



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΧΗΜΕΙΑΣ»
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ «ΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ»**

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Καινοτόμος βιοαποικοδόμηση πολυφαινολικών ενώσεων από I) απόβλητα
ελαιουργείου και II) διαχείριση πράσινων απορριμμάτων μέσω κομποστοποίησης
με τη χρήση βιοκαταλύτη**

**ΜΑΡΙΑ ΕΞΑΡΧΑΚΟΥ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2017

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Καινοτόμος βιοαποικοδόμηση πολυφαινολικών ενώσεων από I) απόβλητα ελαιουργείου και II) διαχείριση πράσινων απορριμμάτων μέσω κομποστοποίησης με τη χρήση βιοκαταλύτη

ΜΑΡΙΑ ΕΞΑΡΧΑΚΟΥ

A.M.: 91410

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Εμμανουήλ Δασενάκης, Καθηγητής Τμήματος Χημείας, ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΔΑΣΕΝΑΚΗΣ

Καθηγητής Τμήματος Χημείας, ΕΚΠΑ

ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ ΜΠΑΚΕΑΣ

Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Χημείας, ΕΚΠΑ

ΑΡΙΑΔΝΗ ΑΡΓΥΡΑΚΗ

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμήματος Γεωλογίας και Γεωπεριβάλλοντος ΕΚΠΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΙΟΥΝΙΟΣ 2017

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα εργασία έχει σαν αντικείμενο την μελέτη της βιοαποικοδόμησης μέσω κομποστοποίησης, δύο δύσκολων στο χειρισμό κατηγοριών αποβλήτων, τα απόβλητα από ελαιουργεία και τα πράσινα απορρίμματα. Τα απόβλητα ελαιουργείων είναι εξαιρετικά φυτοτοξικά και περιέχουν φαινολικές ενώσεις, λιπίδια, οργανικά οξέα και υψηλά ποσοστά οργανικής ύλης, ενώ τα πράσινα απορρίμματα αποτελούνται σε μεγάλο ποσοστό από λιγνίνη που αποικοδομείται δύσκολα. Η χρήση όμως ενός καινοτόμου βιοκαταλύτη συνέβαλε στη γρήγορη διάσπαση του οργανικού μέρους και την αποικοδόμηση των πολυφαινολών σε διάστημα μόλις 2 μηνών κατά τη διεργασία της κομποστοποίησης του πρώτου υποστρώματος. Ικανοποιητικά αποτελέσματα παρουσίασε και η δεύτερη κομποστοποίηση όσον αφορά στη χουμοποίηση και στη μείωση του όγκου του σωρού όμως παρατηρήθηκε μικρή διάσπαση του οργανικού μέρους. Ως συμπέρασμα προκύπτει ότι το τελικό προϊόν της κομποστοποίησης μπορεί να χαρακτηριστεί εδαφοβελτιωτικό όμως απαιτείται περαιτέρω έρευνα σχετικά με τη διάσπαση της λιγνίνης.

Η μελέτη της εξελικτικής πορείας των πολυφαινολικών ενώσεων κατά τη διάρκεια των δύο κομποστοποιήσεων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας την ποσοτική ανάλυση με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu παράλληλα με άλλους δείκτες ωρίμανσης των compost και έγινε μέτρηση του πληθυσμού των παθογόνων μικροοργανισμών *Escherichia Coli* και η *Salmonella* στα τελικά προϊόντα για να επισφραγιστεί η καταλληλότητά τους για χρήση στις καλλιέργειες.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Κομποστοποίηση

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: κομποστοποίηση, compost, πολυφαινόλες, λιγνίνη, βιοκαταλύτης

ABSTRACT

The aim of this thesis research is to study the biodegradation during composting, of two relatively difficult to handle waste streams, olive mill wastes and green wastes. The olive mill wastes are highly phytotoxic and contain phenolic compounds, lipids, organic acids and high levels of organic matter, while green waste are largely lignin-rich, a material hard to decompose. However, rapid degradation of organic matter and polyphenols was achieved in just 2 months with the use of an innovative biocatalyst, in the first composting process. The results in the humification process and heap volume reduction of the second pile with green wastes, were satisfactory contrary to the small organic part breakdown. Consequently, the final product may be classified as first class soil conditioner, but further research on lignin decomposition should be undertaken.

The evolution of polyphenolic compounds was studied using Folin-Ciocalteu quantitative analysis parallel to other compost maturation indices. The suitability of the final products for crop use was confirmed by counting the population of pathogenic microorganisms, as *Escherichia Coli* and *Salmonella*.

SUBJECT AREA: Composting process

KEYWORDS: composting, compost, polyphenols, lignin, biocatalyst

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της ερευνητικής μου εργασίας, Αν. Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Χασάπη, για την επιλογή και την ευκαιρία που μου έδωσε να διδαχτώ, να μελετήσω και να εμβαθύνω σε ειδικά θέματα κομποστοποίησης. Δεν πρέπει να παραληφτεί ότι με τον τρόπο του με ώθησε στο να αναπτύξω τις ικανότητές μου, να αξιοποιήσω τις γνώσεις μου και τα προσόντα μου.

Τις θερμές μου ευχαριστίες στους υπεύθυνους καθηγητές του τομέα Περιβαλλοντικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών, κ. Μιχάλη Σκούλλο, κ. Εμμανουήλ Δασενάκη, κ. Ευάγγελο Μπακέα και τους υπόλοιπους καθηγητές που μου έδωσαν την ευκαιρία να διδαχτώ θέματα Χημείας και Τεχνολογίας Περιβάλλοντος.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στο συνάδελφό μου Παντελή Κρίθιμο, για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε στο εργαστηριακό κομμάτι της έρευνάς μου. Φυσικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, για την αμέριστη βοήθεια και συμπαράσταση που μου πρόσφεραν.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΚΟΜΠΟΣΤΟΠΟΙΗΣΗ	20
1.1 Εισαγωγή.....	20
1.2 Ορισμοί.....	22
1.3 Φάσεις και μικροβιολογία κομποστοποίησης.....	23
1.4 Φυσικοχημικοί παράγοντες κομποστοποίησης.....	29
1.4.1 Θερμοκρασία.....	29
1.4.2 Οξυγόνο και Αερισμός.....	30
1.4.3 Υγρασία.....	30
1.4.4 Λόγος C/N.....	31
1.4.5 pH.....	31
1.4.6 Μέγεθος τεμαχιδίων.....	32
2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΟΥ	33
2.1 Παραγωγή και χαρακτηριστικά στερεών και υγρών αποβλήτων.....	33
2.1.1 Υπολείμματα κλαδεμάτων και συγκομιδής.....	34
2.1.2 Υγρά απόβλητα.....	34
2.2 Περιβαλλοντικές επιπτώσεις.....	36
2.2.1 Μόλυνση του εδάφους και φυτοτοξικότητα.....	37
2.2.2 Μόλυνση των υδάτων.....	37
2.3 Φαινολικές ενώσεις στα απόβλητα των ελαιουργείων.....	38
2.4 Βιοαποικοδόμηση πολυφαινολών μέσω κομποστοποίησης.....	40
3. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΠΡΑΣΙΝΑ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΑ - ΚΛΑΔΕΜΑΤΑ	43
3.1 Σύσταση κλαδεμάτων.....	43
3.2 Βιοαποικοδόμηση λιγνίνης μέσω κομποστοποίησης.....	43
4. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	46
4.1 Περιγραφή των υποστρωμάτων.....	46

4.1.1	Απόβλητα ελαιουργείου – σωρός P _{OMW}	46
4.1.2	Πράσινα απορρίμματα – σωρός P _{GW}	46
4.1.3	Βιοκαταλύτης.....	46
4.2	Διαδικασία της κομποστοποίησης	47
4.3	Δειγματοληψία	47
4.4	Προσδιορισμός υγρασίας.....	49
4.5	Προσδιορισμός ηλεκτρικής αγωγιμότητας	49
4.6	Προσδιορισμός pH.....	49
4.7	Προσδιορισμός ειδικού βάρους	50
4.8	Προσδιορισμός τέφρας	50
4.9	Προσδιορισμός οργανικού μέρους.....	51
4.10	Προσδιορισμός ολικού οργανικού άνθρακα.....	52
4.11	Προσδιορισμός αζώτου	52
4.12	Προσδιορισμός C/N.....	54
4.13	Προσδιορισμός χουμικών οξέων	54
4.14	Προσδιορισμός ολικών φαινολών.....	56
4.15	Μικροβιακές αναλύσεις.....	59
5.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ	62
5.1	Μετρήσεις στα υγρά απόβλητα ελαιουργείου.....	62
5.2	Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά φυτικών υπολειμμάτων.....	62
5.3	Μετρήσεις υγρασίας.....	63
5.4	Μετρήσεις ηλεκτρικής αγωγιμότητας.....	64
5.5	Μετρήσεις pH.....	66
5.6	Μετρήσεις ειδικού βάρους.....	68
5.7	Μετρήσεις τέφρας	70
5.8	Μετρήσεις οργανικού μέρους.....	72
5.9	Μετρήσεις ολικού οργανικού άνθρακα	74

5.10	Μετρήσεις αζώτου	75
5.11	Λόγος C/N	77
5.12	Μετρήσεις χουμικών οξέων	79
5.13	Μετρήσεις ολικών φαινολών	81
5.14	Μικροβιακές αναλύσεις.....	84
6.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	85
6.1	Σύγκριση των παραγόμενων compost με άλλα εδαφοβελτιωτικά	87
6.2	Ποιοτική αξιολόγηση των παραγόμενων compost	89
7.	ΑΝΑΦΟΡΕΣ	92

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Πυραμίδα ιεράρχησης της διαχείρισης των στερεών αποβλήτων	18
Εικόνα 1.2: Η διαδικασία της κομποστοποίησης	21
Εικόνα 2.1: Φαινολικές ενώσεις στα υγρά απόβλητα ελαιουργείων.....	36
Εικόνα 3.1: Διαγραμματική αποϊκόνιση του σχηματισμού των χουμικών.....	39

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1: Παραδείγματα μικροοργανισμών που αναπτύσσονται στα compost.....	25
Πίνακας 2.1: Χαρακτηριστικά και σύνθεση των υγρών αποβλήτων ελαιουργείων.....	32
Πίνακας 4.1: Δειγματοληψίες κομποστοποίησης P_{OMW}	48
Πίνακας 4.2: Δειγματοληψίες κομποστοποίησης P_{GW}	48
Πίνακας 5.1: Μετρήσεις στα υγρά απόβλητα ελαιουργείου	62
Πίνακας 5.2: Μετρήσεις στα φυτικά υπολείμματα	63
Πίνακας 5.3: Μετρήσεις υγρασίας στο σωρό P_{OMW}	63
Πίνακας 5.4: Μετρήσεις υγρασίας στο σωρό P_{GW}	64
Πίνακας 5.5: Μετρήσεις ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο σωρό P_{OMW}	64
Πίνακας 5.6: Μετρήσεις ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο σωρό P_{GW}	65
Πίνακας 5.7: Μετρήσεις pH στο σωρό P_{OMW}	66
Πίνακας 5.8: Μετρήσεις pH στο σωρό P_{GW}	67
Πίνακας 5.9: Μετρήσεις ειδικού βάρους στο σωρό P_{OMW}	69
Πίνακας 5.10: Μετρήσεις ειδικού βάρους στο σωρό P_{GW}	69
Πίνακας 5.11: Μετρήσεις τέφρας στο σωρό P_{OMW}	70
Πίνακας 5.12: Μετρήσεις τέφρας στο σωρό P_{GW}	71
Πίνακας 5.13: Μετρήσεις οργανικού μέρους στο σωρό P_{OMW}	72
Πίνακας 5.14: Μετρήσεις οργανικού μέρους στο σωρό P_{GW}	73
Πίνακας 5.15: Μετρήσεις ολικού οργανικού άνθρακα στο σωρό P_{OMW}	74
Πίνακας 5.16: Μετρήσεις ολικού οργανικού άνθρακα στο σωρό P_{GW}	75
Πίνακας 5.17: Μετρήσεις αζώτου στο σωρό P_{OMW}	76
Πίνακας 5.18: Μετρήσεις αζώτου στο σωρό P_{GW}	76
Πίνακας 5.19: Μετρήσεις Λόγου C/N στο σωρό P_{OMW}	78
Πίνακας 5.20: Μετρήσεις Λόγου C/N στο σωρό P_{GW}	78
Πίνακας 5.21: Μετρήσεις Χουμικών οξέων στο σωρό P_{OMW}	79

Πίνακας 5.22: Μετρήσεις Χουμικών οξέων στο σωρό P _{GW}	80
Πίνακας 5.23: Μετρήσεις ολικών φαινολών στο σωρό P _{OMW}	82
Πίνακας 5.24: Μετρήσεις ολικών φαινολών στο σωρό P _{GW}	82
Πίνακας 5.25: Μετρήσεις ολικών φαινολών στο σωρό P _{OMW}	84
Πίνακας 6.1: Περιγραφή δειγμάτων compost.....	88
Πίνακας 6.2: Συγκριτικές μετρήσεις των compost.....	88
Πίνακας 6.3: Κατηγορίες compost.....	90

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 2.1: α) Ενζυματική οξείωση πολυφαινόλης από ένζυμα, β) Οξειδωτική διάσπαση φαινολικού δακτυλίου, γ) Διμερή προϊόντα από την οξείδωση της κατεχόλης, δ) Προϊόντα από την ενζυμική αντίδραση της κατεχόλης με αμινοξέα, ε) Οξείδωση του βανιλικού οξέος με απώλεια καρβοξυλικών ομάδων.....	17
Σχήμα 4.1: Καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος.....	56
Σχήμα 5.1: Διακύμανση ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο σωρό P_{OMW}	61
Σχήμα 5.2: Διακύμανση ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο σωρό P_{GW}	62
Σχήμα 5.3: Διακύμανση pH στο σωρό P_{OMW}	63
Σχήμα 5.4: Διακύμανση pH στο σωρό P_{GW}	64
Σχήμα 5.5: Διακύμανση Ειδικού βάρους στο σωρό P_{OMW}	65
Σχήμα 5.6: Διακύμανση Ειδικού βάρους στο σωρό P_{GW}	66
Σχήμα 5.7: Διακύμανση Τέφρας στο σωρό P_{OMW}	67
Σχήμα 5.8: Διακύμανση Τέφρας στο σωρό P_{GW}	67
Σχήμα 5.9: Διακύμανση Οργανικού μέρους στο σωρό P_{OMW}	68
Σχήμα 5.10: Διακύμανση Οργανικού μέρους στο σωρό P_{GW}	69
Σχήμα 5.11: Διακύμανση TOC στο σωρό P_{OMW}	70
Σχήμα 5.12: Διακύμανση TOC στο σωρό P_{GW}	71
Σχήμα 5.13: Διακύμανση TKN στο σωρό P_{OMW}	72
Σχήμα 5.14: Διακύμανση TKN στο σωρό P_{GW}	73
Σχήμα 5.15: Διακύμανση λόγου C/N στο σωρό P_{OMW}	74
Σχήμα 5.16: Διακύμανση λόγου C/N στο σωρό P_{OMW}	75
Σχήμα 5.17: Διακύμανση Χουμικών οξέων στο σωρό P_{OMW}	76
Σχήμα 5.18: Διακύμανση Χουμικών οξέων στο σωρό P_{GW}	77
Σχήμα 5.19: Διακύμανση Ολικών φαινολών στο σωρό P_{OMW}	78
Σχήμα 5.20: Διακύμανση Ολικών φαινολών στο σωρό P_{GW}	79

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία με τίτλο «Καινοτόμος βιοαποικοδόμηση πολυφαινολικών ενώσεων (1) από απόβλητα ελαιουργείου και (2) διαχείριση πράσινων απορριμμάτων, μέσω κομποστοποίησης με τη χρήση βιοκαταλύτη», εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Ορυκτών Πόρων του τμήματος Χημείας Αθηνών. Πραγματοποιήθηκε, υπό τον επιβλέποντα Καθηγητή, κ. Εμμανουήλ Δασενάκη, με υπεύθυνο τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Χασάπη.

Αντικείμενο της εργασίας είναι η μελέτη της βιοαποικοδόμησης των πολυφαινολικών ενώσεων, που βρίσκονται στα απόβλητα των ελαιουργείων καθώς και στα πράσινα απορρίμματα, με τη χρήση καινοτόμου βιοκαταλύτη. Με τον όρο πράσινα απορρίμματα εννοούμε τα κλαδέματα, τα απόβλητα κήπου, τα γεωργικά απόβλητα και κυρίως κάθε υλικό φυτικής προέλευσης που καταλήγει στα σκουπίδια. Μελετήθηκε η διάσπαση των πολυφαινολών συγκριτικά με άλλους δείκτες ωρίμανσης των κομποστ, κυρίως την μείωση του οργανικού μέρους και τον βαθμό χουμοποίησης και έγινε αξιολόγηση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολών ως κριτήριο ωρίμανσης και σταθεροποίησης του τελικού προϊόντος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΚΟΜΠΟΣΤΟΠΟΙΗΣΗ

1.1 Εισαγωγή

Η διαχείριση των στερεών απορριμμάτων αποτελεί ένα σύνθετο πρόβλημα, δεν είναι μόνο περιβαλλοντικό, αλλά πολιτικό, οικονομικό, κοινωνικό και τεχνολογικό.

Από τα αρχαία χρόνια, οι δραστηριότητες των ανθρώπων παρήγαγαν απόβλητα τα οποία απορρίπτονταν καθώς θεωρούνταν χαμηλής αξίας ή άχρηστα. Καθώς ο ανθρώπινος πληθυσμός μεγάλωνε και άρχισαν να εγκαθίστανται σε χωριά και κοινότητες, η συσσώρευση των αποβλήτων ήταν αναπόφευκτη. Από τότε η κατανάλωση και οι ανάγκες σε πρώτες ύλες έχουν αυξηθεί δραματικά. Αυτό οφείλεται όχι μόνο στην αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού, αλλά και λόγω της τεράστιας αύξησης των αγαθών που χρησιμοποιούνται ανά άτομο, ιδίως στις εύπορες χώρες. Έτσι, μαζί με τα πλεονεκτήματα της τεχνολογίας έχουν έρθει και τα προβλήματα της διάθεσης των παραγόμενων αποβλήτων.

Δέκα χρόνια πριν, είχαν συγκεντρωθεί 2,9 δισεκατομμύρια κάτοικοι στα αστικά κέντρα που παρήγαγαν περίπου 0,64 kg απορρίμματα/άτομο/ημέρα (0,68 δισεκατομμύρια τόνους ετησίως). Σήμερα εκτιμάται ότι τα ποσά αυτά έχουν αυξηθεί ως εξής, περίπου 3 δισεκατομμύρια κάτοικοι ζουν στα αστικά κέντρα και παράγουν 1,2 kg απορρίμματα/άτομο/ημέρα (1,3 δισεκατομμύρια τόνους ετησίως). Μέχρι το 2025 αυτά τα νούμερα πιθανότατα θα αυξηθούν σε 4,3 δισεκατομμύρια κατοίκους των αστικών κέντρων και σε παραγωγή περίπου 1,42 kg αστικών στερεών αποβλήτων/κάτοικο/ημέρα (2,2 δισεκατομμύρια τόνους ετησίως).¹

Η διαχείριση αυτών των ρευμάτων στερεών αποβλήτων σωστά και κερδοφόρα είναι μία από τις βασικές προκλήσεις του 21^{ου} αιώνα. Παραδοσιακά, η διαχείριση των αστικών στερεών αποβλήτων περιλαμβάνει τις λειτουργίες της συλλογής, μεταφοράς, ανάκτησης πόρων, την ανακύκλωση και την εξυγίανση.

Ο πρωταρχικός στόχος της διαχείρισης των ΑΣΑ είναι η προστασία της υγείας των ανθρώπων, η προώθηση της ποιότητας του περιβάλλοντος, η ανάπτυξη της αειφορίας και η παροχή στήριξης στην οικονομική παραγωγικότητα.

Σύμφωνα με την Οδηγία 2008/98/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του συμβουλίου της 19ης Νοεμβρίου 2008 για τα απόβλητα ισχύει ως τάξη προτεραιότητας η ακόλουθη ιεράρχηση:

1. πρόληψη,
2. προετοιμασία για επαναχρησιμοποίηση,
3. ανακύκλωση, (εμπεριέχει την διεργασία της κομποστοποίησης των οργανικών αποβλήτων)
4. άλλου είδους ανάκτηση, π.χ. ανάκτηση ενέργειας, και
5. διάθεση.



Εικόνα 1.1: Πυραμίδα ιεράρχησης της διαχείρισης των στερεών αποβλήτων

Η κλιματική αλλαγή έχει επιστήσει την προσοχή στην εκτροπή των βιοαποδομήσιμων αστικών στερεών αποβλήτων (ΑΣΑ), όπως τα απόβλητα της κουζίνας και του κήπου, από τους χώρους υγειονομικής ταφής, επειδή έχουν τη δυνατότητα να σχηματίσουν μεθάνιο, CH₄, (ένα ισχυρό αέριο του θερμοκηπίου) υπό αναερόβιες συνθήκες. Η κομποστοποίηση είναι μια φιλική προς το περιβάλλον και οικονομικά βιώσιμη εναλλακτική μέθοδος για τη διαχείριση των στερεών οργανικών αποβλήτων και γεωργικών υπολειμμάτων.

Στην Ελλάδα είναι ελάχιστα διαδεδομένη σε αντίθεση με άλλες χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ). Η ελληνική νομοθεσία σχετικά με τις τεχνικές προδιαγραφές διαχείρισης οργανικών αποβλήτων περιλαμβάνει διατάξεις που

αφορούν εγκαταστάσεις με αερόβια και αναερόβια επεξεργασία σύμμεικτων απορριμμάτων, εστιάζοντας κυρίως στα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Η νομοθεσία σχετικά με τις τεχνικές προδιαγραφές διαχείρισης οργανικών αποβλήτων είχε ενταχθεί στην Ελληνική πραγματικότητα το 1997 με την ΚΥΑ 114218/1997 «Κατάρτιση πλαισίου Προδιαγραφών και γενικών προγραμμάτων διαχείρισης στερεών αποβλήτων», και τροποποιήθηκε πρόσφατα με την ΚΥΑ 56366/4351/2014 «Καθορισμός απαιτήσεων (προδιαγραφών) για εργασίες επεξεργασίας στο πλαίσιο της μηχανικής-βιολογικής επεξεργασίας των σύμμεικτων αστικών αποβλήτων και καθορισμός χαρακτηριστικών των παραγόμενων υλικών ανάλογα με τις χρήσεις τους, σύμφωνα με το εδάφιο β της παραγράφου 1 του άρθρου 38 του Ν. 4042/2012 (Α΄/24)», όπου δόθηκαν και ορισμοί σχετικοί με την κομποστοποίηση.

1.2 Ορισμοί

Αν μελετήσουμε τη διεθνή βιβλιογραφία σχετικά με την κομποστοποίηση δεν θα βρούμε έναν διεθνώς αναγνωρισμένο ορισμό. Υπάρχουν αρκετοί ορισμοί και ένα πλούσιο λεξιλόγιο για την περιγραφή της κομποστοποίησης που όλοι μαζί συνθέτουν μια ολοκληρωμένη εικόνα αυτής της διαδικασίας.

Κατά τον Kuhlman (1990), η κομποστοποίηση είναι από τις πιο γνωστές μεθόδους για τη βιολογική σταθεροποίηση των στερεών οργανικών αποβλήτων με τη μετατροπή τους σε ασφαλέστερο και σταθεροποιημένο υλικό (compost) που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πηγή θρεπτικών ουσιών και ως βελτιωτικό εδάφους σε γεωργικές εφαρμογές.² Επίσης ορίζεται και ως βιολογική, οξειδωτική αποδόμηση και σταθεροποίηση οργανικών υλικών, φυτικής και ζωικής προέλευσης, υπό συνθήκες οι οποίες οδηγούν στην ανάπτυξη υψηλών θερμοκρασιών και το τελικό προϊόν της διαδικασίας είναι σταθερό και κατάλληλο για αποθήκευση και εφαρμογή στο έδαφος χωρίς δυσάρεστες περιβαλλοντικές επιπτώσεις (Haug, 1986)³. Κατά τον Epstein (1997), κομποστοποίηση είναι μια βιοτεχνολογική αερόβια διαδικασία κατά την οποία διάφορες μικροβιακές αποικίες ανοργανοποιούν μέρος της οργανικής ύλης και συμβάλουν στη χουμοποίηση των ανθεκτικών ενώσεων⁴. Επίσης, μπορεί να θεωρηθεί ως διαδικασία μείωσης των οργανικών αποβλήτων, αποτελεί διαδικασία μικροβιακής αποσύνθεσης, αλλά η μεγαλύτερη αξία της έγκειται στη

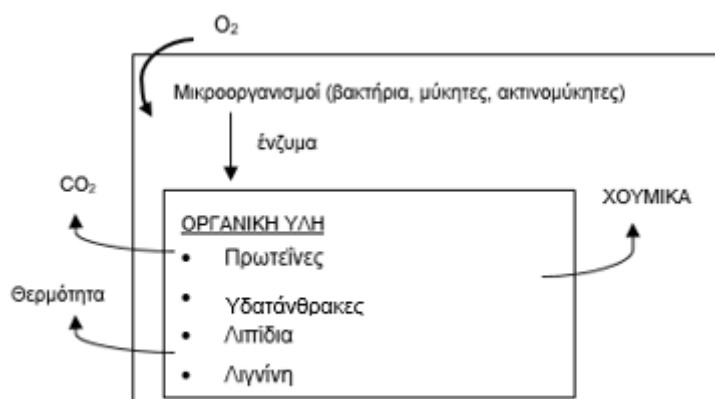
χρήση του compost ως βελτιωτικό εδάφους.^{5,6,7} Τέλος σύμφωνα με τους Adani et al. (1997) και Weltzien (1991), η κομποστοποίηση μπορεί να οριστεί ως έντονη μικροβιακή δραστηριότητα που οδηγεί στην αποσύνθεση των περισσότερων βιοαποικοδομήσιμων υλικών, γεγονός που οδηγεί σε βιολογική σταθερότητα του υπολείμματος και κατά τον Haug (1986)³ αποτελεί εξειδικευμένη μορφή σταθεροποίησης αποβλήτων.

