



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ»

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ, ΤΡΟΦΙΜΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗΣ

**«Μελέτη πτητικών συστατικών που χαρακτηρίζουν το άρωμα μανιταριών
γένους *Pleurotus* με μικροεκχύλιση στερεής φάσης (SPME) και αέρια
χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS)»**

Μεταπτυχιακή Διατριβή

ΑΝΑΣΤΑΣΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΑ-ΕΛΕΝΗ



Αθήνα, 2020



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ

ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ, ΤΡΟΦΙΜΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Νικόλαος Καλογερόπουλος (Επιβλέπων)

Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας - Διατροφής

Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Γεώργιος Ζερβάκης

Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Αθανάσιος Μαλλούχος

Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του

Ανθρώπου

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η Αναστασοπούλου Μαρία-Ελένη

δηλώνω υπεύθυνα ότι:

1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.

2) Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την περάτωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κύριο Νικόλαο Καλογερόπουλο, για όλες τις υποδείξεις και τις συμβουλές του, καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε για την εκπόνηση της διπλωματικής εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα Δήμητρα Ταγκούλη για τη συνεργασία και τη μεγάλη βοήθειά της σε ό, τι χρειαζόμουν.

Τέλος, θερμές ευχαριστίες θέλω να δώσω στην οικογένειά μου και τους φίλους μου, για τη συνεχή τους συμπαράσταση και τις πολύτιμες συμβουλές τους.

Περιεχόμενα

Κατάλογος Πινάκων.....	7
Κατάλογος Εικόνων	9
Κατάλογος Σχημάτων.....	10
Περίληψη	12
Abstract.....	13
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	14
Εισαγωγή.....	14
1. Μύκητες	16
1.1. Μανιτάρια	17
1.2. Το γένος <i>Pleurotus</i>	19
1.3. <i>Pleurotus eryngii</i>	21
2. Σπουδαιότητα μανιταριών <i>Pleurotus</i> spp.	23
2.1. Διατροφική αξία.....	23
2.1.1. Ποσοστό υγρασίας	24
2.1.2. Πρωτεΐνες	24
2.1.3. Αμινοξέα	25
2.1.4. Υδατάνθρακες και Διαιτητικές ίνες.....	25
2.1.5. β-γλυκάνες.....	27
2.1.6. Μέταλλα και Ιχνοστοιχεία	28
2.1.7. Βιταμίνες.....	30
2.1.8. Λιπαρά οξέα.....	32
2.2. Θεραπευτικές ιδιότητες	33
2.2.1. Αντικαρκινική δράση	34
2.2.2. Ανοσορυθμιστική δράση	34
2.2.3. Αντιοξειδωτική δράση	35
2.2.4. Αντιφλεγμονώδης δράση	36
2.2.5. Μεταβολικό σύνδρομο.....	36
2.2.5.1. Παχυσαρκία και δυσλιπιδαιμία	36
2.2.5.2. Διαβήτης	37
2.2.5.3. Υπέρταση	37
2.2.6. Αντιμικροβιακή δράση	38
2.2.7. Αντιϊκή δράση	38
2.3. Βιοτεχνολογικές εφαρμογές.....	39
2.3.1. Βιοαποικοδόμηση βιομηχανικών αποβλήτων-παραγωγή βιοαιθανόλης	40

2.3.2.	Βιομηχανία τροφίμων	41
2.3.3.	Παραγωγή ζωοτροφών.....	41
2.3.4.	Βιομηχανία χαρτοπολτού	42
3.	Πτητικά οργανικά συστατικά (VOCs)	43
3.1.	Οκτενόλη	44
4.	Μικροεκχύλιση στερεής φάσης (SPME).....	44
5.	Αέρια χρωματογραφία - φασματομετρία μαζών (GC-MS)	46
5.1.	Αέρια χρωματογραφία (GC)	46
5.2.	Φασματομετρία μαζών (MS)	48
5.3.	Συνδυασμένη τεχνική αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (GC-MS)	48
	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	49
6.	Μεθοδολογία.....	49
6.1.	Δειγματοληψία	49
6.2.	Προκατεργασία δειγμάτων	50
6.3.	Παρασκευή εσωτερικού πρότυπου διαλύματος (IS)	52
6.4.	Συνθήκες αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών.....	53
6.5.	Στατιστική ανάλυση	54
7.	Αποτελέσματα	55
7.1.	Περιεκτικότητα δειγμάτων σε πτητικά συστατικά mg/g FW	55
7.2.	Πτητικά συστατικά σε <i>Pleurotus eryngii</i> καλλιεργημένων σε διαφορετικά υποστρώματα	58
7.2.1.	Ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα (C8 Compounds)	58
7.2.2.	Κετόνες	62
7.2.3.	Αλκοόλες.....	64
7.2.4.	Αλδεΐδες.....	67
7.2.5.	Υδρογονάνθρακες	70
7.2.6.	Τερπένια	72
7.2.7.	Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAMES)	73
8.	Συζήτηση	77
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	79
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	88

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1. Κυριότερα είδη <i>Pleurotus</i> (Carrasco-González <i>et al.</i> , 2017).....	21
Πίνακας 2. Επιστημονική ταξινόμηση του είδους <i>Pleurotus eryngii</i> (GBIF Backbone Taxonomy, 2017).....	22
Πίνακας 3. Προφίλ αμινοξέων των <i>Pleurotus ostreatus</i> που καλλιεργήθηκαν σε διαφορετικά αγροτικά υποπροϊόντα (mg/100 g καρποσωμάτων) (Patil <i>et al.</i> , 2010)	25
Πίνακας 4. Περιεκτικότητα σε διαιτητικές ίνες (TDF-Total Dietary Fibres, SDF-Soluble Dietary Fibres, IDF-Insoluble Dietary Fibres) στα διαφορετικά τμήματα των καρποσωμάτων <i>Pleurotus ostreatus</i> και <i>P. eryngii</i> (% ξηράς ουσίας) (Synytsya <i>et al.</i> , 2008)	27
Πίνακας 5. Εμφάνιση συμπτωμάτων λοιμώξεων ανώτερου αναπνευστικού συστήματος στις ομάδες χορήγησης πλευράνης (pleuran) και εικονικού φαρμάκου (placebo), πριν (Pre) και μετά από 3 μήνες χορήγησης (Post), αλλά και μετά από 3 μήνες χωρίς τη χορήγηση συμπληρωμάτων (3 months after post) (* Στατιστικά σημαντική μείωση $P<0.001$) (Bergendiova <i>et al.</i> , 2011)	28
Πίνακας 6. Περιεκτικότητα σε Μέταλλα και Ιχνοστοιχεία των <i>Pleurotus ostreatus</i> (USDA, 2018)	29
Πίνακας 7. Περιεκτικότητα μετάλλων σε διαφορετικά είδη του γένους <i>Pleurotus</i> (mg/g ξηράς ουσίας) (Maftoun <i>et al.</i> , 2015).....	30
Πίνακας 8. Περιεκτικότητα σε βιταμίνες νωπώνμανιταριών <i>Pleurotus ostreatus</i> σε mg/100 mg και μg/100 g (USDA, 2018)	31
Πίνακας 9. Περιεκτικότητα σε βιταμίνες των <i>Pleurotus ostreatus</i> που καλλιεργήθηκαν σε διαφορετικά αγροτικά απόβλητα (mg/100 g ξηρού) (Patil <i>et al.</i> , 2010)	32
Πίνακας 10. Ημερήσια πρόσληψη (g/day) και πεπτικότητα (g kg^{-1}) των προβάτων που τράφηκαν με άχυρο ρυζιού (RS), άχυρο ρυζιού με ουρία (UTR) και άχυρο ρυζιού ζυμωμένου με <i>P. eryngii</i> (Huyen <i>et al.</i> , 2019).....	42
Πίνακας 11. Αριθμός δειγμάτων που μελετήθηκαν και που αντιστοιχούν σε κάθε υπόστρωμα, όπου WS: Wheat Straw (άχυρο σίτου), GM: Grape Marc (άχυρο σίτου και στέμφυλα σταφυλιού) και OL: Olive Leaves (φύλλα ελιάς και απόβλητα διφασικού ελαιολαιού)	50
Πίνακας 12. Ολική περιεκτικότητα σε πτητικά συστατικά των μανιταριών σε mg/g FW (όπου WS: άχυρο σίτου, OL: φύλλα ελιάς, GM: στέμφυλα σταφυλιού)	55
Πίνακας 13. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα σε υπόστρωμα WS (μg/g FW)	58
Πίνακας 14. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα σε υπόστρωμα OL (μg/g FW)	58
Πίνακας 15. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα σε υπόστρωμα GM (μg/g FW)	59
Πίνακας 16. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε κετόνες σε άχυρο σίτου (WS) (μg/g FW)	62
Πίνακας 17. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε κετόνες σε υπόστρωμα OL (μg/g FW).....	62
Πίνακας 18. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε κετόνες σε στέμφυλα σταφυλιού (GM) (μg/g FW) .	62
Πίνακας 19. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε αλκοόλες, που αναπτύχθηκαν σε άχυρο σίτου (WS) (μg/g FW)	65

Πίνακας 20. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε αλκοόλες, που αναπτύχθηκαν σε φύλλα ελιάς (OL) (μg/g FW)	65
Πίνακας 21. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε αλκοόλες, που αναπτύχθηκαν σε στέμφυλα σταφυλίου (GM) (μg/g FW)	65
Πίνακας 22. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε αλδεΰδες, καλλιεργημένων σε WS (μg/g FW)	67
Πίνακας 23. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε αλδεΰδες, καλλιεργημένων σε OL (μg/g FW)	68
Πίνακας 24. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε αλδεΰδες, καλλιεργημένων σε GM (μg/g FW)	68
Πίνακας 25. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε υδρογονάνθρακες (μg/g FW)	70
Πίνακας 26. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε τερπένια (μg/g FW)	72
Πίνακας 27. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων σε υπόστρωμα WS (μg/g FW)	73
Πίνακας 28. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων σε υπόστρωμα OL (μg/g FW)	74
Πίνακας 29. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων σε υπόστρωμα GM (μg/g FW)	74
Πίνακας 30. Ενώσεις που απομονώθηκαν από ταμανιτάρια (compounds), οι χρόνοι κατακράτησης (R.t.) και το χαρακτηριστικό τους άρωμα-γεύση (odor-flavor)	88

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1. Νηματοειδείς υφές μύκητα (Volk, 2000).....	16
Εικόνα 2. Ο Ασκομύκητας <i>Morchella conica</i> (Polemis et al., 2013)	17
Εικόνα 3. Ο Βασιδιομύκητας <i>Pleurotus nebrodensis</i> (Polemis et al., 2013)	18
Εικόνα 4. <i>Pleurotus ostreatus</i> (Polemis et al., 2013)	19
Εικόνα 5. (α) Αριστερά: Χαρακτηριστικό ροζ χρώμα του είδους <i>Pleurotus eous</i> όταν αυτό αναπτύσσεται στη σκιά και σε θερμοκρασία 18-20 °C, (β) Δεξιά: Αποχρωματισμός του <i>Pleurotus eous</i> όταν εκτεθεί στο φως ή σε θερμοκρασίες 25-28 °C (Ukaogo S. and O. P., 2017; Krishnapriya et al., 2017)	20
Εικόνα 6. <i>Pleurotus eryngii</i> (Polemis et al., 2013)	21
Εικόνα 7. Συντακτικός τύπος της οκτενόλης (Inamdar et al., 2012)	44
Εικόνα 8. Αριστερά: απεικόνιση μεθόδου Headspace SPME, Δεξιά: απεικόνιση μεθόδου Direct Immersion SPME (Kataoka et al., 2000)	46
Εικόνα 9. Διάταξη συστήματος GC-MS (Wu et al., 2012)	47
Εικόνα 10. Συσκευή SPME που φέρει την ίνα	52
Εικόνα 11. Η ίνα στον υπερκείμενο χώρο.....	52

Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 1. Αεριοχρωματογράφημα με τα κυριότερα πτητικά συστατικά σε νωπό δείγμα <i>Pleurotus eryngii</i>	53
Σχήμα 2. Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAMES) που ανιχνεύθηκαν σε πτητικά συστατικά νωπού <i>Pleurotus eryngii</i>	54
Σχήμα 3. Περιεκτικότητα δειγμάτων <i>P. eryngii</i> σε VOCs (μg/g FW).....	56
Σχήμα 4. Περιεκτικότητα μανιταριών σε VOCs (μg/g FW), ανάλογα με το καλλιεργητικό υπόστρωμα	57
Σχήμα 5. Περιεκτικότητα σε πτητικά συστατικά των στελεχών <i>P. eryngii</i> (μg/g FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)	57
Σχήμα 6. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε C8 Compounds (μg/g FW)	60
Σχήμα 7. Μέσος όρος συγκεντρώσεων σε C8 Compounds ανάλογα με το υπόστρωμα (μg/g FW)	61
Σχήμα 8. Περιεκτικότητα σε C8 Compounds των στελεχών <i>P. eryngii</i> (μg/g FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)	61
Σχήμα 9. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε κετόνες (μg/g FW)	63
Σχήμα 10. Μέσος όρος συγκεντρώσεων δειγμάτων σε κετόνες ανάλογα με το υπόστρωμα (μg/g FW)	63
Σχήμα 11. Περιεκτικότητα σε κετόνες των στελεχών <i>P. eryngii</i> (μg/g FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)	64
Σχήμα 12. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε αλκοόλες (μg/g FW)	66
Σχήμα 13. Μέσος όρος συγκεντρώσεων δειγμάτων σε αλκοόλες ανάλογα με το καλλιεργητικό υπόστρωμα (μg/g FW).....	66
Σχήμα 14. Περιεκτικότητα σε αλκοόλες των στελεχών <i>P. eryngii</i> (μg/g FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)	67
Σχήμα 15. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε αλδεΐδες (μg/g FW)	69
Σχήμα 16. Μέσος όρος συγκεντρώσεων δειγμάτων σε αλδεΐδες, ανάλογα με το καλλιεργητικό υπόστρωμα (μg/g FW).....	69
Σχήμα 17. Περιεκτικότητα σε αλδεΐδες των στελεχών <i>P. eryngii</i> (μg/g FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)	70
Σχήμα 18. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε υδρογονάνθρακες (μg/g FW).....	71
Σχήμα 19. Μέσος όρος συγκεντρώσεων δειγμάτων σε υδρογονάνθρακες, ανάλογα με το υπόστρωμα (μg/g FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$).....	72

Σχήμα 20. Περιεκτικότητα σε τερπένια των στελεχών <i>P. eryngii</i> (μg/g FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)	73
Σχήμα 21. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (μg/g FW)	75
Σχήμα 22. Μέσος όρος συγκεντρώσεων μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων (FAMES), ανάλογα με το υπόστρωμα (μg/g FW).....	75
Σχήμα 23. Περιεκτικότητα σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAMES) των στελεχών <i>P. eryngii</i> (μg/g FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)	76

Περίληψη

Τα μανιτάρια αποτελούν μέρος της ανθρώπινης διατροφής εδώ και χιλιάδες χρόνια. Είναι ευρέως γνωστό πως τα μανιτάρια αποτελούν πηγή σημαντικών θρεπτικών συστατικών, καθώς είναι πλούσια σε διαιτητικές ίνες, ιχνοστοιχεία και βιταμίνες. Έχουν χαμηλό θερμιδικό φορτίο και χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, ενώ ταυτόχρονα είναι πλούσια σε πρωτεΐνες. Περισσότερα από διακόσια είδη μανιταριών έχουν χρησιμοποιηθεί ως λειτουργικά τρόφιμα σε όλο τον κόσμο, ενώ περίπου εξήντα είδη εδώδιμων μανιταριών καλλιεργούνται σε εμπορική κλίμακα. Με την εφαρμογή σύγχρονων αναλυτικών τεχνικών έχουν ταυτοποιηθεί συστατικά παραγόμενα από τα μανιτάρια, τα οποία παρουσιάζουν φαρμακευτικές ιδιότητες, όπως αντικαρκινικές, αντιϊκές και ανοσοενισχυτικές.

Το γένος *Pleurotus* περιλαμβάνει περίπου σαράντα είδη. Το *Pleurotus eryngii* αποτελεί ένα από τα δημοφιλέστερα είδη του γένους, εξαιτίας των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, της θρεπτικής αξίας και των βιοδραστικών συστατικών του.

Η καλλιέργεια των μανιταριών μπορεί να επηρεάσει με θετικό τρόπο το περιβάλλον μέσω της αξιοποίησης των λιγνινοκυτταρινούχων αποβλήτων από τις βιομηχανίες επεξεργασίας τροφίμων, τα οποία μπορούν να αξιοποιηθούν ως υπόστρωμα για την ανάπτυξη μανιταριών υψηλής προστιθέμενης αξίας.

