπτει περίπου το 14%, αποσπώντας έτσι το μεγαλύτερο μερίδιο σε όρους προστιθέμενης αξίας από κάθε άλλο τομέα της ευρωπαϊκής μεταποίησης (IOBE, 2013).

Η παρασκευή τροφίμων και ποτών συμβάλλει σε διάφορες περιβαλλοντικές επιπτώσεις όπως τις εκπομπές αερίων θερμοκηπίου, τη ρύπανση του αέρα και των υδάτων, την παραγωγή αποβλήτων και την απώλεια βιοποικιλότητας. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Επιτροπή το 2006 τα τρόφιμα και τα ποτά αντιπροσώπευαν το 20 έως 30% των περιβαλλοντικών επιπτώσεων από τη συνολική κατανάλωση στην ΕΕ των 25.

Μια πιο πρόσφατη δημοσίευση (Fassio, 2012) δηλώνει ότι η παραγωγή τροφίμων και ποτών της ΕΕ είναι υπεύθυνη για:

- το 23% της παγκόσμιας χρήσης των πόρων
- το 18% των εκπομπών αερίων θερμοκηπίου
- το 1,8% της συνολικής κατανάλωσης νερού στην Ευρώπη (εκτός της γεωργίας)
- το 5,3% της βιομηχανικής τελικής κατανάλωσης ενέργειας παγκοσμίως, και
- για 90 εκατομμύρια τόνους απορριμμάτων τροφίμων κάθε χρόνο

Ο ρόλος της εγχώριας βιομηχανίας Τροφίμων είναι θεμελιώδης για την ελληνική μεταποιητική βιομηχανία και ευρύτερα για την ελληνική οικονομία. Η ελληνική βιομηχανία Τροφίμων συνιστά σταθερά έναν από τους πιο σημαντικούς τομείς του

δευτερογενούς τομέα της εγχώριας οικονομίας και μία από τις κινητήριες δυνάμεις της ελληνικής μεταποίησης, με τις εξελίξεις γύρω από αυτή να επηρεάζουν σημαντικά και το σύνολο της ελληνικής παραγωγής, έχοντας αποδείξει ότι διαθέτει τις προϋποθέσεις για να παραμείνει βασικός μοχλός ανάπτυξης(IOBE. 2015).

Η εγχώρια βιομηχανία τροφίμων καλύπτει πάνω από το 1/4 (26%) του συνόλου των επιχειρήσεων της ελληνικής μεταποίησης, γεγονός που την κατατάσσει πρώτη ανάμεσα στους κλάδους της μεταποίησης, ακολουθούμενη από τα Μεταλλικά προϊόντα (14%) και τα Είδη ένδυσης (10%). Ταυτόχρονα, συνιστά και το μεγαλύτερο εργοδότη της εγχώριας μεταποίησης, αφού σε αυτήν απασχολείται πάνω από το 1/4 (27%) του συνόλου των απασχολούμενων (9% τα Μεταλλικά προϊόντα και 6% τα Βασικά μέταλλα)(IOBE, 2015).

1.1.3 Γενική ταξινόμηση βιομηχανίας τροφίμων και ποτών

Σύμφωνα με την Στατιστική Ταξινόμηση των Οικονομικών Δραστηριοτήτων(ΣΤΑΚΟΔ, 2008), οι βιομηχανίες τροφίμων εντάσσονται στον κλάδο 10 και ανήκουν στον Τομέα Γ της Μεταποίησης. Οι βιομηχανίες του κλάδου 10 υποδιαιρούνται στους κάτωθι υπό κλάδους (ομάδες, ΣΤΑΚΟΔ 2008), όπως φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί.

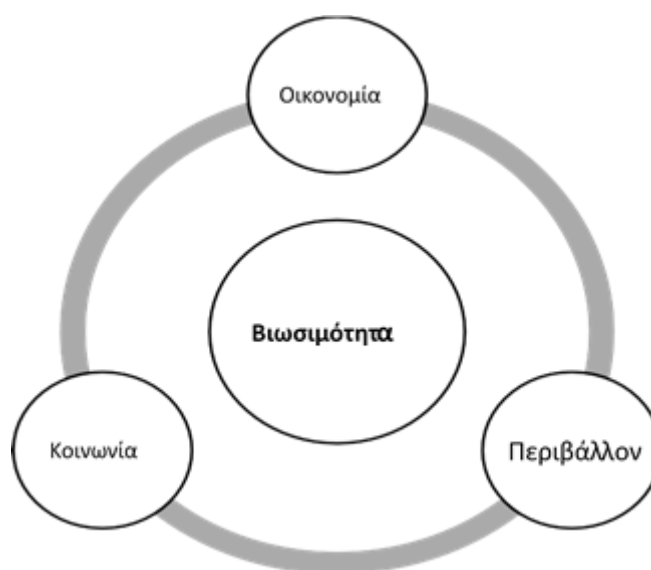
Πίνακας 2.1: Διάρθρωση υποκατηγοριών στη βιομηχανία τροφίμων (πηγή: ΣΤΑΚΟΔ 2008).

Υποκλάδος	Κατηγορία
10.1	Επεξεργασία και συντήρηση κρέατος και παραγωγή προϊόντων κρέατος
10.2	Επεξεργασία και συντήρηση ψαριών, καρκινοειδών και μαλακίων
10.3	Επεξεργασία και συντήρηση φρούτων και λαχανικών
10.4	Παραγωγή φυτικών και ζωικών ελαίων και λιπών
10.5	Παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων
10.6	Παραγωγή προϊόντων αλευρομύλων· παραγωγή αμύλων και προϊόντων αμύλου
10.7	Παραγωγή ειδών αρτοποιίας και αλευρωδών προϊόντων
10.8	Παραγωγή άλλων ειδών διατροφής
10.9	Παραγωγή παρασκευασμένων ζωοτροφών

Κατά αντιστοιχία, οι βιομηχανίες ποτοποιίας εντάσσονται στον κλάδο 11 κατά ΣΤΑΚΟΔ (2008). Από τον κλάδο αυτόν εξαιρούνται η παραγωγή χυμών από φρούτα και λαχανικά, η παραγωγή ποτών με βάση το γάλα, η παραγωγή προϊόντων καφέ και τσαγιού. Ο κλάδος αυτός υποδιαιρείται σε επτά υποκλάδους όπως φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί (Αγγελή, 2014).

1.1.4 Βιωσιμότητα και κυκλική οικονομία

Η αειφορία είναι μια αναδυόμενη πολύ σημαντική τάση, ζωτικής σημασίας για τις επιχειρήσεις που χρειάζεται να κατανοήσουν και να εφαρμόσουν στις καθημερινές τους πρακτικές. Στην επίτευξη της βιωσιμότητας δεν λαμβάνονται υπόψιν μόνο οι οικονομικές επιδόσεις, αλλά και οι περιβαλλοντικές και κοινωνικές επιπτώσεις. Οι εταιρίες που χτίζουν τις επιχειρηματικές πρακτικές τους με τη βιωσιμότητα στο “DNA” τους έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες επιτυχίας. Η βιώσιμη κατανάλωση έχει γίνει ένας βασικός στόχος και ένας από τους μεγαλύτερους παράγοντες της αλλαγής για τους καταναλωτές που επιθυμούν να κάνουν το καθήκον τους στη σωτηρία του πλανήτη. Οι εταιρίες έχουν ανταποκριθεί γνωρίζοντας νέα προϊόντα στο καταναλωτικό κοινό, συμβατά με τα βιώσιμα συμφέροντα (Forster, 2013).



Εικόνα 1: Οι τρεις πυλώνες της βιωσιμότητας. Πηγή: (Forster, 2013).

Ο παγκόσμιος πληθυσμός είναι εξαρτημένος από τη βιομηχανία τροφίμων για την παραγωγή, επεξεργασία και παράδοση ασφαλούς και θρεπτικής τροφής, κάθε μέρα του χρόνου. Οι απαιτήσεις σχετικά με την βιομηχανία τροφίμων από το αγρόκτημα στο πιάτο συνεχίζει να αυξάνεται. Ωστόσο η βιομηχανική παραγωγή τροφίμων συμβάλλει ήδη στην εκτεταμένη περιβαλλοντική ρύπανση και επηρεάζει την υγεία και την επιβίωσή του παγκόσμιου πληθυσμού. Η ποσότητα της ενέργειας που χρησιμοποιείται για την παραγωγή, επεξεργασία, συσκευασία, αποθήκευση, και στις μεταφορές τροφίμων είναι επτά μισή φορές το ποσό της ενέργειας που στην πραγματικότητα το φαγητό, παρέχει ως αντάλλαγμα (Heller & Keoleian, 2000). Ο στόχος της βιώσιμης ανάπτυξης στον κλάδο των τροφίμων είναι η παραγωγή και η κατανάλωση να στηρίζει την ευημερία των γενεών και να καλύπτει τις κοινωνικές απαιτήσεις (Baldwin, 2015).

Στις μέρες μας η έννοια της αειφορίας και της ανάπτυξης μίας βιώσιμης οικονομίας έχει γίνει επιτακτική. Το εταιρικό συμφέρον για την αειφορία έχει επηρεαστεί από πολλούς διαφορετικούς παράγοντες. Μεταξύ αυτών των παραγόντων είναι η ποσότητα του άνθρακα, οι κύκλοι ζωής των προϊόντων, το κόστος της ενέργειας και της ρύπανσης που προκαλείται, η χρήση των φυσικών πόρων και τις ανησυχίες των καταναλωτών. Οι Press και Arnould (2009) υποστηρίζουν ότι τα οικονομικά οφέλη της εφαρμογής της βιωσιμότητας είναι ορατά για την επιχείρηση αφού οι καταναλωτές επιβραβεύουν τέτοιες πρωτοβουλίες. Η βιωσιμότητα είναι γενικά σήμερα ο βασικός παράγοντας επιτυχίας στη μακροπρόθεσμη επιχειρηματική στρατηγική των επιχειρήσεων και οι επιχειρήσεις που ενσωματώνουν την αειφορία στη στρατηγική μάρκετινγκ τους, θεωρείται ότι έχουν ένα ανταγωνιστικό πλεονέκτημα σε σχέση με άλλες εταιρίες.

Η ιδέα της κυκλικής οικονομίας (circular economy) αντιμετωπίζεται όλο και περισσότερο ως λύση σε μια σειρά προκλήσεων, όπως η παραγωγή αποβλήτων, η έλλειψη πόρων και η διατήρηση οικονομικών οφελών. Συγκεκριμένες περιστάσεις και κίνητρα τόνωσαν στο παρελθόν ιδέες σχετικές με την κυκλικότητα μέσω δραστηριοτήτων όπως: επαναχρησιμοποίηση, ανάκτηση ή ανακύκλωση. Κύριοι στόχοι αυτής της δράσης είναι να υπάρξει συνολική επανεξέταση των ερευνητικών προσπαθειών που θα περιλαμβάνουν τρεις διαστάσεις, τη λειψυδρία, τη δημιουργία αποβλήτων και τα οικονομικά πλεονεκτήματα που προκύπτουν, και να προτείνει μια στρατηγική εφαρμογή με προσέγγιση από την κορυφή προς τη βάση και από τη βάση προς την κορυφή με ταυτόχρονο τρόπο (Lieder & Rashid 2016).

1.2 Εισαγωγή στην τυροκομία

Η έννοια του τυριού έχει ορισθεί με διαφορετικό τρόπο από διάφορους οργανισμούς, αλλά κοινό στοιχείο όλων είναι ότι είναι ένα προϊόν που προέρχεται από την πήξη του γάλακτος και την στράγγιση του τυροπήγματος. Αναφορές για τη παραγωγή τυριού υπάρχουν από τη αρχαιότητα αν και η ακριβής προέλευση του είναι άγνωστη. Πιστεύεται ότι η ανακάλυψη της τυροκομίας έγινε τυχαία από τις νομαδικές φυλές της Κεντρικής Ασίας ή της Μέσης Ανατολής που είχαν ως κύρια απασχόληση την κτηνοτροφία. Η παραγωγή τυριού σε βιομηχανική κλίμακα έχει διαδοθεί σε όλο τον κόσμο, αντικαθιστώντας την παραδοσιακή τυροκομία ενώ εξελίσσεται συνεχώς, κυρίως στην Ευρωπαϊκή Ένωση η οποία είναι πρώτη παγκοσμίως σε παραγωγή και εξαγωγές τυριών.

Σύμφωνα με στοιχεία του διεθνή οργανισμού FAO (Food and Agriculture Organization) η παγκόσμια παραγωγή τυριού αυξάνεται ολοένα, αν και με αργούς ρυθμούς, και αποτελεί την πιο σημαντική αγορά γαλακτοκομικών προϊόντων. Στην Ελλάδα τα πρώτα τυροκομεία-βιοτεχνίες δημιουργήθηκαν τον 17ο και 18ο αιώνα σε ορεινές περιοχές αποτελώντας αναπόσπαστο στοιχείο των μεγάλων οικογενειακών κτηνοτροφικών εκμεταλλεύσεων ενώ η πρώτη μεγάλη γαλακτοβιομηχανία ιδρύθηκε στην Αθήνα το 1934. Ιδιαίτερη ανάπτυξη παρατηρήθηκε μετά τη δεκαετία του 1960 όταν η Αγροτική Τράπεζα χρηματοδότησε την ίδρυση και λειτουργία σύγχρονων τυροκομείων. Αν και ανέκαθεν η τυροκομία στην Ελλάδα αποτελούσε έναν από τους πιο σημαντικούς τομείς απασχόλησης, σήμερα η βιομηχανία γαλακτοκομικών προϊόντων αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα τμήματα του κλάδου τροφίμων καθώς βρίσκεται στη δεύτερη θέση μετά το κρέας και τα αλλαντικά. Οι μεγάλες επιχειρήσεις του κλάδου παράγουν εκτός από τυρί παράγουν και μια πληθώρα άλλων γαλακτοκομικών προϊόντων που προέρχονται από την επεξεργασία του γάλακτος (γιαούρτι, κρέμα, βούτυρο, παγωτά κ.α). Ωστόσο ο κλάδος αποτελείται κυρίως από αποκεντρωμένες μικρές ή μεσαίου μεγέθους μονάδες διάσπαρτες στην ελληνική ύπαιθρο.