Το προϊόν της κομποστοποίησης ή composting στη διεθνή ορολογία είναι το compost. Το compost μπορεί να καταλήξει σε οργανικό εδαφοβελτιωτικό, το οποίο είναι απαλλαγμένο από παθογόνους μικροοργανισμούς του ανθρώπου αλλά και των φυτών, που δεν προσελκύει έντομα και παράσιτα, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί και να αποθηκευτεί χωρίς να προκαλέσει κάποια ενόχληση και που είναι ευεργετικό στην ανάπτυξη των φυτών.⁸

1.3 Φάσεις και μικροβιολογία κομποστοποίησης

Κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης, οι μικροοργανισμοί μετασχηματίζουν την οργανική ύλη σε CO₂ και παράγουν εκτός των άλλων χουμικά εκλύοντας θερμότητα. Τα οργανικά υποστρώματα, οι διογκωτικοί και διορθωτικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται για την κομποστοποίηση προέρχονται κυρίως από φυτικό υλικό. Τα κύρια συστατικά της οργανικής ύλης είναι υδατάνθρακες (π.χ. κυτταρίνη), πρωτεΐνες, λιπίδια και λιγνίνη. Η ικανότητα των μικροοργανισμών να αφομοιώνουν την οργανική ύλη εξαρτάται από την ικανότητά τους να παράγουν τα ένζυμα που απαιτούνται για την αποικοδόμηση του υποστρώματος. Όσο πιο σύνθετο είναι το υπόστρωμα, τόσο πιο εκτεταμένο είναι το απαιτούμενο ενζυμικό σύστημα. Μέσω της συνεργιστικής δράσης των μικροοργανισμών, οι πολύπλοκες οργανικές ενώσεις αποικοδομούνται σε μικρότερα μόρια τα οποία στη συνέχεια μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τα μικροβιακά κύτταρα.⁹

Η διαδικασία της κομποστοποίησης μπορεί να περιγραφεί από το ακόλουθο σχεδιάγραμμα:



Εικόνα 1.2: Η διαδικασία της κομποστοποίησης.¹⁰

Ο Browne (1933) ήταν ο πρώτος που απέδειξε ότι η αυτό-θέρμανση των compost οφείλεται στη βιολογική δραστηριότητα¹¹ και ο Waksman (1932) ήταν ο πρώτος που δημοσίευσε μελέτες σχετικά με τη δυναμική των μικροβιακών πληθυσμών.¹² Στη συνέχεια, εδώ και δεκαετίες, οι διαδικασίες απομόνωσης και καλλιέργειας αποτέλεσαν τη βάση για τη μελέτη των μικροβιακών κοινοτήτων στα compost.¹³

Η διαδικασία της κομποστοποίησης μπορεί να χωριστεί σε τέσσερις κύριες φάσεις, οι οποίες καθορίζονται από τη θερμοκρασία και τη μικροβιακή δραστηριότητα. Αυτές οι φάσεις συχνά επικαλύπτονται λόγω των διαβαθμίσεων της θερμοκρασίας και η κάθε μία έχει διαφορετικές επιπτώσεις στο μικροβιακό πλυθησμό που συντελεί στη βιοαποικοδόμηση των αποβλήτων.

Οι φάσεις είναι:

1. Η μεσόφιλη φάση (25–40°C)
2. Η θερμόφιλη φάση (35–65°C)
3. Η φάση της πτώσης της θερμοκρασίας ή δεύτερη μεσόφιλη φάση
4. Η φάση της ωρίμανσης.¹⁴

➤ **Μεσόφιλη φάση**

Στην αρχική (μεσόφιλη) φάση, ενώσεις όπως τα σάκχαρα και οι πρωτεΐνες που είναι πλούσιες σε ενέργεια, βρίσκονται σε αφθονία και διασπώνται εύκολα, αποικοδομούνται από τους μύκητες και τα βακτήρια που γενικά αναφέρονται ως πρωτογενείς αποικοδομητές. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης, οι μύκητες ανταγωνίζονται τα βακτήρια για τα εύκολα διαθέσιμα υποστρώματα. Δεδομένου ότι οι μέγιστοι ειδικοί ρυθμοί ανάπτυξης των βακτηρίων υπερβαίνουν εκείνους των μυκήτων κατά μία τάξη μεγέθους, οι μύκητες βρίσκονται πολύ σύντομα εκτός ανταγωνισμού.¹⁵ Τα βακτήρια παράγουν οργανικά οξέα και το pH μειώνεται στο 5-5,5. Η θερμοκρασία αρχίζει να αυξάνεται αυθόρμητα καθώς απελευθερώνεται θερμότητα από εξώθερμες αντιδράσεις αποικοδόμησης. Η αποικοδόμηση των πρωτεϊνών οδηγεί στην απελευθέρωση της αμμωνίας και το pH αυξάνεται στο 8-9. Αυτή η φάση διαρκεί από λίγες ώρες έως μερικές μέρες.¹⁶ Η σπουδαιότητα των βακτηρίων, με εξαίρεση τα Ακτινοβακτήρια, κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης δεν έχει τονιστεί, πιθανώς λόγω της καλύτερης ορατότητας οργανισμών με μυκηλιακή ανάπτυξη.

➤ **Θερμόφιλη φάση**

Η ανάπτυξη των μεσόφιλων μικροοργανισμών και η μεταβολική τους δραστηριότητα οδηγούν στην εκπομπή θερμότητας και στην ταχεία αύξηση της θερμοκρασίας. Η αύξηση της θερμοκρασίας έχει σαν αποτέλεσμα οι μεσόφιλοι μικροοργανισμοί να υποδουλίζονται από τους θερμόφιλους, περνώντας έτσι στη θερμόφιλη φάση της διαδικασίας της κομποστοποίησης όπου η υψηλή θερμοκρασία επιτρέπει στους μικροοργανισμούς να αποσυνθέσουν τους πολυσακχαρίτες, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια. Η αποσύνθεση συνεχίζει να είναι γρήγορη και επιταχύνεται μέχρι θερμοκρασίας περίπου 62°C.¹⁷

Οι θερμόφιλοι μύκητες αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες μέχρι 55°C, ενώ υψηλότερες θερμοκρασίες αναστέλλουν συνήθως την ανάπτυξη τους. Το οξυγόνο είναι πιο σημαντικό για τους μύκητες απ' ό, τι για τα βακτήρια, και ακόμη και σε συστήματα δυναμικού αερισμού, μπορεί να εμφανιστούν προσωρινές ανοξικές συνθήκες. Για τους λόγους αυτούς οι μύκητες παίζουν αμελητέο ρόλο κατά τη διάρκεια της θερμόφιλης φάσης. Μία εξαίρεση είναι η κομποστοποίηση υποστρωμάτων που είναι ιδιαίτερα πλούσια σε κυτταρίνη και

σε λιγνίνη. Στην περίπτωση αυτή, οι μύκητες παραμένουν σημαντικοί αποικοδομητές σε όλη τη διαδικασία.

Σε θερμοκρασίες κάτω από 60°C, περισσότερο από το 40% των στερεών αποικοδομούνται εντός της πρώτης εβδομάδας, σχεδόν εξ ολοκλήρου μέσω της βακτηριακής δραστηριότητας. Σε υψηλές θερμοκρασίες 50 με 65°C αναπτύσσονται ιδιαίτερα μικροοργανισμοί του γένους *Bacillus* όπως οι *B. subtilis*, *B. licheniformis* and *B. circulans*.¹⁸ Όταν οι θερμοκρασίες υπερβαίνουν τους 65°C, κυριαρχούν συνήθως οι μικροοργανισμοί του γένους *B. stearothermophilus*. Επίσης απομονώθηκε μεγάλος αριθμός αποικιών, της τάξης 10⁷ με 10¹⁰ /g ξηράς ουσίας, των ετερότροφων, gram – αρνητικών, ραβδόμορφων, θερμοφίλων βακτηρίων που σχετίζονται με το γένος *Thermus* σε θερμοκρασίες 65-82°C. Τα μέλη της ομάδας *Thermus/Deinococcus* αναπτύσσονται σε οργανικά υποστρώματα σε θερμοκρασίες από 40 έως 80°C, με βέλτιστη ανάπτυξη μεταξύ 65-75°C.¹⁹ Έτσι, φαίνεται ότι τα είδη *Thermus*, γνωστά στο παρελθόν μόνο από οικοσυστήματα όπως οι γεωθερμικές πηγές, έχουν προσαρμοστεί πιθανώς στο περιβάλλον του θερμού compost και παίζουν σημαντικό ρόλο ως αποικοδομητές στη θερμοφιλή φάση. Από τα compost έχει απομονωθεί επίσης ένας αριθμός αυτότροφων βακτηρίων. Αυτά τα μη σπορογόνα βακτήρια αναπτύσσονται στους 60-80°C, με βέλτιστο 70-75°C, και μοιάζουν πολύ με τα στελέχη των *Hydrogenobacter* που ήταν γνωστά στο παρελθόν μόνο από γεωθερμικές περιοχές. Λαμβάνουν την ενέργειά τους με την οξείδωση του θείου ή του υδρογόνου και συνθέτουν την οργανική ύλη τους από το CO₂.

Παρά την καταστροφή των περισσότερων μικροοργανισμών σε θερμοκρασίες άνω των 65°C, οι θερμοκρασίες κομποστοποίησης μπορεί να υπερβούν τους 80°C. Είναι πιθανό ότι αυτή η τελική αύξηση της θερμοκρασίας δεν οφείλεται σε μικροβιακή δραστηριότητα, αλλά στην επίδραση των αβιοτικών εξώθερμων αντιδράσεων στις οποίες μπορεί να εμπλέκονται τα ένζυμα των Ακτινοβακτηρίων, τα οποία είναι σταθερά στις θερμοκρασιακές αλλαγές. Τέτοιες υψηλές θερμοκρασίες είναι σημαντικές για την εξυγίανση του κομποστ, καθώς καταστρέφονται οι παθογόνοι για τους ανθρώπους και τα φυτά μικροοργανισμοί και θανατώνονται οι σπόροι ζιζανίων και οι προνύμφες των εντόμων. Το μειονέκτημα των θερμοκρασιών που υπερβαίνουν τους 70°C είναι

ότι οι περισσότεροι μεσόφιλοι μικροοργανισμοί σκοτώνονται και έτσι η ανάκτηση των κύριων αποικοδομητών επιβραδύνεται μετά την κορύφωση της θερμοκρασίας. Αυτό μπορεί, ωστόσο, να αποφευχθεί με τον επανεμβολιασμό με ύλη από το πρώτο μεσόφιλο στάδιο.¹⁹

Οι ακτινομύκητες είναι βακτήρια που σχηματίζουν πολυκυτταρικά νημάτια κι έτσι μοιάζουν με μύκητες. Εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της θερμοφίλης φάσης καθώς και κατά τη φάση ψύξης και ωρίμανσης της κομποστοποίησης και μπορούν περιστασιακά να γίνουν τόσο πολυάριθμα ώστε να είναι ορατά στην επιφάνεια του κομποστ. Τα γένη των θερμοφίλων ακτινομυκήτων που απομονώθηκαν από κομποστ είναι τα γένη *Nocardia*, *Streptomyces*, *Thermoactinomyces* και *Micromonospora*. Οι ακτινομύκητες είναι σε θέση να αποικοδομούν την κυτταρίνη και να διαλυτοποιούν την λιγνίνη και αντέχουν σε υψηλότερες θερμοκρασίες και pH από ότι οι μύκητες.^{20,21}

Στο περιβάλλον της κομποστοποίησης έχει βρεθεί επίσης ένας μικρός αλλά σημαντικός αριθμός αναερόβιων βακτηρίων.^{22,23,24} Αναερόβια μικροπεριβάλλοντα μπορεί να αναπτυχθούν, ειδικά κατά τη διάρκεια της θερμοφίλης φάσης, όταν καταναλώνεται ταχέως το οξυγόνο.⁸ Τα αναερόβια βακτήρια που απομονώθηκαν έχουν είτε κυτταρολυτική είτε σακχαρολυτική δράση.^{22,23}

➤ Δεύτερη μεσόφιλη φάση – πτώση θερμοκρασίας

Όταν η δραστηριότητα των θερμοφίλων οργανισμών σταματά εξαιτίας της εξάντλησης των υποστρωμάτων, η θερμοκρασία αρχίζει να μειώνεται. Οι μεσόφιλοι οργανισμοί κάνουν την επάνοδο τους στο υπόστρωμα, είτε προερχόμενοι από επιβιώσαντα σπορία, είτε από εξωτερικό εμβολιασμό. Ενώ στην αρχική φάση κυριαρχούν οργανισμοί με την ικανότητα να αποικοδομούν σάκχαρα, ολιγοσακχαρίτες και πρωτεΐνες, η δεύτερη μεσόφιλη φάση χαρακτηρίζεται από έναν αυξημένο αριθμό οργανισμών που αποικοδομούν το άμυλο ή την κυτταρίνη.

Ο κυρίαρχος μύκητας μετά τη μέγιστη θερμοκρασία είναι ο *Aspergillus sp.*²⁵ ή *Thermomyces lanuginosus*, ο οποίος βρέθηκε επίσης ότι κυριαρχεί στους 50°C. Ο *T. lanuginosus* μπορεί να αποσυνθέσει την κυτταρίνη, την ημικυτταρίνη ακόμη και την λιγνίνη, αν και σε πολύ μικρότερη έκταση από τα άλλα

συστατικά.²⁰ Οι αποικοδομητές κυτταρίνης περιλαμβάνουν τα βακτήρια *Cellulomonas*, *Clostridium* και *Nocardia* και τους μύκητες των γενών *Aspergillus*, *Fusarium* και *Paecilomyces*.²⁶

➤ Φάση ωρίμανσης

Κατά τη διάρκεια της φάσης ωρίμανσης, η ποιότητα του υποστρώματος μειώνεται και σταδιακά η σύνθεση της μικροβιακής κοινότητας μεταβάλλεται πλήρως. Συνήθως, η αναλογία μυκήτων προς βακτήρια αυξάνεται λόγω του ανταγωνιστικού πλεονεκτήματος που έχουν οι μύκητες υπό συνθήκες μειώσεως του παρεχόμενου ύδατος και της φτωχότερης διαθεσιμότητας του υποστρώματος. Σε αυτή τη φάση σχηματίζονται και κυριαρχούν ενώσεις που δεν είναι περαιτέρω αποικοδομήσιμες, όπως σύμπλοκα λιγνίνης-χούμου.²⁷

Πίνακας 1.1: Παραδείγματα μικροοργανισμών που αναπτύσσονται στα compost.

Μύκητες	Ακτινομύκητες	Βακτήρια
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Nocardia</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.
<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Streptomyces</i> spp.	<i>Flavobacterium</i> spp.
<i>Chaetomium thermophilum</i>	<i>Thermoactinomyces</i> spp.	<i>Hydrogenobacter</i> spp.
<i>Coprinus</i> spp.	<i>Thermomonospora</i> spp.	<i>Methylobacterium exotorquens</i>
<i>Fusarium</i> spp.		<i>Propionibacterium</i> spp.
<i>Penicillium</i> spp.		<i>Pseudomonas</i> spp.
<i>Thermoascus aurantiacus</i>		<i>Serratia</i> spp.
<i>Thermomyces lanuginosus</i>		<i>Thermus</i> spp.
<i>Trichoderma viride</i>		<i>Xanthomonas maltophilia</i>

1.4 Φυσικοχημικοί παράγοντες κομποστοποίησης

1.4.1 Θερμοκρασία

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι η θερμοκρασία είναι μια σημαντική περιβαλλοντική παράμετρος όσον αφορά την αποδοτικότητα της κομποστοποίησης.²⁸ Από τη θερμοκρασία εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό όχι μόνο ο μικροβιακός μεταβολισμός, αλλά και η δυναμική του πληθυσμού (π.χ. σύνθεση και πυκνότητα) των μικροβίων επηρεάζεται δραματικά από τη θερμοκρασία. Γενικά, κάθε ομάδα οργανισμών έχει ένα βέλτιστο εύρος θερμοκρασίας και σημαντικές αποκλίσεις από αυτό το βέλτιστο εκδηλώνονται με μείωση της ανάπτυξης και της δραστηριότητας του οργανισμού.

Η αύξηση της θερμοκρασίας στα υλικά κομποστοποίησης είναι συνάρτηση της αρχικής θερμοκρασίας, της έκλυσης θερμότητας από τη μεταβολική δραστηριότητα και της διατήρησης της θερμότητας.²⁹ Η επίτευξη μιας ελάχιστης θερμοκρασίας είναι απαραίτητη για μια αποτελεσματική διαδικασία κομποστοποίησης^{13,30} και συμβάλλει ουσιαστικά στους υψηλούς ρυθμούς αποσύνθεσης που απαιτούνται κατά την επεξεργασία των οργανικών αποβλήτων σε μεγάλης κλίμακας συστήματα κομποστοποίησης.²⁹ Πράγματι, οι θερμοκρασίες κάτω από τους 20 °C επιβραδύνουν ή ακόμα και σταματούν τη διαδικασία κομποστοποίησης. Θερμοκρασίες που υπερβαίνουν τους 60°C μειώνουν επίσης τη μικροβιακή δραστηριότητα καθώς ξεπερνάει το θερμοφιλο βέλτιστο των μικροοργανισμών.²⁹ Η μικροβιακή κοινότητα αναστέλλεται στους 82°C.³⁰ Κατά συνέπεια, η βιολογική δραστηριότητα μειώνεται και η θερμοκρασία πέφτει αλλά διατηρώντας την υγρασία, παρέχοντας O₂ και νέο υπόστρωμα, η δραστηριότητα και η θερμοκρασία μπορούν να αυξηθούν και πάλι, μετά από μια φάση υστέρησης, αν γίνει επανεμβολιασμός του σωρού. Οι βέλτιστες θερμοκρασίες ελέγχου σε μεγάλης κλίμακας συστήματα κομποστοποίησης έχουν σχεδιαστεί για να μεγιστοποιήσουν την αποσύνθεση και είναι στην περιοχή των 52-60°C. Σε συστήματα μεγάλης κλίμακας, ο πρακτικός έλεγχος της θερμοκρασίας επιτυγχάνεται με την απομάκρυνση θερμότητας μέσω δυναμικού αερισμού με εφαρμογή πίεσης ή με άλλους τρόπους μηχανικής ανάδευσης.^{31,30}

1.4.2 Οξυγόνο και Αερισμός

Όπως αναφέρθηκε, η κομποστοποίηση είναι αερόβια οξειδωτική αποικοδόμηση της οργανικής ύλης. Απαραίτητη λοιπόν θεωρείται η ύπαρξη επαρκούς ποσότητας οξυγόνου καθώς είναι βασικό στοιχείο ανάπτυξης των ετερότροφων μικροοργανισμών (βακτήρια, μύκητες, ακτινομύκητες). Είναι σημαντικό να υπάρχει συνεχής διάχυση οξυγόνου αλλά και να εξασφαλίζεται η κυκλοφορία του διαμέσου της οργανικής ύλης με σκοπό την αποφυγή εκτροπής της διαδικασίας σε αναερόβια και παραγωγή ανεπιθύμητων τοξικών και δύσοσμων ενώσεων (CH₄, αλκοόλες, πτητικά οξέα).

Ο αερισμός αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την αποτελεσματικότητα της αποικοδόμησης και ελλείψει αποτελεσματικού αερισμού, το οξυγόνο γίνεται περιοριστικός παράγοντας που μειώνει τον ρυθμό της.³² Οι παράγοντες που ελέγχουν τα επίπεδα οξυγόνου σύμφωνα με τον Miller είναι⁶:

- ο ρυθμός κατανάλωσης του,
- η θερμοκρασία,
- το μέγεθος πόρων και
- η περιεχόμενη υγρασία

Ο αερισμός έχει πολλές λειτουργίες κατά τη διεργασία της κομποστοποίησης:

- ✓ Ελέγχει τη θερμοκρασία
- ✓ Παρέχει οξυγόνο και βοηθά τον αερόβιο μεταβολισμό
- ✓ Απομακρύνει την υγρασία όπως και αέρια προϊόντα του μικροβιακού μεταβολισμού, όπως το CO₂ και άλλα.

1.4.3 Υγρασία

Οι μικροοργανισμοί είναι σε θέση να χρησιμοποιούν οργανικά μόρια τα οποία διαλύονται στο νερό. Εάν η περιεκτικότητα σε υγρασία πέσει κάτω από ένα κρίσιμο επίπεδο, η μικροβιακή δραστηριότητα θα μειωθεί και οι μικροοργανισμοί αδρανοποιούνται. Από την άλλη πλευρά, πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία μπορεί να προκαλέσει έλλειψη αερισμού και απόπλυση θρεπτικών ουσιών. Έτσι δημιουργούνται αναερόβιες συνθήκες, ο ρυθμός αποσύνθεσης μειώνεται και προκύπτουν προβλήματα οσμής.⁹

Η βέλτιστη περιεκτικότητα σε υγρασία για την κομποστοποίηση ποικίλλει ανάλογα με τις πρώτες ύλες, όμως είναι αποδεκτό εμπειρικά ότι κυμαίνεται μεταξύ 50% και 60% για τα βακτήρια, σύμφωνα με τον Golueke (1972), ενώ οι μύκητες έχουν χαμηλότερο όριο υγρασίας.³³ Ποσοστά υγρασίας κάτω από 35-40% αποτελούν περιοριστικό παράγοντα για τη μικροβιακή δραστηριότητα.³⁴ Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ως βέλτιστο εύρος 50-70%.^{34,35}

1.4.4 Λόγος C/N

Οι μικροοργανισμοί για την ανάπτυξή τους χρειάζονται άνθρακα, θρεπτικά συστατικά όπως άζωτο, φώσφορο και κάλιο και ορισμένα ιχνοστοιχεία. Ο άνθρακας χρησιμεύει κυρίως ως πηγή ενέργειας για τους μικροοργανισμούς, ενώ ένα μικρό κλάσμα του άνθρακα ενσωματώνεται στα κύτταρα τους. Ένα ποσοστό από την ενέργεια που σχηματίζεται χρησιμοποιείται για τον μεταβολισμό των μικροοργανισμών και το υπόλοιπο απελευθερώνεται ως θερμότητα. Το άζωτο είναι ένα κρίσιμο στοιχείο για τους μικροοργανισμούς καθώς είναι συστατικό των πρωτεϊνών, των νουκλεϊνικών οξέων, των αμινοξέων, των ενζύμων και των συνενζύμων που είναι απαραίτητα για την κυτταρική ανάπτυξη και λειτουργία. Εάν το άζωτο είναι περιορισμένο κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης, η διαδικασία της αποικοδόμησης θα είναι αργή. Αντιθέτως, εάν υπάρχει περίσσεια αζώτου, συχνά χάνεται από το σύστημα ως αέρια αμμωνία ή άλλες ενώσεις αζώτου. Η βέλτιστη αναλογία C/N έχει αναφερθεί ότι είναι 25-40, αλλά η τιμή ποικίλλει ανάλογα με το υπόστρωμα.⁹

Ως εκ τούτου, οι χαμηλοί λόγοι C/N μπορούν να τροποποιηθούν προσθέτοντας έναν διογκωτικό παράγοντα που να παρέχει αποικοδομήσιμο οργανικό C.^{36,37} Διάφορα υλικά διογκωτικά έχουν δοκιμαστεί σε πειράματα κομποστοποίησης. Τα πράσινα υλικά έχουν γενικά χαμηλότερες αναλογίες C/N από τα ξυλώδη υλικά ή τα νεκρά φύλλα.³⁶

1.4.5 pH

Στην αρχή της κομποστοποίησης η μάζα είναι σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και συνήθως ελαφρώς όξινη. Οι διαλυτές και εύκολα αποικοδομήσιμες πηγές άνθρακα, όπως οι μονοσακχαρίτες, το άμυλο και τα λιπίδια, χρησιμοποιούνται από μικροοργανισμούς στο αρχικό στάδιο της κομποστοποίησης. Το pH μειώνεται καθώς σχηματίζονται οργανικά οξέα από την αποικοδόμηση των

ενώσεων αυτών. Στο επόμενο στάδιο οι μικροοργανισμοί αρχίζουν να διασπούν τις πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση αμμωνίας και την αύξηση του pH. Μετά την κατανάλωση των εύκολα αποικοδομήσιμων πηγών άνθρακα, πιο ανθεκτικές ενώσεις όπως η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη και η λιγνίνη αποικοδομούνται και εν μέρει μετασχηματίζονται σε χουμικά.¹⁶

1.4.6 Μέγεθος τεμαχιδίων

Όσον αφορά το μέγεθος των τεμαχιδίων του υποστρώματος, τα μικρότερα τεμάχια έχουν μεγαλύτερη αναλογία επιφάνειας προς όγκο έτσι ώστε περισσότερα επιφανειακά μέρη εκτίθενται άμεσα στη μικροβιακή δράση και αποσύνθεση. Τα μικρότερα τεμάχια στο σωρό του compost έχουν σαν αποτέλεσμα την ομογενοποίηση και τη βελτίωση της μόνωσης του μίγματος, η οποία συνεισφέρει στη διατήρηση των υψηλότερων θερμοκρασιών στη σωρό του compost.^{38,39} Όταν όμως τα τεμάχια του υλικού είναι πάρα πολύ μικρά, επιδρούν αρνητικά στη διεργασία, καθώς συμπιέζονται αφήνοντας πολύ λίγο κενό χώρο με αποτέλεσμα να μειώνεται η διάχυση του οξυγόνου μέσα στη σωρό, εμποδίζοντας έτσι τη μικροβιακή δραστηριότητα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΟΥ

2.1 Παραγωγή και χαρακτηριστικά στερεών και υγρών αποβλήτων

Η παραγωγή ελαιολάδου διαδραματίζει βασικό κοινωνικοοικονομικό ρόλο στη Μεσόγειο, ιδιαίτερα στην Ισπανία, την Ιταλία, την Ελλάδα, τη Συρία, την Τουρκία, την Τυνησία κλπ. Πάνω από το 95% του παγκόσμιου ελαιολάδου παράγεται στην περιοχή αυτή.⁴⁰ Ωστόσο, η παραγωγή ελαιολάδου προκαλεί σοβαρά περιβαλλοντικά προβλήματα λόγω της παραγωγής μεγάλων ποσοτήτων αποβλήτων. Στα συστήματα τριών φάσεων που ονομάζονται έτσι καθώς ο φυγοκεντρικός διαχωριστής χωρίζει την ελαιοζύμη σε τρεις φάσεις, τον ελαιοπυρήνα, το ελαιόλαδο και τα φυτικά υγρά και νερά έχουμε δύο απόβλητα. Στα φυγοκεντρικά συστήματα δύο φάσεων ο φυγοκεντρικός δεν χρειάζεται αραίωση της ελαιοζύμης με νερό και τη διαχωρίζει τελικά σε δύο μέρη σε αντίθεση με τα 3-φασικά. Με τη νέα αυτή μέθοδο τα τελικά προϊόντα είναι το ελαιόλαδο και ο ελαιοπυρήνας στον οποίο ενσωματώνονται τα απόνερα (2POMW).⁴¹

Τα συστήματα συνεχούς φυγοκέντρισης τριών φάσεων εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται ευρέως στα ελαιουργεία και δεν έχουν αντικατασταθεί από τα πιο πρόσφατα συστήματα δύο φάσεων, τα οποία συνεπάγονται μείωση των όγκων ΥΑΕ (Υγρά Απόβλητα Ελαιουργείων) αλλά αυξημένη συγκέντρωση σε οργανικό υλικό.⁴¹ Τα συστήματα εξαγωγής τριών φάσεων περιλαμβάνουν την προσθήκη μεγάλων ποσοτήτων νερού (μέχρι 50 λίτρα/100 κιλά ελαιολάδου), με αποτέλεσμα την παγκόσμια παραγωγή πάνω από 30 εκατομμύρια m³ ετησίως ΥΑΕ.⁴² Αυτό αντιπροσωπεύει ένα μεγάλο περιβαλλοντικό πρόβλημα, καθώς αυτό το υποπροϊόν χαρακτηρίζεται από υψηλό οργανικό φορτίο,⁴³ τοξικότητα, αντιμικροβιακή δράση και η επακόλουθη δύσκολη βιολογική αποικοδόμηση των ΥΑΕ οφείλονται κυρίως στο φαινολικό κλάσμα.⁴² Οι συντελεστές κατανομής (λάδι/νερό) των περισσότερων βιοφαινολών, που κυμαίνονται από 6×10^{-4} έως 1.5, είναι στην πραγματικότητα υπέρ της υδατικής φάσης: αλλά μόνο το 2% του συνολικού φαινολικού περιεχομένου του ελαιολάδου περνάει στην φάση του ελαιόλαδου, ενώ η υπόλοιπη ποσότητα χάνεται στο ΥΑΕ (περίπου 53%) και στο πυρήνα (περίπου 45%).⁴⁴

2.1.1 Υπολείμματα κλαδεμάτων και συγκομιδής

Από μόνα τους τα κλαδέματα των ελαιόδεντρων αποτελούν ένα μεγάλο μέρος απορριμμάτων που μπορεί να φτάσουν και τα 25 kg (κλαδιά και φύλλα) ανά δέντρο κάθε χρόνο. Η χημική σύσταση των φύλλων των ελαιόδεντρων ποικίλλει αναλόγως την ποικιλία της ελιάς, τις κλιματικές συνθήκες, την ηλικία του δέντρου, το ποσοστό σε ξύλο κ.α. αλλά σε γενικές γραμμές είναι η εξής:

- το οργανικό μέρος αποτελεί περίπου το 50% στα νωπά φύλλα,
- το 7-8 % επί ξ.ουσ. είναι η ακατέργαστη πρωτεΐνη,
- 6% το αιθερικό εκχύλισμα,
- το ποσοστό των λιπιδίων ποικίλει αλλά είναι μικρό
- το κυτταρικό τοίχωμα που αποτελείται από λιγνοκυταρίνη δεν είναι σταθερό αλλά το ποσοστό σε λιγνίνη μπορεί να προσδιοριστεί περίπου στα 18 – 19%.
- το περιεχόμενο σε φαινόλες από διάφορες μελέτες φαίνεται να ποικίλλει αρκετά με τιμές από 0.14-6.4 g/100g ξηράς ουσίας.