Σκοπός της παρούσας εργασίας, ήταν η μελέτη των πτητικών συστατικών που χαρακτηρίζουν τα μανιτάρια του γένους *Pleurotus*, και συγκεκριμένα του είδους *Pleurotus eryngii*, τα οποία καλλιεργήθηκαν σε υποστρώματα υποπροϊόντων ελαιουργίας και οινοποιίας. Η απομόνωση των πτητικών συστατικών των μανιταριών πραγματοποιήθηκε με μικροεκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Microextraction, SPME), ενώ η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός τους με χρήση αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS). Συνολικά, στα δείγματα που αναλύθηκαν, ανιχνεύθηκαν περισσότερες από 90 πτητικές ενώσεις με κυρίαρχες τις: ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα (αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες), τους υδρογονάνθρακες, τα τερπένια και τους μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων.

Λέξεις κλειδιά: (πτητικά συστατικά, μανιτάρια, *Pleurotus*, καλλιεργητικά υποστρώματα)

Abstract

Mushrooms have been part of human diet for millennia. It is well established that they are source of valuable nutrients, being rich in dietary fiber, trace elements and vitamins. They have low energy and fat content, they are cholesterol-free, while being rich in protein. More than 200 species of mushrooms have been used as functional food worldwide, and around 60 species of edible mushrooms are cultivated commercially. Modern analytical techniques have confirmed the presence of bioactive compounds with antitumor, antiviral and immunomodulatory properties in mushrooms.

The genus *Pleurotus* includes about 40 species, collectively called “oyster mushrooms”. *Pleurotus eryngii* is one of the most popular species of the genus due to its remarkable taste, nutritional value and bioactive constituents.

Mushrooms cultivation has a positive impact on the environment, as the lignocellulosic wastes from the food processing industries can be utilized as substrates for the production of added value mushrooms, without being discarded in the environment.

The purpose of the present work was the study of volatile compounds of *Pleurotus* mushrooms, particularly *Pleurotus eryngii*, cultivated on substrates of olive oil and winery waste. Mushrooms volatile compounds were isolated by Solid Phase Microextraction (SPME), and were detected and quantified using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Overall, in the samples analyzed, more than 90 volatile compounds were detected, comprised mainly by: C8 compounds (ketones, alcohols, and aldehydes), hydrocarbons, terpenics, and fatty acid methyl esters.

Key words: (volatile compounds, mushrooms, *Pleurotus*, cultivation substrates)

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή

Μανιτάρι (αρχ. Αμανίτης) ονομάζεται το μακροσκοπικό αναπαραγωγικό όργανο πολυκύτταρων μυκήτων (καρπόσωμα). Είναι ετερότροφοι οργανισμοί, ανίκανοι να χρησιμοποιήσουν ως πηγή άνθρακα το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) για την ανάπτυξή τους και απαιτούν σύνθετες οργανικές ενώσεις που τις συνθέτουν άλλοι αυτότροφοι οργανισμοί. Για το λόγο αυτό συμβιώνουν με ζώντες οργανισμούς (συμβιωτικοί) ή αποικούν σε νεκρή οργανική ύλη (σαπρότροφοι) (Διαμαντής, 1992). Έχουν βρεθεί περίπου εκατόν σαράντα χιλιάδες είδη μανιταριών και είναι γνωστά τα είκοσι δύο χιλιάδες, εκ των οποίων μόνο τα δύο χιλιάδες είδη είναι εδώδιμα (Khan *et al.*, 2018).

Τα μανιτάρια θεωρούνταν ξεχωριστή τροφή ήδη από τα αρχαία χρόνια, όπως από τους πολιτισμούς των Αιγυπτίων και των Ρωμαίων, με τους δεύτερους να αναφέρουν τα μανιτάρια ως τρόφιμο των θεών. Ήταν τέτοια η εκτίμηση στην αξία των μυκήτων αυτών, που συχνά η κατανάλωσή τους επιτρεπόταν μόνο από τους κυβερνώντες αυτών των πολιτισμών (Rajarithnam and Shashirekha, 2003). Ιδιαίτερο ενθουσιασμό στην κατανάλωση μανιταριών έδειξαν και οι αρχαίοι Έλληνες, με τον Θεόφραστο να περιγράφει χρήσιμες φαρμακευτικές ιδιότητες για τον άνθρωπο (Διαμαντής, 1992).

Πράγματι, τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί και τεκμηριωθεί στην παγκόσμια βιβλιογραφία η θεραπευτική αξία και τα οφέλη για την υγεία του ανθρώπου που παρουσιάζουν τα μανιτάρια (Rajarithnam and Shashirekha, 2003). Συγκεκριμένα, είναι πλούσια σε πρωτεΐνες, διαιτητικές ίνες, λεκτίνες, πολυσακχαρίτες, φαινολικά και πολυφαινολικά συστατικά, τερπενοειδή, εργοστερόλες και πτητικά οργανικά συστατικά. Επίσης, περιέχουν μικροθρεπτικά και μακροθρεπτικά συστατικά, συμπεριλαμβανομένων βιταμινών, αμινοξέων, αλλά και β-γλυκανών, γεγονός που τα καθιστά αξιόλογη πηγή βιοδραστικών μορίων με πιθανές φαρμακευτικές ιδιότητες (Du *et al.*, 2018).

Η καλλιέργεια των μανιταριών σε βιομηχανική κλίμακα έχει αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια σε πολλές χώρες. Η χαρακτηριστική τους γεύση και το ιδιαίτερο άρωμά τους καθιστούν τα μανιτάρια ελκυστικά στους καταναλωτές. Μύκητες όπως οι *Agaricus bisporus*, *Lentinus edodes*, *Langermannia gigantean*, *Pleurotus ostreatus*, *P. eryngii* και άλλοι, καλλιεργούνται σε πολλές

χώρες της Ευρώπης, στις Η.Π.Α., Καναδά, Κορέα, Κίνα και Ιαπωνία. Η ευρέως φήμης τρούφα *Tuber spp.* καλλιεργείται στη γαλλική επαρχία Perigord σε δάση δρυός, με χαρακτηριστική τη διαδικασία συλλογής της με τη βοήθεια χοίρων ή εκπαιδευμένων σκύλων ([Διαμαντής, 1992](#)).

Οι μύκητες, εκτός από την υγεία του ανθρώπου, διαδραματίζουν επίσης σπουδαίο ρόλο στη φύση, καθώς συμμετέχουν στη διατήρηση του κύκλου του άνθρακα. Η οργανική ουσία που συσσωρεύεται στα δάση και αποτελεί τεράστια πηγή άχρηστης κυτταρίνης, υδατανθράκων και λιγνίνης αποτελεί το καταλληλότερο υπόστρωμα για την ανάπτυξη των μυκήτων. Οι μύκητες θεωρούνται από τους καλύτερους αποικοδομητές της κυτταρίνης χάρη στο λιγνινολυτικό ενζυμικό σύστημα που διαθέτουν. Αποσυνθέτουν την οργανική ύλη, επιστρέφοντας τον άνθρακα με τη μορφή CO₂ στην ατμόσφαιρα, απαραίτητη διαδικασία για τη φωτοσύνθεση. Συγκεκριμένα, υπολογίζεται πως αν σταματούσε η διάσπαση της κυτταρίνης και η φωτοσύνθεση συνεχιζόταν, η ζωή στη Γη θα σταματούσε εξαιτίας της έλλειψης CO₂ στην ατμόσφαιρα σε λιγότερο από είκοσι χρόνια ([Διαμαντής, 1992](#)).

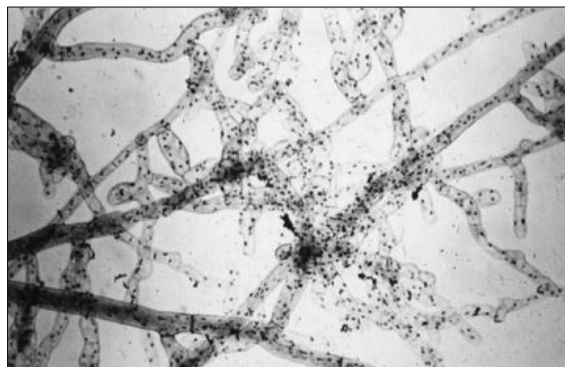
Η κατανόηση του λιγνινολυτικού ενζυμικού τους συστήματος έχει οδηγήσει στη μαζική παραγωγή εδώδιμων μανιταριών που καλλιεργούνται σε υποστρώματα διαφόρων υπολειμμάτων φυτών και αγρο-βιομηχανικών αποβλήτων ([Gargano et al., 2017](#)). Πολλές μελέτες έχουν αξιολογήσει τη δυνατότητα χρησιμοποίησης των μανιταριών σε διάφορες εφαρμογές, όπως αυτή της εκμετάλλευσης λιγνινοκυτταρινικών υπολειμμάτων ως υπόστρωμα για την καλλιέργειά τους, της παραγωγής βιομάζας που θα διαθέτει διατροφικές και φαρμακευτικές ιδιότητες, της βιοαποικοδόμησης βιομηχανικών αποβλήτων και τοξικών ρύπων αλλά και την εφαρμογή της παραγωγής αιθανόλης από τη βιολογική προεπεξεργασία των λιγνινοκυτταρινικών ([Zervakis et al., 2014](#)).

1. Μύκητες

Οι μύκητες είναι ευκαρυωτικοί οργανισμοί που αποτελούν ένα ανεξάρτητο Βασίλειο καθώς δεν είναι ικανοί να συνθέτουν οργανικές ενώσεις όπως πράττουν οι αυτότροφοι οργανισμοί (φυτά), αλλά προσλαμβάνουν οργανικές ουσίες από ζώντες ή νεκρούς οργανισμούς, είναι δηλαδή ετερότροφοι οργανισμοί. Η μελέτη των μυκήτων ονομάζεται «Μυκητολογία» και προέρχεται από την αρχαία ελληνική λέξη μύκης, που σημαίνει μύκητας, και την αρχαία ελληνική λέξη λόγος, που σημαίνει μελέτη (Volk, 2000). Τα αρχαιότερα ευρήματα μυκήτων καταγράφονται χρονικά στην Παλαιοζωική Εποχή και η προέλευσή τους παραμένει ασαφής. Η θεωρία που επικρατεί αναφέρει πως έχουν κοινούς προγόνους με τα φύκη και τα πρωτόζωα (Διαμαντής, 1992).

Οι οργανισμοί αυτοί τείνουν να κυριαρχούν σε εδάφη με υψηλά ποσοστά οργανικής ύλης, όμως αποτελούν μέρος της μικροβιακής βιομάζας και άλλων διαφόρων συστημάτων. Διαθέτουν πλήθος λειτουργικών ρόλων σε βιολογικές, χημικές και φυσικές αλληλεπιδράσεις και έχουν αποκτήσει μεγάλο οικολογικό και οικονομικό ενδιαφέρον από την επιστημονική κοινότητα (Ritz, 2005). Επηρεάζουν τη ζωή των ανθρώπων καθημερινά, καθώς αποτελούν μέρος της διατροφής με τη μορφή εδώδιμων μανιταριών, παθογόνα φυτών και αιτίες ανθρώπινων ασθενειών (Volk, 2000).

Τα κυτταρικά τοιχώματα των κυττάρων τους περιέχουν ως κύριο συστατικό τη χιτίνη ή τη χιτοσίνη και το σώμα τους, ο θαλλός, αποτελείται από νηματοειδείς υφές ενώ οι ζύμες αποτελούνται από ένα και μοναδικό κύτταρο (Εικόνα 1). Ο θαλλός του μύκητα σχηματίζεται από τις μικροσκοπικές, νηματοειδείς και επιμήκεις υφές που αποτελούν το μυκήλιο, και το οποίο αναπτύσσεται μέσα ή επάνω σε υπόστρωμα (Διαμαντής, 1992).



Εικόνα 1. Νηματοειδείς υφές μύκητα (Volk, 2000)

Οι μύκητες κατηγοριοποιούνται σε φύλα βάσει των αναπαραγωγικών τους οργάνων, και τα κυριότερα είναι οι Ζυγομύκητες, οι Ασκομύκητες, οι Χυτριομύκητες και οι Βασιδιομύκητες. Υπάρχει και η ανεπίσημη ομάδα των μιτοσπορικών μυκήτων, γνωστοί ως Ατελείς μύκητες – *Fungi Imperfecti* ή αλλιώς Δευτερομύκητες και οι οποίοι στερούνται σεξουαλικής φάσης και δεν αποτελούν επίσημη ταξινομική θέση (Ritz, 2005).

Πολλοί μύκητες είναι επιβλαβείς, καθώς είναι υπαίτιοι της πρόκλησης πολλών ασθενειών των φυτών με αποτέλεσμα την απώλεια αξίας πολλών δισεκατομμυρίων δολαρίων κάθε χρόνο από κατεστραμμένες καλλιέργειες. Επίσης, προκαλούν διάφορες ασθένειες των ζώων αλλά και των ανθρώπων. Αντίθετα, υπάρχει μεγάλος και όλο και αυξανόμενος αριθμός χρήσιμων μυκήτων. Η επεξεργασία τροφίμων και ποτών τους χρησιμοποιεί εδώ και χιλιάδες χρόνια για την παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων και υπάρχουν πολλοί εδώδιμοι μύκητες, τα γνωστά μανιτάρια. Χρησιμοποιούνται επίσης για την παραγωγή πολύτιμων οργανικών ενώσεων, όπως βιταμίνες, ορμόνες και αντιβιοτικά (Volk, 2000).

1.1. Μανιτάρια

Τα μανιτάρια είναι τα εδώδιμα καρποσώματα των Ασκομυκήτων (Εικόνα 2) και των Βασιδιομυκήτων (Εικόνα 3) που αναπτύσσονται επάνω ή κάτω από την επιφάνεια του εδάφους. Οι Ασκομύκητες αναπαράγονται αγενώς και εγγενώς με το σχηματισμό σπορίων που ονομάζονται ασκοσπόρια μέσα σε ασκούς που βρίσκονται στα άκρα των υφών τους. Οι Βασιδιομύκητες, επίσης αναπαράγονται αγενώς και εγγενώς με την παραγωγή βασιδιοσπορίων από τα βασίδια, μικροσκοπικές προεκτάσεις του μυκηλίου (Διαμαντής, 1992).



Εικόνα 2. Ο Ασκομύκητας *Morchella conica* (Polemis et al., 2013)

Ταμανιτάριαμπορούνναδιαχωριστούνστιςεξήςκατηγορίες:

- Εδώδιμαμανιτάρια, π.χ. *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*
- Φαρμακευτικάμανιτάρια, τα οποία θεωρούνται ότι έχουνιατρικέςεφαρμογές, π.χ. *Ganoderma lucidum*
- Δηλητηριώδημανιτάρια, για τα οποία έχει αποδειχθεί ή υπάρχουν υπόνοιες για τη δηλητηριώδη δράση τους, π.χ. *Amanita phalloides*
- Άλλαμανιτάρια, των οποίων οι ιδιότητες δεν έχουν ακόμη καθοριστεί

(Cheung, 2008).



Εικόνα 3. Ο Βασιδιομύκητας *Pleurotus nebrodensis* (Polemis et al., 2013)

Ωστόσο, η διάκριση μεταξύ των φαρμακευτικών και των εδώδιμωνμανιταριών δεν είναι εύκολη, καθώς πολλά από τα εδώδιμαμανιτάρια παρουσιάζουν θεραπευτικές ιδιότητες και χρησιμοποιούνται για ιατρικούς σκοπούς (Valverde et al., 2015).

Πρώτο στην παγκόσμια καλλιέργειαμανιταριών είναι το είδος *Agaricus bisporus* και ακολουθούν τα *Lentinus edodes*, το γένος *Pleurotus* spp. και το είδος *Flammulina velutipes*. Η παραγωγή τους αυξάνεται συνεχώς, με την Κίνα να κατέχει την πρωτιά στην παγκόσμια παραγωγή (Valverde et al., 2015).

Τα τελευταία χρόνια έχει μελετηθεί εκτενώς η χημική σύσταση, η θρεπτική αξία και οι θεραπευτικές ιδιότητες τωνμανιταριών. Επί της ξηράς τους ουσίας αποτελούνται από 50 έως 65% ποσοστό υδατανθράκων, 19 έως 35% πρωτεϊνικό περιεχόμενο και 2 έως 6% περιεκτικότητα σε λίπος. Περιέχουν χαμηλό ποσοστό κορεσμένων και υψηλό ποσοστό ακόρεστων λιπαρών οξέων, ειδικότερα παλμιτικού οξέος, ελαϊκού οξέος και λινελαϊκού οξέος,

ενώ το ποσοστό των λινολενικών λιπαρών οξέων είναι περιορισμένο. Είναι πλούσια σε λιποδιαλυτές βιταμίνες και η περιεκτικότητά τους σε εργοστερόλη τα καθιστά πολύτιμο τρόφιμο για τους χορτοφάγους. Προς το παρόν είναι περιορισμένες οι πληροφορίες για το περιεχόμενό τους σε διαιτητικές ίνες, όμως οι πολυσακχαρίτες β-γλυκάνες που διαθέτουν ενισχύουν τη θρεπτική τους αξία (Rathore *et al.*, 2017).