1.2.1 Απόβλητα της τυροκομίας

Η παραγωγική διαδικασία παραγωγής τυριού έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων αποβλήτων. Ως απόβλητα των γαλακτοβιομηχανιών θεωρούνται όλα τα υποπροϊόντα ή παράγωγα της παραγωγικής διαδικασίας, που είτε

έπαψαν να έχουν οποιαδήποτε οικονομική αξία για την επιχείρηση είτε η παραπέρα διαχείριση ή επεξεργασία τους κρίνεται οικονομικά ασύμφορη (Γεωργακάκης, 2003). Πιο σημαντικά και επιβαρυντικά για το περιβάλλον θεωρούνται τα υγρά απόβλητα των τυροκομικών μονάδων, τα οποία προκύπτουν από:

- Τις απώλειες γάλακτος. Η πλήρωση των δεξαμενών με το γάλα είναι μια μη συνεχής διαδικασία καθώς οι δεξαμενές ξαναγεμίζουν σε κάθε νέα παρτίδα. Στο τέλος κάθε παρτίδας, ένα μικρό μέρος του γάλακτος παραμένει στο δοχείο επεξεργασίας.
- Τα υπολείμματα τυροπήγματος τα οποία συμβάλλουν στην αύξηση της συγκέντρωσης των αιωρούμενων στερεών.
- Το διαχωρισμό των υγρών (τυρόγαλα ή ορός γάλακτος) κατά την παραγωγική διαδικασία.
- Διαρροές από υπερχειλίσεις των δεξαμενών, από ελαττωματική λειτουργία του εξοπλισμού, από τις σωληνώσεις, από ατυχήματα κατά τη μεταφορά του γάλακτος, κ.α.
- Απώλειες υλικών κατά την εκκίνηση και κατά την διακοπή των παραγωγικών διαδικασιών.
- Το πλύσιμο του μηχανολογικού εξοπλισμού.
- Το πλύσιμο των σκευών και των καλουπιών που χρησιμοποιούνται κατά την παραγωγική διαδικασία.
- Το πλύσιμο των χώρων του εργοστασίου (δάπεδα, τοίχοι κλπ.)
- Το πλύσιμο των βυτιοφόρων
- Την ψύξη των μηχανημάτων (εναλλάκτες θερμότητας, δεξαμενές κλπ.)

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η παραγωγή αποβλήτων είναι περιοδική (Chen et al., 2007) ιδίως στις μικρές μονάδες. Ο όγκος και η συγκέντρωση τους εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως ο τύπος και η ποσότητα των προϊόντων που παράγονται, η παραγωγική διαδικασία που ακολουθείται, το είδος και η κατάσταση του μηχανολογικού εξοπλισμού παραγωγής καθώς και οι πρακτικές καθαρισμού. Σημαντικό ρόλο παίζουν και οι πρακτικές περιορισμού απωλειών προϊόντος και ελαχιστοποίησης των αποβλήτων που ακολουθούνται. Αξίζει να σημειωθεί ότι 1 λίτρο επεξεργαζόμενο γάλα μπορεί να δώσει υγρά απόβλητα από 0,2 έως και 10 λίτρα (Balannec et al., 2005).

Τα υγρά απόβλητα των τυροκομικών μονάδων περιέχουν κυρίως γάλα, πρωτεΐνες, λακτόζη, αλάτι, λιπαρές ουσίες, καθώς και διάφορες χημικές ουσίες καθαρισμού (Thassitou & Arvanitoyannis 2001, Μακρής και Χαραλάμπους, 2001, Μάντης, 1993).

Γενικά τα τυροκομικά υγρά απόβλητα έχουν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά (Kosseva, 2009, Μάντης, 1993):

- υψηλό οργανικό φορτίο,
- υψηλά επίπεδα αζώτου και φωσφόρου,
- μεγάλες διακυμάνσεις ως προς την θερμοκρασία ανάλογα με το είδος του τυριού,
- μεγάλες διακυμάνσεις ως προς το pH επειδή περιέχουν βασικές και όξινες απορρυπαντικές ουσίες.

Είναι χαρακτηριστικό το γεγονός ότι οι περισσότερες μονάδες είναι αποκεντρωμένες και σε πολλές περιπτώσεις εγκατεστημένες δίπλα σε ρέματα ή ανοικτούς χώρους, στους οποίους απορρίπτουν τα απόβλητα. Παρατηρείται έτσι το φαινόμενο κάποιες μονάδες να λειτουργούν χωρίς σωστή διαχείριση των αποβλήτων τους. Η πιο πάνω κατάσταση προέκυψε λόγω μιας διαχρονικής αντίληψης της κοινωνία ότι πρωτίστη σημασία έχει η οικονομική ανάπτυξη της περιοχής τους και συνεπώς κάθε φυσικός πόρος θα πρέπει να αντιμετωπίζεται ως μία από τις συνιστώσες της ανάπτυξης αυτής. Αποδεικνύεται λοιπόν στην πράξη ότι οι μικρομεσαίες οικογενειακές τυροκομικές επιχειρήσεις στην Ελλάδα είναι απροετοίμαστες για τις σύγχρονες εξελίξεις όσον αφορά στην διαχείριση των αποβλήτων τους. Αν και νομοθετικά το πρόβλημα της διαχείρισης των αποβλήτων των τυροκομείων είναι διευθετημένο, το πρόβλημα ρύπανσης του περιβάλλοντος συνεχίζει να υφίσταται.

1.2.2 Τυρογάλα: το κυριότερο απόβλητο της τυροκομίας

Τυρογάλα είναι το υγρό που διαχωρίζεται κατά τη διάρκεια της πήξης του γάλακτος και της στράγγισης του (Εικόνα 1.2.1). Το παραπροϊόν αυτό της βιομηχανίας των τυροκομείων περιγράφεται ξεχωριστά και πιο αναλυτικά καθώς αντιπροσωπεύει το 85-95% περίπου του όγκου του γάλακτος και περιέχει το 55% των θρεπτικών του συστατικών (Καραδήμα, 2009), αν και τα ποσοστά αυτά ποικίλουν ανάλογα με το είδος του τυριού που παρασκευάζεται και την τεχνολογία που εφαρμόζεται (Βαμβακάκη et

al.,2009). Για να αντιληφθεί κανείς πόσο σημαντικό είναι το πρόβλημα της διαχείρισης του τυρόγαλου για ένα τυροκομείο αρκεί να λάβει υπόψη του ότι για την παρασκευή ενός κιλού τυριού παράγονται 9 κιλά τυρογάλακτος (Καραδήμα, 2009). Εκτιμάται ότι μόνο στην Ευρωπαϊκή Ένωση παράγονται περισσότεροι από 17,5 χιλιάδες τόνοι τυρόγαλα ετησίως (Kosseva, 2009) ενώ παγκοσμίως παράγονται περίπου 120 εκατομμύρια τόνοι τυρογάλακτος (Peters, 2006). Η ποσοστιαία αναλογία των συστατικών του δεν είναι σταθερή και εξαρτάται από το είδος του γάλακτος που χρησιμοποιείται και το είδος του τυριού που παρασκευάζεται. Έτσι η περιεκτικότητά του σε στερεά συστατικά μπορεί να κυμαίνεται από 6-8%. Γενικά το τυρόγαλα από πρόβειο γάλα είναι σχετικά πλουσιότερο σε συνολικά στερεά από το αντίστοιχο αγελαδινό (Μάντης, 1993).



Εικόνα 1.2.1 Το τυρόγαλο

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 1.2.1 στο τυρόγαλα περιέχεται μεγάλο ποσοστό της λακτόζης, το σύνολο σχεδόν των οροπρωτεϊνών του γάλακτος και μέταλλα (Jelen, 2002). Χαρακτηριστικό των αζωτούχων ουσιών του τυρογάλακτος είναι ότι σε αυτές η καζεΐνη υπάρχει σε ίχνη. Δεσπόζουν στην περίπτωση αυτή οι αλβουμίνες και γλοβουλίνες του γάλακτος που δεν πήζουν με την πυτιά ή με την οξίνισή του. Πέραν αυτών υπάρχουν πρωτεόζες-πεπτόνες και πλήθος άλλων υδατοδιαλυτών αζωτούχων ουσιών (Καμιναρίδης, 2015). Στο τυρόγαλα βρίσκονται επίσης διάφορα διαλυτά άλατα, υδατοδιαλυτές βιταμίνες καθώς και μικρή ποσότητα λίπους η οποία όμως αυξάνεται όταν το τυρόπηγμα θερμαίνεται. Σε πολύ μικρότερες ποσότητες περιέχει και άλλα συστατικά, όπως γαλακτικό και κιτρικό οξύ, μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ενώσεις όπως ουρία, ουρικό οξύ και βιταμίνες του συμπλέγματος Β. Υπήρξαν και περιπτώσεις που βρέθηκαν στο τυρόγαλα σε πολύ μικρές ποσότητες βαρέα μέταλλα. Παρατηρήθηκε όμως ότι σε αυτά τα

περιστατικά το τυρόγαλα ή ήταν αναμιγμένο με νερά πλυσίματος, ή ήταν σε μορφή σκόνης (Καραδήμα, 2009).

Τέλος, το τυρόγαλα κατατάσσεται σε ξινό και γλυκό τυρόγαλα με ελαφρώς διαφορετική σύσταση, όπως φαίνεται στον πίνακα 1.2.2.

Πίνακας 1.2.1: Φυσικοχημικές ιδιότητες τυρογάλακτος από παραγωγή φέτας (πηγή: Philiporopoulos & Papadakis, 2001).

Ιδιότητα	Τιμή	Απόκλιση
pH	6.32	0.1
Πυκνότητα(Kg/m ³)	1029.2	1.4
Ολικά Στερεά(g/Kg)	69.8	5.6
Πρωτεΐνες(g/Kg)	13	0.7
Λίπη(g/Kg)	0.3	0.2
Λακτόζη(g/Kg)	50.7	3.5
Ασβέστιο(g/Kg)	356	36
Φώσφορος(g/Kg)	385	28
Μαγνήσιο(g/Kg)	93	7
Κάλιο(g/Kg)	1154	85
Νάτριο(g/Kg)	434	36
Χλώριο(g/Kg)	1246	377

Πίνακας 1.2.2: Σύσταση τυρογάλακτος (πηγές: Jelen, 2002, Καραδήμα, 2009).

Συστατικά	Όξινο τυρόγαλα	Γλυκό τυρόγαλα
	g/L τυρογάλακτος	
Λακτόζη	44.0-46.0	46.0-52.0
Πρωτεΐνη	6.0-8.0	6.0-10.0
Ασβέστιο	1.2-1.6	0.4-0.6
Φωσφορικά	2.0-4.5	1.0-3.0
Άλατα		
Λακτάση	6.4	2.0
pH	<5	6-7

1.2.3 Επεξεργασία και αξιοποίηση τυρογάλακτος

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω τα τυροκομεία παράγουν πλήθος αποβλήτων με το πιο κύριο αυτών να είναι ο ορός γάλακτος (τυρόγαλα) το οποίο μάλιστα έχει υψηλό οργανικό φορτίο. Ωστόσο, το τυρόγαλα μπορεί να επεξεργασθεί και να αξιοποιηθεί κατάλληλα, ώστε να μειωθούν το οργανικό φορτίο κι αφετέρου να παραχθούν προϊόντα υψηλής προστιθέμενης αξίας.

Για την αξιοποίηση του τυρογάλακτος θα πρέπει ληφθεί υπόψη τα πλεονεκτήματα που παρουσιάζει το τυρόγαλα, όπως:

- υψηλό ποσοστό πρωτεϊνών (χαμηλό στο αποπρωτεϊνομένο τυρόγαλα)
- υψηλό ποσοστό σακχάρων κι επιπρόσθετα
- είναι προϊόν ευτελούς αξίας

Ωστόσο, το τυρόγαλα παρουσιάζει και κάποια μειονεκτήματα. Για παράδειγμα για την αξιοποίηση του τυρογάλακτος αντιμετωπίζονται διάφορες δυσκολίες από τις οποίες οι πιο σημαντικές είναι:

- το μεγάλο μικροβιακό φορτίο που το καθιστά ευπαθές. Αν δεν παστεριωθεί αμέσως μετά την παραγωγή του, αλλοιώνεται σε σύντομο χρονικό διάστημα.
- η σύστασή του δεν είναι σταθερή. Κυμαίνεται ανάλογα με τον τύπο του τυριού και το είδος του γάλακτος από τα οποία προέρχεται.
- περιέχει χαμηλό σχετικά ποσοστό στερεών συστατικών, πράγμα που επιβαρύνει το κόστος επεξεργασίας του.

Σήμερα η βιομηχανία χρησιμοποιεί το πλήρες τυρόγαλα για την παραγωγή τυριών τυρογάλακτος όπως είναι η μυζήθρα, το ανθότυρο, μανούρι, τυρί τύπου cottage/Philadelphia κλπ. ή για την παραγωγή οροπρωτεΐνης για να χρησιμοποιείται ως πρόσθετο τροφίμων. Επίσης το πλήρες τυρόγαλα μπορεί να χρησιμοποιηθεί μετά από ξήρανση ως ζωοτροφή κυρίως σε χοίρους. Το αποπρωτεϊνομένο τυρόγαλα ή απόγαλα (μετά την απομάκρυνση αξιοποίηση και των ορό-πρωτεϊνών του) είναι το κύριο απόβλητο και εξακολουθεί να περιέχει μεγάλο ρυπαντικό φορτίο λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας σακχάρων και κυρίως λακτόζης που περιέχει.

Οι μέθοδοι επεξεργασίας και διαχείρισης των αποβλήτων των τυροκομείων και του τυρόγαλου ειδικότερα μπορούν να διαχωριστούν σε δύο βασικές κατηγορίες, τις φυσικοχημικές και τις βιολογικές μεθόδους.

Φυσικοχημικές μέθοδοι επεξεργασίας

Με τη χρήση φυσικοχημικών μεθόδων επεξεργασίας των αποβλήτων των τυροκομείων ο βασικός στόχος είναι η αξιοποίηση των πρωτεϊνών που περιέχει σε μεγάλο ποσοστό το τυρόγαλο. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες μέθοδοι για αυτό το σκοπό είναι η υπερδιήθηση και το φιλτράρισμα (diafiltration) επειδή παρουσιάζουν σημαντικά πλεονεκτήματα. Έχουν μειωμένο κόστος, μεγάλη ταχύτητα ολοκλήρωσης της διαδικασίας, δεν οδηγούν σε αλλαγή της δομής των πρωτεϊνών και το τελικό προϊόν είναι ελεύθερο αλάτων, άρα και κατάλληλο να χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο αριθμό τροφίμων. Με την νάνο-διήθηση και την κρυσταλλοποίηση στη συνέχεια, απομονώνεται η λακτόζη η οποία χρησιμοποιείται ευρέως στις βιομηχανίες τροφίμων και φαρμάκων (Gardner, 1989).