2.1.2 Υγρά απόβλητα

Τα υγρά απόβλητα σχηματίζονται από το νερό που περιέχεται στον φλοιό των καρπών της ελιάς, το νερό που προστίθεται κατά τη διάρκεια της εκχύλισης του ελαιολάδου, τους μαλακούς ιστούς από τον ελαιοκαρπό και λάδι, με τη μορφή πολύ σταθερού γαλακτώματος.⁴⁵

Η σύσταση των υγρών αποβλήτων δεν είναι σταθερή ούτε ποιοτικά ούτε σε ποσότητα. Ποικίλλει αναλόγως τη σύσταση του νερού που απελευθερώνεται από τον καρπό της ελιάς, τη μέθοδο της εκχύλισης του ελαιολάδου και του χρόνου αποθήκευσης.

Τα κύρια χαρακτηριστικά των ΥΑΕ είναι:

- η υψηλή συγκέντρωση COD (45-220 mg/L),
- χαμηλό pH (4-5),
- υψηλή περιεκτικότητα σε αιωρούμενα στερεά (μέχρι 50 g/L) και
- άλλες ανθεκτικές οργανικές ενώσεις, όπως οι υδατοδιαλυτές φαινόλες και οι πολυφαινόλες που προέρχονται από τις ελιές.

Μία τυπική σύνθεση ΥΑΕ κατά βάρος είναι 83-94% νερό, 4-16% οργανικές ενώσεις και 0.4-2.5% ανόργανα άλατα. Το ανόργανο κλάσμα τυπικά περιέχει 47% άλατα καλίου και 7% άλατα νατρίου. Τα κύρια οργανικά συστατικά είναι έλαια (1-14%), πολυσακχαρίτες (13-53%), πρωτεΐνες (8-16%), οργανικά οξέα (3-10%), πολυαλκοόλες (3-10%) και 2-15 % φαινολικών ενώσεων που αντιστοιχούν σε συγκέντρωση 3-10 g/L.⁴⁶

Πίνακας 2.1: Χαρακτηριστικά και σύνθεση των υγρών αποβλήτων ελαιουργείων.

Παράμετρος	Τιμή	Παράμετρος	Τιμή
COD (ολικό) (mg/L)	40,000 – 220,000	Κάλιο (mg/L)	2,800-11,600
COD (διαλυτό) (mg/L)	32,000-176,000	Πολυφαινόλες (mg/L)	5,000-80,000
BOD ₅	23,000 – 100,000	Υδατάνθρακες (mg/L)	3,000-24,000
pH	3.0-5.9	Περιεχόμενο σε λάδι (mg/L)	1,000-23,000
Αλκαλικότητα ως CaCO ₃ (ολικό) (mg/L)	1,170	Ολικά στερεά	30600-58200
Οργανικό Άζωτο (mg/L)	154-1106	Ολικά πτητικά στερεά (mg/L)	21300-45900
Φώσφορος (mg/L)	100-900	Ολικά αιωρούμενα στερεά (mg/L)	1400-36000
Νάτριο (mg/L)	100-500	Ολικά Βακτήρια *	5x10 ⁶ col/ml

Μαγνήσιο (mg/L)	200-900	Ολικοί ζυμομύκητες και μύκητες*	5x10 ⁶ col/ml
Ασβέστιο (mg/L)	100-700		

2.2 Περιβαλλοντικές επιπτώσεις

Η ρίψη ανεπεξεργαστων ΥΑΕ στο περιβάλλον είναι ένα σημαντικό οικολογικό ζήτημα για τις χώρες παραγωγής ελαιολάδου λόγω των υψηλών τοξικών οργανικών φορτίων του, του χαμηλού pH, του υψηλού COD και BOD [82]. Τα ΥΑΕ μπορούν να οδηγήσουν σε σοβαρές περιβαλλοντικές ζημιές, από το χρωματισμό των φυσικών υδάτων έως τη ρύπανση στα επιφανειακά και υπόγεια ύδατα, την αλλοίωση της ποιότητας του εδάφους, τη φυτοτοξικότητα και την δυσάρεστη οσμή. Οι μεγάλες ποσότητες των ΥΑΕ που παράγονται και η σύντομη περίοδος της παραγωγής του ελαιολάδου επιδεινώνουν το περιβαλλοντικό πρόβλημα μεταξύ Νοεμβρίου και Μαρτίου στις Μεσογειακές χώρες όπου καλλιεργούνται οι ελιές και τα ΥΑΕ απορρίπτονται χωρίς επεξεργασία στο περιβάλλον.

Η άμεση ρίψη των αποβλήτων ελαιοτριβείων στο έδαφος μπορεί να έχει αρνητικό αντίκτυπο λόγω των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων των πολυφαινολών και την αναστολή των βασικών ενζύμων που εμπλέκονται σε κύκλους θρεπτικών ουσιών του εδάφους αλλά και στην διάσπαση της λιγνίνης.⁴⁷

Τα απόβλητα ελαιουργείου περιέχουν υψηλά επίπεδα τοξικών φαινολών, μειώνοντας έτσι την βιοαποικοδομησιμότητα τους και κατατάσσοντας τα απόβλητα ως επίμονο ρύπο.⁴⁷ Κατά τη διάρκεια της άλεσης του καρπού της ελιάς, η ενζυματική υδρόλυση εστέρων παράγει μια σημαντική ποσότητα (3-8 g/L) ελεύθερων φαινολικών οξέων όπως το γαλλικό οξύ, το βερατρικό οξύ, το κινναμικό οξύ, το βανιλικό οξύ, το καφεϊκό οξύ και η τυροσόλη. Εντούτοις, ο κατάλογος των ενώσεων που προκαλούν προβλήματα συνεχίζεται με την ελαιοευρωπεΐνη, 4-μεθυλοκατεχόλη, την απιγενίνη, υδροτυροσόλη, κυανιδίνη, και πολλές άλλες.⁴⁹

2.2.1 Μόλυνση του εδάφους και φυτοτοξικότητα.

Τα ΥΑΕ που απορρίπτονται απευθείας στο έδαφος έχουν αρνητικές επιπτώσεις όχι μόνο στην ανάπτυξη των φυτών και τη μικροβιακή δραστηριότητα αλλά και στις φυσικοχημικές ιδιότητες του εδάφους.⁵⁰ Το μεγαλύτερο εμπόδιο για την άμεση χρήση των ΥΑΕ στην άρδευση είναι η υψηλή συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων, οι οποίες έχουν φυτοτοξικές ιδιότητες και μπορούν να εμποδίσουν τη βλάστηση. Επιπλέον, τα ΥΑΕ περιέχουν ελαιώδεις ενώσεις όπου αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αυξημένη υδροφοβικότητα του εδάφους και τη μειωμένη κατακράτηση του νερού και του ρυθμού προσρόφησης του. Είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι τα εδάφη διαφορετικής προέλευσης ενδέχεται να έχουν διαφορετική ρυθμιστική ικανότητα και επομένως να ανταποκρίνονται διαφορετικά στις εφαρμοζόμενες διαταραχές.⁵¹

2.2.2 Μόλυνση των υδάτων

Όταν τα ΥΑΕ απορρίπτονται σε γλυκά νερά μειώνεται η διαθεσιμότητα του οξυγόνου, γεγονός που υποβαθμίζει ολόκληρο το οικοσύστημα.⁵² Επιπλέον, η υψηλή συγκέντρωση σακχάρων μπορεί να διεγείρει τη μικροβιακή αναπνοή, μειώνοντας έτσι περαιτέρω τις συγκεντρώσεις του διαλυμένου οξυγόνου. Εάν τα ΥΑΕ εκλυθούν σε ύδατα με υψηλό περιεχόμενο φωσφόρου, μπορεί να οδηγήσει σε ευτροφισμό. Ο ευτροφισμός είναι η απάντηση ενός υδάτινου οικοσυστήματος στην προσθήκη τεχνητών ή φυσικών θρεπτικών συστατικών (όπως φωσφορικών αλάτων ή νιτρικών) μέσω λιπασμάτων ή λυμάτων. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αναστολή της ανάπτυξης των φυτών και την αποσύνθεσή τους γεγονός που οδηγεί σε υποξία η οποία με τη σειρά της προκαλεί μείωση σε άλλους πληθυσμούς ζώων (π.χ. ψάρια). Τα ΥΑΕ έχουν επίσης σημαντικές επιπτώσεις στα επιφανειακά ύδατα επειδή υψηλές συγκεντρώσεις σκουρόχρωμων φαινολικών ενώσεων μπορούν να χρωματίζουν τα φυσικά νερά (ρέματα και ποτάμια).⁵³ Επιπλέον, τα λιπίδια από τα ΥΑΕ σχηματίζουν μια αδιαπέραστη μεμβράνη στην επιφάνεια του ύδατος, η οποία εμποδίζει το φως του ήλιου και το οξυγόνο, αναστέλλοντας έτσι την ανάπτυξη των φυτών.⁵²

Ένας συχνός τρόπος διαχείρισης των ΥΑΕ είναι η ρίψη τους μέσα σε δεξαμενές εξάτμισης. Η κατασκευή δεξαμενών/λιμνών εξάτμισης σπάνια πληροί τα

τεχνικά κριτήρια για τη σταθερότητα και την ασφαλή στέγαση υγρών αποβλήτων. Ως εκ τούτου, τα ΥΑΕ συχνά υπερχειλίζουν και επηρεάζουν τα γειτονικά συστήματα (γεωργικά εδάφη και επιφανειακά και υπόγεια ύδατα). Στις περισσότερες περιπτώσεις, η βάση της λίμνης είναι διαπερατή και επομένως η πιθανότητα της μόλυνσης των υπογείων υδάτων και των βαθύτερων στρωμάτων του εδάφους είναι πολύ μεγάλη.⁵⁴

Οι K. Chartzoulakis et al. μελέτησαν την συμπεριφορά του εδάφους μετά από τρία χρόνια εναπόθεσης ανεπεξέργαστων ΥΑΕ. Η ανάλυση του εδάφους έδειξε ότι δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στο pH, EC, P, Na και την οργανική ύλη μεταξύ των εδαφών ελέγχου και αυτών που είχαν επεξεργαστεί με ΥΑΕ. Η συγκέντρωση του N στα εδάφη που είχαν υποστεί επεξεργασία με ΥΑΕ ήταν υψηλότερη από ό,τι στο έδαφος ελέγχου, μόνο στις δύο τελευταίες δειγματοληψίες. Η αύξηση του N του εδάφους μετά την εφαρμογή των ακατέργαστων ΥΑΕ οφείλεται στην αύξηση της μικροχλωρίδας που σταθεροποιεί το N. Οι μοναδικές σημαντικές αλλαγές στη σύνθεση του εδάφους που παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων ήταν η αύξηση του K στο έδαφος και των συνολικών φαινολών, η συγκέντρωσή των οποίων στο έδαφος μειώθηκε γρήγορα πριν από την επακόλουθη εφαρμογή ΥΑΕ. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην αποσύνθεση ή ενσωμάτωσή τους στο χουμικό κλάσμα της οργανικής ύλης που υπάρχει στο χώμα. Παρά το χαμηλό pH και τις υψηλές τιμές των ΥΑΕ, δεν παρατηρήθηκαν επιδράσεις μετά από 3 χρόνια εφαρμογής στις αντίστοιχες ιδιότητες του εδάφους, υποδεικνύοντας ότι η ρυθμιστική ικανότητα του εδάφους θα μπορούσε να αντισταθμίσει αυτές τις αρνητικές επιπτώσεις σε περίπτωση που γίνεται όμως ελεγχόμενη διάθεση των υγρών αποβλήτων στο έδαφος.⁵⁵

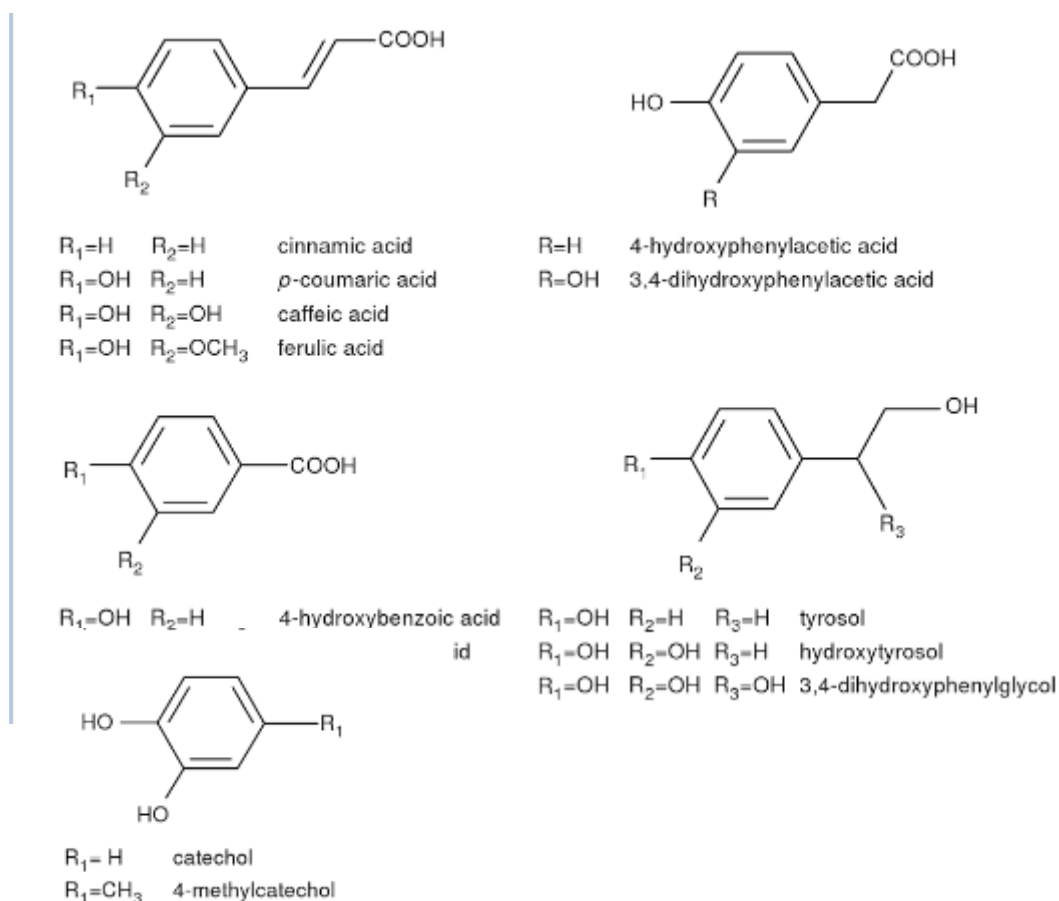
2.3 Φαινολικές ενώσεις στα απόβλητα των ελαιουργείων

Οι φαινόλες δεν απαντώνται στην ελεύθερη μορφή τους στις ελιές, αλλά υπάρχουν κυρίως ως γλυκοζίτες, τανίνες, ανθοκυανίνες και λιγνίνες. Οι Servili et al. (1999) βρήκαν τη φαινολική σύνθεση των ΥΑΕ πολύ διαφορετική από εκείνη του ελαιολάδου καθώς τα ΥΑΕ παρουσιάζουν υψηλή συγκέντρωση σεκοϊριδοϊδών παραγώγων.⁵⁶ Από μελέτες που έχουν γίνει έχουν ήδη εντοπιστεί 50 φαινόλες στα ΥΑΕ οι οποίες ανήκουν σε τρεις σημαντικές

κατηγορίες φαινολικών ενώσεων: α) παράγωγα κινναμικού οξέος, β) παράγωγα βενζοϊκού οξέος και γ) ενώσεις που σχετίζονται με την τυροσόλη.⁵⁷

Το φαινολικό περιεχόμενο των ΥΑΕ χαρακτηρίζεται από μεγάλη πολυπλοκότητα, όπως καταδεικνύεται από τους Bianco et al. (2003), ο οποίος προσδιόρισε 20 βιοφαινόλες σε ΥΑΕ χρησιμοποιώντας HPLC-MS-MS. Μεταξύ των βιοφαινολών που υπάρχουν στα ΥΑΕ, μία από τις πιο άφθονες και πολύ ενδιαφέρουσες από διατροφική άποψη είναι η υδροξυτυροσόλη, η οποία έχει μελετηθεί ευρέως αποδεικνύοντας τις αντιοξειδωτικές και ευεργετικές για την υγεία ιδιότητές της καθώς και την καλή βιοδιαθεσιμότητά της: η υδροξυτυροσόλη απομακρύνει τις ελεύθερες ρίζες και παρουσιάζει in vitro αντιμικροβιακή δράση.

Το προφίλ HPLC έδειξε αρκετές κορυφές που αντιστοιχούσαν σε διαφορετικές βιοφαινόλες, μεταξύ των οποίων εντοπίστηκαν εννέα ενώσεις: φαινυλοξέα (βανιλικό οξύ, καφεϊκό οξύ), φαινυλαλκοόλες (υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη), παράγωγα σεκοϊριδοϊδών (διαλδεϋδική μορφή ακρυλοκαρβοξυμεθυλο ελαιουερωπείνης), φλαβονοειδή (λουτεολίνη, λουτεολίνη-7-γλυκοζίτης).⁵⁸



Εικόνα 2.1: Πολυφαινόλες στα υγρά απόβλητα ελαιουργείων

2.4 Βιοαπικοδόμηση πολυφαινολών μέσω κομποστοποίησης

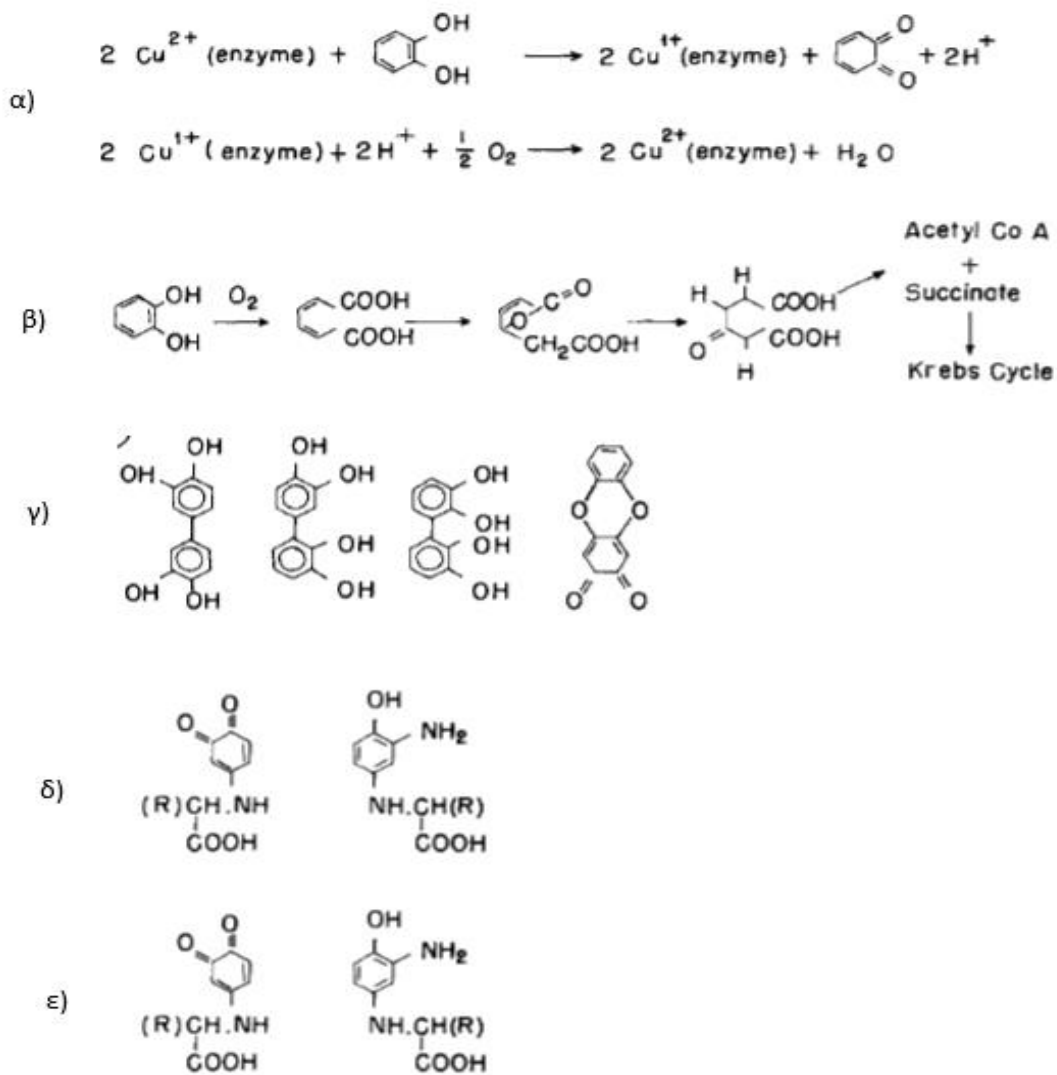
Έχει περιγραφεί έντονη χουμοποίηση της οργανικής ύλης κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης των αποβλήτων ελαιοτριβείων με άλλα αγροβιομηχανικά απόβλητα και μετά την εφαρμογή τους στο έδαφος. Η σύνθεση της λιγνοκυτταρίνης και η παρουσία των πολυφαινολών παίζουν σημαντικό ρόλο στις διεργασίες χουμοποίησης καθώς αποτελούν την πρώτη ύλη για την σύνθεση των χουμικών ουσιών και σχηματίζουν ένα υλικό που μοιάζει με χούμο που χαρακτηρίζεται κυρίως από τον αλειφατικό χαρακτήρα και την έντονη παρουσία πρωτεϊνούχων υλικών, μερικώς τροποποιημένων τμημάτων λιγνίνης και δομών τύπου πολυσακχαριτών.⁵⁹

Λόγω του υψηλού οργανικού φορτίου και της σημαντικής ποσότητας θρεπτικών για τα φυτά ουσιών (N, P, K, Ca, Mg και Fe) στην ιλύ των αποβλήτων από τα ελαιουργεία η κατεργασία μέσω κομποστοποίησης για τη λήψη οργανικών λιπασμάτων είναι από τους πλέον κατάλληλους τρόπους διαχείρισης των αποβλήτων αυτών. Κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης, οι αερόβιοι μικροοργανισμοί αποικοδομούν με τη βοήθεια των ενζύμων τις οργανικές ενώσεις, όπως πρωτεΐνες, αμινοξέα, πεπτίδια και πολυφαινόλες, σε διοξείδιο του άνθρακα, νερό, ανόργανα άλατα και χουμικά συστατικά.⁴⁵

Μέρος των φαινολών οξειδώνεται ενζυματικά σε κινόνες με την απελευθέρωση ενέργειας που χρησιμοποιείται από τους μικροοργανισμούς. Η αντίδραση στο σχήμα 2.1 α) που φαίνεται παρακάτω παρουσιάζει μια τυπική οξειδωση μιας πολυφαινόλης από ένζυμα όπως η λακκάση και η υπεροξειδάση. Περαιτέρω ενζυμική οξειδωση θα οδηγήσει σε πολυμερισμό (ή ακριβέστερα, πολυσυμπύκνωση). Εντούτοις, εντός του κυττάρου, η περιορισμένη παροχή οξυγόνου περιορίζει την έκταση της αντίδρασης α) έτσι ώστε πιθανόν να μην λαμβάνει χώρα εκτεταμένος πολυμερισμός. Κατά τη λύση των κυττάρων, όταν υπάρχει διαθέσιμη περίσσεια οξυγόνου λόγω ρήξης του κυτταρικού τοιχώματος, λαμβάνει χώρα εκτεταμένος πολυμερισμός.

Οι υπόλοιπες φαινόλες υφίστανται μία ολόκληρη αλληλουχία αντιδράσεων με την οποία διασπώνται σε αλειφατικά οξέα και στη συνέχεια ενσωματώνονται στον κύκλο του Krebs . Έτσι, οι φαινόλες που ακολουθούν αυτή τη διαδρομή Σχήμα 2.1 (β) δεν μπορούν να σχηματίζουν άμεσα χουμικές ουσίες.