Τα μανιτάρια αποτελούν μέρος της γκουρμέ κουζίνας εδώ και πολλά χρόνια χάρη στην ιδιαίτερη γεύση και το ξεχωριστό άρωμά τους. Τα μη πτητικά ελεύθερα αμινοξέα, νουκλεοτίδια και οργανικά οξέα των μανιταριών δεν αποτελούν μόνο σημαντικές θρεπτικές ενώσεις, αλλά ευθύνονται για την ιδιαίτερη γεύση “umami” των μανιταριών (Wang *et al.*, 2016). Από την άλλη, τα πτητικά συστατικά των μανιταριών και ιδιαίτερα οι ενώσεις οκτώ ατόμων άνθρακα (C8 compounds) είναι αυτά που ευθύνονται για το χαρακτηριστικό τους άρωμα (Kabbaj *et al.*, 2002).

1.2. Το γένος *Pleurotus*

Τα είδη του γένους *Pleurotus* ανήκουν στους ανώτερους Βασιδιομύκητες λευκής σήψης. Τα καρποσώματά τους είναι μεγάλα και σαρκώδη και διακρίνονται από έναν έκκεντρο ή πλάγιο στύπο που συνδέεται με το πιλίδιο, και το οποίο κατά τη μορφογένεση ανοίγει όπως το κέλυφος των στρειδιών (Εικόνα 4). Σε αυτό τους το χαρακτηριστικό μορφολογικό γνώρισμα οφείλεται και η δημοφιλής ονομασία των μανιταριών *Pleurotus* spp. «μανιτάρια στρειδιών». Στη φύση ανευρίσκονται κυρίως ως σαπρόφυτα σε νεκρά τμήματα ζωντανών πλατύφυλλων και κωνοφόρων δένδρων, όπως λεύκης, ιτιάς, ελάτης, αφού απαιτούν υπόστρωμα πλούσιο σε λιγνίνη και κυτταρίνη (Rajaratnam *et al.*, 1987).



Εικόνα 4. *Pleurotus ostreatus* (Polemis *et al.*, 2013)

Το μέγεθος των καρποσωμάτων ποικίλει από είδος σε είδος του γένους αλλά και εντός του ίδιου είδους, αφού εξαρτάται από τις κλιματολογικές και θρεπτικές συνθήκες στις οποίες αναπτύσσονται. Συναντώνται μικρά καρποσώματα μεγέθους 2 έως 3 cm αλλά και μεγαλύτερα μεγέθους 15 έως 20 cm. Το χρώμα τους επίσης παρουσιάζει σημαντική διαφοροποίηση ανάλογα με τις συνθήκες καλλιέργειας. Στο ίδιο είδος *Pleurotus* τα καρποσώματα μπορεί να έχουν καφέ, λευκό, μπλε, γκρι χρώμα. Ενδιαφέρον προκαλεί η περίπτωση του *Pleurotus eous*, το οποίο όταν καλλιεργείται στη σκιά και σε θερμοκρασία 18°-20 °C αποκτάει ένα έντονο ροζ χρώμα, ενώ όταν εκτεθεί στο φως και η θερμοκρασία αυξηθεί τότε αυτό αποχρωματίζεται (Εικόνα 5) (Rajarithnam *et al.*, 1987).



Εικόνα 5. (α) Αριστερά: Χαρακτηριστικό ροζ χρώμα του είδους *Pleurotus eous* όταν αυτό αναπτύσσεται στη σκιά και σε θερμοκρασία 18-20 °C, (β) Δεξιά: Αποχρωματισμός του *Pleurotus eous* όταν εκτεθεί στο φως ή σε θερμοκρασίες 25-28 °C (Ukaogo S. and O. P., 2017; Krishnapriya *et al.*, 2017)

Ο μύκητας *Pleurotus* περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1821 από τον Σουηδικής καταγωγής βοτανολόγο και μυκητολόγο Elias Magnus Fries (1794-1878), όμως μετά το πέρας πενήντα ετών καθορίστηκε σε γένος από τον επίσης βοτανολόγο και μυκητολόγο Paul Kummer, Γερμανικής καταγωγής (1871) (Carrasco-González *et al.*, 2017; Correa *et al.*, 2016). Στα μανιτάρια του γένους *Pleurotus* ανήκουν περίπου διακόσια είδη που διανέμονται παγκοσμίως σε τροπικά, υποτροπικά και εύκρατα κλίματα και τα πιο συνηθισμένα είδη παρουσιάζονται στον Πίνακα 1 (Carrasco-González *et al.*, 2017).

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, το ίδιο είδος παρουσιάζει διαφορετική μορφολογία όταν καλλιεργείται υπό διαφορετικές συνθήκες. Επίσης, είναι πολύ δύσκολο να χαρακτηριστεί ένα είδος βάσει του χρώματός του ή του μεγέθους του. Επιπλέον, τα μικροσκοπικά χαρακτηριστικά

είναι και αυτά αναξιόπιστα για την ταξινόμηση των ειδών. Οι υφές των μυκήτων, το μήκος και η διάμετρος των σπορίων εξαρτώνται από τις συνθήκες καλλιέργειας. Όλοι οι παραπάνω λόγοι καθιστούν την ταξινόμηση των ειδών του γένους *Pleurotus* ασαφή (Rajarathnam *et al.*, 1987).

Τα μανιτάρια του γένους *Pleurotus* κατέχουν τη δεύτερη θέση στην παγκόσμια αγορά μανιταριών και αποτελούν το δημοφιλέστερο μανιτάρι στην Κίνα (Bellettini *et al.*, 2019). Ανήκουν στους μύκητες λευκής σήψης, οι οποίοι χάρη στο λιγνινολυτικό ενζυμικό σύστημα που διαθέτουν μπορούν να διασπούν τη λιγνίνη του ξύλου, αφήνοντας πάνω στην αποσυνθεμένη οργανική ύλη ένα λευκό και ινώδες υπόλειμμα (Abdel-Hamid *et al.*, 2013). Μπορούν να καλλιεργηθούν σε μια πληθώρα υποστρωμάτων, με σκοπό την άμεση μετατροπή αποβλήτων σε ένα χρήσιμο τελικό προϊόν ή την αποδόμηση δύστροπων ρυπαντών (Zervakis *et al.*, 1997).

Πίνακας 1. Κυριότερα είδη *Pleurotus* (Carrasco-González *et al.*, 2017)

<i>Pleurotus ostreatus</i> (oyster mushroom)	<i>P. citrinopileatus</i> (golden oyster)
<i>P. eryngii</i> (king oyster)	<i>P. tuber-regium</i> (king tuber oyster)
<i>P. djamor</i> (pink oyster)	<i>P. nebrodensis</i> (white ferula mushroom)
<i>P. sajor-caju</i> (grey abalone oyster)	<i>P. cystidiosus</i> (abalone mushroom)
<i>P. pulmonarius</i> (phoenix oyster)	<i>P. cornucopiae</i> (branched oyster mushroom)

1.3. *Pleurotus eryngii*



Εικόνα 6. *Pleurotus eryngii* (Polemis *et al.*, 2013)

Το *Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quel., γνωστό ως “king oyster mushroom”, αποτελεί ένα από τα βρώσιμα μανιτάρια της οικογένειας των βασιδιομυκήτων *Pleurotaceae* και είναι ευρέως διαδεδομένο στη Μεσόγειο, την κεντρική Ευρώπη, την κεντρική Ασία και τη Βόρειο Αφρική (Stajic *et al.*, 2009). Η επιστημονική του ταξινόμηση παρουσιάζεται στον Πίνακα 2. Αποτελείται από πύλο 4-5cm σε αποχρώσεις του γκρι και του καφέ, λευκά ή γκρι ελάσματα και λευκό στύπο μήκους 3-10cm (Krüzselyi *et al.*, 2016), όπως φαίνεται στην Εικόνα 6.

Η ταξινόμηση των στελεχών των *Pleurotus eryngii* είναι αμφισβητήσιμη και αποτελεί το θέμα πολλών ερευνητικών μελετών, εξαιτίας των πολλών μορφολογικών, βιοχημικών και γενετικών παραλλαγών εντός του είδους, που οφείλονται στις γεωγραφικές και οικολογικές διαφορές στις οποίες αναπτύσσονται τα διάφορα στελέχη (Stajic *et al.*, 2009; Zervakis *et al.*, 2001). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης των Zervakis and Balis (1996), η οποία βασίστηκε σε δοκιμές διασταυρώσεων και συμβατότητας στελεχών, το είδος *Pleurotus eryngii* αποτελείται από τις ποικιλίες var. *eryngii*, var. *ferulae* και var. *nebrodensis*. Ωστόσο, σύμφωνα με τον Venturella (2000), η ποικιλία var. *nebrodensis* αποτελεί το ξεχωριστό είδος *Pleurotus nebrodensis* (Stajic *et al.*, 2009), που επιβεβαιώθηκε και από μια πιο πρόσφατη μελέτη των Zervakis *et al.* (2014), που έδειξε ότι μύκητες *Pleurotus* που αναπτύσσονται σε φυτά *Apiaceae* θα μπορούσαν να ταξινομηθούν σε τρία διαφορετικά μεταξύ τους είδη: *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus nebrodensis* και *Pleurotus ferulaginis*.

Πίνακας 2. Επιστημονική ταξινόμηση του είδους *Pleurotus eryngii* (GBIF Backbone Taxonomy, 2017)

Βασίλειο	Fungi
Φύλο	Basidiomycota
Τάξη	Agaricomycetes
Σειρά	Agaricales
Οικογένεια	<i>Pleurotaceae</i>
Γένος	<i>Pleurotus</i> (Fr.) P.Kumm.
Είδος	<i>P. eryngii</i> (DC.: Fr.) Quel.

Τα μανιτάρια *P. eryngii* καλλιεργούνται με επιτυχία σε διάφορα φυτικά υπολείμματα και υλικά, όπως σε άχυρο σίτου, πριονίδι, ζαχαροκάλαμο, άχυρο ρυζιού, φλοιό ρυζιού κλπ. Ο τύπος και η ποσότητα των θρεπτικών συστατικών, οι συνθήκες καλλιέργειας καθώς και το καλλιεργούμενο στέλεχος, είναι οι παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά την παραγωγικότητα (Stajic *et al.*, 2009).

2. Σπουδαιότητα μανιταριών *Pleurotus* spp.

«Φάρμακό σας ας γίνει η τροφή σας και η τροφή σας ας γίνει φάρμακό σας», ήταν ένα από τα αποφθέγματα του Ιπποκράτη πριν από περίπου 2500 χρόνια, αναφερόμενος στην άμεση συσχέτιση διατροφής και ανθρώπινης υγείας. Η έκφραση αυτή θα μπορούσε να αναφέρεται έμμεσα και στα μανιτάρια, καθώς αυτά αποτελούν μια φυσιολογική πηγή ευεργετικών συστατικών με πιθανές φαρμακευτικές ιδιότητες και θεωρούνται λειτουργικά τρόφιμα (Khan and Tania, 2012).

Τα μανιτάρια *Pleurotus* αποτελούν μια παγκοσμίως διαδεδομένη ομάδα μανιταριών και διαθέτουν υψηλή διατροφική αξία, θεραπευτικές ιδιότητες αλλά και πληθώρα βιοτεχνολογικών και περιβαλλοντικών εφαρμογών (Correa *et al.*, 2016).

Στο σημείο αυτό, θα αναφερθούν διάφορες μελέτες και στοιχεία που υποστηρίζουν τη σπουδαιότητα των μανιταριών του γένους *Pleurotus*, και συγκεκριμένα για τη διατροφική αξία, τις θεραπευτικές ιδιότητες αλλά και τις βιοτεχνολογικές εφαρμογές τους.

2.1. Διατροφική αξία

Τα *Pleurotus* είναι από τα πιο δημοφιλή μανιτάρια εξαιτίας των οργανοληπτικών τους χαρακτηριστικών και της εξαιρετικής θρεπτικής αξίας τους.

Η διατροφική αξία των καρποσωμάτων τους άρχισε να μελετάται κατά τη διάρκεια του Β' Παγκοσμίου Πολέμου (1940s) υπό την έλλειψη προμηθειών τροφίμων. Περαιτέρω έρευνα επί του θέματος άρχισε να πραγματοποιείται τη δεκατία του 1960 στην προσπάθεια αντιμετώπισης της έλλειψης τροφίμων, ειδικά των πρωτεϊνούχων, σε υποανάπτυκτες χώρες (Khan and Tania, 2012).

Σήμερα, τα διατροφικά στοιχεία και η χημική σύσταση του *Pleurotus ostreatus* είναι διαθέσιμα από το Υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής (USDA). Αξιοσημείωτο, όμως, είναι το γεγονός ότι η χημική σύσταση των ειδών του γένους *Pleurotus* στα διάφορα συστατικά τους, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το είδος αλλά και από το υπόστρωμα στο οποίο αναπτύσσονται (Maftoun *et al.*, 2015).

2.1.1. Ποσοστό υγρασίας

Τα νωπά καρποσώματα των *Pleurotus* spp. έχουν ποσοστό υγρασίας 85-90%, και το οποίο εξαρτάται από το είδος του γένους, τις συνθήκες καλλιέργειας, τη συγκομιδή και τον τρόπο αποθήκευσης (Khan and Tania, 2012).

Ο Alam *et al.* (2008) εξέτασαν το περιεχόμενο σε υγρασία των νωπών *Pleurotus ostreatus*, *P. sajor-caju*, *P. florida* αλλά και ενός διαφορετικού γένους μανιτάρι, του *Calocybe indica*, τα οποία καλλιεργούνται στο Μπαγκλαντές. Τα ποσοστά υγρασίας ήταν 86, 87, 87,5 και 87,4% αντίστοιχα. Παρουσιάστηκε δηλαδή μία μικρή, στατιστικά σημαντική διαφορά στο ποσοστό υγρασίας μεταξύ διαφορετικών ειδών του ίδιου γένους αλλά και μεταξύ καρποσωμάτων διαφορετικού γένους.

2.1.2. Πρωτεΐνες

Τα *Pleurotus* spp. θεωρούνται μια πολύ καλή πηγή πρωτεϊνών, οι οποίες περιέχουν και τα εννέα απαραίτητα αμινοξέα που χρειάζεται ο άνθρωπος από τη διατροφή του και που δεν μπορεί να συνθέσει ο ανθρώπινος οργανισμός από μόνος του (Maftoun *et al.*, 2015).

Σύμφωνα με στοιχεία του Υπουργείου Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής (USDA), η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στα *Pleurotus ostreatus* είναι 3,31 γραμμάρια (g) στα 100 g νωπού τροφίμου (USDA, 2018). Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στα *Pleurotus* spp. κυμαίνεται από 11-42 g/100 g ξηρού τροφίμου, σύμφωνα με μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε διαφορετικά είδη του γένους (Khan and Tania, 2012).

Το πρωτεϊνικό τους περιεχόμενο εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τους εξής παράγοντες: το είδος του μανιταριού, το στάδιο ωρίμανσης, το είδος του υποστρώματος, το τμήμα του μανιταριού (πίλος ή στύπος), τη διαθεσιμότητα της περιεκτικότητας σε άζωτο και το χρόνο συγκομιδής (Maftoun *et al.*, 2015).

Σύμφωνα με τη μελέτη των [Patil et al. \(2010\)](#), στην οποία μελετήθηκαν τα θρεπτικά συστατικά των *Pleurotus ostreatus* που αναπτύχθηκαν σε διάφορα λιγνινοκυτταρινούχα αγροτικά υποπροϊόντα, το πρωτεϊνικό περιεχόμενο των μανιταριών κυμάνθηκε από 20.33% έως 24.66% επί ξηρού.

2.1.3. Αμινοξέα

Έχουν καταγραφεί συνολικά 18 αμινοξέα να αποτελούν τις πρωτεΐνες των *Pleurotus* spp. ([Maftoun et al., 2015](#)). Η περιεκτικότητα σε αμινοξέα είναι παρόμοια μεταξύ των ειδών με μικρές διαφορές. Ειδικότερα, κάποια από τα είδη περιέχουν ολοκληρωμένες πρωτεΐνες που αποτελούνται από απαραίτητα και μη απαραίτητα αμινοξέα ([Khan and Tania, 2012](#)).

Σύμφωνα με τη μελέτη των [Patil et al. \(2010\)](#) που αναφέρθηκε προηγουμένως, βρέθηκαν 19 αμινοξέα (Πίνακας 3), εκ των οποίων το γλουταμινικό οξύ ήταν 55-64 mg και το ασπαρτικό οξύ 29-45 mg στα 100 g ξηρών καρποσωμάτων, καλλιεργημένων σε διαφορετικά υποστρώματα. Η κυστίνη και η μεθειονίνη αποτελούσαν τη μικρότερη περιεκτικότητα, με 5,6-6 mg και 3-5 mg αντίστοιχα.