Βιολογικές μέθοδοι επεξεργασίας

Η βιολογική αποικοδόμηση είναι μια από τις πιο υποσχόμενες μεθόδους αφαίρεσης της οργανικής ύλης από τα απόβλητα των τυροκομείων. Η στερεά ιλύς όμως που σχηματίζεται αποτελεί βασικό πρόβλημα γιατί είναι δύσκολη η περαιτέρω διάθεσή της. Οι βιολογικές μέθοδοι επεξεργασίας υποδιαιρούνται στην α) αερόβια και την β) αναερόβια χώνευση.

Η αερόβια χώνευση στηρίζεται στην ανάπτυξη μικροοργανισμών σε ένα περιβάλλον πλούσιο σε οξυγόνο, οι οποίοι θα οξειδώσουν τα οργανικά συστατικά του αποβλήτου σε διοξείδιο του άνθρακα, νερό και NO_2 , ορισμένα μη διασπάσιμα οργανικά υλικά και υπολειμματικό (οργανικό) κυτταρικό υλικό. Ως αναερόβια χώνευση χαρακτηρίζεται η βιολογική διεργασία κατά την οποία η οργανική ύλη διασπάται με τη δράση μικροβιακού πληθυσμού που διαβίει σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου και είναι η μέθοδος επεξεργασίας που προτιμάται συνήθως για υγρά απόβλητα υψηλού οργανικού φορτίου, όπως είναι και το τυρόγαλο, λόγω της μικρότερης παραγωγής βιομάζας συγκριτικά με την αερόβια επεξεργασία. Η αναερόβια χώνευση παρουσιάζει ορισμένα βασικά στάδια. Προκειμένου να ξεκινήσει η αναερόβια επεξεργασία, απαιτείται ένα

μεγάλο συνήθως χρονικό διάστημα, για να εγκλιματιστεί ο μικροβιακός πληθυσμός στο απόβλητο που έχει επιλεγεί για χώνευση (Gavala et al., 1996).

Ένας τρόπος αξιοποίησης του τυρογάλακτος είναι η παραγωγή καυσίμου από αυτό. Αυτή η διαδικασία γίνεται με την αναερόβια επεξεργασία των λυμάτων των τυροκομείων. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η διαδικασία αυτή (αναερόβια χώνευση) αποτελεί μια από τις παλαιότερες μεθόδους βιολογικής επεξεργασίας. Έτσι από τη χώνευση της βιομάζας, παράγεται βιοαέριο, μια ανανεώσιμη πηγή ενέργειας φιλική προς το περιβάλλον που χρησιμοποιείται για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών του εργοστασίου. Το βιοαέριο αναφέρεται συνήθως σε ένα μείγμα διαφορετικών αερίων που παράγονται από την αποσύνθεση οργανικής ύλης απουσία οξυγόνου. Είναι ανανεώσιμη πηγή ενέργειας και σε πολλές περιπτώσεις χρησιμοποιεί ένα πολύ μικρό αποτύπωμα άνθρακα. Στο τελικό στάδιο της επεξεργασίας, αντιμετωπίζεται και το ζήτημα της παραγόμενης λυματολάσπης, με μονάδα ξήρανσης και καύσης η οποία δίνει ως υπόλειμμα εξουδετερωμένη ανόργανη τέφρα και κατ' επέκταση, μηδενικά οργανικά απόβλητα στο περιβάλλον.

1.3 Παραγωγή καφέ

Η ιστορία του καφέ ξεκινάει όταν γύρω στο 600 μ.Χ. στην Αιθιοπία, ένας βοσκός παρατήρησε ότι τα πρόβατα του ήταν εξαιρετικά ζωντανά, όταν έτρωγαν τους καρπούς ενός άγνωστου φυτού. Ο βοσκός αποφάσισε να δοκιμάσει τους περίεργους καρπούς και ανακάλυψε τις ευεργετικές τους ιδιότητες. Οι Άραβες ήταν οι πρώτοι που υιοθέτησαν τον καφέ ως ρόφημα, συχνά προσθέτοντας στο μίγμα γαρύφαλλο, κανέλλα, κάρδαμο και γλυκάνισο. Την εποχή του μεσαίωνα, το φυτό του καφέ καλλιεργείται στην Αραβία κοντά στην Ερυθρά Θάλασσα και οι Άραβες προσπαθούν να διατηρήσουν το μονοπώλιο της καλλιέργειάς του. Το όνομα του, προέρχεται από την αραβική λέξη κάουα, που σημαίνει «αυτό που εμποδίζει τον ύπνο». Ο καφές, ως έτοιμο προϊόν, καθώς οι Άραβες απαγόρευαν αυστηρά την εξαγωγή σπόρων, πέρασε στην Ευρώπη από τη Βενετία, που διατηρούσε ισχυρές εμπορικές σχέσεις με τον αραβικό κόσμο, στα τέλη του 16ου αιώνα.

Ο καφές, έχει εξαπλωθεί και συνεχίζει να απλώνεται ραγδαία ανά την υφήλιο, αφήνοντας θεατές και αθέατες επιδράσεις σε όλο το φάσμα της ζωής. Σήμερα, στη Βραζιλία, τον μεγαλύτερο παραγωγό καφέ παγκοσμίως, πάνω από πέντε εκατομμύρια άνθρωποι ασχολούνται με την καλλιέργεια και τη συγκομιδή καρπών. Φαίνεται ότι ο

καφές παίζει σημαντικό ρόλο για την οικονομία και την πολιτική πολλών αναπτυσσόμενων χωρών, αφού η καλλιέργεια, η μεταποίηση και η εμπορία του παρέχουν απασχόληση σε εκατομμύρια ανθρώπους. Η βελτίωση του βιοτικού επιπέδου των παραγωγών καφέ, ιδίως των μικροκαλλιεργητών, αποτελεί προτεραιότητα για τις κυβερνήσεις, όπως τονίστηκε στην τελευταία Παγκόσμια Διάσκεψη για τον Καφέ, που πραγματοποιήθηκε το 2016 .

Η αξία του καφέ έχει εξισωθεί με τη βαρύτητα του πετρελαίου και του χρυσού, ενώ η κατανάλωση του μέλλεται να φτάσει σε ακόμα πιο υψηλά ποσοστά, γεγονός που ανάγει τον καφέ σε αναγκαίο αγαθό της καθημερινότητας της πλειοψηφίας των ανθρώπων. Είναι κοινώς αποδεκτό ότι ο καφές κατέχει ξεχωριστή και σημαντική θέση στη ζωή μας, όχι μόνο για τη γεύση και την τόνωση που μας προσφέρει, αλλά και για τις κοινωνικές και πολιτισμικές του προεκτάσεις.

1.3.1 Απόβλητα επεξεργασίας καφέ

Αν και υπάρχουν διάφορα υποπροϊόντα που προκύπτουν κατά τη διάρκεια των διάφορων σταδίων επεξεργασίας καφέ, το μεγαλύτερο κατάλοιπο λαμβάνεται κατά την παρασκευή ροφημάτων. Η ακατέργαστη σκόνη καφέ έρχεται σε επαφή με ζεστό νερό ή ατμό υπό συνθήκες που ευνοούν την απελευθέρωση αρωματικών ενώσεων και άλλων συστατικών του καφέ, σε ολικό υγρό. Έτσι, προκύπτουν ως απόβλητο οι επεξεργασμένοι κόκκοι καφέ (spent coffee grounds, SCG). Οι SCG είναι εξαιρετικά ρυπογόνοι παράγοντες λόγω της παρουσίας οργανικού υλικού, που απαιτεί μεγάλη ποσότητα οξυγόνου για την αποικοδόμηση του, καθώς και ενώσεων όπως η καφεΐνη, οι ταννίνες και οι πολυφαινόλες, οι οποίες πιθανό να προκαλέσουν αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον λόγω της τοξικότητάς τους. Έτσι, η χρήση τους ως λίπασμα δεν συνιστάται. Ομοίως, η καύση των SCG δημιουργεί περιβαλλοντικά προβλήματα μέσω απελευθέρωσης αερίων θερμοκηπίου στην ατμόσφαιρα. Δεδομένης της κλίμακας της κατανάλωσης καφέ ανά την υφήλιο, αναμένεται ότι η παραγωγή αποβλήτων καφέ θέτει μια σοβαρή απειλή για το περιβάλλον και τη βιωσιμότητα της βιομηχανίας καφέ, εφόσον αυτά τα απόβλητα τύχουν της ανάλογης διαχείρισης.

Τα υπολείμματα καφέ χρησιμοποιούνται ως επί το πλείστον ανεπαρκώς παρά το γεγονός ότι αυτά παράγονται σε μεγάλες ποσότητες ετησίως. Σήμερα, διατίθενται κυρίως σε χώρους υγειονομικής ταφής ή μικρές ποσότητες χρησιμοποιούνται προς κομποστοποίηση. Έχει καταστεί σαφές ότι πρέπει οπωσδήποτε να μειωθούν τα

απόβλητα και να προστατευθεί όσο το δυνατό περισσότερο το περιβάλλον, πράγμα που ενθαρρύνει, όσο ποτέ άλλοτε, την αναζήτηση πιθανών μεθόδων χρήσης των αποβλήτων. Η τάση αυτή ενθαρρύνεται από την αέναη διαθεσιμότητα του καφέ ως πρώτη ύλη βιομάζας.

Έντονο ενδιαφέρον παρατηρείται τα τελευταία χρόνια για την αξιοποίηση των υπολειμμάτων καφέ και ειδικότερα των επεξεργασμένων κόκκων καφέ. Έχουν πραγματοποιηθεί εκτενείς έρευνες με στόχο την κατάλληλη διαχείριση αυτών των απορριμμάτων. Κατά κύριο λόγο, η σύσταση τους είναι αυτή που έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών, καθώς αποτελούν μια ελκυστική πρώτη ύλη για επεξεργασία και εν τέλει παραλαβή χρήσιμων προϊόντων.

1.3.2 Σύσταση υπολειμμάτων καφέ και δυνατότητες αξιοποίησης

Τα υπολείμματα καφέ χαρακτηρίζονται από υψηλή οργανική σύσταση σε υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, φυτικές ίνες, καφεΐνη, πολυφαινόλες, ταννίνες, και πηκτίνες. Συγκεκριμένα, η περιεκτικότητα των SCG σε πρωτεΐνη κυμαίνεται μεταξύ 14% και 17.5% κ.β. Παρόλ' αυτά, η καταλληλότητα των πρωτεϊνών αμφισβητείται, λόγω της παρουσίας φαινολικών ενώσεων και φλαβονοειδών. Λόγω της σύστασης αυτής, τα απόβλητα SCG, μέσω περαιτέρω επεξεργασίας δύναται να χρησιμοποιηθούν ως πιθανή πρώτη ύλη για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων, όπως για παράδειγμα ένζυμα, οργανικά οξέα, αρώματα και αρωματικές ενώσεις.

Τα υπολείμματα του καφέ χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε άνθρακα (55% κ.β.), γεγονός που υποδηλώνει ότι μπορεί να επαναχρησιμοποιηθούν απευθείας ως πηγή βιομάζας. Επιπλέον, λόγω της υψηλής θερμαντικής του αξίας και του υψηλού περιεχόμενου του σε οργανικό άνθρακα, το στερεό προϊόν της πυρόλυσης είναι σε θέση να αξιοποιηθεί ως στερεό βιοκαύσιμο για τη παραγωγή ενέργειας στο βιομηχανικό τομέα. Επίσης, φαίνεται ότι είναι εμπλουτισμένο και σε θρεπτικά συστατικά όπως φώσφορο, ασβέστιο, μαγνήσιο, κάλιο και άζωτο, ως εκ τούτου προτείνεται η εφαρμογή του ως εδαφοβελτιωτικό.

Επιπρόσθετα, χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε έλαιο, που κυμαίνεται από 10 έως 15% κ.β, ενώ η υψηλή περιεκτικότητα σε λιγνοκυτταρίνη οδηγεί σε μια άλλη πιθανή αξιοποίηση των υπολειμμάτων, την παραγωγή σακχάρων, προς ζύμωση για βιοαιθανόλη που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο.

Τέλος, με βάση το συνολικό φαινολικό τους περιεχόμενο, προκύπτει από ότι οι επεξεργασμένοι κόκκοι καφέ δύναται να αποτελέσουν ένα εκμεταλλεύσιμο πόρο για

την παραγωγή αντιοξειδωτικών. Η ανάκτηση των βιοδραστικών ενώσεων πριν την χρήση τους για παραγωγή ενέργειας αποτελεί μια πολύ ενδιαφέρουσα προσέγγιση αξιοποίησης τους. Είναι αξιοσημείωτο επίσης, ότι το εκχύλισμα του εξαντλημένου καφέ έχει χαρακτηριστεί ως πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών, με αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις και αντί-αλλεργικές ιδιότητες, και ταυτόχρονα αποτελεί πηγή προβιοτικών ενώσεων, όπως και αντιμικροβιακή δράση (Esquivel and Jimenez, 2012).

1.4 Παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών

Η εδώδιμη επικάλυψη ορίζεται ως ένα λεπτό στρώμα φυσικού πολυμερούς που χρησιμοποιείται για την επικάλυψη των τροφίμων, ενώ η εδώδιμη μεμβράνη είναι ένα λεπτό στρώμα προ-σχηματισμένου φυσικού πολυμερούς που μόλις σχηματιστεί μπορεί να τοποθετηθεί πάνω σε τρόφιμα. Η κύρια διαφορά μεταξύ μιας εδώδιμης μεμβράνης και μιας επίστρωσης είναι ότι το πρώτο είναι μια ανεξάρτητη δομή που προστίθεται στην επιφάνεια του προϊόντος σε μεταγενέστερο στάδιο, ενώ το δεύτερο είναι ένα λεπτό στρώμα που σχηματίζεται απευθείας στην επιφάνεια του προϊόντος με εμβάπτιση, βούρτσισμα ή ψεκασμό.