Τα φαινολικά οξέα και οι κινόνες που παράγονται από τους μικροοργανισμούς μαζί με τα οξειδωτικά ένζυμα αποβάλλονται από το κύτταρο μετά τη λύση του. Υπό τις επιδράσεις αυτών των ενζύμων, συμβαίνει συμπύκνωση μεταξύ των ίδιων των φαινολών αλλά σε συνδιασμό και με τα αμινοξέα . Όπως σε όλες τις άλλες αντιδράσεις συμπύκνωσης των φαινολών, η αντίδραση πολυμερισμού γίνεται μέσω ελευθέρων ριζών . Η σύζευξη συμβαίνει στις θέσεις όρθο- και πάρα- της υδροξυλομάδας και επίσης μέσω του οξυγόνου όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.1 γ). Ενώσεις όπως αυτές που φαίνονται στο Σχήμα 2.1 δ) μπορεί να σχηματιστούν με τα αμινοξέα. Αυτές οι ενώσεις μπορούν να αντιδρούν περαιτέρω, με παρόμοιο τρόπο, με άλλες φαινόλες και αμινοξέα ή πολυπεπτίδια. Μπορούν επίσης να λάβουν χώρα και αντιδράσεις με ετεροκυκλικές N-ενώσεις και υδατάνθρακες. Ο πολυμερισμός μπορεί να προκαλέσει απώλεια των ομάδων COOH, π.χ. Η οξείδωση του βανιλικού οξέος με τη λακκάση αποδίδει μία σειρά διφαινυλικών ενώσεων, όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.1 ε), μερικά από τα οποία έχουν αποκαρβοξυλιωθεί . Εφόσον ο πολυμερισμός προκαλεί απώλεια ομάδων COOH, προκύπτει ότι το περισσότερο πολυμερισμένο υλικό θα έχει λιγότερες ομάδες COOH ανά μονάδα βάρους σε σύγκριση με το λιγότερο πολυμερισμένο υλικό. Αυτό μπορεί να εξηγήσει γιατί τα φουλβικά οξέα (FAs) τα οποία είναι μικρότερα πολυμερή έχουν περισσότερες ομάδες COOH ανά μονάδα βάρους από τα χουμικά οξέα (HA) που είναι μεγαλύτερα πολυμερή.



Σχήμα 2.1: α) Ενζυματική οξείωση πολυφαινόλης από ένζυμα.

β) Οξειδωτική διάσπαση φαινολικού δακτυλίου.

γ) Διμερή προϊόντα από την οξείδωση της κατεχόλης.

δ) Προϊόντα από την ενζυμική αντίδραση της κατεχόλης με αμινοξέα.

ε) Οξείδωση του βανιλικού οξέος με απώλεια καρβοξυλικών ομάδων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΠΡΑΣΙΝΑ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΑ - ΚΛΑΔΕΜΑΤΑ

3.1 Σύσταση κλαδεμάτων

Τα πράσινα αστικά απόβλητα αποτελούνται από μια ποικιλία υλικών, όπως το ξύλο και ο φλοιός των δέντρων, κλαδέματα από νέα δέντρα και θάμνους, νεκρά και πράσινα φύλλα και κομμένο γρασίδι και προέρχονται τόσο από αυλές των σπιτιών όσο και από δημοτικά πάρκα και κήπους. Στις περισσότερες πόλεις του ανεπτυγμένου κόσμου, τα πράσινα απόβλητα συλλέγονται ξεχωριστά από άλλα απόβλητα, τεμαχίζονται μηχανικά και στη συνέχεια κομποστοποιούνται, είτε μόνα τους είτε μαζί με άλλα οργανικά απόβλητα.

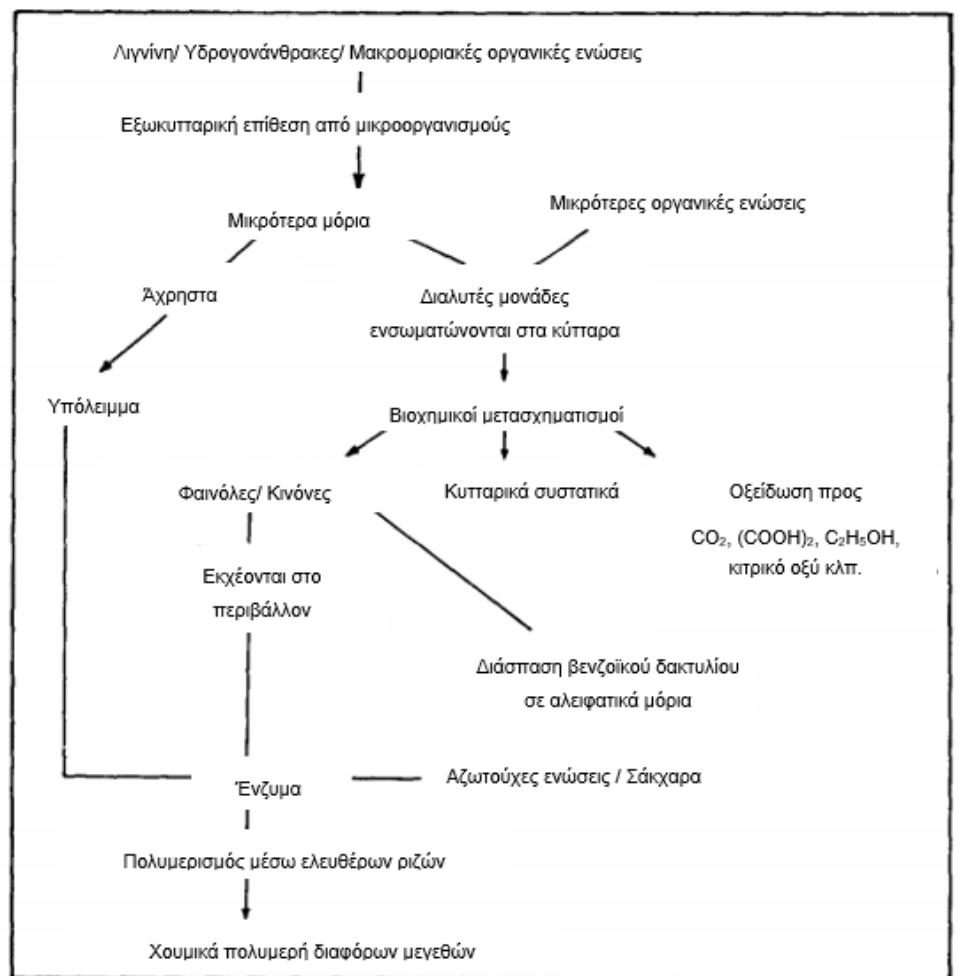
Στη φύση, η λιγνοκυτταρίνη αντιπροσωπεύει το μεγαλύτερο μέρος της βιομάζας και, συνεπώς, η υποβάθμισή της είναι απαραίτητη για τη λειτουργία του παγκόσμιου κύκλου του άνθρακα. Η λιγνοκυτταρίνη, που απαντάται στο ξύλο, αποτελείται κυρίως από μείγμα κυτταρίνης (περίπου 40%), ημικυτταρίνης (περίπου 20 - 30%) και λιγνίνης (περίπου 20 - 30%). Η λιγνίνη είναι ένα αναπόσπαστο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος, το οποίο παρέχει αντοχή φυτών και αντοχή σε μικροβιακή αποικοδόμηση.⁶⁰

3.2 Βιοαποικοδόμηση λιγνίνης μέσω κομποστοποίησης

Πολλοί έχουν ισχυριστεί ότι οι χουμικές ενώσεις σχηματίζονται κυρίως από τη λιγνίνη, τους πολυσακχαρίτες και αζωτούχες ενώσεις. Η χημική οδός που ξεκινάει από την οργανική ύλη και καταλήγει στα χουμικά είναι πολύ περίπλοκη και περιλαμβάνει αρκετές αντιδράσεις αποικοδόμησης και συμπύκνωσης. Έχουν προταθεί διάφορα διαγράμματα για τον σχηματισμό των χουμικών.

Ο μετασχηματισμός της λιγνίνης στο κομποστ είναι αποτέλεσμα της χρήσης της ως πηγή ενέργειας για τους μικροοργανισμούς. Προκειμένου να εξυπηρετηθεί αυτός ο σκοπός, είναι απαραίτητο το μόριο να διεισδύσει πρώτα στο μικροβιακό κύτταρο. Δεδομένου ότι η διείσδυση στην αρχική της μορφή δεν είναι δυνατή, η λιγνίνη πρέπει πρώτα να διασπαστεί για να δώσει μικρότερες μονάδες που είναι ικανές να εισχωρήσουν μέσω του κυτταρικού τοιχώματος. Η απομόνωση διαφόρων δομικών μονάδων λιγνίνης κατά την αποσύνθεση τόσο φυσικών όσο και συνθετικών λιγνινών έδειξε ότι ο διαχωρισμός του μορίου της λιγνίνης

λαμβάνει χώρα κατά μήκος των δεσμών αρυλαιθέρα ή κατά μήκος των δεσμών C-C που συνδέουν γειτονικούς αρωματικούς δακτυλίους. Αυτή η διάσπαση πραγματοποιείται με τη βοήθεια της λιγνάσης, ενός εξωκυτταρικού ενζύμου. Τα αρωματικά προϊόντα που απελευθερώνονται από αυτά τα ένζυμα καταναλώνονται από τους οργανισμούς και στη συνέχεια χρησιμοποιούνται (α) εν μέρει ως πηγή C για την σύνθεση του μυκηλίου των μυκήτων και (β) εν μέρει ως πηγή ενέργειας. Προτού χρησιμεύσουν ως πηγή C ή ενέργειας, αυτές οι υποκατεστημένες βενζοϊκές ενώσεις μπορεί να υποστούν έναν αριθμό βιοχημικών μετασχηματισμών εντός του κυττάρου, π.χ (i) οι αρωματικοί μεθυλαιθέρες απομεθυλιώνονται στο αντίστοιχο παράγωγο υδροξυλίου (ii) οι μεθυλικοί υποκαταστάτες μπορούν να οξειδωθούν από το COOH αλλά σε μερικές περιπτώσεις παραμένουν ανέπαφοι, (iii) οι ομάδες COOH μπορούν να αποκαρβοξυλιωθούν μέσω οξείδωσης κλπ.⁶⁰



Εικόνα 3.1: Διαγραμματική απεικόνιση του σχηματισμού των χουμικών.

Οι κυριότεροι αποικοδομητές της λιγνίνης στη φύση είναι οι μύκητες λευκής σήψης. Υπάρχουν μερικές χιλιάδες είδη μυκήτων λευκής σήψης, τα περισσότερα από τα οποία είναι της συνομοταξίας Basidiomycotina, εκτός από μερικά της συνομοταξίας Ascomycotina που μπορεί να προκαλέσουν λευκή σήψη. Αλλά δεν επιβιώνουν από τη θερμόφιλη φάση της κομποστοποίησης και επομένως δεν μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην αποικοδόμηση της λιγνίνης. Οι άλλοι μικροοργανισμοί στο compost, κυρίως οι θερμόφιλοι μικρομύκητες, είναι ίσως οι σημαντικότεροι αποικοδομητές λιγνίνης και τα συνεργιστικά αποτελέσματα με άλλους οργανισμούς ενισχύουν την αποικοδόμηση.²⁰ Η διάσπαση της λιγνίνης από τους μικροοργανισμούς κομποστοποίησης είναι πιθανόν της ίδιας τάξης μεγέθους με αυτή ενός μικτού πληθυσμού μικροοργανισμών εδάφους και τα διασπασμένα τμήματα της λιγνίνης είναι δομικές μονάδες για τις χουμικές ουσίες. Η αποικοδόμηση της λιγνίνης στα compost ρυθμίζεται από τη θερμοκρασία, την αρχική περιεκτικότητα λιγνίνης και το πάχος του υλικού.

Η βέλτιστη θερμοκρασία για την αποικοδόμηση της λιγνίνης στο compost είναι πιθανόν κοντά στην τυπική βέλτιστη θερμοκρασία των θερμόφιλων μυκήτων, δηλαδή 45°C.⁶⁰

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 Περιγραφή των υποστρωμάτων

4.1.1 Απόβλητα ελαιουργείου – σωρός Ρ_{0m}w

Η κομποστοποίηση ξεκίνησε τον Φεβρουάριο του 2015. Έγινε ανάμειξη υγρών αποβλήτων από ελαιοτριβείο φυγοκέντρισης τριών φάσεων και των φυτικών υπολειμμάτων που βρίσκονταν στο ελαιοτριβείο σε αναλογία 50:50. Προστέθηκε βιοκαταλύτης έγινε ανάμειξη των υλικών με ειδικό φορτωτή και στη συνέχεια δημιουργήθηκε σωρός. Τα φυτικά υπολείμματα και τα υγρά απόβλητα προήλθαν από ελαιοτριβείο που βρίσκεται στην περιοχή Ροβιές Ευβοίας. Τα φυτικά υπολείμματα είναι κλαδιά και φύλλα από τα ελαιόδεντρα και ότι άλλα απορρίμματα δημιουργήθηκαν στο χώρο του ελαιουργείου πριν την εκχύλιση του ελαιόλαδου.

4.1.2 Πράσινα απορρίμματα – σωρός Ρ_{6w}

Η κομποστοποίηση ξεκίνησε τον Οκτώβριο του 2016. Έγινε ανάμειξη 5 m³ φυτικών υπολειμμάτων με 4 σάκους 25kg βιοκαταλύτη και 2 σάκους 25kg ζεόλιθο και έγινε διαβροχή των υλικών ώστε να έχουν υγρασία 45 – 55 %. Στη συνέχεια δημιουργήθηκε σωρός. Τα φυτικά υπολείμματα είναι κλαδέματα από τον δήμο 3B (Βάρη, Βούλα Βουλιαγμένης) τα οποία τεμαχίστηκαν με κλαδοτεμαχιστή. Η κομποστοποίηση έλαβε χώρα στο κτήμα Καμπάνη, της εταιρίας Καμπάνης Α.Ε, που εδρεύει στο Πικέρμι Αττικής

4.1.3 Βιοκαταλύτης

Ο βιοκαταλύτης είναι ένα καινοτόμο στερεό υπόστρωμα, ορυκτής προέλευσης, εμβολιασμένο με μικροοργανισμούς εδάφους οι οποίοι έχουν καλλιεργηθεί εργαστηριακά. [ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΥΡΕΣΙΤΕΧΝΙΑΣ Κων/νου Χασάπη ΟΒΙ 20040100018 (19-1-2004)]

Ο βιοκαταλύτης:

- ✓ επιταχύνει 5 φορές τις βιοχημικές αντιδράσεις στο compost,
- ✓ σταθεροποιεί το τελικό προϊόν,

- ✓ διασπά πλήρως τοξικές χημικές ενώσεις (π.χ. πολυφαινόλες).
- ✓ οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται σε αυτό είναι εξαιρετικά ανθεκτικοί,
- ✓ λειτουργεί σε ευρύ φάσμα pH,
- ✓ κατάλληλο για μεσογειακές κλιματολογικές συνθήκες,
- ✓ ενεργό ακόμη και σε ακραία περιβάλλοντα.

4.2 Διαδικασία της κομποστοποίησης

Οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν και στις δύο κομποστοποιήσεις ήταν: αερισμός με ανάδευση, διόρθωση υγρασίας με διαβροχή, μέτρηση θερμοκρασίας και δειγματοληψία. Ο πρώτος αερισμός έγινε μετά από 5 ημέρες. Ο ρυθμός αερισμού για τον πρώτο μήνα παρέμεινε ο ίδιος και στη συνέχεια περιορίστηκε στη μία φορά την εβδομάδα. Ειδικός φορτωτής ανάδευσε τον σωρό με ταυτόχρονη διαβροχή για την επίτευξη της υγρασίας μεταξύ 45-60%. Η διαβροχή γινόταν μόνο όταν ήταν απαραίτητο για να μη γίνει απόπλυση των θρεπτικών στοιχείων που είναι αναγκαία για τους μικροοργανισμούς και κατ' επέκταση για την εξέλιξη της κομποστοποίησης.

4.3 Δειγματοληψία

Η διαδικασία της δειγματοληψίας γινόταν από 5 διαφορετικά μέρη του σωρού και έπειτα από την ανάδευσή του. Η ποσότητα ήταν κοντά στο 1Kg συνολικά λόγω της ανομοιογένειας του υλικού.

Κομποστοποίηση σωρός P_{OMW}:

Έγιναν συνολικά 5 δειγματοληψίες, που ξεκίνησαν από 20/1/2015 και ολοκληρώθηκαν 12/5/2015. Στην αρχή έγιναν 2 δειγματοληψίες, μια πριν την ανάμειξη και μετά. Στον πίνακα παρουσιάζονται οι δειγματοληψίες και οι σχετικές ημερομηνίες.

Πίνακας 4.1: Δειγματοληψίες κομποστοποίησης P_{OMW}

Δείγμα	Ημερομηνία	Ημέρα
1 ^ο Δείγμα	20/01/2015	1 ^η
2 ^ο Δείγμα	04/02/2015	4 ^η
3 ^ο Δείγμα	31/03/2015	59 ^η
4 ^ο Δείγμα	07/05/2015	96 ^η
5 ^ο Δείγμα - Τελικό	12/05/2015	112 ^η

Κομποστοποίηση σωρός P_{GW}:

Έγιναν συνολικά 7 δειγματοληψίες, που ξεκίνησαν από 24/10/2016 και ολοκληρώθηκαν 25/01/2017. Στον πίνακα παρουσιάζονται οι δειγματοληψίες και οι σχετικές ημερομηνίες

Πίνακας 4.2: Δειγματοληψίες κομποστοποίησης P_{GW}

Δείγματα	Ημερομηνία	Ημέρα
1 ^ο Δείγμα	24/10/2016	4 ^η
2 ^ο Δείγμα	31/10/2016	11 ^η
3 ^ο Δείγμα	10/11/2016	22 ^η
4 ^ο Δείγμα	17/11/2016	29 ^η
5 ^ο Δείγμα	29/11/2016	41 ^η
6 ^ο Δείγμα	13/12/2016	55 ^η
7 ^ο Δείγμα	25/01/2017	83 ^η

4.4 Προσδιορισμός υγρασίας

Η υγρασία προσδιορίζεται με την απώλεια βάρους του δείγματος όταν θερμανθεί στους 105 ± 5 °C μέχρι σταθερού βάρους.

Όργανα

- Ζυγός Sartorius PT120
- Φούρνος WTB binder E53
- Ύαλοι ωρολογίου

Ζυγίζουμε τα δείγματα σε ζυγό με δύο δεκαδικά ψηφία. Τοποθετούμε το δείγμα στο φούρνο σε θερμοκρασία 105 ± 5 °C. Ζυγίζουμε τα δείγματα ανά μία ώρα μέχρι σταθερού βάρους. Από την διαφορά βάρους υπολογίζουμε το ποσοστό υγρασίας % βάσει της σχέσης:

$$\% \text{ υγρασία} = \frac{\text{Αρχικό βάρος δείγματος} - \text{Τελικό βάρος δείγματος}}{\text{Αρχικό βάρος δείγματος}} * 100$$

4.5 Προσδιορισμός ηλεκτρικής αγωγιμότητας

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα εκφράζει τη συγκέντρωση των αλάτων και μπορεί να θεωρηθεί δείκτης περιεκτικότητας σε διαλυτά στοιχεία. Η αγωγιμότητα μετρήθηκε σε υδατικό διάλυμα με αναλογία 1:5 w/v (EN 13038, 1999).

Όργανα

- Αγωγιμόμετρο Konduktoskop E365B
- Ποτήρι ζέσεως 100
- Ηλεκτρικός αναδευτήρας

Για την μέτρηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας τοποθετούμε σε ένα ποτήρι ζέσεως των 100 ml, 10 g από το δείγμα και 50 ml απιονισμένο νερό και αναδεύουμε για μια ώρα. Στη συνέχεια το δείγμα αφέθηκε για 15 λεπτά σε ηρεμία. Μετρήθηκε η ηλεκτρική αγωγιμότητα του υπερκείμενου διαλύματος στο αγωγιμόμετρο με κλίμακα μέτρησης εύρους 0 έως 3000 ms/cm. Εκφράζουμε την αγωγιμότητα σε mS cm^{-1} και σε mg διαλυμένων αλάτων ανά g δείγματος.

4.6 Προσδιορισμός pH

Το pH μετρήθηκε σε υδατικό διάλυμα αναλογίας 1:10 w/v (EN 13038, 1999)

Όργανα

- Πεχάμετρο (PHS-3D Ph-meter)
- Ποτήρι ζέσεως 100 ml
- Ηλεκτρικός αναδευτήρας

Σε ένα ποτήρι ζέσεως των 100 ml τοποθετούμε 5 g από το δείγμα και 50 ml απιονισμένο νερό. Μετά από ανάδευση για 1 ώρα, το δείγμα αφέθηκε για 15 λεπτά. Στη συνέχεια μετρήθηκε το pH του υπερκείμενου διαλύματος.

4.7 Προσδιορισμός ειδικού βάρους

Η μέτρηση ειδικού βάρους πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τους *Agnew et. al.* (2003) γίνεται με ζύγιση ποσότητας κομποστ σε όγκο 100 mL και εκφράζει τα μέρη του υλικού σε g σε συγκεκριμένο όγκο. Οι μονάδες μέτρησης είναι g/mL.

Όργανα

- Ζυγός
- Ογκομετρικός κύλινδρος 100 mL

Ο ογκομετρικός κύλινδρος των 100 ζυγίζεται αρχικά άδειος. Έπειτα, τοποθετείται ποσότητα δείγματος από το δείγμα μέχρις όγκου 100 mL και ζυγίζεται. Το ειδικό βάρος προσδιορίζεται με βάση τη σχέση:

$$\text{Ειδικό βάρος} = \frac{\text{g δείγματος}}{100 \text{ mL}}$$

4.8 Προσδιορισμός τέφρας

Η τέφρα προκύπτει ύστερα από καύση του άνθρακα κάτω από αυστηρά καθορισμένες συνθήκες βάρους του δείγματος, θερμοκρασίας και χρόνου σε κλίβανο με εξαερισμό και περιέχει τα ανόργανα συστατικά του υποστρώματος. Η αποτέφρωση προκαλεί αποβολή όλου του περιεχόμενου νερού, απώλεια ανθρακικού διοξειδίου από ανθρακικά άλατα, μετατροπή σιδηροπυριτών σε οξειδία σιδήρου και άλλες χημικές αντιδράσεις.

Όργανα

- Χωνευτήρι πορσελάνης
- Ζυγός
- Φούρνος αποτέφρωσης Thermolyne by Sybron 1500 Furnace

- Ξηραντήρας

Για τον προσδιορισμό του οργανικού μέρους ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία. Αφού έγινε λειοτριβήση του δείγματος ζυγίστηκε 1 g ξηρού δείγματος. Το χωνευτήριο πορσελάνης ξηράνθηκε στους 105 °C μέχρι σταθεροποίησης του βάρους. Ανάβουμε το φούρνο και όταν η θερμοκρασία φτάσει στους 200 °C τοποθετούμε μέσα το δείγμα. Το δείγμα καίγεται στον φούρνο για 2 h στους 850 °C. Αφαιρούμε το δείγμα από τον φούρνο και το τοποθετούμε στον ξηραντήρα για να κρυώσει. Στη συνέχεια γίνεται ζύγιση της τέφρας.

Υπολογίζουμε το ποσοστό επί τοις εκατό (%) της τέφρας επί ξηράς ουσίας βάσει της σχέσης:

$$\text{Τέφρα επί ξηρού} = \frac{\text{Τελικό βάρος δείγματος}}{\text{Αρχικό βάρος δείγματος}} * 100$$

4.9 Προσδιορισμός οργανικού μέρους

Το οργανικό υλικό που υπόκεινται σε κομποστοποίηση αποτελείται από διάφορες οργανικές ενώσεις όπως κυτταρίνη, λιγνίνη, μη κυτταρινικούς υδατάνθρακες (ημικυτταρίνη, άμυλο και μονο- και ολιγοσακχαρίτες), πρωτεΐνες και λιπίδια που μεταβολίζονται μέσω διαφόρων βιοχημικών διαδικασιών, με αποτέλεσμα την ανοργανοποίηση, το μετασχηματισμό και τη σταθεροποίησή τους. (Changes in the chemical composition of water-extractable organic matter during composting: Distribution between stable and labile organic matter pools D. Said-Pullicino, K. Kaiser, G. Guggenberger, G. Gigliotti)

Η μέτρηση του οργανικού μέρους έγινε σύμφωνα με τους A. E Navarro et. al. (1992).

Όργανα

- Χωνευτήριο πορσελάνης
- Ζυγός
- Φούρνος αποτέφρωσης Thermolyne by Sybron 1500 Furnace
- Ξηραντήρας

Για τον προσδιορισμό του οργανικού μέρους ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία. Αφού έγινε λειοτριβήση του δείγματος ζυγίστηκε 1 g ξηρού δείγματος. Το χωνευτήριο πορσελάνης ξηράνθηκε στους 105 °C μέχρι σταθεροποίησης του

βάρους. Ανάβουμε το φούρνο και όταν η θερμοκρασία φτάσει στους 200 °C τοποθετούμε μέσα το δείγμα. Ανεβάζουμε τη θερμοκρασία στους 430 °C και το δείγμα παραμένει στο φούρνο για 24 h. Αφαιρούμε το δείγμα από τον φούρνο και το τοποθετούμε στον ξηραντήρα για να κρυώσει. Στη συνέχεια γίνεται ζύγιση του οργανικού μέρους.

Υπολογίζουμε το ποσοστό επί τοις εκατό (%) του οργανικού μέρους επί ξηράς ουσίας βάσει της σχέσης:

$$\text{οργανικό μέρος} = \frac{\text{Αρχικό βάρος δείγματος} - \text{Τελικό βάρος δείγματος}}{\text{Αρχικό βάρος δείγματος}} * 100$$

4.10 Προσδιορισμός ολικού οργανικού άνθρακα

Κατά τους Jimenez & Garcia (1991), ένας αξιόπιστος τρόπος για να υπολογιστεί ο οργανικός άνθρακας (OC) σε σχέση με το οργανικό μέρος, είναι να διαιρεθεί ο δεύτερος με τον συντελεστή 1,8. Όμως οι Zmora-Nahum et al. (2005) σε εργασία που μελετούν τον οργανικό άνθρακα ως δείκτη ωριμότητας κομποστοποίησης, τον ορίζουν ως το 58% της ποσότητας του οργανικού μέρους. Τελικά για στερεά δείγματα compost με υψηλή περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα, προτείνεται ο προσδιορισμός του με βάση τον δείκτη συσχέτισης 0,58, ενώ για διαλύματα, είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός με την μέθοδο του διχρωμικού καλίου.

$$\%TOC = 0.58 * \text{οργανικό μέρος}$$

4.11 Προσδιορισμός αζώτου

Για τον προσδιορισμό του αζώτου χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Kjeldahl. Ο Δανός χημικός Johan Kjeldahl (1849-1900) ανέπτυξε τη μέθοδο Kjeldahl για τον προσδιορισμό του αζώτου σε οργανικές ουσίες, που αρχικά χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες στη μπίρα. Το άζωτο στο οργανικό υλικό υπάρχει υπό τη μορφή ομάδων αμίνης (-NH₂) ως συστατικά των αμινοξέων (πρωτεϊνών) και των αμινοσακχάρων. Η μέθοδος Kjeldahl έχει τρία διαφορετικά βήματα: χώνεψη, απόσταξη και τιτλοδότηση (Saha et al., 2012). Στη μέθοδο αυτή, τα περισσότερα οργανικά δείγματα που περιέχουν άζωτο υποβάλλονται σε χώνεψη με θειικό οξύ και μετατρέπονται σε θειικό αμμώνιο. Το αμμώνιο στη συνέχεια απελευθερώνεται

αυξάνοντας το pH και μετριέται με τιτλοδότηση. Η πρότυπη μέθοδος Kjeldahl, η οποία χρησιμοποιεί βορικό οξύ στο τελικό στάδιο, είναι ικανοποιητική για επίπεδα αζώτου τόσο χαμηλά όσο 1,0 mg/L (Crowther and Evans, 1980).⁶¹

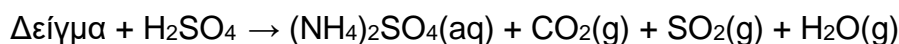
Όργανα-Αντιδραστήρια:

- π. H₂SO₄
- Kjeldahl tablets for Wieninger method, 3.5g/tablet
- NaOH, 35%
- H₃BO₃, 5%
- αραιό διάλυμα H₂SO₄ 0.2N
- δείκτη methyl red/bromocresol green
- συσκευή χώνευσης, VELP SCIENTIFICA DK 8S
- αυτόματος αποστακτήρας ατμού, VELP SCIENTIFICA UDK 130A
- Φυγόκεντρος BACACOS SCIENTIFIC MLW T54.