Πίνακας 3. Προφίλ αμινοξέων των *Pleurotus ostreatus* που καλλιεργήθηκαν σε διαφορετικά αγροτικά υποπροϊόντα (mg/100 g καρποσωμάτων) ([Patil et al., 2010](#))

Sr.No	Amino acids	Soybean straw	Paddy straw	Wheat straw	Soybean straw and paddy straw	Soybean straw and wheat straw	Wheat straw and paddy straw
1	Alanine	25.1 ± 1.1	20.2 ± 0.4	28.3±1.0	20±2.6	23.7±0.2	18.5±1.5
2	Arginine	29.4 ± 0.4	22.2 ± 1.2	23.5±0.2	32.0±0.8	28.2±0.6	20.6±0.4
3	Aspartic acid	45.1 ± 2.0	38.7 ± 1.2	32.3±1.5	39.2±1.0	36.4±0.5	29.8±0.8
4	Cystine	5.6 ± 0.5	3.7 ± 0.3	6.0±0.6	3.9±1.2	3.2±0.3	3.5±0.2
5	Glutamic acid	64.2 ± 0.5	58.5 ± 0.2	56.8±0.2	63.1±1.8	59.0±2.0	55.7±3.2
6	Glycine	9.2 ± 1.5	9.5 ± 0.8	11.8±0.5	7.0±0.3	6.9±0.2	7.2±0.5
7	Histidine	15.9 ± 0.3	16.4 ± 0.6	19.2±0.3	12.2±2.6	15.8±0.5	13.0±1.0
8	Lysine	33.6 ± 2.1	36.2 ± 1.9	18.9±1.2	24.7±3.2	20.2±2.0	28.8±2.5
9	Methionine	4.3 ± 0.4	5.1 ± 0.5	3.6±0.4	4.9±0.3	3.9±0.7	3.2±0.6
10	Phenyl alanine	20.2 ± 0.3	16.5 ± 0.2	18.2±1.5	16.5±0.8	17.2±0.6	19.0±1.2
11	Proline	16.8 ± 0.3	13.8 ± 0.6	13.8±1.2	15.8±0.2	10.9±1.8	14.2±0.8
12	Serine	18.5 ± 0.8	16.3 ± 1.8	17.2±0.3	14.3±0.6	15.8±0.3	12.6±1.0
13	Threonine	32.5 ± 1.8	29.0 ± 1.5	26.3±1.2	28.0±1.6	28.5±2.2	24.8±1.4
14	Tryptophan	5.2 ± 0.8	6.9 ± 0.5	6.5±1.8	4.7±0.3	5.3±1.2	5.6±0.5
15	Tyrosine	12.3 ± 0.6	9.7 ± 1.2	9.2±0.4	11.0±0.8	10.5±1.7	8.6±0.3
16	Valine	30.1 ± 1.1	28.4 ± 2.5	25.0±1.9	27.5±0.4	28.7±0.9	24.2±0.8
17	Leucine	37.0 ± 1.6	35.2 ± 1.9	28.6±1.3	32.9±0.7	26.5±1.4	23.8±2.0
18	Isoleucine	21.5 ± 0.2	19.2 ± 0.4	18.5±1.4	18.0±2.1	14.6±1.3	16.0±0.5
19	Glutamine	5.6 ± 0.4	5.2 ± 0.5	6.2±0.3	5.3±1.0	4.6±0.8	4.8±0.3

2.1.4. Υδατάνθρακες και Διαιτητικές ίνες

Τα μανιτάρια του γένους *Pleurotus* θεωρούνται καλή πηγή υδατανθράκων και διαιτητικών ινών. Οι υδατάνθρακες συναντώνται κυρίως στα καρποσώματα ως πολυσακχαρίτες ή

γλυκοπρωτεΐνες (Khan and Tania, 2012). Οι πολυσακχαρίτες που βρίσκονται σε αφθονία στα μανιτάρια αποτελούνται από το γλυκογόνο και τις μη πέψιμες διαιτητικές ίνες (κυτταρίνη, χιτίνη, α- και β-γλυκάνες) και άλλους ετεροπολυσακχαρίτες (ξυλόζη, μανόζη, γαλακτόζη) (Deepalakshmi and Mirunalini, 2014; Correa *et al.*, 2016).

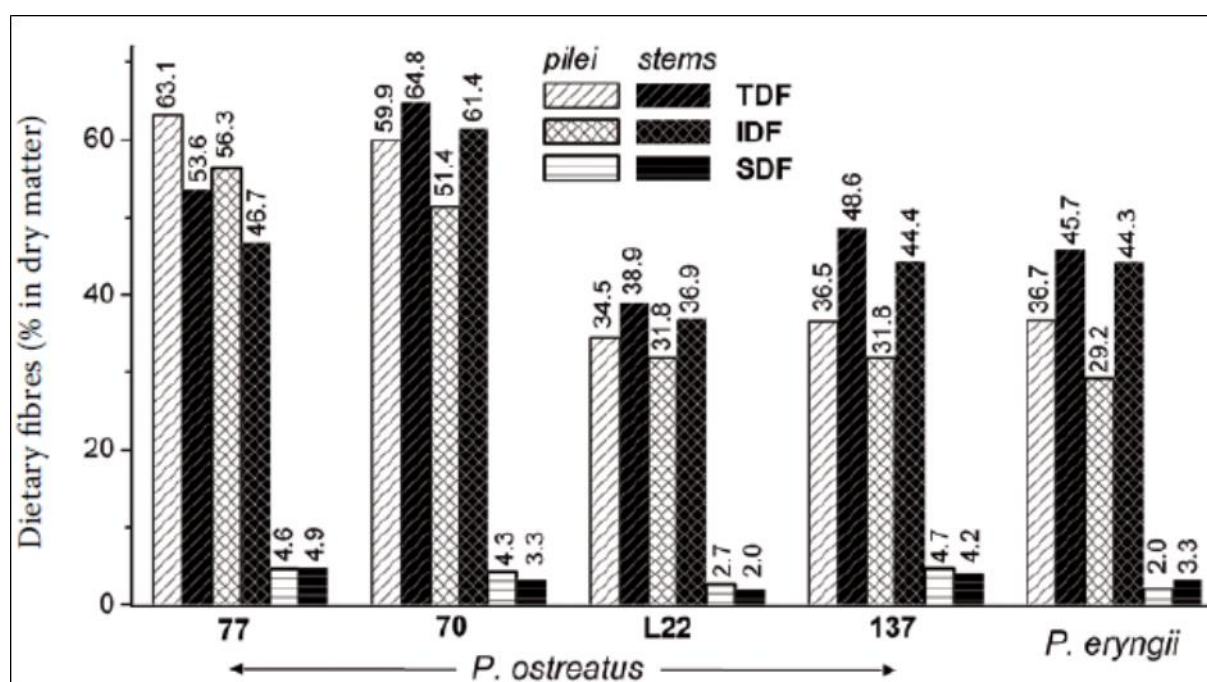
Οι υδατάνθρακες αποτελούν το κυτταρικό τοίχωμα των *Pleurotus* spp. με τις γλυκάνες και τις μαννάνες να είναι οι δύο κύριοι πολυσακχαρίτες του κυτταρικού τοιχώματος (Maftoun *et al.*, 2015). Οι γλυκάνες έχουν ευεργετική δράση αφού μειώνουν τη χοληστερόλη του ορού που αποτελεί κίνδυνο για τα καρδιαγγειακά νοσήματα, ενώ οι μαννάνες παρουσιάζουν ακτινοπροστατευτική δράση (Maftoun *et al.*, 2015; Othman *et al.*, 2011; Ruszova *et al.*, 2008).

Σύμφωνα με το USDA (2018), στα νωπά καρποσώματα *Pleurotus ostreatus* η περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες έχει υπολογιστεί στα 6,09 g/100 g, η περιεκτικότητα σε διαιτητικές ίνες 2,3 g/100 g και το σύνολο σακχάρων είναι 1,11 g/100 g. Σύμφωνα με μελέτες, το περιεχόμενο σε πολυσακχαρίτες των καρποσωμάτων ποικίλει ανάμεσα στα διαφορετικά είδη και τις ποικιλίες και κυμαίνεται μεταξύ 36-60 g/100 g ξηρού τροφίμου (Khan and Tania, 2012).

Οι γλυκάνες παρουσιάζουν διάφορους τύπους γλυκοζιτικών δεσμών, όπως διακλαδισμένων (1→3), (1→6)-β-γλυκανών και γραμμικών (1→3)-α-γλυκανών. Το ολικό περιεχόμενο σε διαιτητικές ίνες των *Pleurotus* spp. (διαλυτές και αδιάλυτες), που το μεγαλύτερο ποσοστό αποτελεί η χιτίνη, κυμαίνεται από 10-31 g ανά 100 g ξηρού τροφίμου (Correa *et al.*, 2016).

Οι Synytsya *et al.* (2008) μελέτησαν την περιεκτικότητα σε διαιτητικές ίνες τεσσάρων διαφορετικών ποικιλιών *Pleurotus ostreatus* και μιας απροσδιόριστης ποικιλίας *P. eryngii* και το πώς κατανέμεται αυτή η περιεκτικότητα στα διαφορετικά τμήματα των καρποσωμάτων (πίλος, στύπος). Τα αποτελέσματα (Πίνακας 4) έδειξαν ότι το ολικό περιεχόμενο σε διαιτητικές ίνες ήταν υψηλότερο στο στύπο των καρποσωμάτων (38,9-64,8%) από ότι στους πύλους (34,5-63,1%).

Πίνακας 4. Περιεκτικότητα σε διαιτητικές ίνες (TDF-Total Dietary Fibres, SDF-Soluble Dietary Fibres, IDF-Insoluble Dietary Fibres) στα διαφορετικά τμήματα των καρποσωμάτων *Pleurotus ostreatus* και *P. eryngii* (% ξηράς ουσίας) (Synytsya *et al.*, 2008)



Επίσης, το περιεχόμενο σε αδιάλυτες διαιτητικές ίνες ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο (29,2-61,4%) από το περιεχόμενο σε διαλυτές διαιτητικές ίνες (2,0-4,9%), με τους στύπους να έχουν πάλι το υψηλότερο ποσοστό σε αδιάλυτες διαιτητικές ίνες σε σύγκριση με τους πύλους (36,7-61,4% και 29,2-51,4% αντίστοιχα).

2.1.5. β-γλυκάνες

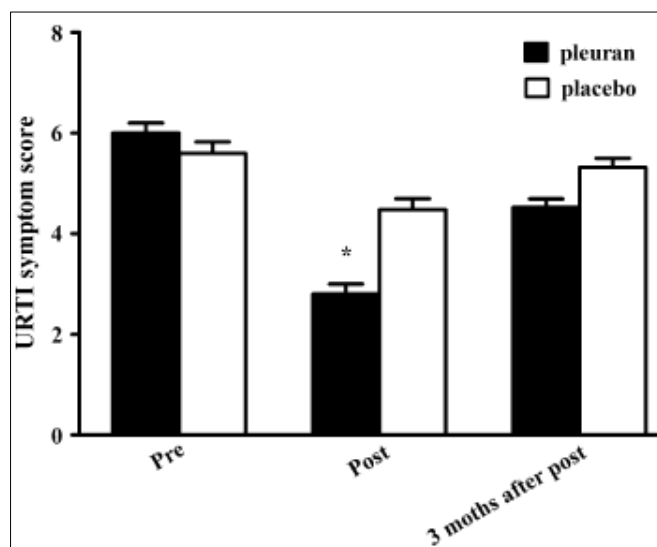
Οι β-γλυκάνες είναι πολυσακχαρίτες που αποτελούνται από μονομερή D-γλυκόζης συνδεδεμένων με β-γλυκοζιτικούς δεσμούς και συναντώνται κυρίως στα δημητριακά, τις ζύμες και τα μανιτάρια. Η ευεργετική τους δράση είναι ευρέως διαδεδομένη, συμπεριλαμβανομένων της ανοσορρυθμιστικής και αντικαρκινικής δράσης, της μείωσης της γλυκόζης και της χοληστερόλης στον ορό του αίματος και της πρόληψης της παχυσαρκίας. Χρησιμοποιούνται ως λειτουργικά συστατικά για την παραγωγή θρεπτικών τροφίμων που προωθούν την ανθρώπινη υγεία αλλά και για την παραγωγή φαρμακευτικών προϊόντων (Bai *et al.*, 2019).

Μεταξύ των πολυσακχαριτών που παράγουν τα *Pleurotus* spp., οι β-(1→3)-γλυκάνες διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο ως τροποποιητές της βιολογικής απόκρισης που διεγείρει το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή (Vetvicka *et al.*, 2019).

Το *Pleurotus ostreatus* χαρακτηρίζεται από την ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια παραγωγή μιας ανοσορρυθμιστικής αδιάλυτης β-γλυκάνης, την πλευράνη (Maftoun *et al.*, 2015; Eleftheriadis *et al.*, 2014).

Οι Bergendiova *et al.* (2011) μελέτησαν την επίδραση της πλευράνης του *Pleurotus ostreatus* σε επιλεγμένες ανοσολογικές κυτταρικές αποκρίσεις και την εμφάνιση συμπτωμάτων από λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος. Η τυχαιοποιημένη, διπλά-τυφλή, ελεγχόμενη με placebo μελέτη διήρκεσε τρεις μήνες και συμμετείχαν πενήντα ελίτ αθλητές. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χορήγηση 200 mg πλευράνης την ημέρα μείωσε την εμφάνιση συμπτωμάτων λοιμώξεων του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (Πίνακας 5).

Πίνακας 5. Εμφάνιση συμπτωμάτων λοιμώξεων ανώτερου αναπνευστικού συστήματος στις ομάδες χορήγησης πλευράνης (pleuran) και εικονικού φαρμάκου (placebo), πριν (Pre) και μετά από 3 μήνες χορήγησης (Post), αλλά και μετά από 3 μήνες χωρίς τη χορήγηση συμπληρωμάτων (3 months after post) (* Στατιστικά σημαντική μείωση $P < 0.001$) (Bergendiova *et al.*, 2011)



2.1.6. Μέταλλα και Ιχνοστοιχεία

Γενικά, όλα τα εδώδιμα μανιτάρια χαρακτηρίζονται ως μία καλή πηγή μετάλλων (Maftoun *et al.*, 2015). Τα καρποσώματα των *Pleurotus* spp. χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα

αφομοιώσιμων μετάλλων, με τα κυριότερα από αυτά να είναι ο φώσφορος, το κάλιο, ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος, το ασβέστιο, το μαγνήσιο, το μαγγάνιο και ο χαλκός (Khan and Tania, 2012). Στον Πίνακα 6, παρουσιάζεται η περιεκτικότητα σε μέταλλα και ιχνοστοιχεία των *Pleurotus ostreatus*.

Πίνακας 6. Περιεκτικότητα σε Μέταλλα και Ιχνοστοιχεία των *Pleurotus ostreatus* (USDA, 2018)

Μέταλλα και Ιχνοστοιχεία	mg/100 gr νωπού τροφίμου
Ασβέστιο	3
Σίδηρος	1,33
Μαγνήσιο	18
Φώσφορος	120
Κάλιο	420
Νάτριο	18
Ψευδάργυρος	0,77
Χαλκός	0,244
Μαγγάνιο	0,113
Σελήνιο	2,6

Αξίζει να αναφερθεί, πως και σε αυτήν την περίπτωση, η βιοσυσσώρευση των μετάλλων και των ιχνοστοιχείων στα μανιτάρια εξαρτάται από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες, όπως το υπόστρωμα στο οποίο αναπτύσσονται, το είδους του μανιταριού, το είδος του μετάλλου και η ηλικία του μυκηλίου (Sakellari *et al.*, 2019). Στον Πίνακα 7 παρουσιάζεται η περιεκτικότητα σε μέταλλα διαφορετικών ειδών *Pleurotus* spp.

Πίνακας 7. Περιεκτικότητα μετάλλων σε διαφορετικά είδη του γένους *Pleurotus* (mg/g ξηράς ουσίας) (Maftoun *et al.*, 2015)

Mineral element	<i>P. djamor</i>	<i>P. ferulae</i>	<i>P. nebrodensis</i>	<i>P. sapidus</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. sajor-caju</i>	<i>P. florida</i>
Ca	1.42	0.23	0.17	0.84	35.9	33.0	22.15	33.7
Mg	1.21	0.85	0.79	1.19	16.395	N.D	20.22	13.4
P	7.57	4.99	5.10	5.13	-	1348	-	-
K	12.3	16.2	16.3	14.3	-	3793	-	-
Fe	0.59	0.07	0.05	0.19	55.45	15.2	33.45	43.2
Zn	0.18	0.08	0.02	0.07	26.565	837	20.9	16
Mn					2.85		2.87	2.7
Se					0.011		0.025	0.013
As					0.1		0.095	0.083
Na								

Πιθανώς, τα μανιτάρια περιέχουν κάθε μέταλλο και ιχνοστοιχείο που βρίσκεται και στο υπόστρωμα στο οποίο αναπτύσσονται (Patrabansh and Madan, 1999).