Ο βασικός σκοπός της χρήσης εδώδιμης συσκευασίας είναι η παράταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος και η πιθανότητα κατανάλωσης ή μη κατανάλωσης του φαγητού κατά την περαιτέρω αφαίρεση. Οι εδώδιμες μεμβράνες εμποδίζουν την υγρασία και τα αέρια να εξαπλωθούν, αέρια όπως το οξυγόνο το διοξείδιο του άνθρακα και το αιθυλένιο. Χρησιμοποιούνται σε φρέσκα φρούτα και λαχανικά για να αυξήσουν το χρόνο ζωής τους, για να αποφευχθεί η απομάκρυνση της υγρασίας και ταυτόχρονα να επιβραδυνθεί ο ρυθμός αναπνευστικής δραστηριότητας χωρίς τον κίνδυνο αναερόβιων αναπνευστικών συνθηκών που οδηγούν στην ταχεία φθορά τους (McHugh, 2000). Επίσης η επιφάνεια των τροφίμων προστατεύεται από την μεμβράνη και δεν χάνει σημαντικά συστατικά όπως αρωματικές ενώσεις και λιπίδια. Τα φρούτα, και πιο συγκεκριμένα η φλούδα των φρούτων η οποία τα προστατεύει και διαδραματίζει μεγάλο ρόλο στην συντήρησή τους, έδωσαν την ιδέα για να χρησιμοποιηθούν εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις στα τρόφιμα.

Μέχρι σήμερα έχουν πραγματοποιηθεί πολλές έρευνες για την αξιοποίηση της πρωτεΐνης τυρογάλακτος με στόχο την ανάπτυξη εδώδιμων μεμβρανών δίνοντας βάση στη μεθοδολογία σύνθεσής τους και στη μελέτη των φυσικών και μηχανικών ιδιοτήτων

τους. Ως επί το πλείστον, χρησιμοποιούνται υψηλής καθαρότητας πρωτεΐνες που προκύπτουν μετά την υπερδιήθηση του τυρογάλακτος, και κατατάσσονται ανάλογα με το βαθμό συμπύκνωσης ως whey protein concentrate (WPC) και whey protein isolate (WPI) στην περίπτωση που εμπεριέχουν πάνω από 80% και 90% ολικές πρωτεΐνες, αντίστοιχα (Henriques et al., 2016).

1.4.1 Ιδιότητες εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων

Η ανάγκη ανάπτυξης εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων βασίζεται στα πολλά πλεονεκτήματα που μπορούν να προσφέρουν στους καταναλωτές και στη βιομηχανία τροφίμων σε σύγκριση με τα μη εδώδιμα συνθετικά υλικά συσκευασίας. Συγκεκριμένα, είναι κατασκευασμένα από εδώδιμα υλικά που μπορούν να καταναλωθούν με το προϊόν. Με αυτόν τον τρόπο, τα βιομηχανικά υποπροϊόντα, όπως για παράδειγμα, η πρωτεΐνη τυρογάλακτος, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρώτες ύλες για την παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών. Η κύρια λειτουργία της εδώδιμης μεμβράνης είναι η βελτίωση της συντήρησης και των μηχανικών, αισθητηριακών και θρεπτικών ιδιοτήτων των τροφίμων.

Οι εδώδιμες μεμβράνες έχουν πολλές ιδιότητες. Κάποιες από αυτές είναι οι εξής:

- ρυθμίζουν τον ρυθμό μετάδοσης της υγρασίας
- κάνουν πιο αργή την μεταφορά οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα
- επιβραδύνουν την απομάκρυνση λιπαρών ουσιών
- επιβραδύνουν τη μεταφορά ουσιών τα οποία είναι διαλυμένα στα τρόφιμα.
- κρατούν τα αρώματα του προϊόντος
- λειτουργούν ως φορείς λειτουργικών συστατικών όπως αντιμικροβιακών, αντιοξειδωτικών και άλλων συντηρητικών προσέχοντας την απελευθέρωση τους στην επιφάνεια του προϊόντος.

Σε σύγκριση με τη συνθετική μεμβράνη, η εδώδιμη μεμβράνη και η επικάλυψη έχουν τα ακόλουθα πλεονεκτήματα (Gennadios & Weller, 1990, Miller & Krochta, 1997, Greener Donhowe & Fennema, 1994):

1. Καταναλώνονται με το προϊόν, οπότε δεν υπάρχουν απόβλητα
2. Παράγονται από εδώδιμες, ανανεώσιμες πρώτες ύλες

3. Ακόμα κι αν δεν καταναλώνονται με το προϊόν, δεν θα μολύνουν το περιβάλλον επειδή είναι πλήρως βιοαποικοδομήσιμα υλικά.

1.4.2 Χρήσεις και εφαρμογές εδώδιμων μεμβρανών στη βιομηχανία τροφίμων

Οι εδώδιμες μεμβράνες βρίσκουν ευρεία εφαρμογή στις βιομηχανίες παρασκευής τροφίμων, και διατροφολογικών προϊόντων. Χρησιμοποιούνται για την αντικατάσταση συμβατικών υλικών συσκευασίας, μειώνοντας έτσι το περιβαλλοντικό αποτύπωμα από τα μη-βιοδιασπώμενα υλικά συσκευασίας, αλλά κι ως φορείς βιο-ενεργών ουσιών (με αντιμικροβιακή, αντι-οξειδωτική δράση κ.α.) στοχεύοντας στην επιμήκυνση του χρόνου ζωής του τροφίμου, καθώς και στη βελτίωση των οργανοληπτικών και διαιτητικών χαρακτηριστικών (Henriques et al., 2016). Μπορεί να αναμιχθεί με ουσίες που ενισχύουν το χρώμα, τη μυρωδιά και τη γεύση, βελτιώνοντας έτσι τα αισθητήρια χαρακτηριστικά και την αποδοχή του προϊόντος. Αντιμικροβιακοί παράγοντες και αντιοξειδωτικά μπορούν επίσης να ενσωματωθούν για τη βελτίωση της διάρκειας ζωής του προϊόντος.

Οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε διάφορα προϊόντα όπως παραδείγματος χάριν στα φρούτα και τα λαχανικά όπου τους παρέχουν προστασία από τις αλλοιώσεις, δεν τα αφήνουν να αφυδατωθούν τόσο γρήγορα, ελέγχουν την αναπνοή, κάνουν καλύτερη την υφή τους και βοηθούν στο να διατηρήσουν τα πτητικά τους αρώματα. (Han et al., 2004, Lin & Zhao 2007, Maftoonazad et al., 2007).

Το κρέας και τα προϊόντα κρέατος θα πρέπει επίσης να αποτρέπουν την αφυδάτωση σε φρέσκο ή κατεψυγμένο κρέας, να μειώνουν την οξείδωση, να διατηρούν φρέσκους χυμούς κρέατος και να μειώνουν την απώλεια πτητικών γεύσεων και οσμών. (Quintavalla και Vicini 2002). Σε αυτό μπορεί να βοηθήσει μια μεμβράνη που μειώνει αρκετό οξυγόνο, υγρασία και αέριο. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παράταση της διάρκειας ζωής του κρέατος και των προϊόντων κρέατος.

Στο τυρί, η εδώδιμη συσκευασία χρησιμοποιείται κυρίως για τον έλεγχο της αποδόμησης των μικροοργανισμών στην επιφάνεια του τυριού για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου μόλυνσης από παθογόνους μικροοργανισμούς και, στη συνέχεια, τροποποίηση της ανταλλαγής αερίων με το περιβάλλον για τη διατήρηση της ποιότητας του τυριού.

Πολύ σημαντικό ρόλο οι εδώδιμες μεμβράνες έχουν σε προϊόντα όπως η πίτσα, τα μπισκότα τα οποία περιέχουν κομμάτια φρούτων ή ανάμεσα στα συστατικά ενός

μίγματος, όπως τα δημητριακά πρωινού τα οποία είναι πολύ σημαντικό να παραμείνουν τραγανά. Η μόνη ρεαλιστική λύση για την αποτροπή της μετανάστευσης της υγρασίας μεταξύ συστατικών τροφίμων είναι μια εδώδιμη μεμβράνη, το οποίο μπορεί να εφαρμοστεί στη διεπιφάνεια ή την περιφέρεια των συστατικών. (Gennadios & Weller, 1990, Miller & Krochta, 1997, Greener & Fennema, 1994).

Η χρήση πρωτεΐνης για την παραγωγή μπορεί να βελτιώσει τη θρεπτική αξία του προϊόντος. Σε προϊόντα όπως πίτσες και πίτες, μπορούν να τοποθετηθούν μεταξύ στρώσεων διαφορετικών συστατικών για να αποφευχθεί η μεταφορά ουσιών από το ένα στρώμα στο άλλο, κάτι που μπορεί να μειώσει την ποιότητα του προϊόντος.

Ενδεικτικές εφαρμογές εδωδιμων μεμβρανών παρουσιάζονται στον πίνακα 1.4.1.

Πίνακας 1.4.1 Ενδεικτικές εφαρμογές εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων

Μεμβράνη	Τρόφιμο	Λειτουργίες μεμβράνης	Αναφορά
k-καραγεννάνη	Ημίσκληρα τυριά	Μείωση της απώλειας βάρους, βελτίωση της υφής και των οργανοληπτικών ιδιοτήτων	Kampf και Nussinovitch (2000)
Ζελάνη	Ημίσκληρα τυριά	Μείωση της απώλειας βάρους, βελτίωση της υφής και των οργανοληπτικών ιδιοτήτων	Kampf και Nussinovitch (2000)
Αλγινικά	Ξηρά-λευκά τυριά Μανιτάρια	Μείωση της απώλειας βάρους, διατήρηση της συνεκτικότητας	Nussinovitch και Kampf (1993)
Αλγινικά	Ημίσκληρα τυριά	Μείωση της απώλειας βάρους, βελτίωση της υφής και των οργανοληπτικών ιδιοτήτων	Kampf και Nussinovitch (2000)
Χιτοζάνη & ελαϊκό οξύ	Ξηρά-λευκά τυριά Φράουλες	Διατήρηση της συνεκτικότητας και του χρώματος, προστασία κατά των μυκήτων, μείωση της απώλειας νερού	Vargas et al. (2006)
Χιτοζάνη	Κεράσια	Καθυστέρηση της αποσύνθεσης	Romanazzi et al. (2003)
Καζεϊνικό νάτριο με κερι μέλισσας	Κεράσια	Καθυστέρηση αλλαγής χρώματος, απώλειας συνεκτικότητας και βάρους	Certel et al. (2004)
Καζεϊνικό νάτριο	Πράσινες πιπεριές	Μείωση απορρόφησης οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα	Krochta (1996)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ II

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αξιοποίηση αποβλήτων ή/και παραπροϊόντων που προκύπτουν από την επεξεργασία τροφίμων με σκοπό την παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών με λειτουργικά χαρακτηριστικά. Η μελέτη εστίασε στην ανάπτυξη προϊόντων βιο-οικονομίας κι ειδικότερα στην παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος, αξιοποιώντας κατ' αυτόν τον τρόπο το κυριότερο απόβλητο της βιομηχανικής παραγωγής τυριών. Επίσης, μελετήθηκε η δυνατότητα αξιοποίησης κόκκων καφέ που προκύπτουν ως απόβλητα από την παρασκευή ροφημάτων καφέ εσπρέσο. Μελετήθηκε περιεκτικότητατων αποβλήτων καφέ σε φαινολικά συστατικά και η περαιτέρω ενσωμάτωσή τους στις εδώδιμες μεμβράνες. Ο κύριος στόχος ήταν τα φαινολικά από απόβλητα καφέ να προσδώσουν λειτουργικές και ειδικότερα αντιοξειδωτικές ιδιότητες στις εδώδιμες μεμβράνες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.1 Πρώτες ύλες

Για την παρασκευή των μεμβρανών χρησιμοποιήθηκαν, πρωτεΐνη τυρογάλακτος (WPC) με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη πάνω από 80% και καθαρή γλυκερόλη (>99%). Οι επεξεργασμένοι κόκκοι καφέ (spent coffee grounds, SCG) συλλέχθηκαν από τοπικά καταστήματα πώλησης ροφημάτων καφέ στην περιοχή του Αργοστολίου (Κεφαλονιά) τα οποία αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη (-20 °C) μέχρι να επεξεργαστούν περαιτέρω. Οι κόκκοι καφέ ξηράθηκαν στους 40 °C (μέχρι απόκτησης σταθερού βάρους) και αποθηκεύτηκαν σε σακούλες με αεροστεγές κλείσιμο σε σκοτεινό μέρος σε συνθήκες περιβάλλοντος.

3.2 Επεξεργασία απόβλητων καφέ για την παραλαβή αντιοξειδωτικών ουσιών

Αρχικά, εκχυλίστηκε το έλαιο από τα απόβλητα του καφέ με εξάνιο (αναλογία 1:9 στερεού:υγρού) και διαχωρίστηκε από τον διαλύτη υπό κενό με περιστροφικό εξατμιστήρα. Στη συνέχεια, για την παραλαβή των φαινολικών εκχυλισμάτων από τα απόβλητα του καφέ χρησιμοποιήθηκαν υδατικά διαλύματα αιθανόλης (EtOH), σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (40% 60%, 80%). Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν προκειμένου να πραγματοποιηθεί η εκχύλιση των φαινολικών συστατικών ήταν εκχύλιση εις διπλούν σε λουτρό υπερήχων για 20 min. Οι αναλογίες διαλύτη:καφέ ήταν 40:1 (v/w). Στη συνέχεια, τα εκχυλίσματα φυγοκεντρίθηκαν (2000 rpm, 10 °C, 12 min) και το υπερκείμενο τοποθετήθηκε σε περιστροφικό εξατμιστήρα χαμηλής πίεσης προκειμένου να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Τα φαινολικά εκχυλίσματα παραλήφθηκαν, επαναδιαλύθηκαν σε 5 mL μεθανόλης και διατηρήθηκαν στην κατάψυξη (-20 °C) σε σκοτεινό μέρος μέχρι την μελέτη της περιεκτικότητάς τους σε φαινολικά συστατικά και αντιοξειδωτική τους δράση..