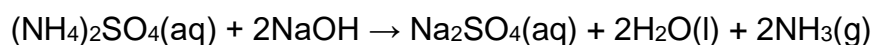
Δείγμα 0,5g χωνεύτηκε με π. H₂SO₄ παρουσία καταλύτη Se σε συσκευή χώνευσης. Στο δείγμα πραγματοποιήθηκε απόσταξη μετά από προσθήκη 50 mL απιονισμένου νερού και περίσσειας NaOH (50mL) και το απόσταγμα συλλέχτηκε σε διάλυμα βορικού οξέος, H₃BO₃ 5% (~20 mL). Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε σε αυτόματο αποστακτήρα ατμού. Τέλος πραγματοποιήθηκε ογκομέτρηση με αραιό διάλυμα H₂SO₄ 0.2 N και παρουσία μεικτού δείκτη methyl red /bromocresol green.

Οι αντιδράσεις που χαρακτηρίζουν την συγκεκριμένη διαδικασία είναι οι παρακάτω:

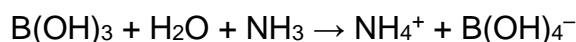
Χώνευση:



Απελευθέρωση αμμωνίας:



Παγίδευση αμμωνίας:



Η σχέση που δίνει την τιμή του N% ξηράς ουσίας είναι:

$$N = \frac{mLH_2SO_4(2N) * 2.800mgN}{mgξηρούδείγματος} * 100$$

1 mL H₂SO₄ (2N) που χρησιμοποιούμε για την τιτλοδότηση αντιστοιχεί σε 2,800 mg N

4.12 Προσδιορισμός C/N

Ο λόγος C/N είναι ο δείκτης βιοδιαθεσιμότητας των κύριων θρεπτικών συστατικών, δηλαδή του αζώτου και του άνθρακα. Υπολογίζεται από τον τύπο:

$$C/N = \frac{\text{Οργανικός άνθρακας}}{\text{άζωτο}}$$

4.13 Προσδιορισμός χουμικών συστατικών

Μέρος της οργανικής ουσίας στο έδαφος και στο νερό αποτελούν τα χουμικά συστατικά τα οποία είναι όξινες πολυμερείς ουσίες με μοριακά βάρη από μερικές εκατοντάδες έως δεκάδες χιλιάδες, είναι άμορφες, χρώματος καφέ σκούρου έως μαύρου και υδρόφιλες. Ανάλογα με το μοριακό τους βάρος και την διαλυτότητά τους διακρίνονται σε:

Χουμικά οξέα (humic acids, HA), τα οποία έχουν μοριακό βάρος μεγαλύτερο από 1000 D (Dalton ή mol g⁻¹) είναι μη υδατοδιαλυτά, δηλαδή στο έδαφος είναι σε στερεή φάση, είναι διαλυτά σε αλκαλικά διαλύματα και καταβυθίζονται με οξίνιση του αλκαλικού εκχυλίσματος.

Φουλβικά οξέα (fulvic acids, FA), τα οποία είναι μόρια μικρότερου μοριακού βάρους (< 1000 D) είναι υδατοδιαλυτά σε μεγάλο εύρος εδαφικού pH, άρα είναι μέρος του εδαφικού διαλύματος, και είναι διαλυτά τόσο σε όξινα διαλύματα όσο και σε βασικά.

Χουμίνες (humans) οι οποίες είναι χημικά αδρανείς λόγω στενής σύνδεσης με τα ανόργανα συστατικά του εδάφους ή του νερού και δεν εκχυλίζονται ούτε με οξύ ούτε με βάση.

Μέθοδος:

α) Δημιουργία διαλύματος πυροφωσφορικού Na (εκχυλιστικό μέσο) (Na₄P₂O₇·10H₂O, MB = 446.11):

Ζυγίζουμε 44,6 g πυροφωσφορικού Na (Mallinckrodt), τα προσθέτουμε σε ένα ποτήρι ζέσεως μαζί με 500 ml απιονισμένου νερού και θερμαίνουμε ελαφρώς μέχρι να διαλυθεί. Ζυγίζουμε 4 g NaOH (Lach-ner) και τα διαλύουμε σε μικρή ποσότητα απιονισμένου νερού. Έπειτα το προσθέτουμε στο διάλυμα του πυροφωσφορικού. Προσθέτουμε το διάλυμα σε ογκομετρική φιάλη των 1000 ml και συμπληρώνουμε με απιονισμένο νερό. Το διάλυμα διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου.

β) Προσδιορισμός χουμικών:

Τοποθετούμε 2 g του δείγματος σε κωνική φιάλη των 100 ml όπου προσθέτουμε 40 ml από το εκχυλιστικό. Το μίγμα αναταράσσεται για 30 λεπτά στην μαγνητική πλάκα ανάδευσης (IKA KS130 basic) και κατόπιν διατηρείται σε ηρεμία για 12 ώρες. Ύστερα τοποθετούμε το διάλυμα σε φιαλίδια φυγοκέντρησης και φυγοκεντρούμε για μισή ώρα στις 3000 στροφές (BACACOS SCIENTIFIC MLW T54).

Φωτομετρική μέθοδος

Αραιώνουμε 1 ml από το φυγοκεντρημένο διάλυμα σε 250 ml απιονισμένου νερού, σε ογκομετρική φιάλη. Η απορρόφηση μετράται στα 550nm, όπου απορροφούν οι κινονικοί δακτύλιοι (MRC Spectronic20D).⁶² Η τιμή της απορρόφησης συγκρίνεται με διάγραμμα αναφοράς απορρόφηση/mg χουμικών συστατικών εβρισκομένων σε 1 g ορυκτού άνθρακα. Για να υπολογισθεί η μάζα χουμικών χρησιμοποιούμε την καμπύλη αναφοράς που σχετίζει την απορρόφηση, y , με τα γραμμάρια χουμικών x στο διάλυμα με αραιώση 1/250, $y=10.885x+0.0014$ με $r^2=0.9999$. Προσαρμόζουμε το αποτέλεσμα στην αρχική ζύγιση 2 g στα 40 ml και στη συνέχεια προσαρμόζουμε τη τιμή επί τοις εκατό ξηράς ουσίας με βάση την υγρασία του δείγματος.

Παράδειγμα:

Έστω $y=0,020$ τότε $x=$ οπότε:

$$X=0,001708*40ml/1ml=0.068351$$

Έστω ότι το δείγμα έχει υγρασία 40,5% τότε από τα 2 g που ζυγίστηκαν προκύπτουν 1,18 g ξηράς ουσίας.

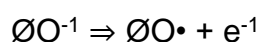
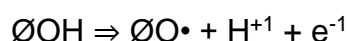
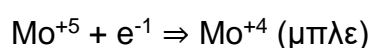
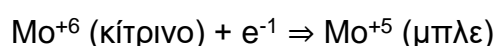
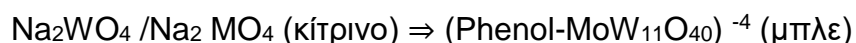
Άρα προκύπτει, $X=0,068351*100/1,18=5,79 \%$.

4.14 Προσδιορισμός ολικών φαινολών

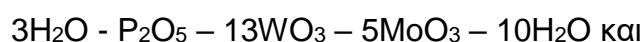
Η μέθοδος ανάλυσης Folin-Ciocalteu (F-C) είναι η απλούστερη διαθέσιμη μέθοδος για τη μέτρηση της συγκέντρωσης των φαινολών σε διάφορα προϊόντα. Πρόκειται για την εξέλιξη του αντιδραστηρίου του Folin Denis που χρησιμοποιήθηκε στις αρχές του 19ου αιώνα για τον προσδιορισμό της τυροσίνης σε πρωτεΐνες. Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu είναι πολύ σταθερό ακόμη και αραιωμένο εάν προστατεύεται από τα αναγωγικά μέσα και από το φως. Ο βασικός μηχανισμός της είναι η οξειδοαναγωγική αντίδραση με την φαινολική ομάδα να οξειδώνεται και το μεταλλικό ιόν να ανάγεται.

Χαρακτηριστικές χημικές αντιδράσεις με το Folin-Ciocalteu

Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu αποτελείται από ένα μίγμα φωσφομολυβδαινικού και φωσφοβολφραμικού οξέος στα οποία το μολυβδαίνιο και το βολφράμιο βρίσκονται στην κατάσταση οξείδωσης 6+. Κατά την αντίδρασή του με τις φαινόλες, ανάγεται σε ένα μίγμα μπλε οξειδίων του βολφραμίου, W_8O_{23} , και του μολυβδαίνιου, Mo_8O_{23} και η μέση κατάσταση οξείδωσης των μετάλλων είναι μεταξύ 5+ και 6+.



Η παραπάνω αντίδραση είναι αργή σε όξινο pH και ταχύτερη σε βασικό. Είναι πολύ ευαίσθητη, ακριβής αλλά στερείται ειδικότητας. Οι Singleton και Rossi βελτίωσαν περαιτέρω τη μέθοδο με ένα αντιδραστήριο που αποτελείται από ένα μολυβδαινοβολφραμοφωσφορικό ετεροπολυανιόν που αντιδρά με τις πολυφαινόλες ειδικά και το προϊόν που σχηματίζεται είναι μια μπλε χρωμοφόρα ένωση που μπορεί να ποσοτικοποιηθεί με φασματοφωτομετρία ορατού φωτός και έχει λ_{max} στα 765 nm.





Η μέγιστη απορρόφηση των χρωμοφόρων εξαρτάται από το αλκαλικό διάλυμα και τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Ωστόσο, αυτό το αντιδραστήριο αποσυντίθεται γρήγορα σε αλκαλικά διαλύματα, γεγονός που καθιστά αναγκαία τη χρήση τεράστιας περίσσειας του αντιδραστηρίου για να ληφθεί μια πλήρης αντίδραση. Αυτή η περίσσεια μπορεί να οδηγήσει σε ιζήματα και υψηλή θολερότητα, καθιστώντας αδύνατη τη φασματοφωτομετρική ανάλυση. Για την επίλυση αυτού του προβλήματος, οι Folin και Ciocalteu περιέλαβαν άλατα λιθίου στο αντιδραστήριο, τα οποία εμπόδισαν την θολερότητα.

Αντιδραστήρια:

- Gallic acid monohydrate (Sigma-Aldrich)
- Μεθανόλη 80% με 1% HCl 37%
- Αντιδραστήριο Folin- Ciocalteu (Merck 09001)
- Κεκορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου
- Απεσταγμένο νερό

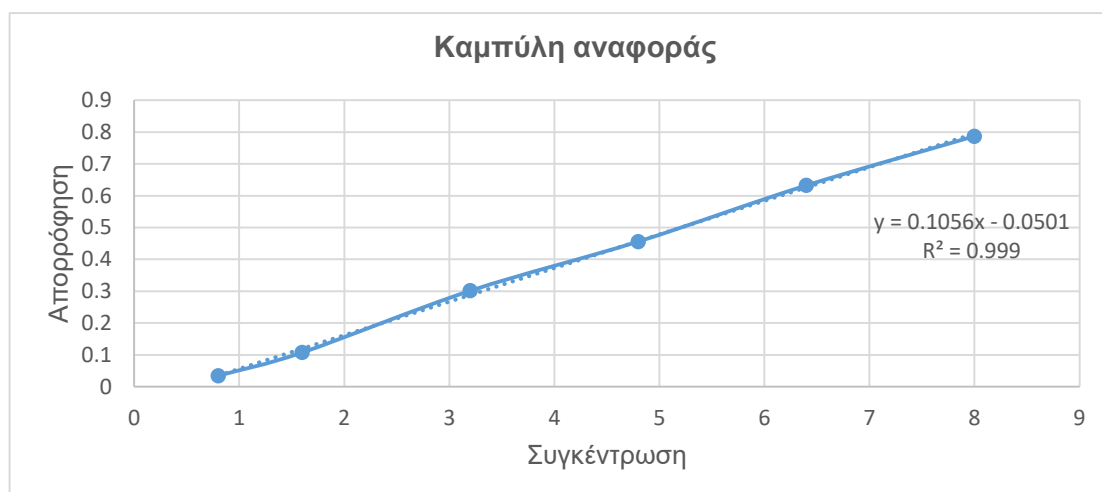
Εκχύλιση φαινολικών ουσιών:

1 g δείγματος εκχυλίζεται για δυο ώρες με 20mL διαλύματος 80% $\frac{v}{v}$ μεθανόλης που περιέχει 1% $\frac{v}{v}$ HCl υπό συνεχή ανάδευση (200 rpm) σε θερμοκρασία δωματίου. Το μείγμα φυγοκεντρείται στα 2000 rpm για 15 λεπτά και το υπερκείμενο διάλυμα μεταφέρεται σε δοκιμαστικό σωλήνα Falcon των 50mL. Το ίζημα της φυγοκέντρωσης εκχυλίζεται με τον ίδιο τρόπο. Τα δύο (υπερκείμενα) διαλύματα μεταφέρονται σε δοκιμαστικό σωλήνα Falcon για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών ουσιών.

Κατασκευή καμπύλης αναφοράς:

Παρασκευάζονται σε ογκομετρική φιάλη 50 mL μεθανολικού. διαλύματος που περιέχει 50 ± 1 mg gallic acid. Σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL μεταφέρονται 2 mL του διαλύματος και αραιώνονται με απεσταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή.. Η συγκέντρωση του προτύπου αυτού διαλύματος είναι 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Σε επτά ογκομετρικές φιάλες των 50 ml εισάγονται 20 mL απεσταγμένο νερό. Στις 6 από αυτές προσθέτουμε διαδοχικά 1, 2, 4, 6, 8 και 10 mL προτύπου διαλύματος

gallic acid τα οποία αντιστοιχούν σε 20, 40, 80, 120, 160 και 200 μg gallic acid αντίστοιχα. Σε κάθε ογκομετρική φιάλη προσθέτουμε 1mL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu και μετά από 3 min, 2 mL κεκορεσμένου διαλύματος ανθρακικού νατρίου. Ανακινούμε καλά και αραιώνουμε μέχρι 50 mL με απεσταγμένο νερό. Μετά από μια μέρα παραμονής σε σκοτεινό χώρο μετράται η απορρόφηση στα 765nm έναντι του τυφλού (το τυφλό αντιστοιχεί στο έβδομο διάλυμα που δεν περιέχει πρότυπο διάλυμα gallic acid).



Σχήμα 4.1: Καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος

Προετοιμασία δείγματος:

Σε ογκομετρική φιάλη 50 mL προσθέτουμε 20mL απεσταγμένου νερού και 200 μL του μεθανολικού εκχυλίσματος του φυτικού δείγματος. Στη συνέχεια προσθέτουμε 1mL αντιδραστηρίου Folin- Ciocalteu και μετά από 3 min 2 mL κορεσμένου διαλύματος ανθρακικού νατρίου. Ανακινούμε καλά και αραιώνουμε μέχρι τα 50 mL με απεσταγμένο νερό. Μετά από μια μέρα παραμονής σε σκοτεινό χώρο μετράται η απορρόφηση στα 765nm έναντι τυφλού.

Υπολογισμός:

Ολικές φαινόλες (Gallic acid Equivalents) = $m \cdot V/v \cdot w$

m = μg ισοδύναμα γαλλικού οξέος που περιέχονται στον χρησιμοποιηθέντα όγκο για την μέτρηση δηλ. 0,2 mL

V = ολικός όγκος του εκχυλίσματος (40mL)

v = όγκος του εκχυλίσματος που προστέθηκε στην ογκομετρική φιάλη (0.2 mL)

w = μάζα του δείγματος (1gr)

4.15 Μικροβιακές αναλύσεις

Η χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τον προσδιορισμό του πληθυσμού των μικροοργανισμών είναι αυτή των διαδοχικών αραιώσεων ονομαζόμενη ως ταχεία τεχνική μετρήσεως πλήθους μικροοργανισμών όπως περιγράφεται στον Griffiths (2001) ελαφρώς τροποποιημένη.⁶³ Η μέθοδος των διαδοχικών αραιώσεων είναι μια προσαρμογή του τρόπου καλλιέργειας δια μετασποράς. Βασική αρχή της μεθόδου αποτελεί το ότι από ένα μικροβιακό κύτταρο αναπτύσσεται μία και μόνο αποικία και συνεπώς η μέτρηση των αποικιών δίνει και τον αριθμό των μικροοργανισμών από τον οποίο προήλθαν.

Όργανα-Αντιδραστήρια

- Δοχείο universal
- Αυτόκαυστος CETROclan CV2/1600
- Επωαστικός κλίβανος Eivem
- Πιπέτα 200-1000 μl
- Πιπέτα 50-200 μl
- Τρυβλία
- Σωληνάκια erpendorf
- Διάλυμα Ringer
- Θρεπτικά μέσα

Μέθοδος

Η μέθοδος στηρίζεται στις διαδοχικές αραιώσεις που γίνονται στο αρχικό διάλυμα. Έτσι από το αρχικό διάλυμα όπου 1 g πρώτης ύλης έχει διαλυθεί σε 10 ml διαλύματος Ringer, προκύπτουν με διαδοχικές αραιώσεις διαλύματα με συγκεντρώσεις 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} κ.τ.λ. ως προς το αρχικό.

Αποστείρωση (A):

- Αποστείρωση με χρήση αιθυλικής αλκοόλης 70 βαθμών υφίσταται ο απαγωγός, ο επωαστικός κλίβανος και οι πάγκοι εργασίας.

- Αποστείρωση με ακτινοβολία UV για 24h υφίστανται και τα τρυβλία εάν έχει ανοιχτεί η αποστειρωμένη συσκευασία τους, οι πιπέτες, ο απαγωγός όπου δουλεύουμε τις αραιώσεις και τον εμβολιασμό.

Παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος:

- Για την καταμέτρηση των αποικιών της E.Coli χρησιμοποιείται θρεπτικό υλικό MacConkey Agar with salt. Σε δοχείο Universal ζυγίζεται το θρεπτικό υλικό σύμφωνα με τις οδηγίες του προϊόντος που δίνονται από την εταιρία. Η επώαση γίνεται στους 37 °C για 24 ώρες. Στο θρεπτικό αυτό υλικό ανπτύσσονται και οι εξής μικροοργανισμοί : Proteus spp., Salmonella spp., S. Aureus αλλά μπορεί να γίνει η καταμέτρηση των αποικιών της E.Coli καθώς εμφανίζονται με κόκκινο χρώμα.
- Για την καταμέτρηση των αποικιών της Salmonella χρησιμοποιείται θρεπτικό υλικό XLT 4 Agar. Σε δοχείο Universal ζυγίζεται το θρεπτικό υλικό σύμφωνα με τις οδηγίες του προϊόντος που δίνονται από την εταιρία. Η επώαση γίνεται στους 37 °C για 24 και 48 ώρες.

Αποστείρωση (B):

Με τη χρήση αυτόκαυστου με υπέρθερμο ατμό στους 121 °C αποστειρώνουμε τα υαλικά και τα δοχεία με το εκχυλιστικό Ringer και τα θρεπτικά υλικά για 20 λεπτά. Για καλύτερα αποτελέσματα τα υαλικά σκεπάζονται πλήρως με αλουμινόχαρτο.

Προετοιμασία δείγματος/Εκχύλιση μικροοργανισμών:

Σε διάλυμα Ringer, εκχυλιστικό διάλυμα αποτελούμενο από ανόργανα στοιχεία και με την ιδιότητα να διαχωρίζει τους μικροοργανισμούς από τα εδαφικά συμπλέγματα ώστε να καταστεί δυνατός ο προσδιορισμός και η απομόνωση τους με τη μέθοδο των διαδοχικών αραιώσεων. Το διάλυμα αυτό παρασκευάζεται από ταμπλέτες ringer ¼ strength οι οποίες διαλύονται σε δισαπτεσταγμένο νερό.

Ζυγίζουμε 1 g δείγματος προστίθενται 10 mL Ringer σε κωνική φιάλη των 50 mL. Ανάδευση για 30 λεπτά. Ηρεμία για 15 λεπτά.

Διαδοχικές αραιώσεις:

Από το εναιώρημα παίρνουμε με πιπέτα 1 mL ήτοι συγκέντρωση 10^{-1} σε ένα errendorf. Γεμίζουμε 5-8 επόμενα errendorf, αναλόγως τη συγκέντρωση που θέλουμε να καταμετρήσουμε, με 900 μ L Ringer για να φτάσουμε σε αραιώση 10^{-6} - 10^{-9}

Από το διάλυμα 1/10 παίρνουμε 100 μ L και το μεταφέρουμε σε errendorf με 900 μ L Ringer από το διάλυμα 1/100 παίρνουμε 100 μ L και το μεταφέρουμε σε σε errendorf με 900 μ L Ringer κ.ο.κ.

Προκύπτουν με διαδοχικές αραιώσεις διαλύματα με συγκεντρώσεις 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , κτλ. Ως προς το αρχικό. Από την κάθε αραιώση 100 μ L μεταφέρονται στο τρυβλίο που περιέχει το θρεπτικό υλικό και αμέσως ανακινούμε τα τρυβλία.

Κατόπιν τοποθετούμε τα τρυβλία ανεστραμμένα ώστε να δημιουργηθούν οι κατάλληλες συνθήκες υγρασίας. Μεταφέρονται στον επωαστικό κλίβανο. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης εκφράζονται σε cfu/g.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

5.1 Μετρήσεις στα υγρά απόβλητα ελαιουργείου

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 5.1: Μετρήσεις στα υγρά απόβλητα ελαιουργείου

Παράμετρος	Υγρά απόβλητα ελαιουργείου
Υγρασία (%)	90.3
Ηλεκτρική αγωγιμότητα (mS/cm)	41
pH	5.48
Ειδικό βάρος (g/cm ³)	0.98
Total Kjeldahl nitrogen (% w/w)	1.36
Ολικές φαινόλες (ppm)	374.3

5.2 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά φυτικών υπολειμμάτων

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 5.2: Μετρήσεις στα φυτικά υπολείμματα

Παράμετρος	Πράσινα απορρίμματα
Υγρασία %	18.1
Ηλεκτρική Αγωγιμότητα (mS/cm)	0.99
pH	6.85
Ειδικό βάρος (g/mL)	0.12
Τέφρα (% w/w)	7.3
Οργανικό μέρος (% w/w)	92.7
Οργανικός άνθρακας (TOC) (% w/w)	53.9
Άζωτο (TKN) %	2.00
C/N	26.2
Χουμικά συστατικά %	1.83
Ολικές φαινόλες (ppm)	93.8

5.3 Μετρήσεις υγρασίας

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.3: Μετρήσεις υγρασίας στο σωρό P_{OMW}

Δείγματα	Υγρασία (%)
1 ^ο Δείγμα	69.6
2 ^ο Δείγμα	54.3
3 ^ο Δείγμα	47.0
4 ^ο Δείγμα	38.0
Τελικό Δείγμα	50.0

Πίνακας 5.4: Μετρήσεις υγρασίας στο σωρό P_{GW}

Δείγματα	Υγρασία (%)
1 ^ο Δείγμα	49.2
2 ^ο Δείγμα	40.2
3 ^ο Δείγμα	48.9
4 ^ο Δείγμα	43.1
5 ^ο Δείγμα	49.1
6 ^ο Δείγμα	47.5
7 ^ο Δείγμα	50.8

Η υγρασία καθ' όλη τη διάρκεια των δύο κομποστοποιήσεων σε γενικές γραμμές ήταν μέσα στα επιτρεπτά όρια καθώς γινόταν διαβροχή των υποστρωμάτων όταν έπεφτε κάτω από 40% και αερισμός όταν ξεπερνούσε το 55%.