Πράγματι, σύμφωνα με τους Sakellari *et al.* (2019) που μελέτησαν τα επίπεδα των μετάλλων και ιχνοστοιχείων σε μανιτάρια *Pleurotus ostreatus*, *P. eryngii* και *P. nebrodensis*, τα οποία καλλιεργήθηκαν σε οκτώ διαφορετικά υποστρώματα, η σύσταση στα συστατικά αυτά των μανιταριών επηρεάζεται από το είδος του υποστρώματος αλλά και από το είδος του μανιταριού. Συγκεκριμένα, στα *P. ostreatus* τη μεγαλύτερη ποσότητα μετάλλων αποτελούσαν ο σίδηρος και ο ψευδάργυρος, και ακολουθούσαν κατά φθίνουσα σειρά ο χαλκός, το ρουβίνιο, το αργίλιο και το μαγγάνιο. Αντίθετα, στα *P. eryngii* και *P. nebrodensis* κυριαρχούσαν το αργίλιο και ο ψευδάργυρος, ακολουθούμενα κατά φθίνουσα σειρά από το σίδηρο, το ρουβίνιο, το χαλκό και το μαγγάνιο.

2.1.7. Βιταμίνες

Γενικά, τα μανιτάρια αποτελούν μια καλή πηγή βιταμινών. Συγκεκριμένα, έχει φανεί πως τα καρποσώματα των άγριων μανιταριών περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες βιταμινών από ότι τα εμπορικώς καλλιεργούμενα μανιτάρια, και τα οποία είναι πλούσια σε θειαμίνη (B1), ριβοφλαβίνη (B2), ασκορβικό οξύ (C) και εργοκαλσιφερόλη (D) (Maftoun *et al.*, 2015).

Η περιεκτικότητα σε νωπά μανιτάρια *Pleurotus ostreatus* σύμφωνα με το USDA (2018) φαίνεται στον Πίνακα 8.

Πίνακας 8. Περιεκτικότητα σε βιταμίνες νωπών μανιταριών *Pleurotus ostreatus* σε mg/100 mg και μg/100 g (USDA, 2018)

Βιταμίνες	mg/100 gr νωπού
Θειαμίνη (B1)	0,125
Ριβοφλαβίνη (B2)	0,349
Νιασίνη (B3)	4,956
Πυριδοξίνη (B6)	0,110
Παντοθενικό οξύ (B5)	1,294
Χολίνη	48,7
Φολικό οξύ	38
Ρετινόλη (A)	2
Εργοκαλσιφερόλη (D)	0,7
β-καροτένιο	29

Γενικά, τα *Pleurotus* spp. δεν αποτελούν πλούσια πηγή όλων των βιταμινών, όμως έχουν γίνει αρκετές μελέτες για την περιεκτικότητα σε βιταμίνες, κυρίως του συμπλέγματος Β (Khan and Tania, 2012).

Τα μανιτάρια του γένους *Pleurotus* είναι πλούσια σε θειαμίνη (B1), η οποία είναι απαραίτητη για τη λειτουργία του νευρικού συστήματος και το μεταβολισμό των υδατανθράκων. Η ανεπάρκεια σε θειαμίνη οδηγεί στη νόσο Beriberi, η οποία εκδηλώνεται με περιφερική νευροπάθεια και διαταραχές του πεπτικού και καρδιαγγειακού συστήματος. Επίσης, είναι πλούσια σε ριβοφλαβίνη (B2), η οποία βοηθάει στη διατήρηση υγιούς αιματοκρίτη. Το μεγαλύτερο ποσοστό όμως από το σύμπλεγμα Β, κατέχει η νιασίνη (B3), η οποία προάγει το υγιές δέρμα και την καλή λειτουργία του πεπτικού και νευρικού συστήματος (Patil *et al.*, 2010).

Μία από τις μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί είναι η μελέτη των [Patil et al. \(2010\)](#), οι οποίοι αξιολόγησαν το περιεχόμενο σε βιταμίνες των *Pleurotus ostreatus*, που έχουν αναπτυχθεί σε διαφορετικά αγροτικά απόβλητα. Τα ευρήματά τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 9.

Πίνακας 9. Περιεκτικότητα σε βιταμίνες των *Pleurotus ostreatus* που καλλιεργήθηκαν σε διαφορετικά αγροτικά απόβλητα (mg/100 g ξηρού) ([Patil et al., 2010](#))

Substrates	Folic acid (mg/100g)	Thiamin (B1) (mg/100g)	Riboflavin (B2) (mg/100g)	Niacin (mg/100g)	Vitamin C (mg/100g)
Soybean straw	0.045 ± 0.012	0.32 ± 1.2	0.54 ± 1.2	8.25 ± 0.12	15.21 ± 0.21
Paddy straw	0.038 ± 0.05	0.29 ± 1.8	0.65 ± 0.5	6.80 ± 0.25	12.52 ± 0.3
Wheat straw	0.048±0.03	0.33±0.6	0.68±0.8	9.13±0.7	15.80±0.8
Soybean straw and Paddy straw	0.033±0.016	0.35±0.4	0.59±0.7	8.29±0.8	13.26±1.2
Soybean straw and wheat straw	0.052±0.02	0.32±0.9	0.58±0.3	8.72±0.3	14.92±0.6
Wheat straw and Paddy straw	0.039±0.02	0.29±0.6	0.62±0.5	7.94±2.0	13.38±1.7

Φάνηκε πως η περιεκτικότητα σε βιταμίνες των *Pleurotus ostreatus* επηρεάζεται άμεσα από το είδος του καλλιεργητικού υποστρώματος στο οποίο αναπτύσσονται.

2.1.8. Λιπαρά οξέα

Γενικά, τα μανιτάρια παρουσιάζουν σχετικά χαμηλή περιεκτικότητα σε λίπος, το οποίο περιλαμβάνει όλες τις κατηγορίες λιπιδικών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων των ελεύθερων λιπαρών οξέων, των μονο-, δι- και τριγλυκεριδίων, των στερολών και των εστέρων τους, και των φωσφολιπιδίων ([Rajaratnam and Sashirekha, 2003](#)).

Σύμφωνα με στοιχεία του [USDA \(2018\)](#), η συνολική περιεκτικότητα σε λίπος των *Pleurotus ostreatus* είναι 0,41 g/100 g νωπών καρποσωμάτων. Ειδικότερα, τα 0,062 g/100 g αποτελούν τα κορεσμένα λιπαρά οξέα (SFA), ενώ τα μονοακόρεστα (MUFA) και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) είναι 0,031 g και 0,123 g στα 100 g νωπών *P. ostreatus* αντίστοιχα.

Τα μανιτάρια του γένους *Pleurotus* παρόλο που έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε λίπος, περιέχουν ορισμένα απαραίτητα λιπαρά οξέα, με το ελαϊκό οξύ να είναι το κύριο μονοακόρεστο οξύ και το λινελαϊκό να είναι το κύριο πολυακόρεστο λιπαρό οξύ στα *Pleurotus* spp. ([Deepalakshmi and Mirunalini, 2014](#)).

Πράγματι, στη μελέτη των [Hossain et al. \(2007\)](#), οι οποίοι αξιολόγησαν το λιπιδικό προφίλ των τριών διαφορετικών μανιταριών *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum* και *Agaricus bisporus*, βρέθηκε ότι τα *P. ostreatus* περιέχουν το μονοακόρεστο ελαϊκό οξύ και το πολυακόρεστο λινελαϊκό οξύ στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (363 μg/g και 533 μg/g ξηράς ουσίας αντίστοιχα).

Οι [Koutrotsios et al. \(2017\)](#) μελέτησαν την ενδοειδική μεταβλητότητα των *Pleurotus ostreatus* αξιολογώντας 16 διαφορετικές ποικιλίες (13 άγριων μανιταριών, 3 εμπορικά καλλιεργούμενων) σε σχέση με τις παραμέτρους καλλιέργειας και την περιεκτικότητα των μανιταριών στα διάφορα βιοενεργά συστατικά τους. Με τον προσδιορισμό των λιπαρών οξέων, ανιχνεύθηκαν συνολικά 28 λιπαρά οξέα και τα δικαρβοξυλικά οξέα φουμαρικό και ηλεκτρικό. Τα πολυακόρεστα ήταν η κύρια κατηγορία λιπαρών οξέων που ανιχνεύθηκε, με το λινελαϊκό οξύ να κυριαρχεί σε όλα τα δείγματα με ποσοστό 56,8-80,5% του ολικού περιεχομένου σε λιπαρά οξέα, και το ελαϊκό και παλμιτικό οξύ να ακολουθούν σε ποσοστά 6,3-19,5% και 7,5-12,1% αντίστοιχα. Η περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα βρέθηκε σε ποσοστό που κυμαινόταν από 8,77-17,07%. Επίσης, η εργοστερόλη κυριαρχούσε στο σύνολο των στερολών με ποσοστό 51,9-87,4%. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι σε δύο από τις εμπορικές ποικιλίες βρέθηκε το υψηλότερο ποσοστό εργοστερόλης.

Παρόλα αυτά, τα *Pleurotus* spp. δε θεωρούνται σημαντική πηγή απαραίτητων λιπαρών οξέων ώστε να εκπληρωθούν οι απαιτήσεις του ανθρώπινου οργανισμού σε αυτά ([Deepalakshmi and Mirunalini, 2014](#)).

2.2. Θεραπευτικές ιδιότητες

Τα τελευταία χρόνια, ερευνώνται εκτενώς οι ευεργετικές επιδράσεις των μανιταριών στην ανθρώπινη υγεία από την επιστημονική κοινότητα ([Roncero-Ramos and Delgado-Andrade, 2017](#)). Περιέχουν βιοδραστικά συστατικά υψηλής θεραπευτικής αξίας όπως λεκτίνες, πολυσακχαρίτες, φαινολικά και πολυφαινολικά συστατικά, τερπενοειδή, εργοστερόλες και πτητικά οργανικά συστατικά, τα οποία θεωρούνται υπεύθυνα για την ευεργετική δράση των μανιταριών στην ανθρώπινη υγεία ([Wasser, 2014](#)).

Πρόσφατες μελέτες σε διάφορα είδη του γένους *Pleurotus* έδειξαν πολυάριθμες θεραπευτικές ιδιότητες, όπως αντικαρκινικές, ανοσορρυθμιστικές, αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις,

υποχοληστερολαιμικές, αντιϋπερτασικές, αντιθρομβωτικές, αντιϋπεργλυκαιμικές, αντιμικροβιακές και αντιϊκές ιδιότητες (Gregori *et al.*, 2007).

2.2.1. Αντικαρκινική δράση

Έχουν διεξαχθεί πολλές *in vivo* και *in vitro* μελέτες που έχουν ερευνήσει τα εκχυλίσματα και τις απομονωμένες ενώσεις των *Pleurotus* spp., όπως πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και άλλα συστατικά με αντινεοπλασματική δράση (Gregori *et al.*, 2007).

Η χορήγηση εκχυλίσματος του μυκηλίου του *P. ostreatus*, μόνο του και σε συνδυασμό με το χημειοθεραπευτικό παράγοντα κυκλοφωσφαμίδη, ανέστειλε την ανάπτυξη όγκου σε πειραματόζωα, και επίσης ανέστειλε τη μείωση των λευκών αιμοσφαιρίων που προκαλεί η αποκλειστική χορήγηση κυκλοφωσφαμίδης (Meerovich *et al.*, 2005).

Σύμφωνα με τη μελέτη των Wong *et al.* (2007), οι πολυσακχαρίτες των *P. tuber-regium* παρουσιάζουν αντικαρκινική δράση, μέσω της κυτταροτοξικότητάς τους σε ανθρώπινα κύτταρα λευχαιμίας *in vitro*, προκαλώντας απόπτωση των καρκινικών κυττάρων και διακοπή του κυτταρικού κύκλου.

Εκτός από τους πολυσακχαρίτες, αντικαρκινικές ιδιότητες εμφανίζουν επίσης οι πρωτεΐνες, οι πρωτεογλυκάνες και το DNA των *Pleurotus* spp. (Gregori *et al.*, 2007).

Σύμφωνα με τη μελέτη των Wang *et al.* (2000), η πρωτεΐνη λεκτίνη που απομονώθηκε από τα *P. ostreatus* ανέστειλε την ανάπτυξη του σαρκώματος και του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε πειραματόζωα και αύξησε το προσδόκιμο ζωής τους.

Μια άλλη πρωτεΐνη, η αιμολυσίνη «ερυγγιολυσίνη», που απομονώθηκε από τα καρποσώματα των *P. eryngii*, εμφάνισε κυτταροτοξικότητα σε καρκινικά κύτταρα λευχαιμίας πειραματόζωων *in vitro* (Ngai *et al.*, 2006).

2.2.2. Ανοσορυθμιστική δράση

Διάφορες *in vivo* μελέτες υποδεικνύουν πως η αντικαρκινική δράση των *Pleurotus* spp. συνδέεται άμεσα με την ανοσορυθμιστική δράση τους (Carrasco-González *et al.*, 2017).

Σύμφωνα με τη μελέτη των [Wu et al. \(2014\)](#) σε πειραματόζωα, πολυσακχαρίτες που απομονώθηκαν από τα μανιτάρια *P. tuber-regium* αύξησαν τη φαγοκυττάρωση που επιτελούν τα μακροφάγα κύτταρα και προκάλεσαν την ενεργοποίηση ενζύμων που είναι υπεύθυνα για την ωρίμανση και τον πολλαπλασιασμό των μακροφάγων.

Οι [Jesenak et al. \(2013\)](#) μελέτησαν την επίδραση της β-γλυκάνης πλευράνη που απομονώθηκε από τα *P. ostreatus*, συνδυασμένη με βιταμίνη C, σε 175 παιδιά ηλικίας 2 έως 5 ετών που έπασχαν από υποτροπιάζουσες λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος. Η τυχαιοποιημένη, διπλά-τυφλή, ελεγχόμενη με placebo μελέτη διήρκεσε έξι μήνες και έδειξε πως η θεραπεία με πλευράνη οδήγησε σε σημαντική μείωση της νοσηρότητας του αναπνευστικού συστήματος και τη βελτίωση της χυμικής και κυτταρικής ανοσίας.

2.2.3. Αντιοξειδωτική δράση

Το οξειδωτικό στρες θεωρείται ένας από τους πρωταρχικούς παράγοντες που εμπλέκονται στην εξέλιξη πολλών εκφυλιστικών ασθενειών, όπως ο καρκίνος και η ηπατοτοξικότητα. Τα αντιοξειδωτικά, όπως τα φαινολικά συστατικά και τα φλαβονοειδή, καθυστερούν ή αναστέλλουν τις οξειδωτικές διαδικασίες ([Deepalakshmi and Mirunalini, 2014](#)).

Τα μανιτάρια περιέχουν πολλά αντιοξειδωτικά συστατικά, εκ των οποίων τα φαινολικά συστατικά, οι πολυσακχαρίτες, οι τοκοφερόλες, τα καροτενοειδή, και η εργοθειονίνη είναι κάποια από αυτά. Έτσι, η κατανάλωση μανιταριών μπορεί να ενισχύσει την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού μειώνοντας τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες ([Roncero-Ramos and Delgado-Andrade, 2017](#)).

Σήμερα, τα *Pleurotus* spp. χρησιμοποιούνται ευρέως ως συστατικά σε συμπληρώματα διατροφής με σκοπό τη διατήρηση της υγείας και την πρόληψη των ασθενειών ([Anjana and Savita, 2017](#)).

Στη μελέτη των [Menaga et al. \(2013\)](#), αξιολογήθηκε η αντιοξειδωτική δράση του μεθανολικού εκχυλίσματος του *P. florida in vitro*, και συγκεκριμένα η ικανότητα απομάκρυνσης ελευθέρων ριζών και η ικανότητα δέσμευσης ιόντων σιδήρου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το μεθανολικό εκχύλισμα του *P. florida* έχει σημαντική αντιοξειδωτική δράση, και πως το μανιτάρι αυτό θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως ένα τρόφιμο με φυσική αντιοξειδωτική δράση που θα ενισχύσει το ανοσοποιητικό σύστημα.

2.2.4. Αντιφλεγμονώδης δράση

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, τα μανιτάρια του γένους *Pleurotus* spp. περιέχουν τη β-γλυκάνη πλευράνη, η οποία χαρακτηρίζεται για την αντιφλεγμονώδη δράση της (Anjana and Savita, 2017).

Σύμφωνα με τους Sano *et al.* (2002), οι ανοσολογικές αποκρίσεις, όπως η κατάσταση φλεγμονής που προκάλεσε η αλλεργία τύπου IV σε πειραματόζωα, περιορίστηκαν από το αιθανολικό εκχύλισμα του *P. eryngii*, με στοματική ή διαδερμική χορήγηση (Gregori *et al.*, 2007).

2.2.5. Μεταβολικό σύνδρομο

Το μεταβολικό σύνδρομο είναι μια κοινή μεταβολική διαταραχή, γνωστή και ως «σύνδρομο Χ», «σύνδρομο ινσουλινοαντίστασης», και «το θανατηφόρο κουαρτέτο». Η τελευταία ονομασία αποδίδεται στο γεγονός ότι το μεταβολικό σύνδρομο χαρακτηρίζεται από τέσσερις μεταβολικές παθήσεις, την κεντρική παχυσαρκία, το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, την αρτηριακή υπέρταση και τη δυσλιπιδαιμία (Eckel *et al.*, 2005).