3.3 Παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος

Για την παραγωγή των μεμβρανών παρασκευάστηκε υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης τυρογάλακτος (7%, w/w) και το pH ρυθμίστηκε σε τιμές από 7, 8 και 9 με διάλυμα NaOH 0,5M. Στη συνέχεια το διάλυμα μετουσιώθηκε σε υδατόλουτρο στους 80 °C για 30 min, υπό ανάδευση (Εικόνα 3.3.1). Μελετήθηκαν και οι περιπτώσεις pH 8, 9 και 12 χωρίς να υποστούν θέρμανση τα διαλύματα. Στην συνέχεια, τα διαλύματα ψύχθηκαν, με σκοπό την αποφυγή περαιτέρω μετουσίωσης, έως ότου φθάσουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και προστέθηκε η γλυκερόλη (40%, επί του βάρους της πρωτεΐνης) με ανάδευση για 10 min. Ακολούθως, τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε λουτρό υπερήχων για τουλάχιστον 10 min, για την απομάκρυνση των φυσαλίδων.

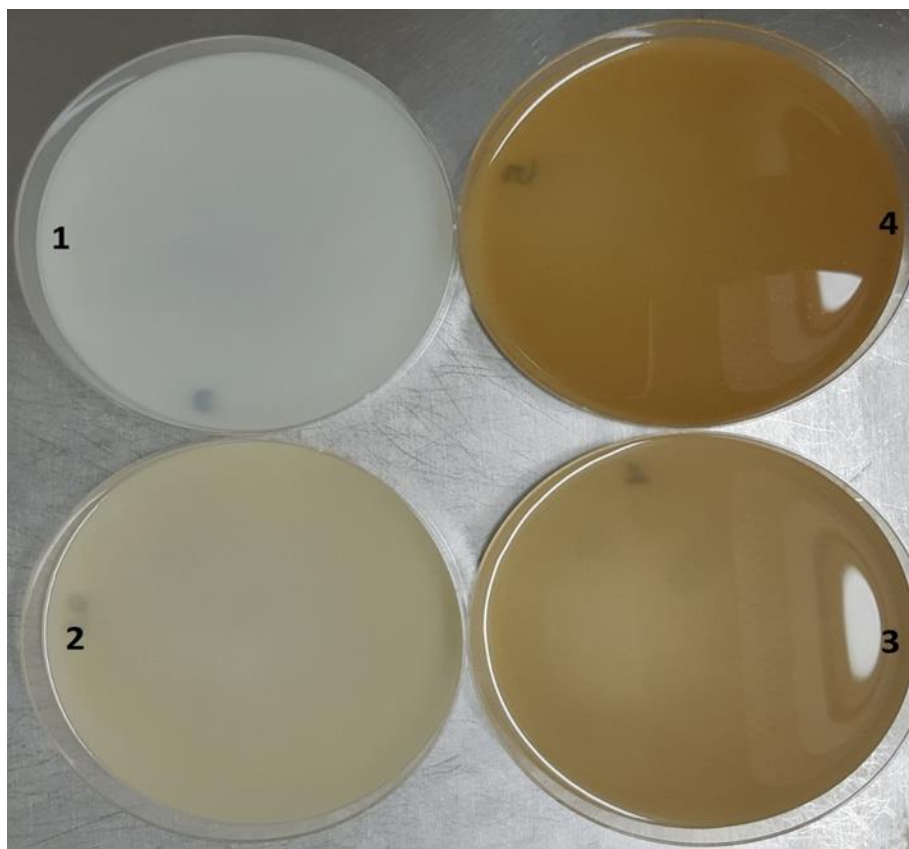
Για την επίστρωση των μεμβρανών χρησιμοποιήθηκαν 9 mL διαλύματος σε τρυβλία διαμέτρου 9 cm, ελαφρώς αλειμμένα με σογιέλαιο για να διευκολυνθεί η αφαίρεση των μεμβρανών. Οι μεμβράνες αφέθηκαν να στεγνώσουν για 2 ημέρες σε συνθήκες περιβάλλοντος (25 ± 2 °C/ σχετική υγρασία [relative humidity, RH] $60 \pm 5\%$) και αφού στέγνωσαν αφαιρέθηκαν από τα τρυβλία και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο στους 25 ± 2 °C με $50 \pm 2\%$ RH ρυθμισμένη με κορεσμένο διάλυμα $Mg(NO_3)_2$. Οι μεμβράνες παρέμειναν στο θάλαμο για τουλάχιστον 24 h πριν μελετηθούν οι ιδιότητές τους.



Εικόνα 3.3.1 Θερμική μετουσίωση πρωτεΐνης τυρογάλακτος.

3.3.1 Προσθήκη αντιοξειδωτικών από απόβλητα καφέ

Το εκχύλισμα φαινολικών συστατικών πλούσιο σε αντιοξειδωτικά ενσωματώθηκε στο μετουσιωμένο μείγμα πρωτεΐνης-γλυκερόλης και αναμίχθηκε (Εικόνα 3.3.1). Οι συγκεντρώσεις φαινολικών που ενσωματώθηκαν ήταν 0,5, 1 και 2,5 mg/g μεμβράνης. Οι φυσαλίδες του μίγματος αφαιρέθηκαν τοποθετώντας το μείγμα σε λουτρό υπερήχων. Στη συνέχεια ακολούθησε επίστρωση του μίγματος και συλλογή των μεμβρανών όπως ακριβώς περιγράφεται στην ενότητα 3.3.



Εικόνα 3.3.1 Διαλύματα μετουσιωμένης πρωτεΐνης τυρογάλακτος με εκχυλίσματα φαινολικών συστατικών πριν τη ξήρανση (1) 0 mg, (2) 0,5 mg, (3) 1 mg, (4) 2,5 mg.

3.4 Αναλυτικές μέθοδοι

3.4.1 Προσδιορισμός υγρασίας εδώδιμων μεμβρανών

Οι μεμβράνες κόπηκαν σε κομμάτια με διαστάσεις 2 x 2 cm, ζυγίστηκαν σε ζυγό με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ξήρανσης στους 60 °C (Binder, Germany) έως ότου να έχουν σταθερό βάρος. Στην συνέχεια, αφέθηκαν να κρυώσουν και ζυγίστηκαν ξανά. Ο μέσος όρος των

μετρήσεων προέκυψε από την ανάλυση τριών επαναλήψεων για κάθε δείγμα. Η υγρασία των μεμβρανών υπολογίστηκε με τον τύπο:

$$S\% = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100$$

όπου, W_1 είναι το βάρος πριν την ξήρανση και W_2 είναι βάρος μετά την ξήρανση.

3.4.2 Προσδιορισμός πάχους εδώδιμων μεμβρανών

Το πάχος των μεμβρανών μετρήθηκε με αναλογικό παχύμετρο ακρίβειας 0,01 mm (Silverline, United Kingdom). Η κάθε μεμβράνη μετρήθηκε σε 5 διαφορετικά σημεία. Ο μέσος όρος των μετρήσεων προέκυψε από την ανάλυση τριών επαναλήψεων για κάθε δείγμα.

3.4.3 Προσδιορισμός ικανότητας συγκράτησης νερού εδώδιμων μεμβρανών

Οι μεμβράνες κόπηκαν σε κομμάτια με διαστάσεις 1×4 cm και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ξήρανσης στους 60 °C (Binder, Germany) για τουλάχιστον 24 h ή μέχρι απόκτησης σταθερού βάρους. Τα ξηρά δείγματα ζυγίστηκαν σε ζυγό με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε ποτήρι ζέσεως πληρωμένο με απιονισμένο νερό για 2 min. Τα ενυδατωμένα δείγματα σκουπίστηκαν ελαφρώς για την απομάκρυνση τυχόν περίσσειας επιφανειακού νερού και ζυγίστηκαν εκ νέου. Ο μέσος όρος των μετρήσεων προέκυψε από την μέτρηση τριών επαναλήψεων για κάθε δείγμα. Η ικανότητα συγκράτησης νερού (Swelling Index, SI%) υπολογίστηκε με την εξίσωση:

$$SI\% = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_1} \right) \times 100$$

όπου W_1 είναι το βάρος του ξηρού δείγματος και W_2 είναι το βάρος του ενυδατωμένου δείγματος.

3.4.4 Προσδιορισμός οπτικών ιδιοτήτων εδώδιμων μεμβρανών

Οι μεμβράνες κόπηκαν σε διαστάσεις 4×1 και τοποθετήθηκαν στο εσωτερικό μιας πλαστικής κυψελίδας για τον προσδιορισμό των οπτικών τους ιδιοτήτων. Η απορρόφηση (Abs) (600 nm) και η διαπερατότητα (T%) (200-800 nm) μετρήθηκαν σε φωτόμετρο (Helios Omega, Thermo Scientific, USA). Η αδιαφάνεια (A) του δείγματος στα 600 nm προσδιορίστηκε με την εξίσωση:

$$A = \frac{A_{600}}{x}$$

Όπου A_{600} είναι η απορρόφηση του δείγματος στα 600 nm και x είναι το πάχος του δείγματος (mm). Ο μέσος όρος των μετρήσεων προέκυψε από την ανάλυση τριών επαναλήψεων για κάθε δείγμα.

3.4.5 Μικροσκοπική ανάλυση εδώδιμων μεμβρανών

Για τη μελέτη της μικροδομής της επιφάνειας των δειγμάτων, αυτά επικαλύφθηκαν με χρυσό και μελετήθηκαν με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σαρώσεως (scanning electron microscope, SEM) με τάση επιτάχυνσης 5kV. Οι εικόνες των δειγμάτων λήφθηκαν σε διαφορετικές μεγεθύνσεις.

3.4.6 Προσδιορισμός διαπερατότητας υδρατμών εδώδιμων μεμβρανών

Η διαπερατότητα υδρατμών (water vapor permeability, WVP) των μεμβρανών προσδιορίστηκε σύμφωνα με το πρότυπο ASTM E96/E96M (2015) και με κάποιες τροποποιήσεις (Gheribi, 2018). Ειδικότερα, η μεμβράνη προσαρτήθηκε στο ανοικτό στόμιο υάλινου περιέκτη, ο οποίος είχε πληρωθεί με 40 g οξείδιο του πυριτίου (silica gel) ως ξηραντικό μέσο, ούτως ώστε το κενό διάστημα μεταξύ μεμβράνης και silica gel να είναι ίσο με 1 cm. Οι περιέκτες σφραγίστηκαν με σιλικόνη για να αποφευχθούν τυχόν απώλειες που μπορεί να επηρεάσουν τις μετρήσεις και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε θάλαμο στους 25 ± 2 °C και RH $50 \pm 2\%$.



Εικόνα 3.4.1 Δείγμα μεμβράνης προς μέτρηση της ικανότητας διαπερατότητας υδρατμών (WVP)

Ο ρυθμός μεταφοράς των υδρατμών δια μέσου της μεμβράνης (water vapor transport, WVTR) υπολογίστηκε από την καμπύλη συσχέτισης της αύξησης του βάρους του περιέκτη με το χρόνο. Στη συνέχεια, η διαπερατότητα υδρατμών των μεμβρανών υπολογίστηκε από την εξίσωση:

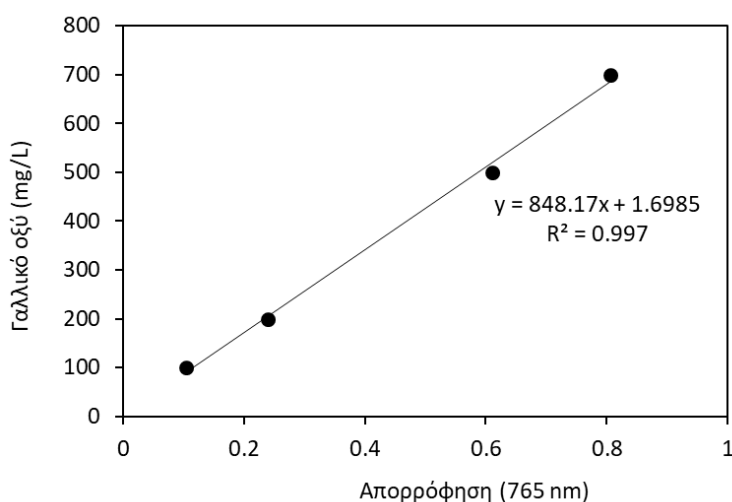
$$WVP = \frac{WVTR \times x}{\Delta p}$$

Όπου WVP (g mm/ m² d kPa) είναι ο ρυθμός μεταφοράς των υδρατμών δια μέσου της μεμβράνης (κλίση της καμπύλης (g/d) δια το εμβαδόν της επιφάνειας της μεμβράνης (m²)), x (mm) είναι το πάχος της μεμβράνης, και Δp (kPa) είναι η διαφορά της μερικής πίεσης υδρατμών των δύο πλευρών της μεμβράνης (Δp = p (RH₂ – RH₁), όπου p είναι η τάση ατμών του νερού στους 25 °C, RH₂ = 50% και RH₁=0%). Ο μέσος όρος των μετρήσεων προέκυψε από την ανάλυση δύο επαναλήψεων για κάθε δείγμα.

3.4.7 Προσδιορισμός περιεκτικότητας σε φαινολικά συστατικά και αντιοξειδωτικής ικανότητας

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών (total phenolic content, TPC) στα εκχυλίσματα από καφέ έγινε με την μέθοδο Folin-

Ciocalteu(Singleton & Rossi, 1965). Σε δοκιμαστικό σωλήνα αναμείχθηκαν 50 μL δείγματος με 450 μL διάλυμα Folin-Ciocalteu 0,2M και 2,5 mL νερό και ακολούθησε έντονη ανάδευση για 1 min. Στη συνέχεια προστέθηκαν 2 mL Na_2CO_3 και τα διαλύματα αναμείχθηκαν με vortex προτού φυλαχθούν σε σκοτεινό μέρος. Μετά από 1,5 h μετρήθηκε η απορρόφηση των δειγμάτων στα 765 nm. Ο μέσος όρος των μετρήσεων προέκυψε από την μέτρηση 2 επαναλήψεων για κάθε δείγμα. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg ισοδύναμου γαλλικού οξέος ανά 100 g ξηρού βάρους, με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος. Η πρότυπη καμπύλη παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 3.4.1.