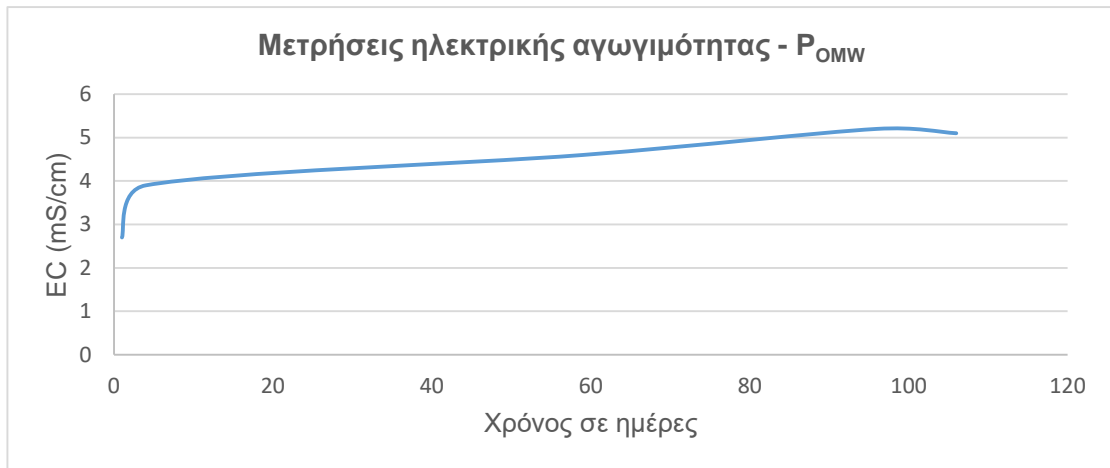
5.4 Μετρήσεις ηλεκτρικής αγωγιμότητας

Σύμφωνα με τον Sendiford, οι τιμές της ηλεκτρικής αγωγιμότητας δεν ακολουθούν κάποιο πρότυπο, ενώ συνήθως αυξάνονται με το χρόνο λόγω της ανοργανοποίησης των συστατικών.³⁴

Οι μετρήσεις δίνονται σε mS/cm στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.5: Ηλεκτρική αγωγιμότητα στο σωρό P_{OMW}

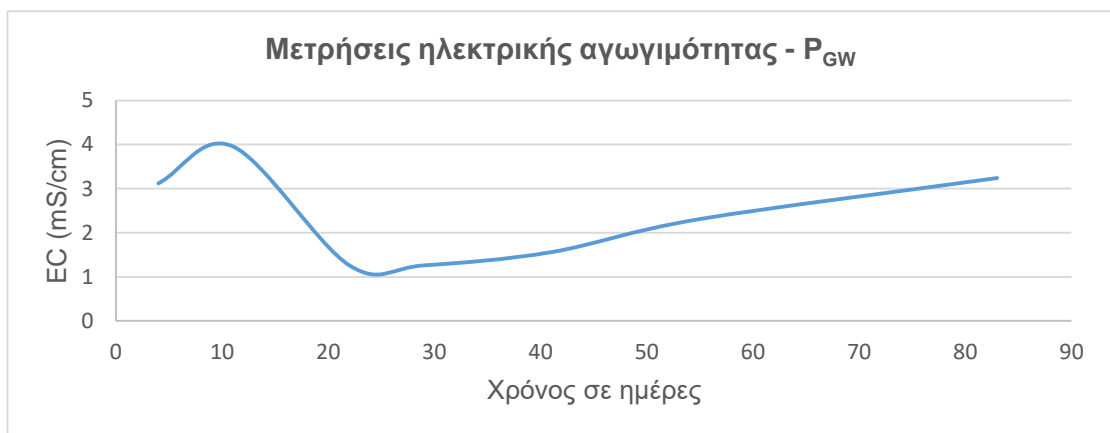
Δείγματα	Ημέρα	EC (1:5) (mS/cm)
1 ^ο Δείγμα	1	2.7
2 ^ο Δείγμα	4	3.9
3 ^ο Δείγμα	59	4.6
4 ^ο Δείγμα	96	5.2
Τελικό Δείγμα	112	5.1



Σχήμα 5.1: Διακύμανση ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο σωρό P_{OMW}

Πίνακας 5.6: Ηλεκτρική αγωγιμότητα στο σωρό P_{EW}

Δείγματα	Ημέρα	EC (1:5) (mS/cm)
1 ^ο Δείγμα	4	3.12
2 ^ο Δείγμα	11	3.96
3 ^ο Δείγμα	22	1.26
4 ^ο Δείγμα	29	1.26
5 ^ο Δείγμα	41	1.56
6 ^ο Δείγμα	55	2.31
7 ^ο Δείγμα	83	3.24



Σχήμα 5.2: Διακύμανση ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο σωρό P_{EW}

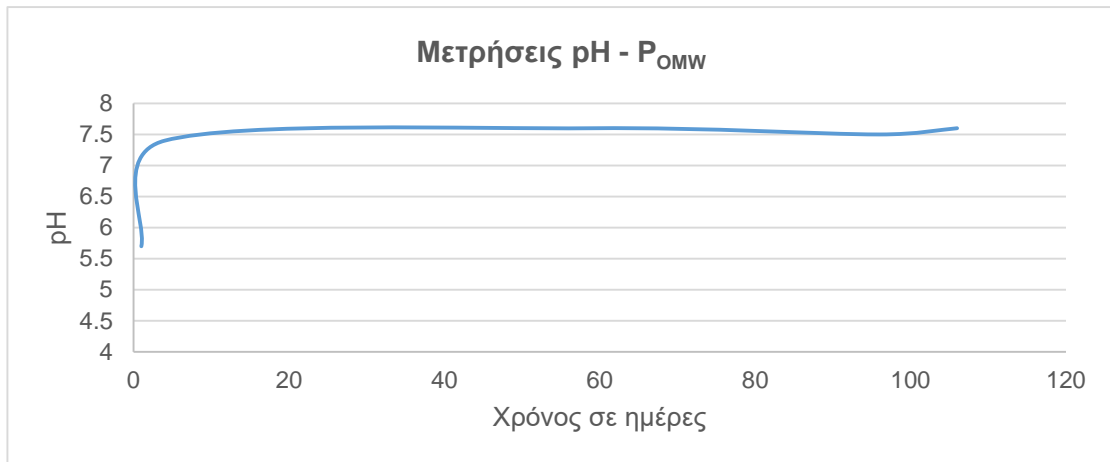
Στο σωρό P_{OMW} παρατηρείται σταδιακή αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας ενώ στο σωρό P_{GW} παρατηρούνται κάποιες διακυμάνσεις στην ηλεκτρική αγωγιμότητα. Παρατηρείται αρχικά μια μικρή αύξηση της μέχρι την 11η μέρα και στην συνέχεια μειώνεται μέχρι την 41η. Τέλος παρατηρείται πάλι αύξηση μέχρι το τελικό δείγμα. Η μείωση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας δικαιολογείται από την ανάγκη των μικροοργανισμών να καταναλώσουν τα διαλυτά μέρη του υποστρώματος, τα οποία αποτελούνται από θρεπτικά συστατικά, με σκοπό να αναπτυχθούν. Ενώ η αύξηση δικαιολογείται από την ανοργανοποίηση της οργανικής ύλης, μέσω της διαδικασίας της βιοαποικοδόμησης, όπως αναφέρουν και οι Paredes et al. (2002).⁴⁵ Στην κομποστοποίηση των φυτικών υπολειμμάτων όπως θα δούμε και παρακάτω η ανοργανοποίηση του οργανικού μέρους γίνεται με μικρότερο ρυθμό από ότι στην κομποστοποίηση των αποβλήτων από το ελαιουργείο οπότε είναι αναμενόμενη αυτή η μείωση της αγωγιμότητας καθώς καταναλώνονται τα θρεπτικά συστατικά από τους μικροοργανισμούς της κομποστοποίησης.

5.5 Μετρήσεις pH

Η διακύμανση των τιμών δίνεται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.7: Προσδιορισμός pH στο σωρό P_{OMW}

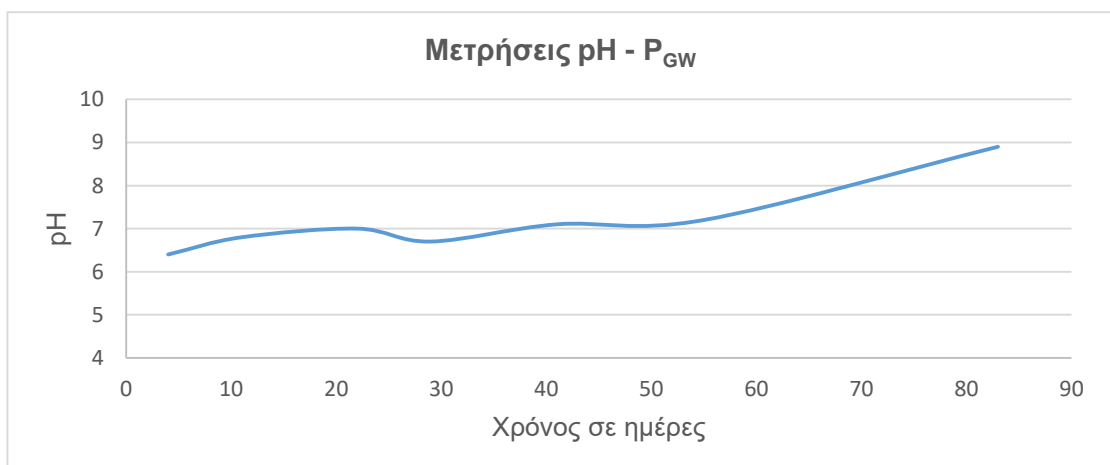
Δείγματα	Ημέρα	pH (1:10)
1 ^ο Δείγμα	1	5.7
2 ^ο Δείγμα	4	7.4
3 ^ο Δείγμα	59	7.6
4 ^ο Δείγμα	96	7.5
Τελικό Δείγμα	112	7.6



Σχήμα 5.3: Διακύμανση pH στο σωρό P_{OMW}

Πίνακας 5.8: Προσδιορισμός pH στο σωρό P_{GW}

Δείγματα	Ημέρα	pH (1:10)
1 ^ο Δείγμα	4	6.4
2 ^ο Δείγμα	11	6.8
3 ^ο Δείγμα	22	7
4 ^ο Δείγμα	29	6.7
5 ^ο Δείγμα	41	7.1
6 ^ο Δείγμα	55	7.2
7 ^ο Δείγμα	83	8.9



Σχήμα 5.4: Διακύμανση pH στο σωρό P_{GW}

Το pH στην κομποστοποίηση του Ρ_{0ΜΝ} στην αρχή είναι αρκετά χαμηλό λόγω των φαινολικών και των άλλων οργανικών οξέων που υπάρχουν στα υγρά απόβλητα. Αυτό το pH 5.5 – 6 θεωρείται το καταλληλότερο για την δράση των μυκήτων, οι οποίοι είναι οι βασικοί αποικοδομητές της λιγνίνης και της κυτταρίνης καθώς και των πολυφαινολών. Πολύ γρήγορα βλέπουμε ότι αυξάνεται και φτάνει σε ουδέτερα επίπεδα καθώς η θερμοκρασία της κομποστοποίησης έφτασε από τις πρώτες κιόλας ημέρες σε υψηλά επίπεδα. Αυτό υποδηλώνει τη γρήγορη διάσπαση των οργανικών οξέων. Το pH αυξάνεται κατά το θερμόφιλο στάδιο λόγω της απελευθέρωσης αμμωνίας κατά τη διαδικασία ανοργανοποίησης του οργανικού αζώτου

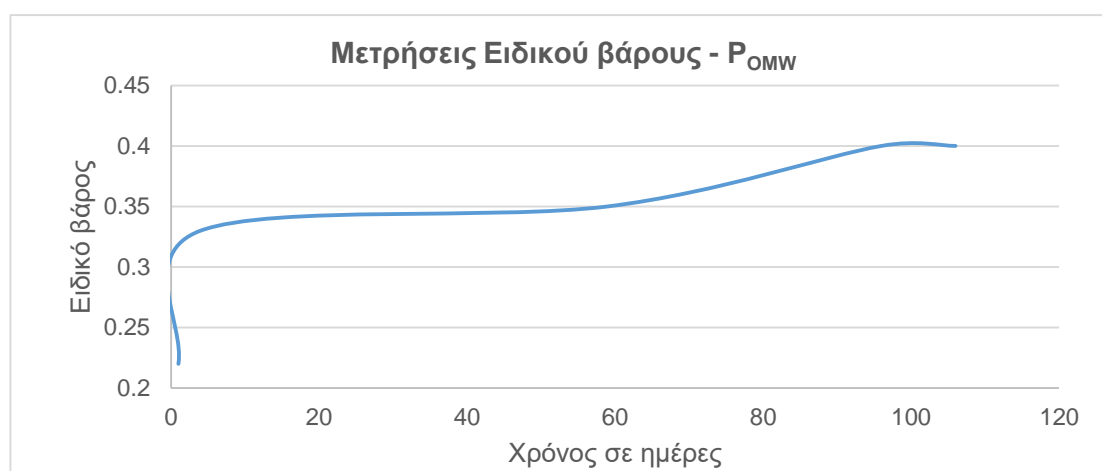
Στην κομποστοποίηση του Ρ_{6W} παρατηρούμε πάλι μια σταδιακή αύξηση του pH από την ελαφρώς όξινη τιμή που έχει στην αρχή μέχρι την υψηλή τιμή του 8.9 που έχει στο τέλος η οποία μάλλον οφείλεται στο μεταβολισμό του αζώτου προς αέρια αμμωνία ή άζωτο. Στην αρχή της κομποστοποίησης το pH είναι ελαφρώς όξινο λόγω της ύπαρξης των οργανικών οξέων που έχουν αρχίσει και σχηματίζονται πριν καν το υλικό συγκεντρωθεί σε σωρό. Καθώς αρχίζει η κομποστοποίηση τα οργανικά οξέα χρησιμοποιούνται από τους μικροοργανισμούς σαν πηγή ενέργειας (πηγή C) και ανοργανοποιούνται γεγονός που συμβάλει στην αύξηση του pH. Επίσης ο σχηματισμός των χουμικών ενώσεων μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την εξισορρόπηση του pH σε ουδέτερα επίπεδα.

5.6 Μετρήσεις ειδικού βάρους

Ο δείκτης του ειδικού βάρους είναι συνδεδεμένος με τον όγκο του σωρού. Καθώς εξελίσσεται η διαδικασία της βιοαποικοδόμησης παρατηρείται αύξηση του βάρους στην ίδια μονάδα όγκου. Τα αποτελέσματα δίνονται στους παρακάτω πίνακες g/cm³.

Πίνακας 5.9: Μετρήσεις ειδικού βάρους στο σωρό P_{OMW}

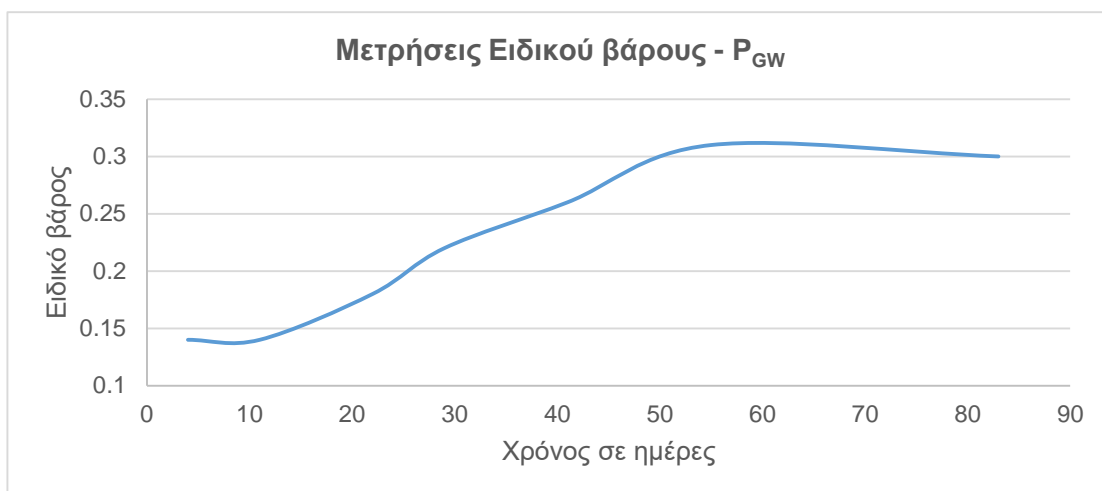
Δείγματα	Ημέρα	Ειδικό βάρος (g/cm ³)
1 ^ο Δείγμα	1	0.22
2 ^ο Δείγμα	4	0.33
3 ^ο Δείγμα	59	0.35
4 ^ο Δείγμα	96	0.4
Τελικό Δείγμα	112	0.4



Σχήμα 5.5: Διακύμανση Ειδικού βάρους στο σωρό P_{OMW}

Πίνακας 5.10: Μετρήσεις ειδικού βάρους στο σωρό P_{EW}

Δείγματα	Ημέρα	Ειδικό βάρος (g/cm ³)
1 ^ο Δείγμα	4	0.14
2 ^ο Δείγμα	11	0.14
3 ^ο Δείγμα	22	0.18
4 ^ο Δείγμα	29	0.22
5 ^ο Δείγμα	41	0.26
6 ^ο Δείγμα	55	0.31
7 ^ο Δείγμα	83	0.30



Σχήμα 5.6: Διακύμανση Ειδικού βάρους στο σωρό P_{GW}

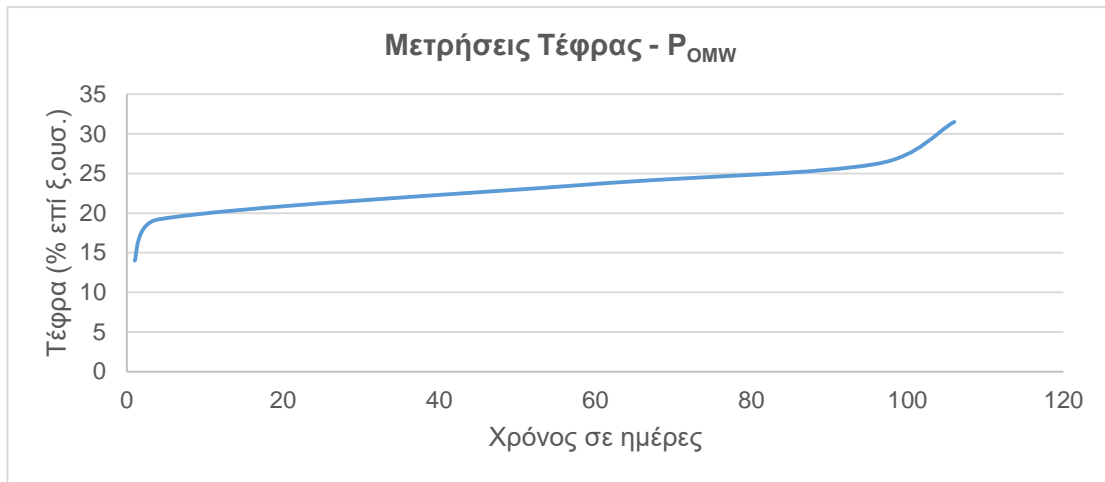
Το ειδικό βάρος και στις δύο κομποστοποιήσεις αυξάνεται σταδιακά αυτό συνδέεται με τον ρυθμό της βιοαποικοδόμησης. Στο P_{OMW} είναι από την αρχή αρκετά υψηλό λόγω βέβαια του υψηλού ειδικού βάρους που έχουν τα υγρά απόβλητα.

5.7 Μετρήσεις τέφρας

Τα αποτελέσματα δίνονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.11: Μετρήσεις τέφρας στο σωρό P_{OMW}

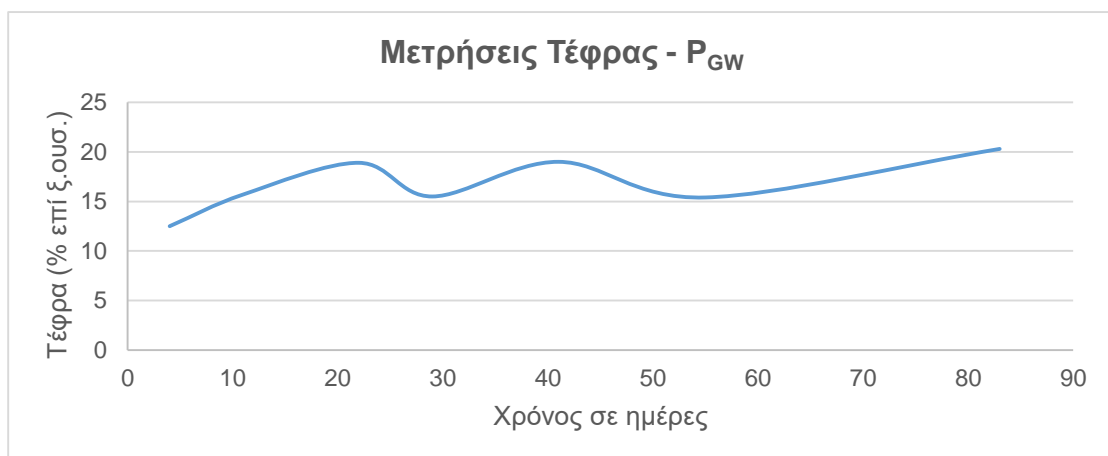
Δείγματα	Ημέρα	Τέφρα (% επί ξ.ουσ.)
1 ^ο Δείγμα	1	14.0
2 ^ο Δείγμα	4	19.2
3 ^ο Δείγμα	59	23.6
4 ^ο Δείγμα	96	26.2
Τελικό Δείγμα	112	31.5



Σχήμα 5.7: Διακύμανση Τέφρας στο σωρό Ρ_{ΟΜΩ}

Πίνακας 5.12: Μετρήσεις τέφρας στο σωρό Ρ_Ω

Δείγματα	Ημέρα	Τέφρα (% επί ξ.ουσ.)
1 ^ο Δείγμα	4	12.5
2 ^ο Δείγμα	11	15.7
3 ^ο Δείγμα	22	18.9
4 ^ο Δείγμα	29	15.5
5 ^ο Δείγμα	41	19
6 ^ο Δείγμα	55	15.4
7 ^ο Δείγμα	83	20.3



Σχήμα 5.8: Διακύμανση Τέφρας στο σωρό Ρ_Ω

Παρατηρείται, ότι υπάρχει αυξητική τάση κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης και στους δύο σωρούς. Στην κομποστοποίηση του P_{OMW} αυξάνεται με πιο έντονο ρυθμό. Στο σωρό P_{GW} παρατηρείται μια μείωση της τέφρας την 29^η μέρα που μάλλον οφείλεται στο γεγονός ότι εκείνες τις μέρες προστέθηκε βιοκαταλύτης πλούσιος σε οργανικό μέρος για να υποβοηθήσει την κομποστοποίηση.

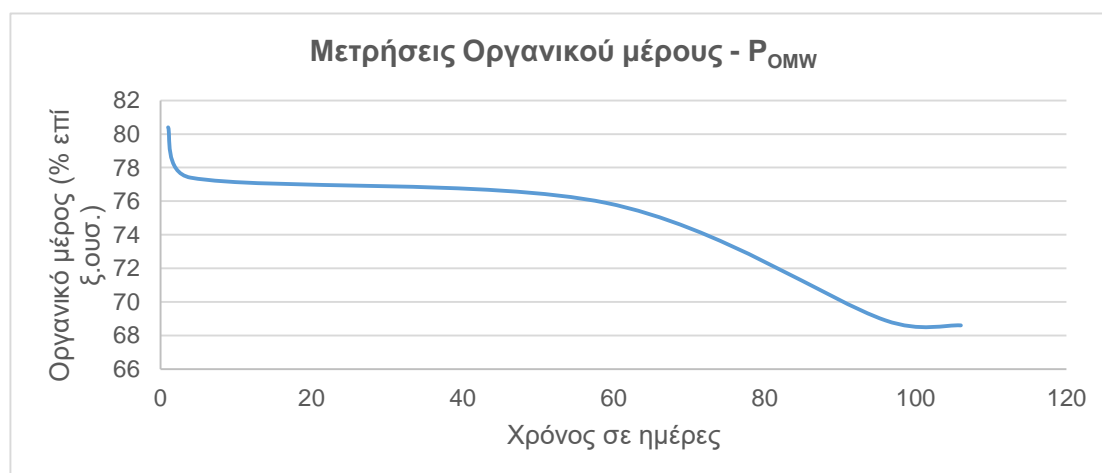
Είναι λογική η αύξηση της τέφρας καθώς η διαδικασία της βιοαποικοδόμησης συνεχίζεται με το πέρασ του χρόνου, άρα αυξάνεται και η περιεκτικότητα σε ανόργανα συστατικά που αποδεσμεύονται από την οργανική ύλη.

5.8 Μετρήσεις οργανικού μέρους

Τα αποτελέσματα δίνονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.13: Μετρήσεις οργανικού μέρους στο σωρό P_{OMW}

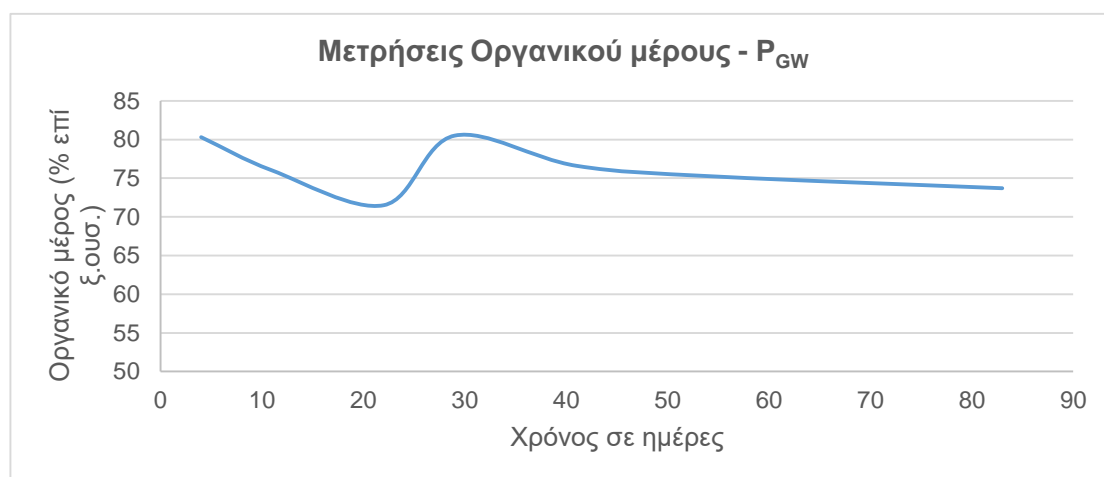
Δείγματα	Ημέρα	Οργανικό μέρος (% επί ξ.ουσ.)
1 ^ο Δείγμα	1	80.4
2 ^ο Δείγμα	4	77.4
3 ^ο Δείγμα	59	75.9
4 ^ο Δείγμα	96	68.9
Τελικό Δείγμα	112	68.6



Σχήμα 5.9: Διακύμανση Οργανικού μέρους στο σωρό P_{OMW}

Πίνακας 5.14: Μετρήσεις οργανικού μέρους στο σωρό P_{GW}

Δείγματα	Ημέρα	Οργανικό μέρος (% επί ξ.ουσ.)
1 ^ο Δείγμα	4	80.3
2 ^ο Δείγμα	11	76.0
3 ^ο Δείγμα	22	71.5
4 ^ο Δείγμα	29	80.5
5 ^ο Δείγμα	41	76.6
6 ^ο Δείγμα	55	75.2
7 ^ο Δείγμα	83	73.7



Σχήμα 5.10: Διακύμανση Οργανικού μέρους στο σωρό P_{GW}

Όπως φαίνεται από τους παραπάνω πίνακες, το οργανικό μέρος μειώνεται με την εξέλιξη της κομποστοποίησης. Το γεγονός αυτό γίνεται λόγω της διάσπασης της οργανικής ύλης μέσω της μικροβιακής αποδόμησης καθώς οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν το απλούστερο διαδέσιμο οργανικό υλικό σαν πηγή ενέργειας και μέσα από αυτή τη διαδικασία οδηγούμαστε στην παραγωγή πιο σταθερών οργανικών ενώσεων και την ανοργανοποίηση του οργανικού άνθρακα προς CO₂ ενώ ο υπόλοιπος διαθέσιμος οργανικός άνθρακας μετατρέπεται σε μικροβιακή βιομάζα (π.χ. κυτταρικό τοίχωμα, μεμβράνες, πρωτόπλασμα). Παρατηρείται αυξημένος ρυθμός μείωσης του οργανικού

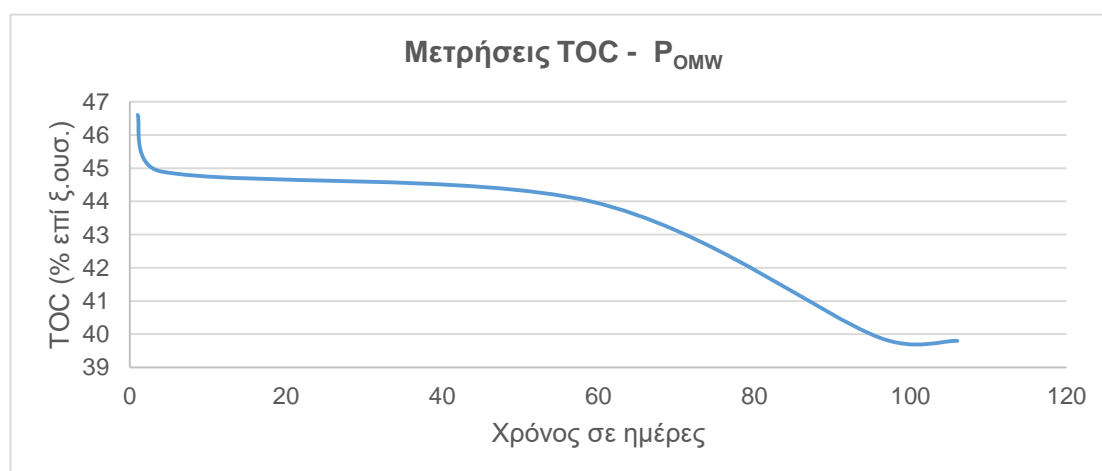
άνθρακα κατά τη θερμοφιλή φάση της κομποστοποίησης ο οποίος οφείλεται στην κατανάλωση και αφομοίωση των άμεσα διαθέσιμων και διαλυτών οργανικών ενώσεων που εμπεριέχονται στο υπόστρωμα. Στα μετέπειτα στάδια της διεργασίας η κατανάλωση του οργανικού άνθρακα μειώνεται εξαιτίας της ελάττωσης της μεταβολικής δραστηριότητας των μικροοργανισμών που προκύπτει από την έλλειψη διαλυτών ανθρακούχων ενώσεων όπως συμπεραίνει ο Epstein (1997)⁴. Επιπλέον, μετά τη θερμοφιλή φάση, κυρίαρχη δράση δεν είναι πλέον η μετατροπή του οργανικού άνθρακα σε ανόργανα συστατικά αλλά η διεργασία της σύνθεσης πιο σταθερών ενώσεων γνωστή ως χουμοποίηση.