Τα εδώδιμα μανιτάρια περιέχουν στη σύστασή τους βιοδραστικά συστατικά, τα οποία βοηθούν στη μείωση της χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων και της γλυκόζης του αίματος, καθώς και στη διαχείριση του σωματικού βάρους και της υπέρτασης (Roncero-Ramos and Delgado-Andrade, 2017). Στα βιοδραστικά συστατικά περιλαμβάνονται οι πολυσακχαρίτες, η λοβαστατίνη και άλλες στατίνες (Gregori *et al.*, 2007).

2.2.5.1. Παχυσαρκία και δυσλιπιδαιμία

Τα μανιτάρια του γένους *Pleurotus* έχουν μελετηθεί για τη δράση τους στην πρόληψη της αύξησης του σωματικού βάρους και της δυσλιπιδαιμίας.

Σύμφωνα με την *in vivo* μελέτη των Huang *et al.* (2014), οι πολυσακχαρίτες του *Pleurotus tuber-regium* βοήθησαν στη μείωση του σπλαχνικού λίπους και των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL) σε παχύσαρκα ποντίκια.

Οι Chen *et al.* (2013) αξιολόγησαν την υπολιπιδαιμική δράση των οκτώ διαφορετικών μανιταριών *Pleurotus eryngii*, *Lentinus edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus nebrodensis*,

Hypsizygus marmoreus, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum* και *Hericium erinaceus*. Η μελέτη έγινε *in vitro* σε κύτταρα ποντικών που τρέφονταν με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι πολυσακχαρίτες των μανιταριών είχαν την ικανότητα μείωσης των επιπέδων των λιπιδίων, με τα *Pleurotus eryngii* να έχουν την ισχυρότερη ανασταλτική επίδραση στη συσσώρευση των λιπιδίων.

2.2.5.2. Διαβήτης

Το γένος *Pleurotus* έχει συσχετιστεί με ισχυρή υπογλυκαιμική δράση. Οι [Badole et al. \(2008\)](#) μελέτησαν την υπογλυκαιμική δράση του υδατικού εκχυλίσματος του *P. pulmonarius* σε πειραματόζωα με διαβήτη. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος μειώθηκαν σημαντικά, ειδικά με τη συνδυαστική χορήγηση του υδατικού διαλύματος του *P. pulmonarius* και της γλιβενκλαμίδης, που ανήκει στην κατηγορία αντιδιαβητικών φαρμάκων. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει το πλεονέκτημα της συνδυαστικής χορήγησης του εκχυλίσματος και του αντιδιαβητικού φαρμάκου σε μια μακροχρόνια θεραπευτική αγωγή.

Σε παρόμοια μελέτη των [Ng et al. \(2015\)](#), το υδατικό εκχύλισμα του *P. sajor-caju* μείωσε σημαντικά το μεταγευματικό peak της γλυκόζης σε πειραματόζωα με διαβήτη, υποδεικνύοντας πως το εκχύλισμα αυτό παρουσιάζει θετικά αποτελέσματα στην πρόληψη του διαβήτη.

2.2.5.3. Υπέρταση

Το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης (ACE) είναι ένα συστατικό του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης και το οποίο είναι έμμεσα υπεύθυνο για την αύξηση της αρτηριακής πίεσης και τη σύσπαση των αιμοφόρων αγγείων. Οι αναστολείς του ενζύμου αυτού χρησιμοποιούνται ευρέως σε φάρμακα για τη θεραπεία της υπέρτασης. Τα τελευταία χρόνια, η επιστημονική κοινότητα στοχεύει στην αντικατάσταση των συνθετικών αντιυπερτασικών φαρμάκων με αναστολείς του ενζύμου που προέρχονται από φυσικές πηγές ([Roncero-Ramos and Delgado-Andrade, 2017](#)).

Τα είδη *Pleurotus* έχουν θεωρηθεί ως μια εξαιρετική εναλλακτική επιλογή για τη θεραπεία της υπέρτασης. Τα θερμά υδατικά τους εκχυλίσματα περιέχουν δραστικά αντιυπερτασικά συστατικά, όπως διάφορα πεπτίδια συμπεριλαμβανομένων των D-μαννιτόλη, D-γλυκόζη, D-

γαλακτόζη, D-μαννόζη, καθώς και τριτερπένια και κάλιο (Roncero-Ramos and Delgado-Andrade, 2017).

Η μελέτη των Ibadallah *et al.* (2015) έδειξε ότι το μυκήλιο του *P. pulmonarius* περιέχει πρωτεΐνες με αντιϋπερτασική δράση μέσω της αναστολής του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης.

2.2.6. Αντιμικροβιακή δράση

Έχουν παρατηρηθεί αντιμικροβιακές και αντιμυκητιασικές δράσεις σε εκχυλίσματα και σε απομονωμένες ενώσεις των *Pleurotus* spp., και που πιθανόν οφείλονται στον αμυντικό τους μηχανισμό εναντίον άλλων μικροοργανισμών (Gregori *et al.*, 2007).

Οι Wang and Ng (2004) απομόνωσαν το αντιμυκητιακό πεπτίδιο ερυγγίνη από το *P. eryngii* και παρατήρησαν την αντιμυκητιασική της δράση έναντι των μυκήτων *Fusarium oxysporum* και *Mycosphaerella arachidicola*.

Οι Ngai and Ng (2006) απομόνωσαν την αιμολυσίνη του *P. eryngii* «ερυγγιολυσίνη» και παρατήρησαν ότι εμφανίζει αντιβακτηριδιακή δράση έναντι των βακτηρίων *Bacillus megatarium* και του *B. subtilis*.

2.2.7. Αντιϊκή δράση

Η αντιϊκή δράση των μανιταριών δε φαίνεται να συσχετίζεται με τη θανάτωση των ιών, ωστόσο πολλές μελέτες έχουν αναφέρει τις ανασταλτικές επιδράσεις που παρουσιάζουν τα μανιτάρια στα αρχικά στάδια αντιγραφής των ιών (Roncero-Ramos and Delgado-Andrade, 2017).

Οι Li *et al.* (2008) έδειξαν πως η πρωτεΐνη λεκτίνη του *P. citrinopileatus* ανέστειλε το ένζυμο ανάστροφη τρανσκριπτάση του ρετροϊού HIV-1, το οποίο είναι απαραίτητο για την αντιγραφή και τον πολλαπλασιασμό του ιού.

2.3. Βιοτεχνολογικές εφαρμογές

Ο όρος βιομάζα αναφέρεται σε όλες τις οργανικές ουσίες που παράγονται από τους ζωντανούς οργανισμούς και τους μεταβολίτες τους. Στο πλαίσιο της ενέργειας, ο όρος αυτός χρησιμοποιείται για την αναφορά στα λιγνινοκυτταρινούχα υλικά, όπως γεωργικά υπολείμματα και δασικά απόβλητα, και στις ενεργειακές καλλιέργειες (Liu *et al.*, 2019a).

Η ετήσια παραγωγή βιομάζας σε όλο τον κόσμο είναι περίπου 170 δισεκατομμύρια τόνοι, συμβάλλοντας στην παγκόσμια πρωτογενή ενέργεια κατά περίπου 10%. Μεταξύ των διάφορων ανανεώσιμων πηγών ενέργειας, η βιομάζα αποτελεί τη μοναδική ανανεώσιμη πηγή οργανικού άνθρακα στη φύση (Liu *et al.*, 2019a).

Η λιγνινοκυτταρίνη είναι η πιο άφθονη φυτική βιομάζα στη Γη και έχει αναγνωριστεί ως μια εναλλακτική πηγή για την παραγωγή ανανεώσιμων πηγών ενέργειας (βιοκαύσιμα) και χημικών ουσιών. Αποτελείται από δύο πολυμερή υδατανθράκων, την κυτταρίνη και την ημικυτταρίνη, και από ένα μη υδατανθρακικό φαινολικό πολυμερές, τη λιγνίνη (Abdel-Hamid *et al.*, 2013).

Η κυτταρίνη είναι ο κύριος δομικός πολυσακχαρίτης του κυτταρικού τοιχώματος των φυτικών κυττάρων, αντιπροσωπεύει το 30-50% του ξηρού βάρους της λιγνινοκυτταρίνης και αποτελείται από μόρια D-γλυκόζης που ενώνονται με β(1→4) γλυκοζιτικούς δεσμούς (Abdel-Hamid *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2019b).

Το δεύτερο συστατικό της λιγνινοκυτταρίνης είναι ο πολυσακχαρίτης ημικυτταρίνη, που αντιπροσωπεύει το 15-35% της φυτικής βιομάζας. Σε αντίθεση με την κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη έχει μια τυχαία και άμορφη δομή που αποτελείται από τα ετεροπολυμερή ξυλάνη, γλυκουρονοξυλάνη, αραβινοξυλάνη, γλυκομαννάνη και ξυλογλυκάνη (Abdel-Hamid *et al.*, 2013; Gírio *et al.*, 2010).

Η λιγνίνη είναι, μετά την κυτταρίνη, το δεύτερο σε αφθονία συστατικό στο παγκόσμιο οικοσύστημα και αντιπροσωπεύει έως και το 35% του ξηρού βάρους του ξυλώδους ιστού. Είναι ένα πολυμερές που αποτελεί σημαντικό συστατικό του δευτερογενούς κυτταρικού τοιχώματος των φυτών, προσφέροντας στα φυτικά κύτταρα ακαμψία και αντοχή σε μικροβιακές επιθέσεις. Η βιοαποικοδόμηση αυτού του συστατικού εμφανίζει πολλούς περιορισμούς εξαιτίας της ακανόνιστης χημικής του δομής (Cohen *et al.*, 2002; Sekan *et al.*, 2019).

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, τα μανιτάρια *Pleurotus* ανήκουν στους μύκητες λευκής σήψης, και χάρη στο λιγνινολυτικό ενζυμικό σύστημα που διαθέτουν έχουν την ικανότητα να διασπούν τα λιγνινοκυτταρινούχα υλικά (Stajic *et al.*, 2009).

Η βιοαποικοδόμηση της λιγνίνης είναι μια οξειδωτική διαδικασία, στην οποία συμμετέχουν τα ένζυμα: υπεροξειδάση της λιγνίνης (LiP), υπεροξειδάση του μαγγανίου (MnP), «ευέλικτη» υπεροξειδάση (VP), που είναι συνώνυμη της μη εξαρτώμενης του μαγγανίου υπεροξειδάσης (MnIP), και λακκάση (Rühl *et al.*, 2008).

Η δραστηριότητα των υπεροξειδασών απαιτεί την παρουσία του εξωκυττάριου υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), το οποίο παράγεται από τα ένζυμα οξειδάση αρυλικής αλκοόλης (AAO) και οξειδάση της γλυοξάλης (GLOX) (Cohen *et al.*, 2002).

Αρκετοί ερευνητές έχουν δείξει πως η δραστηριότητα της LiP δεν είναι ανιχνεύσιμη στα μανιτάρια *Pleurotus* spp. (Cohen *et al.*, 2002). Παρόλα αυτά, υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν τη δραστηριότητα της LiP στα *Pleurotus* spp., όπως αυτή των Akpinar and Urek (2012), οι οποίοι ερεύνησαν την παραγωγή και τη δραστηριότητα των λιγνινολυτικών ενζύμων του *Pleurotus eryngii* (DC.) Gillet (MCC58) σε ζύμωση στερεάς φάσης.

Τα τελευταία χρόνια, έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας για τη μελέτη των λιγνινολυτικών ενζύμων των μυκήτων λευκής σήψης με στόχο την εύρεση καλύτερων συστημάτων αποικοδόμησης της βιομάζας. Τα συστήματα αυτά θα μπορούσαν να εφαρμοστούν σε διάφορες βιοτεχνολογικές εφαρμογές, όπως στη βιοαποικοδόμηση βιομηχανικών αποβλήτων και την παραγωγή βιοκαυσίμων, την παραγωγή τροφίμων, τη βιομετατροπή ακατέργαστων φυτικών υλικών για την παραγωγή ζωοτροφών, τη βιολογική λεύκανση χαρτοπολτού, και τη βιομετατροπή του εδάφους και των βιομηχανικών υδάτων που έχουν μολυνθεί με τοξικές χημικές ουσίες και βαφές (Stajic *et al.*, 2009).

2.3.1. Βιοαποικοδόμηση βιομηχανικών αποβλήτων-παραγωγή βιοαιθανόλης

Η διαχείριση της υπολειμματικής βιομάζας αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα παγκόσμια ζητήματα. Τα περισσότερα απόβλητα προορίζονται σε χώρους υγειονομικής ταφής (ΧΥΤΑ), ή στη χειρότερη περίπτωση απορρίπτονται ανεξέλεγκτα, δημιουργώντας περιβαλλοντική επιβάρυνση και οικονομικές απώλειες (Liguori and Faraco, 2016).

Αφού τα *Pleurotus* spp. μπορούν να αποσυνθέσουν τη λιγνινοκυτταρίνη, χωρίς καθόλου χημική ή βιολογική προεπεξεργασία, τα λιγνινοκυτταρινούχα απόβλητα μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν και να ανακυκλωθούν (Sekan *et al.*, 2019).

Η βιοαιθανόλη είναι το πρώτο βιοκαύσιμο που χρησιμοποιήθηκε ως υποκατάστατο της βενζίνης. Περιέχει 35% οξυγόνο (O₂), γεγονός που οδηγεί σε πλήρη καύση καυσίμου και άρα μειωμένη εκπομπή επιβλαβών αερίων στην ατμόσφαιρα. Ο μετασχηματισμός της λιγνινοκυτταρίνης σε αιθανόλη γίνεται αρχικά με τη διάσπαση της λιγνίνης, με τη βοήθεια των ενζύμων του *Pleurotus* spp., ώστε η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη να γίνουν προσβάσιμες για υδρόλυση σε απλούστερα σάκχαρα, με τη βοήθεια των κυτταρινασών. Τα σάκχαρα αυτά στη συνέχεια θα ζυμωθούν για την παραγωγή βιοαιθανόλης. (Abdel-Hamid *et al.*, 2013; Grover *et al.*, 2015).

2.3.2. Βιομηχανία τροφίμων

Οι λακκάσες μπορούν να εφαρμοστούν στην επεξεργασία τροφίμων ως πρόσθετα για την ενίσχυση ή την τροποποίηση του χρώματος τροφίμων και ποτών. Οι λακκάσες μπορούν και απομακρύνουν φαινολικά συστατικά, τα οποία είναι υπεύθυνα για το σχηματισμό καφέ χρώματος στα τρόφιμα και τη δημιουργία θολότητας στην μπύρα, τον οίνο και τους χυμούς φρούτων (Couto and Herrera, 2006).

Επίσης, η λακκάση χρησιμοποιείται στην τεχνολογία παρασκευής ψωμιού ως βελτιωτικό αρτοποιίας και προσφέρει ευκολότερη μηχανική επεξεργασία της ζύμης με αυξημένη αντοχή και σταθερότητα (Osma *et al.*, 2010).

Επιπλέον, χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό συγκεκριμένων ενώσεων σε ποτά. Έχουν αναπτυχθεί διάφοροι αμπερομετρικοί βιοαισθητήρες βασισμένοι στις λακκάσες για την ανίχνευση και τη μέτρηση πολυφαινολών σε διάφορα προϊόντα τροφίμων, όπως στο κρασί, την μπύρα και το τσάι (Osma *et al.*, 2010).

2.3.3. Παραγωγή ζωοτροφών

Στην κτηνοτροφία, ως τροφές χρησιμοποιούνται κυρίως υπολείμματα καλλιεργειών άχυρου σίτου, ρυζιού και καλαμποκιού. Τα υπολείμματα αυτά περιέχουν υψηλά ποσοστά λιγνίνης στα κυτταρικά τους τοιχώματα και χαμηλά ποσοστά ακατέργαστης πρωτεΐνης και ενέργειας. Η

υψηλή αυτή περιεκτικότητα σε λιγνίνη περιορίζει τη μικροβιακή διάσπαση των κυτταρικών τοιχωμάτων, αποτρέποντας την αποτελεσματική διαθεσιμότητα σε υδατάνθρακες. Διάφορες φυσικές, χημικές και βιολογικές μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάσπαση της λιγνίνης και τη βελτίωση της θρεπτικής αξίας των ζωοτροφών. Η χρήση μυκήτων λευκής σήψης θεωρείται οικονομικά εφικτή και περιβαλλοντικά αποδεκτή βιολογική μέθοδος (Khan *et al.*, 2015).

Οι Huyen *et al.* (2019) μελέτησαν τη θρεπτική αξία και την πεπτικότητα άχυρου ρυζιού ζυμωμένου από το μύκητα *Pleurotus eryngii*, το οποίο καταναλώθηκε από πρόβατα. Πράγματι, το περιεχόμενο σε ακατέργαστη πρωτεΐνη αυξήθηκε, καθώς και η πεπτικότητα στα διάφορα συστατικά, όπως φαίνεται στον Πίνακα 10.