Διάγραμμα 3.4.1 Καμπύλη γαλλικού οξέος με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων πλούσιων σε φαινολικά συστατικά προσδιορίστηκε φωτομετρικά μέσω της εξουδετέρωσης της ελεύθερης ρίζας DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Η μέθοδος που ακολουθήθηκε ήταν σύμφωνα με τους Scherer & Godoy (2009).. Σε δοκιμαστικό σωλήνα αναμείχθηκαν 0.1 mL από το δείγμα και 3,9 mL διαλύματος DPPH(31.6 $\mu\text{g/mL}$). Τα δείγματα αναδεύτηκαν και στην συνέχεια τοποθετήθηκαν για 30 min σε σκοτεινό μέρος. Τέλος, μετρήθηκε η απορρόφηση των δειγμάτων στα 517 nm. Ο μέσος όρος των μετρήσεων προέκυψε από την μέτρηση 2 επαναλήψεων για κάθε δείγμα. Ως τυφλό δείγμα χρησιμοποιήθηκε μεθανόλη. Το ποσοστό παρεμπόδισης της DPPH υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση:

$$D\% = \left(\frac{A_{\text{τυφλου}} - A_{\text{δείγματος}}}{A_{\text{τυφλου}}} \right) \times 100$$

όπου $A_{\text{τυφλού}}$ η απορρόφηση του τυφλού δείγματος στα 517 nm και $A_{\text{δείγματος}}$ η απορρόφηση του δείγματος στα 517 nm.

Οι εμπλουτισμένες μεμβράνες κόπηκαν σε μικρά κομματάκια και τοποθετήθηκαν με μεθανόλη υπό ανάδευση για 2 ώρες. Έπειτα, τα εκχυλίσματα φιλτραρίστηκαν, για απομάκρυνση τυχόν υπολειμμάτων της μεμβράνης και διατηρήθηκαν στην κατάψυξη. Ο προσδιορισμός των φαινολικών ουσιών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εμπλουτισμένων μεμβρανών, έγινε όπως περιγράφεται πιο πάνω.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Επίδραση του pH στην παραγωγή εδωδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος

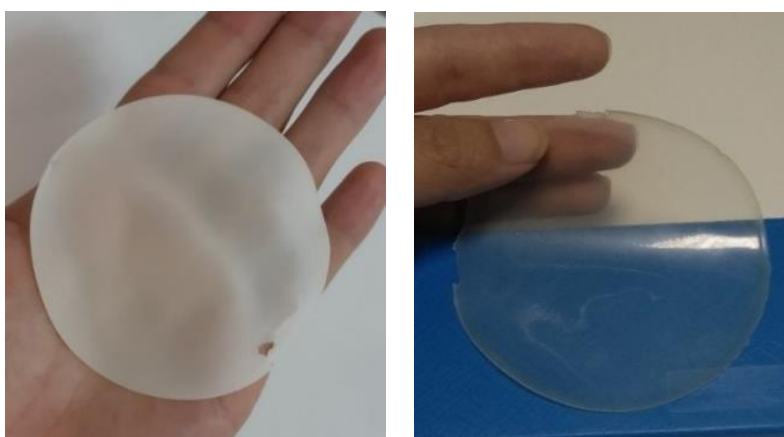
Η μετουσίωση της πρωτεΐνης είναι το πρώτο στάδιο που πρέπει να επιτευχθεί πριν γίνει η προσθήκη του πλαστικοποιητή, που θα προσδώσει την απαραίτητη ελαστικότητα και συνεκτικότητα στις μεμβράνες ώστε να μην είναι δύσκαμπτες και εύθραυστες (Henriques et al., 2016). Ο βαθμός μετουσίωσης επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό τόσο από τις ιδιότητες του διαλύματος της πρωτεΐνης (π.χ. ιοντική ισχύς, pH, συγκέντρωση πρωτεΐνης) όσο κι από τις συνθήκες στις οποίες θα πραγματοποιηθεί (π.χ. θερμοκρασία, χρόνος παραμονής) και καθορίζουν τις μετέπειτα φυσικές και μηχανικές ιδιότητες τόσο του μετουσιωμένου διαλύματος πρωτεΐνης όσο και των μεμβρανών που θα προκύψουν.

Δεδομένου λοιπόν, ότι η τιμή του pH μπορεί να προσδώσει διαφορετικά χαρακτηριστικά στις μεμβράνες κρίθηκε απαραίτητο να μελετηθούν οι φυσικές και μηχανικές ιδιότητες των μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος σε ένα μεγαλύτερο εύρος pH (7-12) από αυτό που έχει μελετήσει η βιβλιογραφία μέχρι σήμερα.

4.1.1 Πάχος και οπτικές ιδιότητες

Ένας σημαντικός παράγοντας για τις φυσικές και μηχανικές ιδιότητες των μεμβρανών είναι το pH του διαλύματος της πρωτεΐνης πριν την επίστρωση και το σχηματισμό των μεμβρανών. Σε τιμές μεγαλύτερα ή μικρότερα από το ισοηλεκτρικό σημείο (pI) της πρωτεΐνης τυρογάλακτος οι πρωτεΐνες φορτίζονται αρνητικά ή θετικά, αντίστοιχα. Έτσι, δημιουργούνται ηλεκτροστατικές δυνάμεις απωθήσεως οι οποίες, όσο πιο μακριά βρίσκεται το pH από το ισοηλεκτρικό σημείο, τόσο πιο ισχυρές είναι οι δυνάμεις αυτές, εμποδίζοντας έτσι τη συσσωμάτωση των πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα τα διάλυμα πρωτεΐνης αλλά και οι μεμβράνες να είναι πιο διαυγή.

Σε ότι αφορά τη παρούσα μελέτη, σε τιμές pH 7 προέκυψαν λευκές μεμβράνες ενώ με την αύξηση του pH οι μεμβράνες που παραλήφθηκαν ήταν διαυγείς (Εικόνα 4.1.1). Οι παρατηρούμενες διαφορές αποδεικνύονται από τον προσδιορισμό της αδιαφάνειας και της διαπερατότητας φωτός (%T) (Πίνακας 4.1.1). Επίσης, όλες οι μεμβράνες λειτούργησαν ως φραγμός της υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) καθώς η διαπερατότητα (%T) στα 280 nm ήταν μηδενική. Το πάχος των μεμβρανών ήταν μεγαλύτερο στο pH 7 από ότι ήταν στις υπόλοιπες τιμές pH χωρίς όμως να έχουν σημαντικές διαφορές.



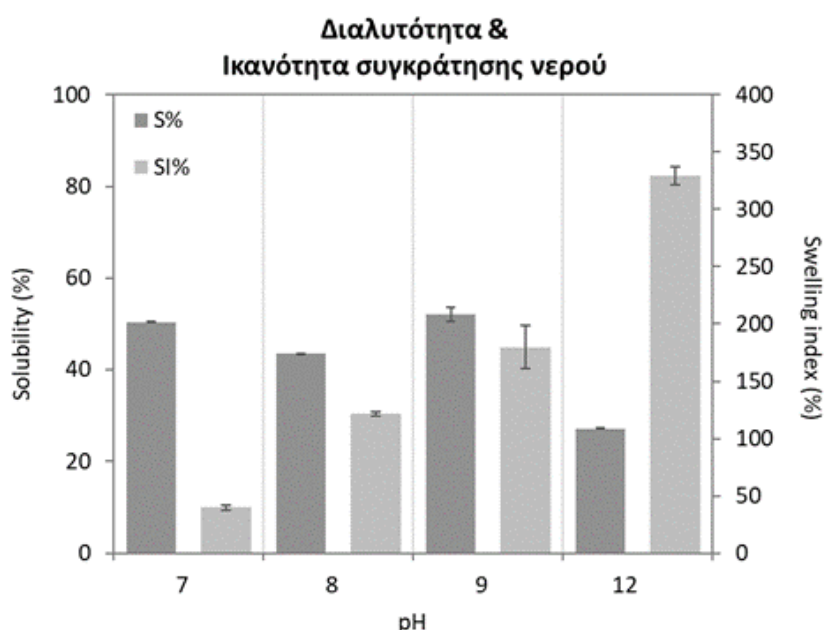
Εικόνα 4.1.1. Μακροσκοπική απεικόνιση των μεμβρανών σε pH 7 (αριστερά) και pH 12 (δεξιά).

Πίνακας 4.1.1 Επίδραση της προσαρμογής του pH στο πάχος και τις οπτικές ιδιότητες των μεμβρανών

pH	Πάχος (mm)	Αδιαφάνεια (600 nm)	Διαπερατότητα φωτός (T%) σε διαφορετικά μήκη κύματος (nm)							
			280	300	350	400	500	600	700	800
7	0.16 ± 0.03	4.4 ± 0.2	0.0	0.1	3.9	9.5	15.4	19.3	22.0	24.2
8	0.11 ± 0.02	1.3 ± 0.0	0.0	0.3	30.5	51.2	63.8	71.3	76.1	79.5
9	0.10 ± 0.05	1.4 ± 0.2	0.1	0.9	32.02	52.9	66.3	72.8	75.5	77.7
12	0.12 ± 0.04	1.3 ± 0.1	0.1	0.5	23.58	46.9	63.5	69.8	73.6	76.6

4.1.2 Υγρασία, διαλυτότητα και ικανότητα προσρόφησης νερού

Τα επίπεδα υγρασίας για όλες τις περιπτώσεις κυμαίνονταν περίπου στο 12% ενώ η διαλυτότητα κυμαινόταν από 43,6% μέχρι 52,1% για τις περιπτώσεις με pH 7-9. Στην περίπτωση του pH 12 παρατηρήθηκε μεγάλη μείωση της διαλυτότητας η οποία έπεσε στο 27,1%. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές και στον έλεγχο της ικανότητας προσρόφησης νερού καθώς η αύξηση του pH οδήγησε και σε αύξηση της ικανότητας προσρόφησης νερού σε τιμές που έφταναν μέχρι και το 329,4% στο pH 12 (Γράφημα 4.1.1).



Γράφημα 4.1.1 Διαλυτότητα και Ικανότητα προσρόφησης νερού σε μεμβράνες με pH 7, 8, 9, 12

Οι παρατηρούμενες αλλαγές στην διαλυτότητα και την ικανότητα προσρόφησης νερού αποδίδονται στις χημικές και δομικές αλλαγές της πρωτεΐνης. Η πρωτεΐνη τυρογάλακτος είναι μια διαλυτή πρωτεΐνη η οποία αποτελείται από β-λακτογλοβουλίνη (50%) και α-λακταλβουμίνη (20%) (Regalado et al., 2006). Με την αύξηση της θερμοκρασίας και την ρύθμιση του pH μακριά από το ισοηλεκτρικό σημείο, η πρωτεΐνη μετουσιώνεται και οι υδρόφοβες θειόλες (SH), που αρχικά βρίσκονταν στο εσωτερικό της πρωτεΐνης, έρχονται στην επιφάνεια της πρωτεϊνικής δομής (Wakai & Almenar, 2015) με αποτέλεσμα τον σχηματισμό δισουλφιδικών

δεσμών (S-S) και την δημιουργία ενός νέου πρωτεϊνικού πλέγματος (Pérez-Gago et al., 1999). Στην συγκεκριμένη μελέτη η ρύθμιση του pH στο 12 οδήγησε σε μικρότερη διαλυτότητα. Αυτό μας δείχνει ότι, η μετουσίωση της πρωτεΐνης είναι εφικτή μόνο με την προσαρμογή του pH σε επίπεδα όσο το δυνατόν πιο μακριά από το ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης, χωρίς την βοήθεια θέρμανσης. Η αυξανόμενες τιμές ικανότητας προσρόφησης νερού οδηγούν στο συμπέρασμα πως παγιδεύονταν όλο και μεγαλύτερες ποσότητες νερού μέσα στο πλέγμα της πρωτεΐνης. Αυτό πιθανόν να συμβαίνει λόγω της δημιουργίας όλο και αυξανόμενων αποθητικών δυνάμεων όσο το pH αυξανόταν δημιουργώντας περισσότερο ελεύθερο χώρο μέσα στα μόρια της πρωτεΐνης (Wakai & Almenar, 2015).

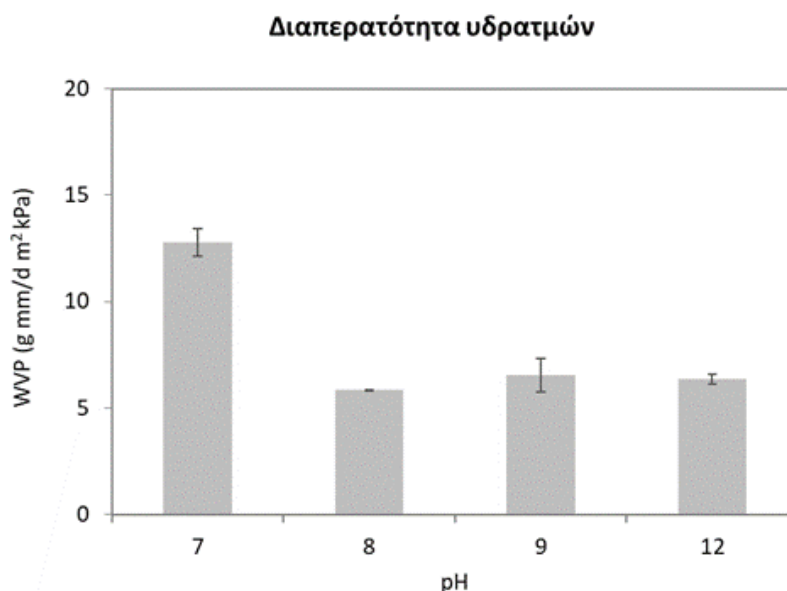
Επίσης, δημιουργήθηκαν μεμβράνες με pH 8 και pH 9 χωρίς όμως θέρμανση του διαλύματος. Σε αυτές τις περιπτώσεις η διαλυτότητα των μεμβρανών ήταν στο 100% ενώ η ικανότητα προσρόφησης νερού στο 0%. Επομένως, η μετουσίωση της πρωτεΐνης ήταν αδύνατη σε τέτοιες τιμές pH (8 και 9) χωρίς την βοήθεια θέρμανσης. Έτσι, δεν ήρθαν στην επιφάνεια της πρωτεϊνικής δομής οι υδρόφοβες ομάδες προκαλώντας την πλήρη διάλυση της πρωτεΐνης.

Συνεπώς, είναι δυνατή η μετουσίωση της πρωτεΐνης και η δημιουργία μεμβρανών με υδροφοβικά χαρακτηριστικά, με την ρύθμιση του pH σε τιμές πολύ μακριά από το ισοηλεκτρικό σημείο ή με την συνεργιστική δράση θέρμανσης και pH όταν το pH βρίσκεται σε σημεία σχετικά κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης.