5.9 Μετρήσεις ολικού οργανικού άνθρακα

Οι μετρήσεις που έγιναν με βάση τον δείκτη συσχέτισης με τον οργανικό μέρος, παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.15: Μετρήσεις ολικού οργανικού άνθρακα στο σωρό P_{OMW}

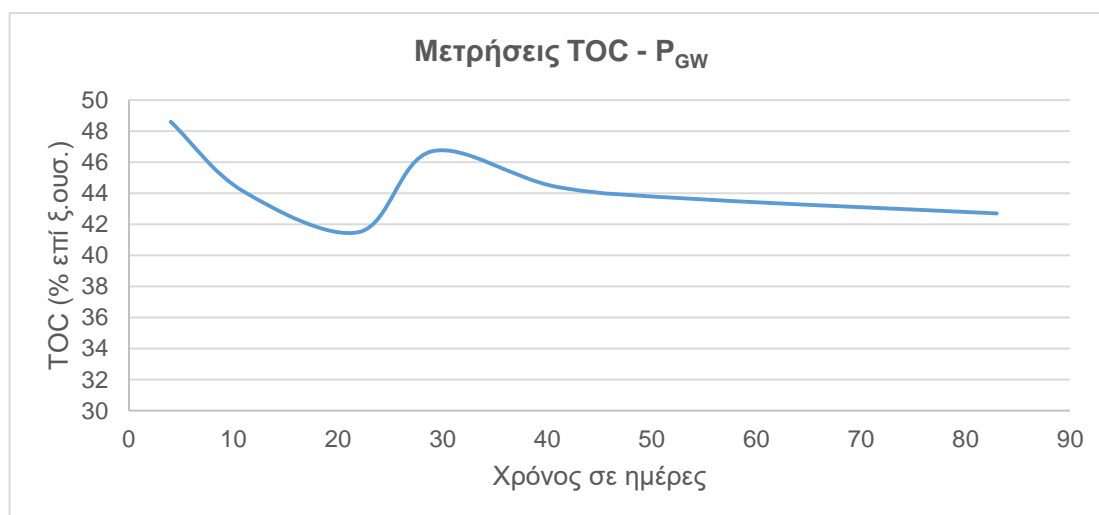
Δείγματα	Ημέρα	TOC (% επί ξ.ουσ.)
1 ^ο Δείγμα	1	46.6
2 ^ο Δείγμα	4	44.9
3 ^ο Δείγμα	59	44.0
4 ^ο Δείγμα	96	39.9
Τελικό Δείγμα	112	39.8



Σχήμα 5.11: Διακύμανση TOC στο σωρό P_{OMW}

Πίνακας 5.16: Μετρήσεις ολικού οργανικού άνθρακα στο σωρό P_{GW}

Δείγματα	Ημέρα	TOC (% επί ξ.ουσ.)
1 ^ο Δείγμα	4	48.6
2 ^ο Δείγμα	11	44.1
3 ^ο Δείγμα	22	41.5
4 ^ο Δείγμα	29	46.7
5 ^ο Δείγμα	41	44.4
6 ^ο Δείγμα	55	43.6
7 ^ο Δείγμα	83	42.7



Σχήμα 5.12: Διακύμανση TOC στο σωρό P_{GW}

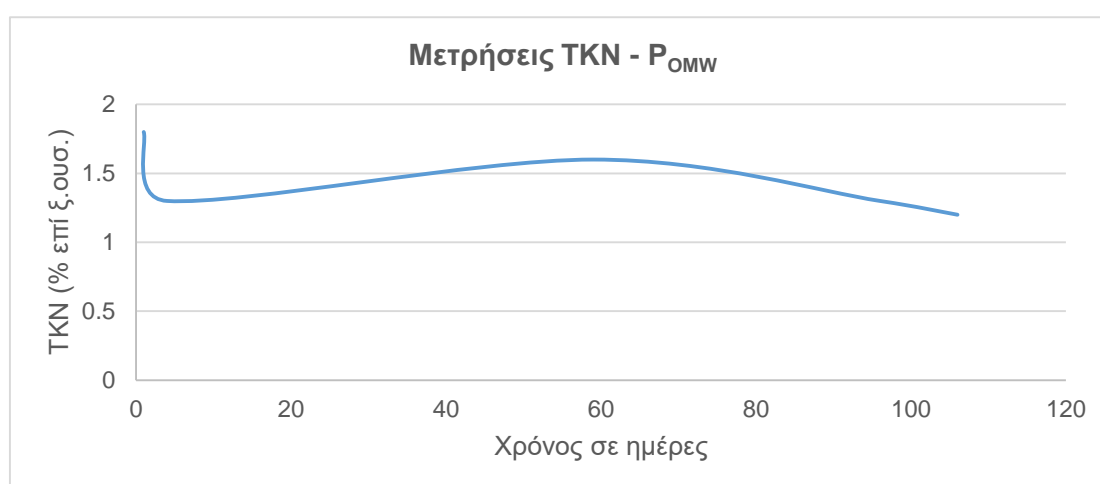
Η διακύμανση του οργανικού άνθρακα ακολουθεί την πορεία του οργανικού μέρους, όπως είναι αναμενόμενο.

5.10 Μετρήσεις αζώτου

Τα αποτελέσματα από τη Kjeldahl παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.17: Μετρήσεις αζώτου στο σωρό P_{OMW}

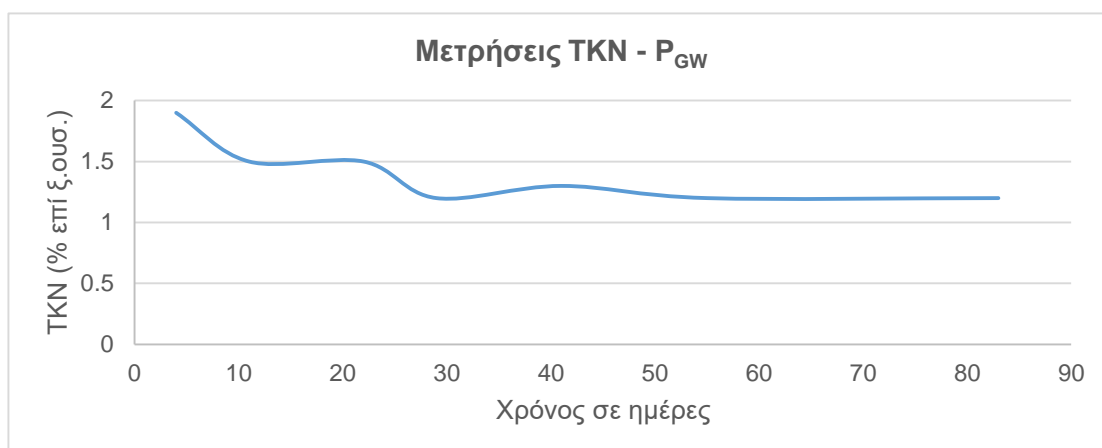
Δείγματα	Ημέρα	TKN (% επί ξ.ουσ.)
1 ^ο Δείγμα	1	1.8
2 ^ο Δείγμα	4	1.3
3 ^ο Δείγμα	59	1.6
4 ^ο Δείγμα	96	1.3
Τελικό Δείγμα	112	1.2



Σχήμα 5.13: Διακύμανση TKN στο σωρό P_{OMW}

Πίνακας 5.18: Μετρήσεις αζώτου στο σωρό P_{GW}

Δείγματα	Ημέρα	TKN (% επί ξ.ουσ.)
1 ^ο Δείγμα	4	1.9
2 ^ο Δείγμα	11	1.5
3 ^ο Δείγμα	22	1.5
4 ^ο Δείγμα	29	1.2
5 ^ο Δείγμα	41	1.3
6 ^ο Δείγμα	55	1.2
7 ^ο Δείγμα	83	1.2



Σχήμα 5.14: Διακύμανση ΤΚΝ στο σωρό P_{GW}

Παρατηρείται από τους πίνακες ότι η διακύμανση της περιεκτικότητας του αζώτου για το μεγαλύτερο διάστημα της κομποστοποίησης έχει τάση σταθερότητας προς μείωση. Στο σωρό P_{OMW} υπάρχει μια μικρή αύξηση την 59^η μέρα. Πρέπει να ληφθεί όμως υπόψη η ανομοιογένεια των δειγμάτων λόγω της φύσης του σωρού. Το εύρος της περιεκτικότητας του αζώτου είναι από 1.9-1.2 και στους δύο σωρούς κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης.

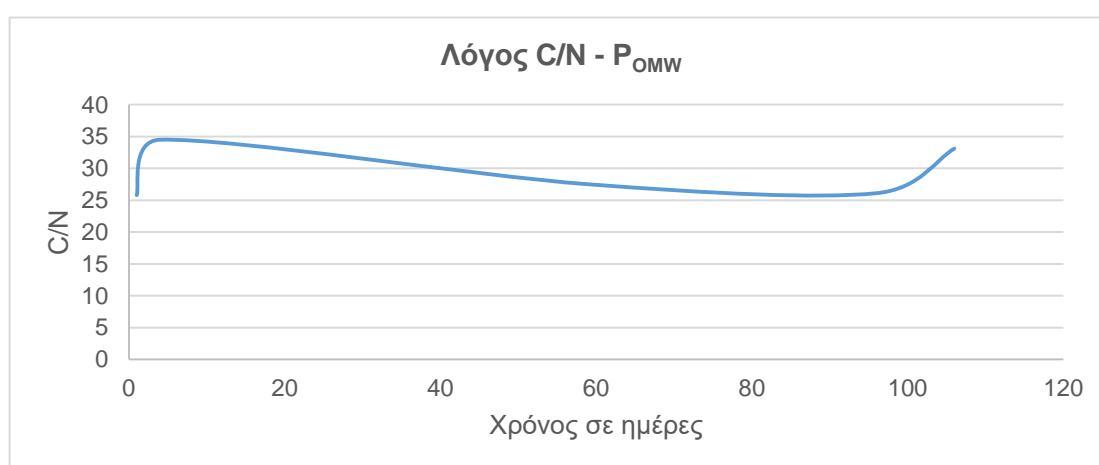
Λογικά, το άζωτο θα έπρεπε να μειώνεται κατά τη διάρκεια της βιοαποικοδόμησης λόγω της δράσης των αζωτοβακτηρίων. Όμως, ένα μικρό μέρος ανοργανοποιείται καθώς το περιεχόμενο άζωτο μεταβολίζεται από τους οργανισμούς, λόγω του αυτοτροφισμού, ακινητοποιείται σε αυτούς ως δομικό συστατικό τους και ελευθερώνεται πάλι ως οργανικό άζωτο. Άλλος ένας λόγος που κυμαίνεται σε σχετικά σταθερά επίπεδα, έγκειται στην χρήση του ζεολίθου. Ο ζεολίθος λόγω της δομής του, έχει ιονανταλλακτική ικανότητα με αποτέλεσμα να δεσμεύει τα αμμωνιακά ιόντα και να τα αποδεσμεύει αργά.

5.11 Λόγος C/N

Τα αποτελέσματα του λόγου C/N παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.19: Μετρήσεις C/N στο σωρό P_{OMW}

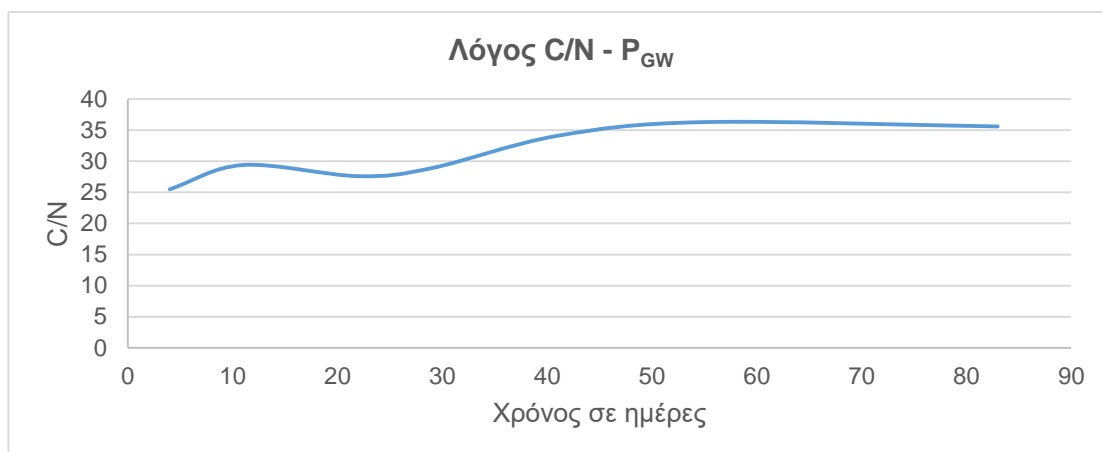
Δείγματα	Ημέρα	C/N
1 ^ο Δείγμα	1	25.8
2 ^ο Δείγμα	4	34.5
3 ^ο Δείγμα	59	27.5
4 ^ο Δείγμα	96	26.1
Τελικό Δείγμα	112	33.1



Σχήμα 5.15: Διακύμανση λόγου C/N στο σωρό P_{OMW}

Πίνακας 5.20: Μετρήσεις C/N στο σωρό P_{GW}

Δείγματα	Ημέρα	C/N
1 ^ο Δείγμα	4	25.5
2 ^ο Δείγμα	11	29.4
3 ^ο Δείγμα	22	27.6
4 ^ο Δείγμα	29	28.9
5 ^ο Δείγμα	41	34.1
6 ^ο Δείγμα	55	36.3
7 ^ο Δείγμα	83	35.6



Σχήμα 5.16: Διακύμανση λόγου C/N στο σωρό P_{OMW}

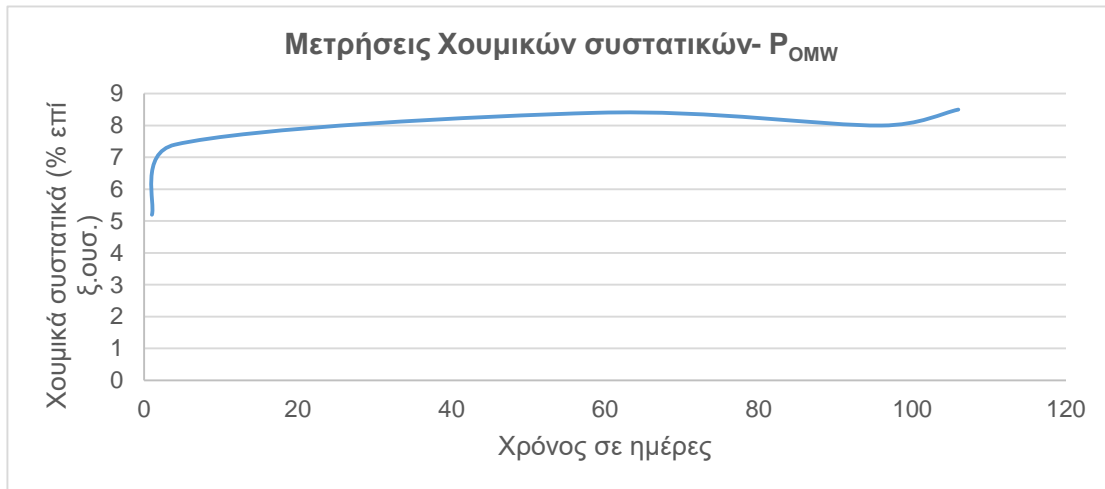
Οι διακυμάνσεις που παρατηρούνται και στους δύο σωρούς οφείλονται στο ότι η αποικοδόμηση του οργανικού μέρους και στις δύο κομποστοποιήσεις και κυρίως στο P_{GW} γίνεται με σταθερό αλλά σχετικά αργό ρυθμό ενώ το οργανικό άζωτο έχει ανοργανοποιηθεί και έχει χρησιμοποιηθεί από τους μικροοργανισμούς με μεγαλύτερο ρυθμό.

5.12 Μετρήσεις χουμικών συστατικών

Τα αποτελέσματα των χουμικών συστατικών παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.21: Μετρήσεις χουμικών συστατικών στο σωρό P_{OMW}

Δείγματα	Ημέρα	Χουμικά συστατικά (% επί ξ.ουσ.)
1 ^ο Δείγμα	1	5.2
2 ^ο Δείγμα	4	7.4
3 ^ο Δείγμα	59	8.4
4 ^ο Δείγμα	96	8.0
Τελικό Δείγμα	112	8.5



Σχήμα 5.17: Διακύμανση Χουμικών συστατικών στο σωρό Ρ_{ομω}

Πίνακας 5.22: Μετρήσεις χουμικών συστατικών στο σωρό Ρ_{εω}

Δείγματα	Ημέρα	Χουμικά συστατικά (% επί ξ.ουσ.)
1 ^ο Δείγμα	4	2.9
2 ^ο Δείγμα	11	3.4
3 ^ο Δείγμα	22	4.2
4 ^ο Δείγμα	29	4.9
5 ^ο Δείγμα	41	6.5
6 ^ο Δείγμα	55	5.1
7 ^ο Δείγμα	83	5.8



Σχήμα 5.18: Διακύμανση Χουμικών συστατικών στο σωρό P_{GW}

Είναι αξιοσημείωτο πως στον σωρό P_{OMW} από την αρχή της διαδικασίας παρατηρείται μεγάλη περιεκτικότητα σε χουμικά συστατικά. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι μετρήσεις στο πρώτο και το δεύτερο δείγμα έγιναν κάποιες μέρες αργότερα από τη δειγματοληψία. Οι τιμές σε ένα δείγμα compost αλλάζουν μέρα με τη μέρα ακόμη και όταν έχει απομακρυνθεί από το σωρό, ακόμη και μετά την ενσάκκιση η κομποστοποίηση εξελίσσεται.

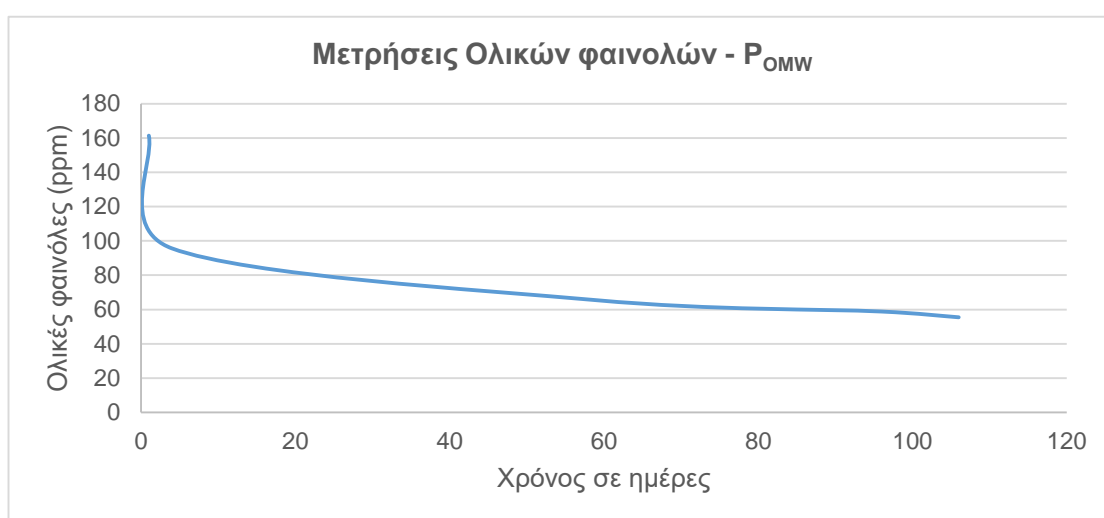
Αντίθετα στο σωρό P_{GW} ξεκίνησε η κομποστοποίηση από χαμηλή περιεκτικότητα αλλά έφτασε σε ένα ποσοστό χουμοποίησης αρκετά ικανοποιητικό σε 83 μέρες. Η αποικοδόμηση της λιγνίνης σε απλούστερες μονομερείς ενώσεις είναι μια διαδικασία πολύπλοκη. Τα μονομερή όμως που προκύπτουν πολυμερίζονται στη συνέχεια και σχηματίζουν τα χουμικά συστατικά. Επομένως συμπεραίνουμε ότι δεν έγινε ικανοποιητική αποικοδόμηση της λιγνίνης.

5.13 Μετρήσεις ολικών φαινολών

Τα αποτελέσματα των χουμικών οξέων παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.23: Μετρήσεις ολικών φαινολών στο σωρό P_{OMW}

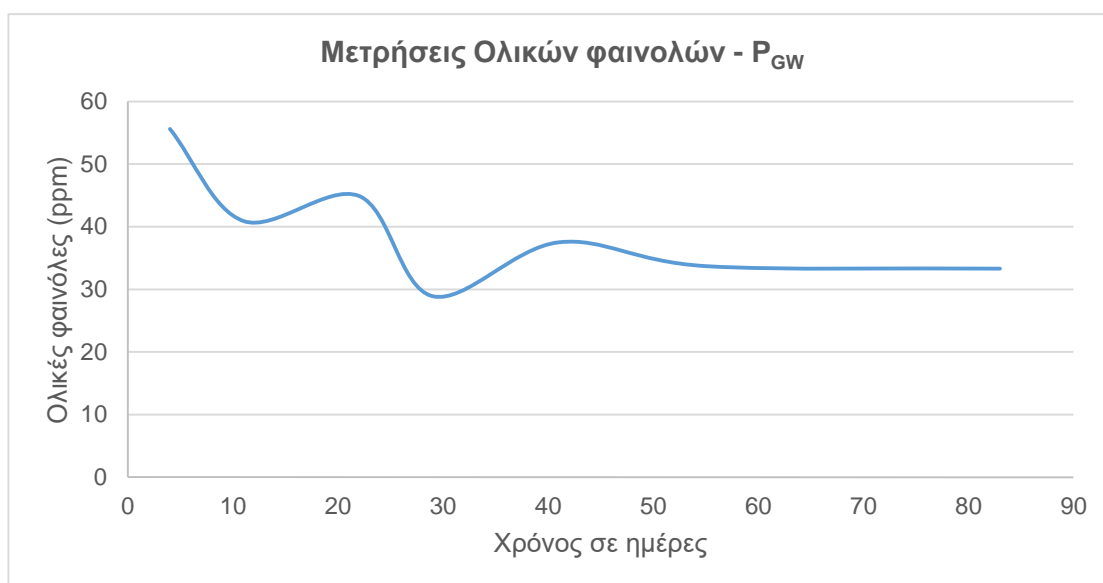
Δείγματα	Ημέρα	Ολικές φαινόλες (μg/g ξ.ουσ.) (ppm)
1 ^ο Δείγμα	1	161.4
2 ^ο Δείγμα	4	95.65
3 ^ο Δείγμα	59	65.45
4 ^ο Δείγμα	96	58.83
Τελικό Δείγμα	112	55.47



Σχήμα 5.19: Διακύμανση Ολικών φαινολών στο σωρό P_{OMW}

Πίνακας 5.24: Μετρήσεις ολικών φαινολών στο σωρό P_{EW}

Δείγματα	Ημέρα	Ολικές φαινόλες (μg/g ξ.ουσ.) (ppm)
1 ^ο Δείγμα	4	55.6
2 ^ο Δείγμα	11	40.9
3 ^ο Δείγμα	22	44.9
4 ^ο Δείγμα	29	28.9
5 ^ο Δείγμα	41	37.5
6 ^ο Δείγμα	55	33.7
7 ^ο Δείγμα	83	33.3



Σχήμα 5.20: Διακύμανση Ολικών φαινολών στο σωρό P_{GW}

Στο σωρό P_{OMW} επιτεύχθηκε αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων σε ποσοστό 60% σε διάστημα μόλις 2 μηνών με τελικό ποσοστό διάσπασης 68% στους 3 μήνες. Παρατηρούμε επίσης ότι η μεγαλύτερη μείωση της συγκέντρωσης των φαινολών συμβαίνει στην φάση που το pH είναι ακόμη σε χαμηλά επίπεδα, τις πρώτες μέρες της θερμοφιλικής φάσης και πριν ανέβει η θερμοκρασία σε πολύ υψηλά επίπεδα, όπου δρουν και οι σημαντικότεροι αποικοδομητές των πολυφαινολών οι μύκητες. Συγκεκριμένα από την πρώτη μέρα στην τέταρτη έχουμε μείωση των φαινολών 40% και από τη δεύτερη δειγματοληψία στην τρίτη που είναι μετά από 55 μέρες έχουμε πετύχει διάσπαση των φαινολών κατά 31%. Η μείωση αυτή οφείλεται όπως και στα χουμικά και στο χρονικό διάστημα που πέρασε από την ημερομηνία της δειγματοληψίας μέχρι να γίνει η μέτρηση καθώς στη φάση αυτή της κομποστοποίησης δρουν όπως προείπαμε οι μύκητες και η δράση τους συνεχίστηκε και μέσα στο δείγμα. Σε άλλα παραδείγματα κομποστοποίησης αποβλήτων από ελαιουργεία βλέπουμε επίσης μεγάλη μείωση των πολυφαινολών από τα πρώτα στάδια της κομποστοποίησης όπως αναφέρεται στις εργασίες των G. A. Baddia et al. και των Filippi et al. (2002).⁴⁹

Στο σωρό P_{GW} η αποικοδόμηση των πολυφαινολών έγινε σε ποσοστό 40%. Κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης παρατηρούμε κάποιες διακυμάνσεις

που πιθανώς οφείλονται στη διάσπαση της λιγνίνης σε απλούστερες φαινολικές ενώσεις.