Πίνακας 10. Ημερήσια πρόσληψη (g/day) και πεπτικότητα (g kg⁻¹) των προβάτων που τράφηκαν με άχυρο ρυζιού (RS), άχυρο ρυζιού με ουρία (UTR) και άχυρο ρυζιού ζυμωμένου με *P. eryngii* (Huyen *et al.*, 2019)

Parameters	RS	UTR	FTR
Nutrient intake (g/day)			
DM	505.47	553.31	586.63
OM	443.56	485.95	509.67
CP	59.40	71.58	76.89
NDF	332.04	380.43	330.50
ADF	177.85	187.67	191.12
Nutrient digestibility (g kg⁻¹)			
DM	598.12 ^a	612.56 ^a	697.95 ^b
OM	606.36 ^a	628.23 ^a	718.97 ^b
CP	570.69 ^a	601.69 ^a	687.07 ^b
NDF	563.03 ^a	609.83 ^{ab}	652.54 ^b
ADF	508.91 ^a	539.05 ^a	588.46 ^b

2.3.4. Βιομηχανία χαρτοπολτού

Η αφαίρεση της λιγνίνης αποτελεί μείζον ζήτημα στην παραγωγή χαρτοπολτού. Η λεύκανση, η πολτοποίηση και η αποϊνώση του χαρτοπολτού είναι διαδικασίες που ακολουθούνται από τη χρησιμοποίηση πρόσθετων οξειδωτικών χημικών ουσιών, όπως υπεροξείδιο υδρογόνου, όξινο θειώδες ασβέστιο, θειούχο νάτριο, οι οποίες είναι δαπανηρές και μεταλλαξιγόνες. Η επιστημονική κοινότητα έχει προσπαθήσει να αντικαταστήσει αυτές τις χημικές ουσίες με τους μύκητες λευκής σήψης, όπως τα μανιτάρια *Pleurotus* spp., οι οποίοι αποτελούν

αποτελεσματική λύση στην αποικοδόμηση της λιγνίνης με μη τοξικό χαρακτήρα (Chalamcherla *et al.*, 2015).

3. Πτητικά οργανικά συστατικά (VOCs)

Η χαρακτηριστική γεύση και το ιδιαίτερο άρωμα τωνμανιταριών οφείλονται στις πτητικές και τις μη πτητικές ενώσεις που αυτά περιέχουν. Η γεύση των βρώσιμων μανιταριών οφείλεται κατά κύριο λόγο σε διάφορες μη πτητικές, υδατοδιαλυτές ουσίες, όπως νουκλεοτίδια, ελεύθερα αμινοξέα και διαλυτούς υδατάνθρακες. Όσον αφορά τα πτητικά συστατικά, έχει αναφερθεί πως σημαντικό ρόλο στο άρωμα των μανιταριών διαδραματίζουν οι αλειφατικές αλκοόλες με οκτώ άτομα άνθρακα, όπως η 1-οκτεν-3-όλη, η 3-οκτανόλη, η 1-οκτανόλη και άλλες, με τη σημαντικότερη εξ αυτών την 1-οκτεν-3-όλη, η οποία χαρακτηρίζεται ως «γεύση των μανιταριών» ή «αλκοόλη των μανιταριών», καθώς αποτελεί το κύριο συστατικό που ευθύνεται για τη γεύση και το άρωμα των περισσότερων μανιταριών (de Pinho *et al.*, 2008; Pennerman *et al.*, 2015). Άλλες ενώσεις που έχουν εντοπιστεί στα μανιτάρια είναι η βενζαλδεΐδη, η αιθανόλη, 2,4-δεκαδιενάλη, η 3-μεθυλοβουτανόλη, και άλλες (Hanson, 2008).

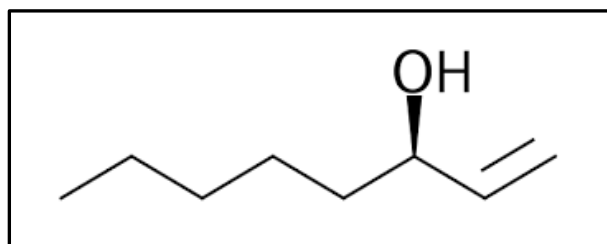
Τα πτητικά οργανικά συστατικά (Volatile Organic Compounds: VOCs) είναι χαμηλού μοριακού βάρους οργανικές ενώσεις, οι οποίες εξατμίζονται εύκολα σε ατμοσφαιρικές συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης. Οι μύκητες παράγουν πτητικά συστατικά διαφόρων μοριακών μεγεθών και τα οποία περιλαμβάνουν οξέα, αλκοόλες, αλδεΐδες, εστέρες, κετόνες και άλλες οργανικές πτητικές ουσίες. Έχουν εντοπιστεί περισσότερα από τριακόσια πτητικά συστατικά που παράγονται από τους μύκητες, υπό μορφή σύνθετων μειγμάτων και σε μικρές συγκεντρώσεις το κάθε συστατικό ξεχωριστά (Pennerman *et al.*, 2015).

Το χαρακτηριστικό άρωμα των διάφορων βρώσιμων και δηλητηριωδών μανιταριών είναι γνωστό στην επιστημονική κοινότητα. Συγκεκριμένα, το άρωμα διαφέρει για κάθε είδος μανιταριού και επιτρέπει τη διάκριση μεταξύ τους. Ο προσδιορισμός του προφίλ των πτητικών συστατικών έχει χρησιμοποιηθεί σε χημειομετρικές μελέτες για τη σύγκριση διαφορετικών ποικιλιών ή ειδών μανιταριών, για την εκτίμηση της γνησιότητας εμπορικά αρωματικών συστατικών και προϊόντων τροφίμων και ως τρόπος ταυτοποίησης διαφορετικών ειδών. Παρόλα αυτά, έχουν πραγματοποιηθεί λίγες μελέτες για τα πτητικά συστατικά των άγριων μανιταριών σε σχέση με αυτές που αφορούν άλλους ζωντανούς οργανισμούς (Palazzolo *et al.*, 2017).

Τα πτητικά συστατικά, μπορούν να θεωρηθούν ως βιοδραστικά συστατικά, τα οποία δεν ευθύνονται μόνο για το ιδιαίτερο άρωμα και γεύση σταμανιτάρια, αλλά παρέχουν ζωτικής σημασίας πληροφορίες για την αντιοξειδωτική δράση τωνμανιταριών. Διάφορα μεταβολικά μονοπάτια και ενζυμικές αντιδράσεις οδηγούν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις πτητικών συστατικών στα διάφορα στάδια της ωρίμανσης (Zhang *et al.*, 2008).

3.1. Οκτενόλη

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, το πτητικό συστατικό που παράγεται σε αφθονία από ταμανιτάρια είναι η αλειφατική αλκοόλη 1-οκτεν-3-όλη, ή απλούστερα οκτενόλη, η οποία ευθύνεται για τη χαρακτηριστική οσμή των περισσότερωνμανιταριών, έχοντας εξαιρετικά χαμηλό κατώφλι οσμής στους ανθρώπους (0,01 ppm) (Hanson, 2008). Ο συντακτικός της τύπος απεικονίζεται στην Εικόνα 7.



Εικόνα 7. Συντακτικός τύπος της οκτενόλης (Inamdar *et al.*, 2012)

Έχει απομονωθεί από σχεδόν κάθε είδος μύκητα που έχει μελετηθεί και έχει εγκριθεί από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) ως πρόσθετο τροφίμων για την ενίσχυση γεύσης, καθώς χρησιμοποιείται και ως συστατικό αρωμάτων (Pennerman *et al.*, 2015).

4. Μικροεκχύλιση στερεής φάσης (SPME)

Η προετοιμασία του δείγματος αποτελεί κρίσιμο σημείο στην τεχνική του διαχωρισμού και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αναλυτική χημεία. Ωστόσο, η διαδικασία αυτή είναι συνήθως χρονοβόρα και απαιτεί την κατανάλωση μεγάλης ποσότητας οργανικού διαλύτη.

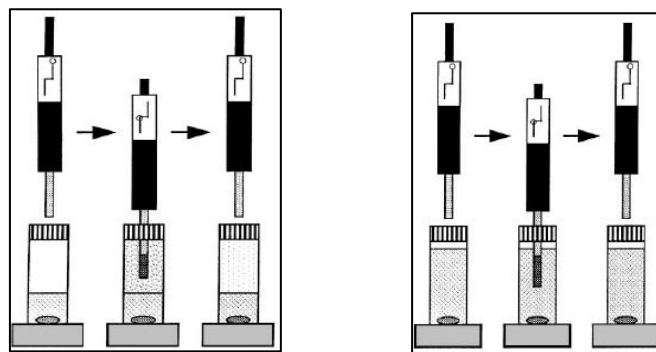
Σημαντική εξέλιξη στην προετοιμασία δειγμάτων αποτέλεσε η μικροεκχύλιση στερεής φάσης (Solid-Phase Microextraction, SPME), τεχνική που περιγράφηκε αρχικά από τους Arthur και Pawliszyn το 1990 στον Καναδά (Xu *et al.* 2016; Arthur and Pawliszyn, 1990).

Η τεχνική SPME βασίζεται στην προσρόφηση των υπό ανάλυση ενώσεων του δείγματος από μια ίνα πυριτίου, η οποία είναι επικαλυμμένη εξωτερικά με μια κατάλληλη στατική φάση (Kataoka *et al.*, 2000). Η μέθοδος αυτή είναι ταχεία, δεν απαιτεί τη χρήση διαλυτών και μπορεί να βελτιώσει τα όρια ανίχνευσης. Χρησιμοποιείται συστηματικά σε συνδυασμό με το σύστημα αέριας χρωματογραφίας (GC) και αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (GC-MS) και εφαρμόζεται επιτυχώς σε μια πληθώρα ενώσεων, ειδικά για την εκχύλιση πτητικών και ημι-πτητικών οργανικών ρύπων σε δείγματα νερού και τροφίμων (Kataoka *et al.*, 2000). Επίσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με την υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και την υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (LC-MS) για την ανάλυση μη πτητικών συστατικών ή θερμικά ασταθών ενώσεων (Xu *et al.* 2016).

Η συσκευή SPME αποτελείται από μια βελόνα, στο εσωτερικό της οποίας βρίσκεται ενσωματωμένη μια ίνα πυριτίου. Όταν η ίνα εισάγεται στο δείγμα, ο αναλύτης κατανέμεται μεταξύ του δείγματος και της στατικής φάσης της ίνας έως ότου επιτευχθεί ισορροπία. Λαμβάνουν χώρα οι μηχανισμοί της κατανομής και της προσρόφησης, αναλόγως της χρησιμοποιούμενης στατικής φάσης (Kataoka *et al.*, 2000).

Χρησιμοποιούνται δύο ειδών τεχνικές SPME: η SPME με εμβάπτιση (Direct Immersion Solid-Phase Microextraction, DI-SPME) και η SPME στον υπερκείμενο χώρο (Headspace Solid-Phase Microextraction, HS-SPME). Στην περίπτωση της SPME με εμβάπτιση, η ίνα βυθίζεται στο διάλυμα του δείγματος, και εφαρμόζεται όταν η προσδιοριζόμενη ουσία εμφανίζει πολύ μικρή ή καθόλου πτητικότητα. Αντίθετα, στην περίπτωση που η προσδιοριζόμενη ένωση είναι πτητική ή ημι-πτητική, τότε επιλέγεται η τεχνική της SPME στον υπερκείμενο χώρο, όπου η ίνα είναι εκτεθειμένη στον υπερκείμενο χώρο του δείγματος μέσα στο φιαλίδιο χωρίς να έρχεται σε επαφή με αυτό (Εικόνα 8) (Kataoka *et al.*, 2000).

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της Headspace SPME.



Εικόνα 8. Αριστερά: απεικόνιση μεθόδου Headspace SPME, Δεξιά: απεικόνιση μεθόδου Direct Immersion SPME (Kataoka *et al.*, 2000)

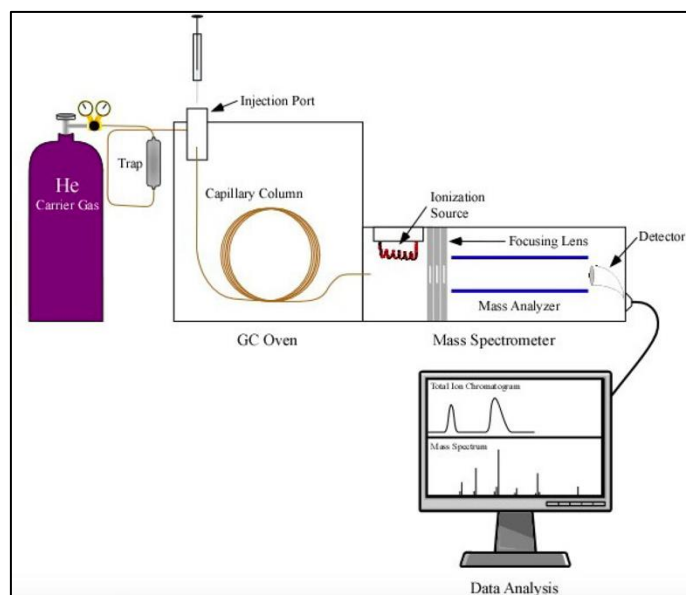
5. Αέρια χρωματογραφία - φασματομετρία μαζών (GC-MS)

Από τα μέσα της δεκαετίας του 1950 που αναπτύχθηκε η τεχνική της αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (GC-MS), η χρησιμοποίησή της έχει καταστεί απαραίτητη στα εργαστήρια χημικής ανάλυσης. Η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό φαρμάκων και μεταβολιτών στη φαρμακευτική, μοριακών βαρών και συγκεντρώσεων στοιχείων σε πολύπλοκα μείγματα. Αδιαμφισβήτητα όμως, η σημαντικότερη χρήση της τεχνικής αυτής είναι ο προσδιορισμός πτητικών και ημιπτητικών οργανικών ενώσεων σε σύνθετα μείγματα, όπως αυτά των τροφίμων, του νερού, του εδάφους και άλλων περιβαλλοντικών δειγμάτων (Sneddon *et al.*, 2007).

5.1. Αέρια χρωματογραφία (GC)

Η αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography-GC) είναι μια μέθοδος διαχωρισμού και ανίχνευσης πτητικών οργανικών ενώσεων και διάφορων ανόργανων αερίων σε ένα μείγμα. Η GC προτάθηκε για πρώτη φορά τη δεκαετία του 1950 ως ενόργανη τεχνική ανάλυσης, και έκτοτε έχει εξελιχθεί σε σπουδαίο εργαλείο που χρησιμοποιείται σε πολλά εργαστήρια (Van Sant, 1997).

Ο αέριος χρωματογράφος αποτελείται από δύο τμήματα: (α) το φέρον αέριο και το κύριο μέρος του χρωματογράφου, στο οποίο γίνεται ο διαχωρισμός, και (β) το σύστημα ανίχνευσης, καταγραφής και αποτίμησης του σήματος (Εικόνα 9).



Εικόνα 9. Διάταξη συστήματος GC-MS (Wu *et al.*, 2012)

Το φέρον αέριο οδηγείται στη στήλη από τη φιάλη υψηλής πίεσης, μέσα από ρυθμιστές παροχής. Ως φέρον αέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοδήποτε αέριο σε υπερκαθαρή κατάσταση, ώστε να μπορεί να διαχωριστεί στον ανιχνευτή από τα διάφορα συστατικά του προς ανάλυση μείγματος (συνήθως ήλιο, αργό, άζωτο, υδρογόνο). Η εισαγωγή του δείγματος πραγματοποιείται στη βαλβίδα εισαγωγής στην κορυφή της στήλης με μικροσύριγγα, όπου τα διάφορα συστατικά του δείγματος συμπαρασύρονται κατά μήκος της στήλης από το φέρον αέριο και διαχωρίζονται. Η ταχύτητα και η ικανότητα διαχωρισμού εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, και για αυτόν το λόγο η στήλη βρίσκεται μέσα σε ένα φούρνο ακριβείας ο οποίος δίνει αυστηρά επαναλήψιμες συνθήκες. Οι στήλες που χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο είναι τριχοειδείς γυάλινες στήλες μήκους μέχρι 25 m, με μορφή σχήματος έλικας και πολύ μικρή διάμετρο. Μετά το διαχωρισμό των συστατικών, αυτά εισέρχονται στον ανιχνευτή που βρίσκεται τοποθετημένος στο τέλος της στήλης, δίνοντας ηλεκτρικά σήματα, τα οποία ενισχύονται και καταγράφονται στο καταγραφικό σύστημα που είναι συνδεδεμένο με μικροϋπολογιστή (Παπαδογιάννης και Σαμανίδου, 2001).

Σήμερα, η αέρια χρωματογραφία χρησιμοποιείται για την ανάλυση πτητικών ουσιών σε τρόφιμα, φάρμακα, βιομηχανίες αρωματοποιίας, περιβαλλοντικά δείγματα και την τοξικολογία.

5.2. Φασματομετρία μαζών (MS)

Στη φασματομετρία μαζών επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός φορτισμένων μορίων-ιόντων ανάλογα με τη μάζα τους και που βρίσκονται σε αέρια κατάσταση.