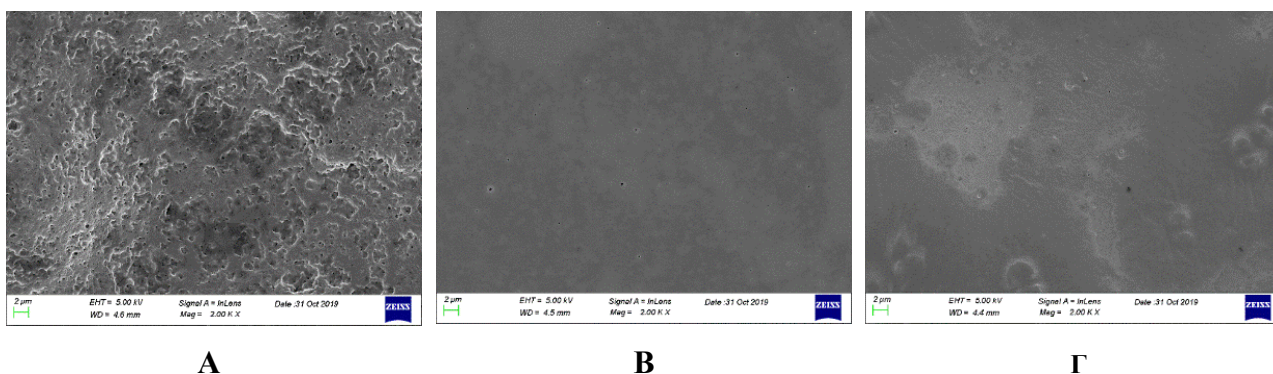
4.1.3 Διαπερατότητα υδρατμών

Η διαπερατότητα υδρατμών (WVP) σημείωσε μεγάλη πτώση σε τιμές pH 8, 9 και 12 συγκριτικά με το pH 7 (Γράφημα 4.1.2). Η αύξηση του pH στο εύρος 8-12 δεν επηρέασε την διαπερατότητα. Συμπερασματικά, οι μεμβράνες με θέρμανση που υπέστησαν αυξανόμενη ρύθμιση του pH σε πιο αλκαλικές τιμές, είχαν περισσότερους ενδομοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς οδηγώντας σε μεμβράνες πιο συνεκτικές και λιγότερο διαπερατές. Οι Pérez-Gago et al. (1999) ανέφεραν ότι η μετουσίωση της πρωτεΐνης, με θέρμανση αλλά και ρύθμιση του pH σε τιμές 7-8, είχε ελάχιστη επίδραση στην διαπερατότητα και την διαλυτότητα των μεμβρανών. Μία εξήγηση της μεγαλύτερης διαπερατότητας των μεμβρανών στο pH 7 δίνουν οι εικόνες από το

ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σαρώσεως (SEM). Όπως φαίνεται στην εικόνα 4.1.2, η επιφάνεια των μεμβρανών είναι πιο τραχιά και πορώδης στο pH 7 σε σχέση με τις υπόλοιπες τιμές pH. Έτσι, θα μπορούσε να εξηγηθεί η μεγαλύτερη διαπερατότητα των μεμβρανών με pH 7.



Γράφημα 4.1.2 Διαπερατότητα υδρατμών σε μεμβράνες με προσαρμοσμένο pH



Εικόνα 4.1.2 Μικροσκοπική απεικόνιση της επιφάνειας μεμβρανών σε διαφορετικές τιμές pH με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σαρώσεως (SEM) (A: pH 7, B: pH 9, Γ: pH 12)

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η τιμή του pH του πρωτεϊνικού διαλύματος παίζει σημαντικό ρόλο κι επηρεάζει τις φυσικές ιδιότητες των μεμβρανών που προκύπτουν. Ειδικότερα, με αύξηση της τιμής pH, βελτιώνονται

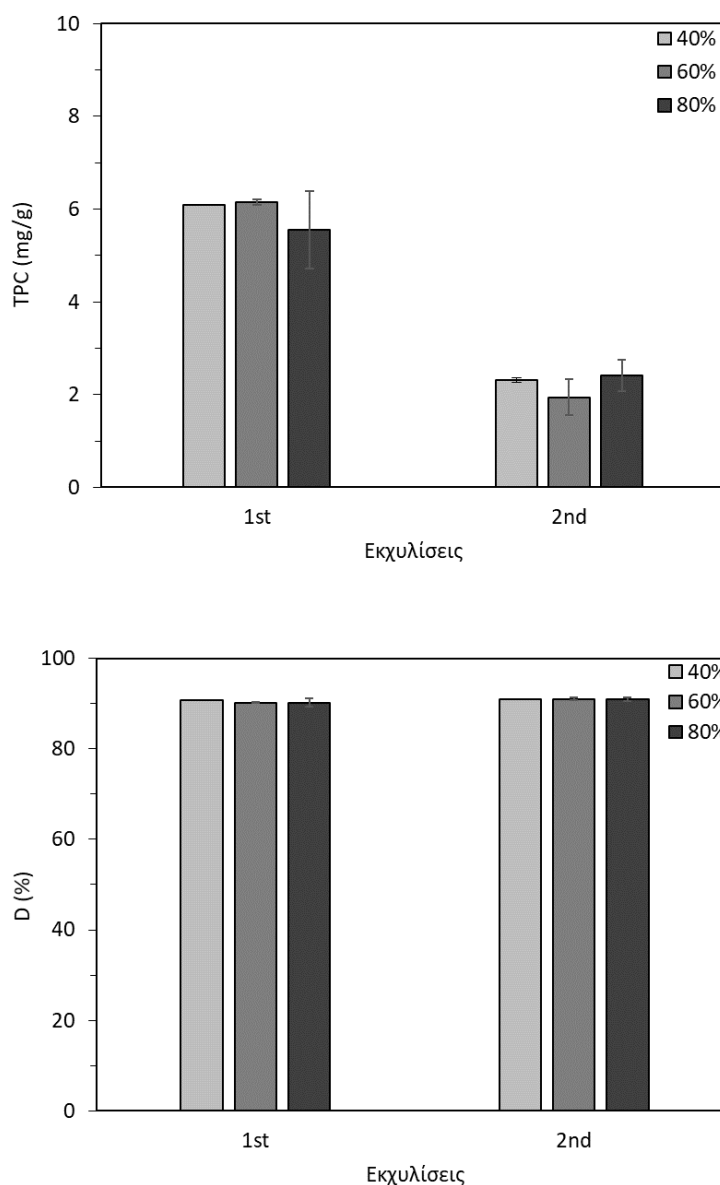
οι οπτικές ιδιότητες της μεμβράνης, αυξάνεται η ικανότητα προσρόφησης νερού, όπως επίσης μειώνεται η διαλυτότητα, η διαπερατότητα σε υδρατμούς και το πάχος της μεμβράνης.

4.2 Παραγωγή μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος: επίδραση της προσθήκης αντιοξειδωτικών από καφέ

4.2.1 Επίδραση του διαλύτη στην εκχύλιση αντιοξειδωτικών ουσιών

Η εκχύλιση των αντιοξειδωτικών ουσιών από απόβλητα καφέ μελετήθηκε με αιθανόλη ως διαλύτη σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Στο Γράφημα 4.2.1 που ακολουθεί παρατηρείται ότι η συγκέντρωση της αιθανόλης δεν είχε σημαντική επίδραση στην παραλαβή των φαινολικών. Στην πρώτη εκχύλιση η ολική περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά (TPC) ήταν περίπου 6 mg/g και κατά τη δεύτερη εκχύλιση ανακτήθηκαν περίπου άλλα 2 - 2,3 mg/g. Συνολικά ανακτήθηκαν περίπου 8 mg/g.

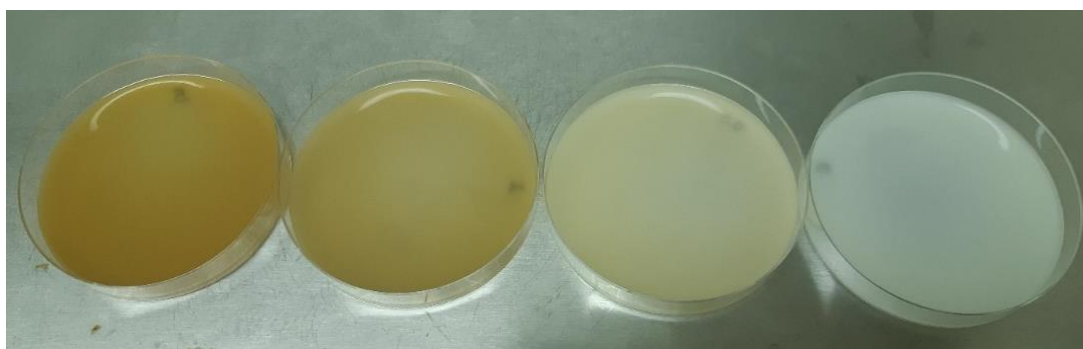
Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τόσο το κλάσμα της πρώτης όσο και της δεύτερης εκχύλισης παρουσίασε υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα (D%) η οποία ήταν σε όλες τις περιπτώσεις περίπου 90%. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι στο εκχύλισμα φαινολικών συστατικών από απόβλητα καφέ περιέχονται ουσίες με αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Ως εκ τούτου, η ενσωμάτωση αυτού του κλάσματος στις εδώδιμες μεμβράνες μπορεί να τους προσδώσει αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Για το λόγο αυτό, στη συνέχεια των πειραμάτων ενσωματώθηκαν τα φαινολικά εκχυλίσματα στις μεμβράνες προκειμένου να διερευνηθεί η δυνατότητα παραγωγής μεμβρανών με βιολειτουργικές ιδιότητες.



Γράφημα 4.2.1 Ολική περιεκτικότητα φαινολικών (TPC) και αντιοξειδωτική ικανότητα (D%) του εκχυλίσματος από απόβλητα καφέ με χρήση διαφορετικής συγκέντρωσης διαλύτη (αιθανόλη 40, 60 and 80%) κατά την 1η και 2η εκχύλιση.

4.2.2 Φυσικές ιδιότητες

Το εκχύλισμα αντιοξειδωτικών χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να παραχθούν μεμβράνες με διαφορετικές συγκεντρώσεις φαινολικών. Το διάλυμα πρωτεΐνης τυρογάλακτος/εκχυλίσματος φαινολικών κατά την επίστρωση φαίνεται στην Εικόνα 4.2.1, όπου είναι αντιληπτό ότι όσο πιο σκούρο το μείγμα τόσο μεγαλύτερη η ποσότητα εκχυλίσματος φαινολικών που περιείχε.



Εικόνα 4.2.1 Απεικόνιση των διαλυμάτων πρωτεΐνης τυρογάλακτος/εκχυλίσματος φαινολικών κατά την επίστρωση του μίγματος (από αριστερά προς τα δεξιά με μειούμενη ποσότητα εκχυλίσματος φαινολικών).

Στους πίνακες που ακολουθούν παρατίθενται τα αποτελέσματα σχετικά με τις ιδιότητες των μεμβρανών με ενθυλακωμένα φαινολικά συστατικά σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Στον Πίνακα 4.2.1 διακρίνεται η σημαντική αύξηση του πάχους των μεμβρανών και της μείωσης της διαπερατότητας της ακτινοβολίας στα 600nm, σε σχέση με τη μεμβράνη αναφοράς που δεν περιείχε καθόλου φαινολικά συστατικά. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι η χαμηλή διαπερατότητα στην υπεριώδη ακτινοβολία (280 nm) παρέμεινε μηδενική σε όλες τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις φαινολικών. Άλλοι ερευνητές όπως οι Jian-Hua Li et al. (2014) ανέφεραν πως σε μεμβράνες από ζελατίνη με ενθυλακωμένα φαινολικά από πράσινο τσάι η διαπερατότητα φωτός μειώθηκε σε σχέση με τις μεμβράνες χωρίς φαινολικές ενώσεις.

Πίνακας 4.2.1 Επίδραση προσθήκης αντιοξειδωτικών από απόβλητα καφέ στο πάχος και τις οπτικές ιδιότητες των μεμβρανών.

TPC ¹ (mg/g)	Πάχος (mm)	Αδιαφάνεια (600 nm)	Διαπερατότητα ακτινοβολίας (T%) σε διαφορετικά μήκη κύματος (nm)							
			280	300	350	400	500	600	700	800
0	0.10 ± 0.05	1.4 ± 0.2	0.1	0.9	32.0	52.9	66.3	72.8	75.5	77.7
0.5	0.16 ± 0.02	2.1 ± 0.2	0.0	0.1	6.2	19.3	36.2	46.0	52.6	57.5
1.0	0.20 ± 0.02	1.9 ± 0.2	0.0	0.0	0.2	4.2	22.6	41.7	52.1	59.3
2.5	0.18 ± 0.03	2.0 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	3.0	25.5	43.2	55.9	63.8

¹TPC: ολική συγκέντρωση φαινολικών εκφρασμένη σε mgGAE/ g μεμβράνης

Στον Πίνακα 4.2.2 παρατηρείται η μείωση της διαλυτότητας των μεμβρανών και της ικανότητάς τους να συγκρατούν νερό με την προσθήκη φαινολικών συστατικών. Αντιθέτως οι διαφορετικές συγκεντρώσεις φαινολικών επηρέασαν σημαντικά την διαπερατότητα υδρατμών. Συγκεκριμένα, η διαπερατότητα σε υδρατμούς αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών.

Παρόμοια αποτελέσματα έχουν δείξει και άλλοι ερευνητές (Ciannonea et al., 2016) όπου η προσθήκη αντιοξειδωτικών από κόκκινα σταφύλια σε μεμβράνες από πρωτεΐνη σόγιας δεν έδειξε να επηρεάζει τη διαλυτότητα και την ικανότητα προσρόφησης νερού.

Πίνακας 4.2.2 Επίδραση προσθήκης αντιοξειδωτικών από απόβλητα καφέ στη διαλυτότητα (S), προσρόφηση νερού (SI) και διαπερατότητα υδρατμών (WVP) των μεμβρανών.