5.14 Μικροβιακές αναλύσεις

Πίνακας 5.25: Καταμέτρηση αποικιών *Escherichia coli* και *Salmonella* στα τελικά compost.

	Αποικίες <i>Escherichia coli</i> (cfu/100 g ξ.ουσ.)	Αποικίες <i>Salmonella</i> (cfu/100 g ξ.ουσ.)
Αρχική ανάμειξη P _{OMW}	Απουσία	Απουσία
Αρχική ανάμειξη P _{GW}	10 ⁷	10 ⁴
Τελικό compost από P _{OMW}	48	Απουσία
Τελικό compost από P _{GW}	108	Απουσία

Στην κομποστοποίηση των αποβλήτων από το ελαιουργείο δεν παρατηρούμε παθογόνους μικροοργανισμούς και αυτό οφείλεται στις αντιμικροβιακές ιδιότητες των πολυφαινολών που βρίσκονται σε μεγάλη συγκέντρωση στο δείγμα μας. Ακόμη και μετά τη διάσπαση των πολυφαινολών δεν έχει γίνει σημαντική ανάπτυξη παθογόνων παρά μόνο 48 cfu/100 g ξ.ουσ. *Escherichia coli* που μάλλον έχει γίνει μια μικρή επιμόλυνση από το περιβάλλον.

Στην κομποστοποίηση των φυτικών υπολειμμάτων παρατηρούμε ότι έχει γίνει εξυγίανση του σωρού και το compost δεν παρουσιάζει παθογόνους μικροοργανισμούς σε επίπεδα επικίνδυνα για την ανθρώπινη υγεία.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα ερευνητική εργασία ειδίκευσης μελετήθηκε η επίδραση ειδικού βιοκαταλύτη στην κομποστοποίηση αποβλήτων ελαιουργείων και πράσινων υπολειμμάτων, παρακολουθώντας τις φυσικοχημικές παραμέτρους του παραγόμενου υποστρώματος καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας.

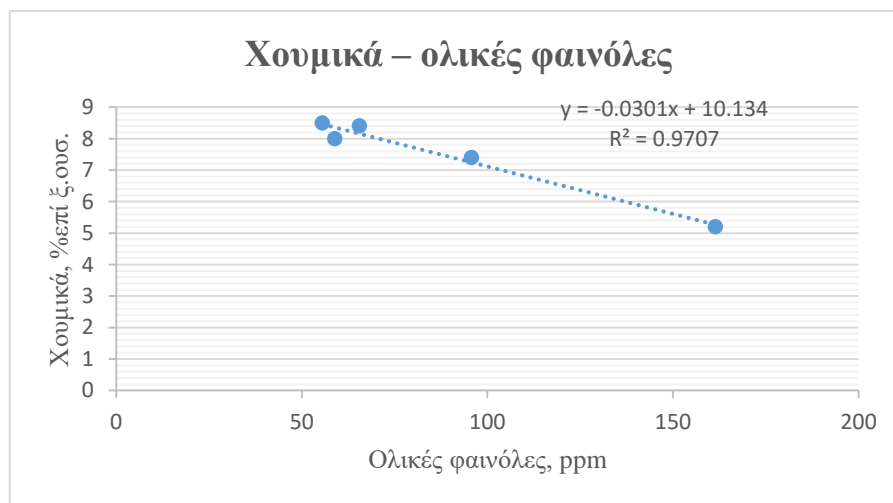
Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η παρατήρηση της επίδρασης του βιοκαταλύτη είχε συμβεί πριν γίνει η συγκεκριμένη μεταπτυχιακή εργασία και είχε εφαρμοστεί με επιτυχία στην παραγωγή οργανικών λιπασμάτων, από ποικιλία υποστρωμάτων. Επιπλέον, διερευνήθηκε η ικανότητα της αποικοδόμησης των πολυφαινολών και της λιγνίνης και του σχηματισμού των χουμικών συστατικών από τον πολυμερισμό των μονομερών αυτών. Για την εξέλιξη της κομποστοποίησης συμπεραίνονται τα εξής:

- ✓ Η θερμοκρασία ανεβαίνει γρήγορα παρόλο που επικρατεί χαμηλή θερμοκρασία περιβάλλοντος και διατηρείται σε υψηλά επίπεδα για αρκετές μέρες, γεγονός που οδηγεί στην εξουδετέρωση των παθογόνων μικροοργανισμών.
- ✓ Στις μετρήσεις pH, στο σωρό P_{OMW} αλλά και στο σωρό P_{GW} παρατηρείται αυξημένη τιμή, η οποία οφείλεται στο μεταβολισμό του αζώτου προς αέρια αμμωνία ή άζωτο, γεγονός που δείχνει ότι η κομποστοποίηση έχει ολοκληρωθεί.
- ✓ Παρατηρείται αυξητική πορεία του ειδικού βάρους η οποία συνδέεται με τη μείωση του όγκου των σωρών που είναι ένδειξη ότι λαμβάνει χώρα διάσπαση του οργανικού μέρους καθώς καταναλώνεται από τους μικροοργανισμούς της κομποστοποίησης.

Από τις φυσικοχημικές αναλύσεις, συσχετίζοντας εκείνες των χουμικών και των ολικών φαινολών διαπιστώνουμε ότι:

- ✓ Στο compost από τα απόβλητα του ελαιουργείου: έχουμε αποικοδόμηση κατά 65% των πολυφαινολών και ταυτόχρονη αύξηση των χουμικών συστατικών κατά 40% σε μόλις 3,5 μήνες. Από την βιβλιογραφική ανασκόπηση που έγινε η συνηθισμένη διάρκεια της κομποστοποίησης των

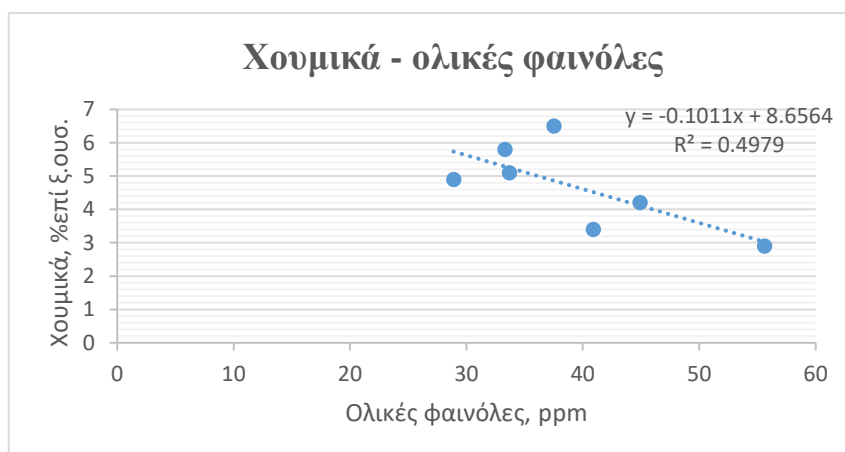
αποβλήτων από ελαιουργεία ήταν τουλάχιστον 6 μήνες. Για παράδειγμα στην μελέτη των Paredes et.al. (2002) για να καταλήξουν σε ένα προϊόν ώριμο και μή φυτοτοξικό πέρασαν 182 ημέρες.⁴⁵ Οι Baddi et.al. (2003) πέτυχαν 66% διάσπαση των φαινολών κατά την κομποστοποίηση αποβλήτων από ελαιουργεία στους 12 μήνες.⁶⁴ Ενώ με τη χρήση του βιοκαταλύτη στην παρούσα εργασία ήδη σε 2 μήνες είχε επιτευχθεί διάσπαση των φαινολών κατά 60% από την αρχική ανάμιξη και 85% μείωση των ολικών φαινολών από τα υγρά απόβλητα ελαιουργείου.



Σχήμα 6.1: Συσχέτιση Χουμικών και ολικών φαινολών για τον σωρό P_{OMW}

Ο δείκτης συσχέτισης των χουμικών με τις ολικές φαινόλες είναι κοντά στη μονάδα ($R^2=0,9707$) άρα τα αποτελέσματα δείχνουν ότι με τη διάσπαση των φαινολών έχουμε ταυτόχρονη αύξηση των χουμικών.

- ✓ Ενώ για το compost από τα φυτικά υπολείμματα: έχουμε αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων κατά 40% και ταυτόχρονη αύξηση των χουμικών συστατικών 50%.



Σχήμα 6.2: Συσχέτιση Χουμικών και ολικών φαινολών για τον σωρό P_{6w}

Ο δείκτης συσχέτισης όμως δεν είναι κοντά στη μονάδα, αυτό όμως οφείλεται στις διακυμάνσεις που έχουμε στη συγκέντρωση των ολικών φαινολών καθώς κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης διασπάται η λιγνίνη σε απλούστερες φαινολικές ενώσεις οι οποίες όμως με τη σειρά τους πολυμερίζονται μέσω ενζυμικής οξειδωσης και του μηχανισμού ελευθέρων ριζών και σχηματίζουν τα χουμικά.⁶⁰

6.1 Σύγκριση των παραγόμενων compost με άλλα εδαφοβελτιωτικά

Η σύγκριση περιλαμβάνει 3 διαφορετικά compost, 1 από την ελληνική αγορά και 2 φυτικών υπολειμμάτων και θα γίνει ως προς τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους. Παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα οι ονομασίες των δειγμάτων καθώς και η περιγραφή προέλευσης τους.

Πίνακας 6.1: Περιγραφή δειγμάτων compost⁶⁵

Όνομασία δείγματος	Περιγραφή
Compost εμπορίου 1 (CE1)	Μείγμα compost με ξανθιά τύρφη
Compost φυτικών υπολειμμάτων (CFY)	Compost φυτικών υπολειμμάτων χωρίς προσθήκη βιοκαταλύτη
Compost κατσίγαρος (CKT)	Compost από βιοσταθεροποιημένο τριφασικό ελαιοπυρήνα με κλαδοκάθαρα ελαιοδέντρων και βιοκαταλύτη

Τα παραπάνω εδαφοβελτιωτικά θα συγκριθούν με τα compost που παρήχθησαν στην παρούσα εργασία, C_{OMW} και C_{GW} από τα απορρίμματα ελαιουργείου και τα φυτικά υπολείμματα αντίστοιχα.

Παρουσιάζεται ο πίνακας των αποτελεσμάτων.

Πίνακας 6.2: Συγκριτικές μετρήσεις των compost

	C_{OMW}	C_{GW}	CE1	CFY	CKT
pH	7,6	8,9	7,9	7,5	7,3
EC (mS/cm)	5,1	3,24	0,4	1,1	1,7
% Οργ. μέρος	68,6	73,7	42,4	25,6	72
% Χουμικά συστατικά	8,5	5,8	2,9	5,1	4,5
% Άζωτο	1,2	1,2	1,2	2,1	3,1
C/N	33,1	35,6	35,3	12,19	23,8

Το compost από τα φυτικά υπολείμματα που παράγεται με τον βιοκαταλύτη, παρουσιάζει ποιοτικότερα χαρακτηριστικά σε σχέση με αυτό του εμπορίου και ειδικά ως προς την παραγωγή χουμικών. Όπως αναφέρθηκε, η διαδικασία

παραγωγής στις δύο κομποστοποιήσεις της εργασίας διαρκεί 3.5 και 2.5 μήνες για τα compost C_{OMW} και C_{GW} αντίστοιχα και τα χουμικά έχουν φτάσει 8,5% και 5,8 μαζί με την προσθήκη βιοκαταλύτη. Στο προϊόν που παρήχθη χωρίς βιοκαταλύτη, τα χουμικά έχουν φτάσει το 5,1% έπειτα όμως από 17 μήνες κομποστοποίησης. Η μικρή περιεκτικότητα σε οργανικό μέρος, φανερώνει την εκτεταμένη παραμονή του σε σωρό. Ενώ στο compost του εμπορίου τα χουμικά είναι πολύ χαμηλά, μόλις 2.9, δεν υπάρχουν όμως στοιχειά παραγωγής.

6.2 Ποιοτική αξιολόγηση των παραγόμενων compost

Η ελληνική νομοθεσία σχετικά με τις τεχνικές προδιαγραφές διαχείρισης οργανικών αποβλήτων περιλαμβάνει διατάξεις που αφορούν εγκαταστάσεις με αερόβια και αναερόβια επεξεργασία σύμμεικτων απορριμμάτων, εστιάζοντας κυρίως στα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος.

Η ποιότητα του παραγόμενου compost και η δυνατότητα διάθεσής του είναι καθοριστικές για την επιτυχία της διαδικασίας της κομποστοποίησης. Σε επίπεδο Ευρωπαϊκής Ένωσης δεν υπάρχουν θεσμοθετημένες ποιοτικές προδιαγραφές για το compost, με αποτέλεσμα να υπάρχουν σημαντικές διαφορές από χώρα σε χώρα. Το στοιχείο αυτό εξηγείται από τις διαφορετικές προσεγγίσεις στη διαχείριση των στερεών αποβλήτων και την αυστηρότητα στην προστασία του εδάφους που θέτει κάθε χώρα. Οι ποιοτικές προδιαγραφές συνήθως προσπαθούν να συμβιβάσουν δύο συχνά αντικρουόμενους στόχους: την προστασία της δημόσιας υγείας, του εδάφους και του περιβάλλοντος γενικότερα από τη μια μεριά και την μεγιστοποίηση της ανακύκλωσης των οργανικών αποβλήτων και υπολειμμάτων από την άλλη. Σε πολλές περιπτώσεις η νομοθεσία προβλέπει την κατάταξη των compost σε ποιοτικές κατηγορίες ανάλογα με τις προδιαγραφές που πληρούν και υπάρχει διαφοροποίηση των επιτρεπόμενων χρήσεων για κάθε κατηγορία, λαμβάνοντας υπόψιν μόνο τη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων και τις σχετικές προσμίξεις.

Ένα παράδειγμα κατηγοριοποίησης των compost παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 6.3: Κατηγορίες compost

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ
A ⁺ κατηγορία	από πράσινα-φυτικά υπολείμματα
A κατηγορία	από διαχωρισμένο στην πηγή οργανικό κλάσμα των αστικών στερεών αποβλήτων (ΑΣΑ) με συγκεκριμένες προδιαγραφές ποιότητας
B κατηγορία	οργανικό κλάσμα από σύμμεικτα απορρίμματα με χαμηλή ποιότητα λόγω πιθανών προσμειξεων
Γ κατηγορία	Υλικό Τύπου Compost (CLO)

Υλικό Τύπου Compost (CLO): το υγειονοποιημένο και σταθεροποιημένο κομπόστ που προκύπτει από την επεξεργασία σύμμεικτων αστικών αποβλήτων.

Η Ευρωπαϊκή Ένωση, έχει θεσπίσει κάποια όρια για το compost (κυρίως για τα βαρέα μέταλλα) τα οποία ενσωματώθηκαν στην Ελληνική νομοθεσία με την ΚΥΑ 50910/2003 (αρχικά με την ΚΥΑ 114218/1997 η οποία πλέον αποτελεί παράρτημα της) αλλά υπάρχει και το Ευρωπαϊκό Eco Label που αφορά κριτήρια εδαφοβελτιωτικών υλικών.

Τα compost της παρούσας εργασίας μπορούν να ταξινομηθούν στην πρώτη κατηγορία A⁺ και πληρούν τις προδιαγραφές για Eco Label.

Τα παραπάνω μας δείχνουν ότι η διαδικασία αποικοδόμησης επιτυγχάνεται με γρήγορους ρυθμούς στον σωρό P_{OMW} και στο σωρό P_{GW} έχουμε ικανοποιητικά αποτελέσματα δεδομένης της δυσκολίας που παρουσιάζει το συγκεκριμένο υπόστρωμα στην βιοαποικοδόμηση. Ίσως στην κομποστοποίηση των πράσινων απορριμμάτων χρειαζόταν μεγαλύτερη ποσότητα βιοκαταλύτη και

καλύτερο τεμαχισμό των κλαδεμάτων. Αυτό είχε σαν συνέπεια να μην είναι εύκολη η προσβολή του κυτταρικού τοιχώματος από τους μικροοργανισμούς με αποτέλεσμα την μικρή διάσπαση της λιγνοκυτταρίνης άρα την μικρή μείωση του οργανικού μέρους. Η κομποστοποίηση πράσινων απορριμμάτων πλούσια σε λιγνίνη χρειάζεται περαιτέρω μελέτη.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. P. Nuss et al., Waste-to-materials: the longterm option, *Waste to energy*, A. Karagiannidis, ed., Springer-Verlag, 2012, pp. 1–26.
2. L.R. Kuhlman, *Windrow composting of agricultural and municipal wastes*, *Resour. Conserv. Recycl.* 4, 1990, pp. 151–160.
3. R. T. Haug, *Composting process desing criteria, part 3, aeration*. *BioCycle*, 26, 1986, pp. 53-57.
4. E. Epstein, *The Science of Composting*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1997.
5. F. Eiland et al., *C and N turnover and lignocellulose degradation during composting of miscanthus straw and liquid pig manure*, *Compost Sci. Util.* 9, 2001 pp. 186.
6. F.C. Miller, *Mcrobiology of solid waste. Compositing of municipal solid waste and its componets*. CPC Press. Inc., 1996, pp. 115-145.
7. A. Leu, *Organics and soil carbon: increasing soil carbon, crop productivity and farm profitability*. Third OFA National Organic Conference. “Organics - Solutions to Climate Change”, Sydney, Australia, 2006, pp. 4–12.
8. R. T. Haug, *The practical handbook of compost engineering*. CRC Press, Boca Raton, FL, 1993.
9. C.G. Golueke, Principles of composting, *The Guide to The Art and Science of Composting*, BioCycle staff ed., The JG Press Inc., Pennsylvania, USA, 1991, pp. 14 – 27.
10. M, Itavaara et. al., Testing methods for determining the compostability of packaging materials. *Proceedings of Biological Waste Management ``Wasted Chance``*, J. Barth, ed., BWM Infoservice, Germany, 1995.
11. C.A. Browne, *The spontaneous heating and ignition of hay and other agricultural products*, *Science* 77, 1933, pp. 223–229.
12. S.A. Waksman, *Principles of soil microbiology*, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1932.

13. M.S. Finstein, M.L. Morris, *Microbiology of municipal solid waste composting*, Adv. Appl. Microbiol. 19, 1975, pp. 113–151.
14. A.M. Fogarty, O.H. Tuovinen, *Microbiological degradation of pesticides in yard waste composting*, Microbiological reviews, 55(2), 1991, pp. 225-233.
15. D.M. Griffin, A comparison of the roles of bacteria and fungi, *Bacteria in nature*, E.R. Leadbetter, J.S. Poindexter eds., Plenum Publishing, London, 1985, pp. 221–255.
16. J.H. Crawford, *Composting of agricultural wastes - a review*, Process Biochem. 18, 1983, pp.14-18.
17. C.O. Onwosi et. al., Composting technology in waste stabilization: On the methods, challenges and future prospects, J. Env. Man. 190, 2017, pp.140-157.
18. P.F. Strom, *Effect of temperature on bacterial diversity in thermophilic solid-waste composting*, Appl. Environ. Microbiol. 50, 1985, pp.899–905.
19. T. Beffa et. al., *Isolation of Thermus strains from hot composts (60 to 80 degrees C)*, Appl. Environ. Microbiol. 62, 1996, pp.1723–1727.
20. S.A. Waksman et. al., *Influence of temperature upon the microbiological population and decomposition processes in composts of stable manure*, Soil Sci. 47, 1939, pp. 83-114.
21. P.F. Strom, Identification of thermophilic bacteria in solid-waste composting, Appl. Environ. Microbiol. 50, 1985, pp. 907-913.
22. M. Diaz-Raviña et. al., *Microbiological characterization of four composted urban refuses*, Biol. Wastes 30, 1989, pp. 89-100.
23. C.F. Atkinson et. al., *Putative anaerobic activity in aerated composts*, J. Ind. Microbiol. 16, 1996, pp. 182-188.
24. Y. Ueno et. al., *Microbial community in anaerobic hydrogen-producing microflora enriched from sludge compost*, Appl. Microbiol. Biotechnol. 57, 2001, pp. 555-562.

25. C. Nusbaumer et. al., *Etude de l'alteration par les champignons de l'etat physico-chimique des composes lignocellulosiques dans un processus naturel de compostage*, Mycologia Helvetica 8, 1996, pp. 51-67.
26. J. Ryckeboer et. al., *A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes*, Ann Microbiol 53, 2003, pp. 349–410
27. M. Danon et. al., *Molecular analysis of bacterial community succession during prolonged compost curing*, FEMS Microbiol Eco 65, 2008, pp. 133–144.
28. R.S. Joshua et. al., *Characterization of temperature and oxygen profiles in windrows processing systems*, Compost Sci. Util. 6, 1998, pp. 15-28.
29. F.C. Miller, *Composting as a process based on the control of ecologically selective factors*, *Soil Microbial Ecology: Applications in Agriculture Environment Management*, F. Blaine-Metting, ed., Marcel Dekker Inc., New York, 1992, pp. 646.
30. M.S. Finstein et. al., *Waste treatment composting as a controlled system*, Biotechnology 8, 1986, pp. 396-443.
31. M.D. Bertoldi et. al., *The biology of composting*, Waste Manage. Res. 1, 1983, pp. 157-176.
32. M. S. Finstein et. al., *Composting ecosystem management for waste treatment*, Bio/Technology 1, 1983, pp. 347-353.
33. C.G. Golueke, *Composting: A Study of the Process and its Principles*, Emmaus, Pennsylvania, USA: Rodale Press, 1972
34. E. I. Stentiford, *Coposting control: Principles and practice*, *The Science of Composting. Part I*, M.P. De Bertoldi et. al., eds., Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, London, 1996, pp. 224-252
35. S. Gajalakshmi, S.A. Abbasi, *Solid waste management by composting: State of the art*, *Critical Reviews, Environmental Science and Technology*, 38(5), 2008, pp. 311-400.
36. R. Rynk, *On-Farm Composting Handbook*, NRAES Pub., 1992.

37. M.L. Cayuela et. al., *Composting olive mill waste and sheep manure for orchard use*, *Compost Science & Utilization* 12, 2004, pp. 130-136.
38. K.R. Grayet et. al., *A review of composting Part 2 – The practical process*, *Process biochemistry* 6(10), 1971, pp. 22-28.
39. E.K., Lhadi et. al., *Municipal solid waste and poultry manure co-composting in Morocco*, *Compost Sci. Utiliz.* 12, 2004, pp. 137–144.
40. E.S. Aktas et. al., *Characterization and lime treatment of olive mill wastewater*, *Water Research* 35, 2001, pp. 2336-2340.
41. A. Roig et. al., *An overview on olive mill wastes and their valorisation methods*, *Waste Management* 26, 2006, pp. 960-969
42. R. Borja et. al., *Enhancement of the anaerobic digestion of olive mill wastewater by the removal of phenolic inhibitors*, *Process Biochemistry* 27, 1992, pp. 231-237.
43. A. D'Annibale et. al., *Characterization of immobilized laccase from *Lentinula edodes* and its use in olive mill wastewater treatment*, *Process Biochemistry* 34, 1999, pp. 697-706
44. P.S. Rodis, *Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 2002, pp. 596–601.
45. C. Paredes, *Biodegradation of olive mill waste water sludge by its co-composting with agricultural wastes*, *Bioresource Technology* 85, 2002, pp.1-8.
46. K. Stamatelatou et. al., *Integrated Management for the Treatment and/or valorisation of Olive Mill Wastes*, *Novel Technologies in Food Science: Their Impact on Products, Consumer Trends and the Environment*, A. McElhatton et. al., eds., Springer, New York, 2012.
47. R. Capasso et. al., *Isolation, spectroscopy and selective phytotoxic effects of polyphenols from vegetable waste waters*. *Phytochemistry* 31, 1992, pp. 4125–4128.

48. N. Fakharedine et. al., *Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformation during aerobic digestion of olive mill wastewater (OMWW)*. Process Biochem. 41, 2006, pp.398–404.
49. G. Ait Baddi et. al., *Qualitative and quantitative evolution of polyphenolic compounds during the composting of an olive-mill waste-wheat straw mixture*, J Hazard Mater. 165, 2009, pp. 1119–1123.
50. M.J. Paredes et. al., *Characteristics of soil after pollution with wastewaters from olive oil extraction plants*, Chemosphere, 16(7), 1987, pp. 1557–64.
51. V. Kavvadias et. al., *Disposal of olive oil mill wastes in evaporation ponds: effects on soil properties*, J Hazard Mater, 182, 2010, pp.144–55.
52. I.E. Kapellakis et. al., *Olive mill wastewater management in river basins: A case study in Greece*, Agricultural Water Management, 82, 2006, pp. 354–70.
53. M. Niaounakis, CP. Halvadakis, *Olive processing waste management literature review and patent survey*, *Waste management series*, Elsevier, 2006, pp. 23–64.
54. M. Doula et. al., *Environmental impacts relative to soil quality caused from the disposal of olive oil mills' wastes. case study: a municipality in Crete, Greece*, Proceedings of 3rd AMIREG international conference: assessing the footprint of resource utilization and hazardous waste management, 2009, pp. 84–9
55. K. Chartzoulakis et. al., *Application of olive mill wastewater to a Cretan olive orchard: Effects on soil properties, plant performance and the environment*, Agriculture, Ecosystem and Environment 138, 2010, pp. 293-298.
56. M. Servili et. al., *High-performance liquid chromatography evaluation of phenols in olive fruit, virgin olive oil, vegetation waters and pomace and 1D- and 2D-Nuclear Magnetic Resonance characterization*, Journal of the American Oil Chemists Society 76, 1999, pp. 873–882
57. M.A. Miranda et. al., *Pyrylium salt-photosensitised degradation of phenolic contaminants present in olive oil wastewaters with solar light*.

- Part II. Benzoic acid derivatives*, Appl Catal B: Environ 30, 2001, pp. 437–444.
58. A. Bianco et. al., *Analysis by liquid chromatography tandem mass spectrometry of biophenolic compounds in olives and vegetation waters, Part I*. Journal of Separation Science 26, 2003, pp. 409–416.
 59. N. Serramia et. al., *Changes in humic pools after soil application of two-phase olive mill waste compost*, Geoderma 192, 2013, pp. 21-30.
 60. M. Tuomela et. al., *Biodegradation of lignin in a compost environment: a review*, Bioresource Technology 72, 2000, pp. 169-183.
 61. P.S. Plaza, et. al., *An overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part II. Sample Preparation, Working Scale, Instrumental Finish and Quality Control*, Critical Reviews in Analytical Chemistry, 43:4, 2013, pp. 224-272.
 62. K. Chassapis, et. al., *Studies of the low-rank Greek coals: Classification*. International Journal of Coal Geology 11, 1989, pp. 314.
 63. B.S. Griffiths, et. al.,. *An examination of the biodiversity–ecosystem function relationship in arable soil microbial communities*. Soil Biology and Biochemistry 33, 2001, pp.1713–1722.
 64. C. Varadachari, K. Ghosh, *On humus formation*, Plant and Soil 77, 1984, pp. 305-313.
 65. G.A. Baddi, et. al., *Chemical and spectroscopic analyses of organic matter transformations during composting of olive mill wastes*, International Biodeterioration & Biodegradation 54, 2004, pp. 39-44.