TPC ¹ (mg/g)	S (%)	SI (%)	WVP (g · mm/d · m ² · kPa)
0	52.1 ± 1.5	190.6 ± 0.3	6.6 ± 0.8
0.5	35.7 ± 1.3	147.2 ± 3.8	14.8 ± 0.7
1.0	35.9 ± 1.4	140.5 ± 15.4	18.5 ± 0.9
2.5	38.1 ± 0.8	154.4 ± 13.5	16.7 ± 0.8

¹TPC: ολική συγκέντρωση φαινολικών εκφρασμένη σε mgGAE/ g μεμβράνης

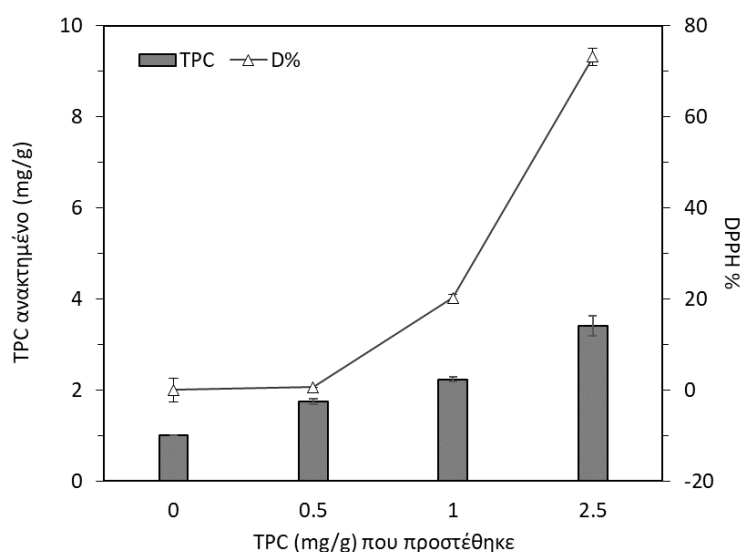
4.2.3 Περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και αντιοξειδωτική ικανότητα

Οι μεμβράνες που εμπλουτίστηκαν με το εκχύλισμα φαινολικών μελετήθηκαν ως προς την ικανότητά τους να συγκρατούν τα φαινολικά συστατικά και να επιδεικνύουν αντιοξειδωτική ικανότητα. Στο γράφημα 4.2.2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μεμβρανών με διαφορετικές συγκεντρώσεις φαινολικών ουσιών (0 έως 2,5 mg/g μεμβράνης). Όπως παρατηρείται, η μέθοδος Folin, η οποία χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να προσδιοριστεί η ολική περιεκτικότητα σε

φαινολικά συστατικά, δημιουργεί χρωμοφόρα σύμπλοκα και με πρωτεϊνικά μόρια. Αυτό άλλωστε είναι γνωστό, καθώς το εν λόγω αντιδραστήριο χρησιμοποιείται και στον προσδιορισμό των πρωτεϊνών (Lowry et al., 1951). Ως εκ τούτου, είναι λογικό να παρατηρούνται αυξημένες συγκεντρώσεις ανακτημένων φαινολικών συστατικών στις μεμβράνες. Ειδικότερα, η μεμβράνη χωρίς προσθήκη φαινολικών ουσιών παρουσίασε TPC 1 mg/g, ενώ στις περιπτώσεις που προστέθηκαν φαινολικά συστατικά παρατηρείται βαθμιαία αύξηση της TPC η οποία κυμαίνεται από 1,7 – 3,4 mg/g.

Στο γράφημα 4.2.2, παρουσιάζονται επίσης τα αποτελέσματα με την αντιοξειδωτική ικανότητα των μεμβρανών. Ειδικότερα, παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών, αυξάνεται και η αντιοξειδωτική δράση των μεμβρανών. Στην περίπτωση που η μεμβράνη περιείχε 2,5 mg/g παρατηρείται η μέγιστη δέσμευση της DPPH, η οποία ήταν 73,2%.

Στη διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αντίστοιχες δημοσιεύσεις που μελετούν την ενσωμάτωση των αντιοξειδωτικών από απόβλητα καφέ σε εδώδιμες μεμβράνες τυρογάλακτος. Παρόμοιες μελέτες έχουν διεξαχθεί για την επίτευξη αντιοξειδωτικής ικανότητας μεμβρανών από πουρέ μήλου με την προσθήκη φαινολικών συστατικών από φλούδες μήλων (Du et al., 2011).



Γράφημα 4.2.2 Ολική περιεκτικότητα φαινολικών συστατικών (TPC) και αντιοξειδωτική ικανότητα (D%) των μεμβρανών που εμπλουτίστηκαν με εκχύλισμα πλούσιο σε αντιοξειδωτικά από τα απόβλητα καφέ.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ V

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, σε ό,τι αφορά την παραγωγή μεμβρανών και την επίδραση της τιμής του pH διεξήχθησαν τα εξής συμπεράσματα:

- η τιμή του pH του πρωτεϊνικού διαλύματος παίζει σημαντικό ρόλο κι επηρεάζει τις φυσικές ιδιότητες των μεμβρανών που προκύπτουν
- με αύξηση της τιμής pH, βελτιώνονται οι οπτικές ιδιότητες της μεμβράνης, αυξάνεται η ικανότητα προσρόφησης νερού, όπως επίσης μειώνεται η διαλυτότητα, η διαπερατότητα σε υδρατμούς
- η ρύθμιση της τιμής του pH προσφέρει τη δυνατότητα να παραχθούν μεμβράνες με διαφορετικές ιδιότητες ανάλογα την επιθυμητή εφαρμογή

Σε ό,τι αφορά την παραγωγή μεμβρανών, και την επίδραση της προσθήκης αντιοξειδωτικών ουσιών διεξήχθησαν τα εξής συμπεράσματα:

- τα απόβλητα καφέ είναι πηγή φαινολικών συστατικών με αντιοξειδωτική δράση
- η ενσωμάτωση εκχυλισμάτων φαινολικών ουσιών από απόβλητα καφέ στις εδώδιμες μεμβράνες μπορούν να τους προσδώσουν αντιοξειδωτική δράση
- η ενσωμάτωση εκχυλισμάτων φαινολικών ουσιών στις εδώδιμες μεμβράνες επηρεάζει σημαντικά τις φυσικές ιδιότητες των μεμβρανών

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ASTM (2015). Standard test methods for water vapor transmission of materials, E96/E96M-15. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American society for Testing and Materials.
- Balanec, B., Vourch, M., Rabiller-Baudry, M., & Chaufer, B. (2005). Comparative study of different nanofiltration and reverse osmosis membranes for dairy effluent treatment by dead-end filtration. *Separation and Purification Technology*, 42(2), 195–200.
- Chen, Y., Cheng, J. J. and Creamer, K. S., 2007. Inhibition of anaerobic digestion process: A review, *Bioresource Technology* 99, 4044-4064.
- Ciannamea, E. M., Stefani, P. M., & Ruseckaite, R. A. (2016). Properties and antioxidant activity of soy protein concentrate films incorporated with red grape extract processed by casting and compression molding. *LWT*, 74, 353–362.
- Du, W.-X., Olsen, C. W., Avena-Bustillos, R. J., Friedman, M., & McHugh, T. H. (2011). Physical and antibacterial properties of edible films formulated with apple skin polyphenols. *Journal of Food Science*, 76, M149-M155.
- Esquivel, P., & Jimenez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 45, 488-495.
- Forster, A. (2013). Sustainability: Best Practices in the Food Industry. *Journal of Undergraduate Research*, XVI.
- Gardner D. (1989): New technologies in the conversion of whey to high protein products. *Modern dairy* 68: 15-17.
- Gavala, H.N., Skiadas, I.V., Bozinis, N.A. & Lyberatos, G. (1996). Anaerobic co digestion of agricultural industries wastewaters. *Water Science and Technology* 34 (11): 67-75.
- Gennadios, A., & Weller, C. L. (1990). Edible films and coatings from wheat and corn proteins. *Food Technology*, 44, 63-69.
- Gheribi, R., Puchot, L., Verge, P., Jaoued-Grayaa, N., Mezni, M., Habibi, Y., & Khwaldia, K. (2018). Development of plasticized edible films from *Opuntia ficus-indica* mucilage: A comparative study of various polyol plasticizers. *Carbohydrate Polymers*, 190, 204–211.
- GREENER, I. K., & FENNEMA, O. (1989). Evaluation of Edible, Bilayer Films for Use as Moisture Barriers for Food. *Journal of Food Science*, 54(6), 1400–1406.

- Han, C., Zhao, Y., Leonard, S. W., & Traber, M. G. (2004). Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria x ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Tecnology*, 33, 67-78.
- Heller, C. M., & Keoleian, G., A., (2000), *Life Cycle-Based Sustainability Indicators for Assessment of the U.S. Food System*.
- Henriques M., Gomes D., Pereira C. (2016). Chapter 10 – Whey protein edible coatings: recent developments and applications. In: Nedović V., Raspor P., Lević J., Tumbas Šaponjac V., Barbosa-Cánovas G. (eds), *Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food*, Food Engineering Series. Springer, Cham, pp. 177-196.
- Jelen P. ,2002. Utilization and products, *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Whey processing (2004), pp. 2739-2745
- Kosseva R. M. ,2009. Processing of Food Wastes, *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 58, 57-136.
- Li, J.-H., Miao, J., Wu, J.-L., Chen, S.-F., & Zhang, Q.-Q. (2014).Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. *Food Hydrocolloids*, 37, 166–173.
- Lin, D., & Zhao, Y. (2007). Innovations in the Development and Application of Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6(3), 60–75.
- Lieder, M., & Rashid, A. (2016). Towards circular economy implementation: a comprehensive review in context of manufacturing industry. *Journal of Cleaner Production*, 115, 36–51
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951).Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1):265-75.
- MAFTOONAZAD, N., RAMASWAMY, H., MOALEMIYAN, M., & KUSHALAPPA, A. (2007). Effect of pectin-based edible emulsion coating on changes in quality of avocado exposed to *Lasiodiplodia theobromae* infection. *Carbohydrate Polymers*, 68(2), 341–349.
- McHugh, T. H. (2000).Protein-lipid interactions in edible films and coatings. *Nahrung/Food*, 44(3), 148–151.
- Miller, K. S., & Krochta, J. M. (1997). Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 8(7), 228–237

- Pérez-Gago, M., Nadaud, P., Krochta, J. (1999). Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. *Journal of Food Science*, 64, 1034-1037.
- Peters, D., 2006. Raw Materials. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 105, pp. 1-30.
- Philippopoulos, Charalabos and Papadakis Marios, 2001. “Current trends in whey processing and utilization in Greece”, *International Journal of Dairy Technology*, Vol 54, No 1, 14-19.
- Press, M. & Arnould, E. J., (2009). Constraints on Sustainable Energy Consumption: Market System and Public Policy Challenges and Opportunities. *Journal of Public Policy & Marketing*, 28, 102-113
- Regalado C., Pérze-Pérez C., Lara-Cortés E., Gracia-Almendarez B. (2006). Whey protein based edible food packaging films and coating R.G. Guevara-González, I. Torres-Pacheco (Eds.), *Advances in agricultural and food biotechnology*, Research Signpost, Kerala, pp. 237-261.
- Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112: 654–658.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Thassitou, P. , & Arvanitoyannis, I. . (2001). Bioremediation: a novel approach to food waste management. *Trends in Food Science & Technology*, 12(5-6), 185–196.
- Wakai, M., & Almenar, E. (2015). Effect of the presence of montmorillonite on the solubility of whey protein isolate films in food model systems with different compositions and pH. *Food Hydrocolloids*, 43, 612–621.

- Αγγελή, Ευαγγελία. (2014). Αποτύπωση της υφιστάμενης διαχείρισης αποβλήτων από Βιομηχανικές Μονάδες Παραγωγής Ελαιολάδου και Επεξεργασίας Γάλακτος-Δυνατότητες αξιοποίησης. Διπλωματική Εργασία. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα.
- Ανυφαντάκης, Ε., (2004). Τυροκομία Χημεία-Φυσικοχημεία. Μικροβιολογία, Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα.

- Βαμβακάκη, Α., et al., (2009). Παραγωγή κυτταρικής μάζας και μικροβιακού λίπους κατά την ανάπτυξη του μύκητα *Mucor* sp. LGAM 366 σε τυρόγαλα. Περιοδικό Επιστήμη και τεχνολογία γάλακτος. Εθνική Επιτροπή Γάλακτος Ελλάδας.
- Βαρθαλάμης, Γ.(2017).Αξιοποίηση τυρογάλακτος-απόβλητο τυροκομίας. Πτυχιακή Εργασία. Ανώτατο Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Καλαμάτας. Σχολή τεχνολογίας,Γεωπονίας. Τροφίμων & Διατροφής. Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων.
- Γεωργακάκης, Δ. (2003). Διαχείριση Στερεών Αποβλήτων. Τόμος Γ', Στερεά Γεωργικά Απόβλητα», Πάτρα, Ε.Α.Π.
- Καραδήμα Κ. ,(2009). Εκτίμηση της τοξικότητας διαφόρων σταδίων επεξεργασίας αποβλήτων τυροκομικών μονάδων με χρήση βιοδεικτών. Διδακτορική διατριβή. Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας ζώων.
- Καμιναρίδης, Σ. (2007). Αξιοποίηση τυρογάλακτος. Συνέδριο «Η προστασία της ελληνικής παραγωγής γαλακτοκομικών και τυροκομικών προϊόντων και η ενίσχυση της ανταγωνιστικότητάς τους στην ελληνική και διεθνή αγορά». Φεστιβάλ Ελληνικού Γάλακτος και Τυριού. Πειραιάς.
- Κτώρη, Ρ.(2017). Αξιοποίηση Υπολειμμάτων καφέ μέσω πυρόλυσης για την παράγωγή υλικών και ενέργειας. Διπλωματική Εργασία Αριστοτέλειο πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης Πολυτεχνική Σχολή Τμήμα Χημικών Μηχανικών.
- Μακρής Γ., Χαραλάμπους Α. & Χατζηευσταθίου Μ., (2001). Πρόληψη της ρύπανσης στη βιομηχανία παραγωγής γαλακτοκομικών προϊόντων – παγωτού. Μεταπτυχιακή διατριβή, Ηράκλειο.
- Μάντης, Α., (1993). Υγιεινή και τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του. Θεσσαλονίκη.
- Σπήλιος,Χ. (2015) Περιβαλλοντική αξιολόγηση βιομηχανιών τροφίμων & ποτών με χρήση της μεθοδολογίας HAPI-E. Διπλωματική Εργασία. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα.
- Χρήστου, Ι.(2011).Διαχείριση αποβλήτων τυροκομείων. Διπλωματική Εργασία. ΕΠΑ.Πάτρα.