Το φασματόμετρο μάζας αποτελείται από:

- το σύστημα εισαγωγής, όπου λαμβάνει χώρα η εξάτμιση των ενώσεων
- το σύστημα ιονισμού του δείγματος, στο οποίο παράγονται ιόντα από ουδέτερα μόρια στην αέρια φάση
- τον αναλυτή μάζας, όπου τα ιόντα επιταχύνονται από ηλεκτρικό πεδίο και διαχωρίζονται ανάλογα με το λόγο μάζας/φορτίου και τέλος,
- τον ανιχνευτή, όπου τα διαχωρισμένα ιόντα ανιχνεύονται και καταγράφονται

Όλα τα τμήματα του φασματομέτρου μαζών βρίσκονται σε συνθήκες κενού και πίεσης $\approx 10^{-3}$ Pa (Παπαδογιάννης και Σαμανίδου, 2001).

5.3. Συνδυασμένη τεχνική αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (GC-MS)

Στη συνδυασμένη τεχνική GC-MS το φασματόμετρο μαζών μπορεί να αποτελέσει ανιχνευτή στην αέρια χρωματογραφία αλλά και ο αέριος χρωματογράφος να αποτελεί το σύστημα εισαγωγής του δείγματος για το φασματόμετρο μαζών. Αυτή η συνδυασμένη τεχνική έχει επομένως τη δυνατότητα αξιοποίησης και των δύο τεχνικών, τον άριστο διαχωρισμό και ποσοτικό προσδιορισμό που παρέχει ο αέριος χρωματογράφος και την ταυτοποίηση που παρέχει το φασματόμετρο μαζών.

Ένα πρόβλημα ασυμβατότητας είναι η διαφορά στην πίεση στην οποία λειτουργούν το GC και το MS. Η πίεση που εξέρχεται από τον αέριο χρωματογράφο είναι υψηλή (ατμοσφαιρική, 10^5 Pa), ενώ στο φασματόμετρο μαζών, που είναι σχεδιασμένο να λειτουργεί σε υψηλό κενό, επιτρέπεται πίεση $\leq 10^{-3}$ Pa. Η μείωση της πίεσης μπορεί να οδηγήσει σε μη ανιχνεύσιμες ποσότητες, καθώς τα προς μελέτη συστατικά βρίσκονται σε μικρά ποσοστά (Παπαδογιάννης και Σαμανίδου, 2001).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6. Μεθοδολογία

6.1. Δειγματοληψία

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας εξετάστηκαν 12 δείγματα, 4 διαφορετικών στελεχών του είδους *P. eryngii*, που καλλιεργήθηκαν σε τρία διαφορετικά υποστρώματα. Τα υποστρώματα ήταν (α) σκέτο άχυρο (WS), (β) υπόστρωμα με φύλλα ελιάς και απόβλητα διφασικού ελαιοτριβείου (OL) και (γ) υπόστρωμα άχυρου εμπλουτισμένο με υποπροϊόντα οиноποιίας, συγκεκριμένα στέμφυλα σταφυλιού (GM). Τα δείγματα καλλιεργήθηκαν από μυκήλια που διατηρούνται στην τράπεζα στελεχών μανιταριών του Εργαστηρίου Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Για την καλλιέργεια των μανιταριών χρησιμοποιήθηκαν σακούλες προπυλενίου εμπλουτισμένες με τα διαφορετικά υποστρώματα, οι οποίες αποστειρώθηκαν σε θερμοκρασία 121 °C και υπό πίεση 1,1 atm για το χρονικό διάστημα μίας ώρας (1h). Στη συνέχεια, οι σακούλες εμβολιάστηκαν με «σπόρο» μανιταριών (*spawn*) σε αναλογία 3% w/w, που είχε αναπτυχθεί προηγουμένως σε θρεπτικό μέσο.

Ο αποικισμός του υποστρώματος από το μυκήλιο πραγματοποιήθηκε σε συνθήκες όμοιες με αυτές που αναφέρονται στη μελέτη των [Zervakis et al. \(2013\)](#). Συγκεκριμένα, η θερμοκρασία ρυθμίστηκε στους 25 °C στο σκοτάδι. Στη συνέχεια, οι συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτισμού διαμορφώθηκαν σε 18 °C, 95% και 700 lux/m² αντίστοιχα. Τέλος, για την παραγωγή των μανιταριών τα επίπεδα CO₂ διατηρήθηκαν κάτω από τα 1200 ppm, ενώ η υγρασία ρυθμίστηκε στο 80% και ο φωτισμός αυξήθηκε σε 1000 lux/m².

Στον Πίνακα 11 παρουσιάζεται ο αριθμός των δειγμάτων που μελετήθηκαν και που αντιστοιχεί σε κάθε στέλεχος και υπόστρωμα.

Πίνακας 11. Αριθμός δειγμάτων που μελετήθηκαν και που αντιστοιχούν σε κάθε υπόστρωμα, όπου WS: Wheat Straw (άχυρο σίτου), GM: Grape Marc (άχυρο σίτου και στέμφυλα σταφυλιού) και OL: Olive Leaves (φύλλα ελιάς και απόβλητα διφασικού ελαιοτριβείου)

Υπόστρωμα	Δείγμα	Επαναλήψεις
WS	106WS	2
	3069WS	3
	3066WS	3
	3065WS	2
GM	106GM	2
	3069GM	4
	3066GM	4
	3065GM	4
OL	106OL	2
	3069OL	4
	3066OL	2
	3065OL	4

6.2. Προκατεργασία δειγμάτων

Τα καρποσώματα συλλέχθηκαν από το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών τοποθετημένα σε στεγανά πλαστικά πωματισμένα φιαλίδια και τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη στους -20 °C.

Για την αναλυτική μέθοδο του προσδιορισμού των πτητικών οργανικών ενώσεων χρησιμοποιήθηκαν τα εξής:

Αντιδραστήρια:

- Κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου (NaCl)
- Διάλυμα εσωτερικού προτύπου (Internal Standard Solution, IS) 4-μεθυλο-1-πεντανόλη (4-methyl-1-pentanol) 8,13 μg /mL σε διαλύτη μεθανόλη καθαρότητας HPLC
- Υψηλής καθαρότητας ήλιο ως φέρον αέριο (99,999%)

Εξοπλισμός:

- Συσκευή SPME: Restek PAL SPME Manual Injection Kit (Εικόνα 10)
- Ίνα SPME: Restek SPME 50/30 Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) 0,75mm x 6,35 x 78,5
- Vials (Mininert)
- Τριχοειδής στήλη Agilent J&W DB-WAX με διαστάσεις 30 m $\times$ 0,25 mm, και πάχος επικάλυψης 0,25 μm
- Αέριος χρωματογράφος Agilent Technologies HP6890N (Hewlett Packard), Network GC System
- Φασματοόμετρο μαζών Agilent Technologies 5973 inert (Mass Selective Detector, MSD)

Για την πειραματική διαδικασία, συλλεγόταν με τεμαχισμό ένα γραμμάριο δείγματος (1 g) από τα επιμέρους τμήματα του καρποσώματος κάθε φορά, και τοποθετούνταν στα γυάλινα φιαλίδια (vials) όγκου 15 mL. Στη συνέχεια, ακολουθούσε προσθήκη 4 mL κορεσμένου διαλύματος χλωριούχου νατρίου (NaCl), 50 μL του εσωτερικού προτύπου (4-μεθυλ-1-πεντανόλης) συγκέντρωσης 8,13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ και μαγνητάκι ανάδευσης. Τα γυάλινα φιαλίδια σφραγίστηκαν με πώματα εφοδιασμένα με κατάλληλα ελαστικά διαφράγματα (septa).

Αρχικά, κάθε γυάλινο φιαλίδιο θερμάνθηκε σε θερμοστατούμενο μαγνητικό αναδευτήρα στους 40°C για το χρονικό διάστημα 5 min, ώστε να επιτευχθεί ισορροπία μεταξύ του δείγματος και του υπερκείμενου χώρου (equilibration). Έπειτα, η ίνα SPME τοποθετήθηκε στον υπερκείμενο χώρο τρυπώντας το septum (Εικόνα 11). Το σύστημα διατηρήθηκε στους 40 °C για χρόνο 40 min, ώστε να επέλθει ισορροπία μεταξύ της ίνας και του υπερκείμενου χώρου.

Ύστερα, με τη βοήθεια της σύριγγας η ίνα μεταφέρθηκε στον εισαγωγέα του αέριου χρωματογράφου, όπου παρέμεινε για 20 min προκειμένου τα πτητικά συστατικά να

εκροφηθούν αποτελεσματικά στη στήλη με τη βοήθεια του φέροντος αερίου και να ληφθεί το χρωματογράφημα.

Τέλος, έγινε επεξεργασία των χρωματογραφημάτων με τη βοήθεια των βιβλιοθηκών φασμάτων μαζών NIST και WILEY 2005, για την αναγνώριση των ενώσεων που ανιχνεύθηκαν και τον υπολογισμό των συγκεντρώσεών τους κατά βάρος (w/w) σε μg πτητικών ενώσεων / g νωπού βάρους μανιταριών.



Εικόνα 10. Συσκευή SPME που φέρει την ίνα



Εικόνα 11. Η ίνα στον υπερκείμενο χώρο του vial

6.3. Παρασκευή εσωτερικού πρότυπου διαλύματος (IS)

Το εσωτερικό πρότυπο (Internal Standard, IS) που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία ήταν 4-μεθυλο-1-πεντανόλη. Η συγκέντρωση του ήταν 8,13 mg/L MeOH, ή 8,13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ή 8,13 ng/ μL). Σε όλα τα δείγματα προστέθηκαν 50 μL εσωτερικού προτύπου ή 0,406 μg 4-μεθυλο-1-πεντανόλης.

Αρχικά, παρασκευάστηκε ένα διάλυμα με 16,26 mg 4-μεθυλο-1-πεντανόλης σε 20 mL HPLC MeOH. Η συγκέντρωση του διαλύματος αυτού ήταν 0,813 mg/mL ή 813 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (διάλυμα Α). Στη συνέχεια, αραιώθηκαν 100 μL (0,1 mL) διαλύματος Α σε 10 mL MeOH για να παρασκευαστεί διάλυμα συγκέντρωσης 8,13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (διάλυμα Β).

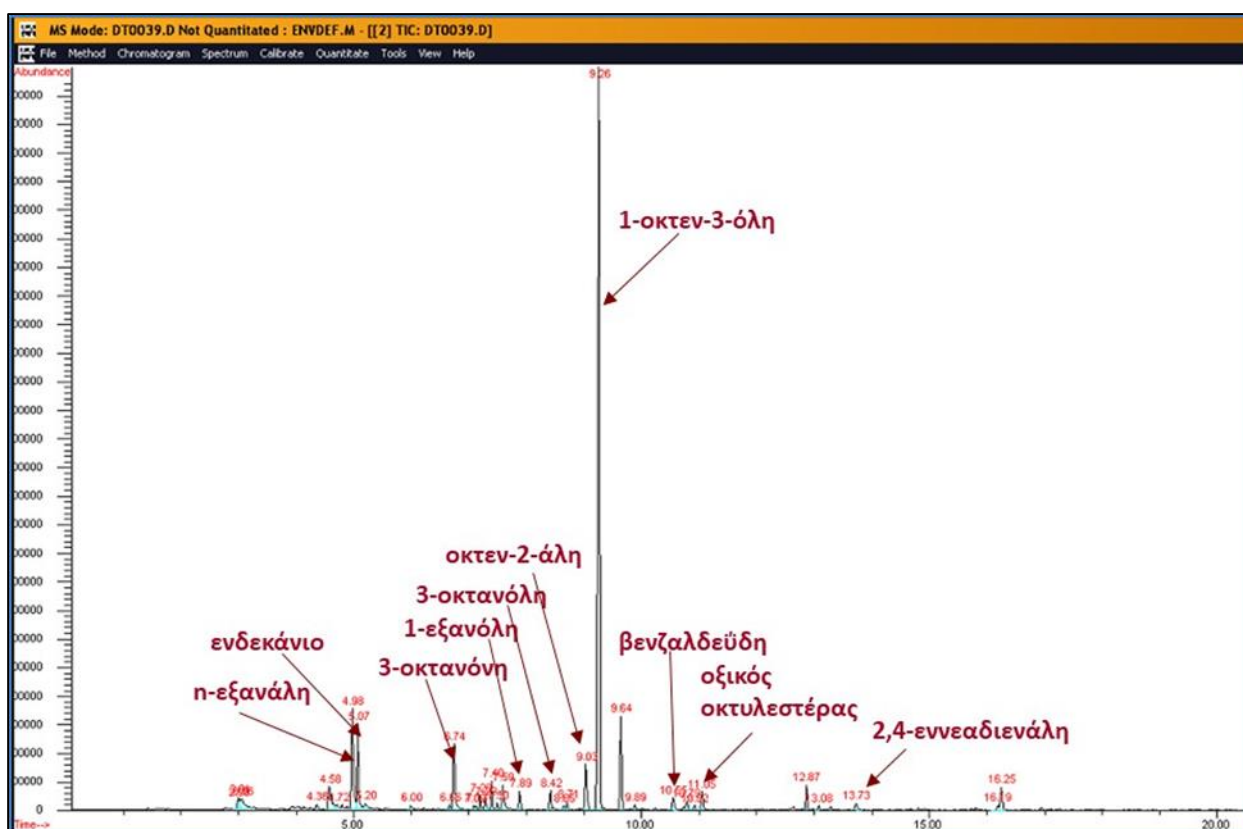
6.4. Συνθήκες αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών

Για τον προσδιορισμό των πτητικών συστατικών χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος HP6890N της Agilent Technologies (Hewlett Packard), εφοδιασμένος με ανιχνευτή μάζας MS 5973 inert, Mass Selective Detector της Agilent Technologies.

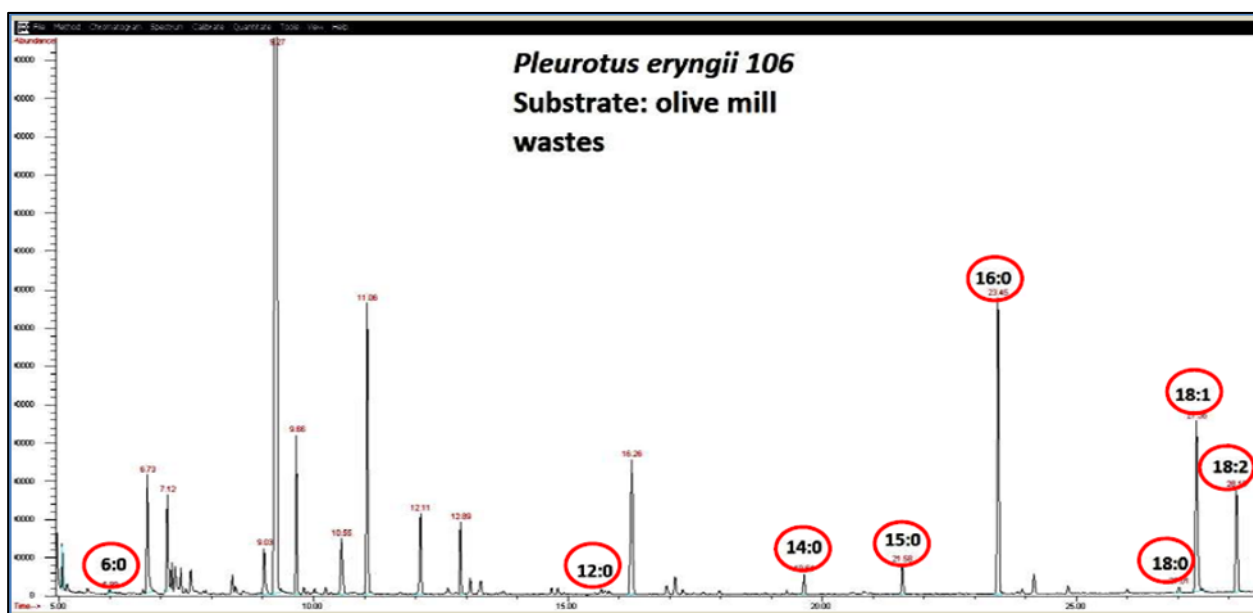
Ο διαχωρισμός των πτητικών συστατικών έγινε σε τριχοειδή στήλη Agilent J&W DB-WAX με εσωτερική επικάλυψη 50% phenylmethylpolysiloxane, μήκους 30m, εσωτερικής διαμέτρου 0,25 mm και πάχους υμενίου 0,25μm. Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε ήλιο υψηλής καθαρότητας (99,999%) με ροή 1,0 mL/min.

Η θερμοκρασία του φούρνου του χρωματογράφου ακολούθησε το πρόγραμμα: αρχική θερμοκρασία 35 °C για 2 min, αύξηση θερμοκρασίας με ρυθμό 20 °C/min μέχρι τους 100 °C και απευθείας αύξηση θερμοκρασίας με ρυθμό 5 °C/min μέχρι τους 240 °C, όπου παρέμεινε σταθερή για 16,75 min. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης ήταν 50 min.

Στα Σχήματα 1 και 2 παρουσιάζονται δύο ενδεικτικά αεριοχρωματογραφήματα.



Σχήμα 1. Αεριοχρωματογράφημα με τα κυριότερα πτητικά συστατικά σε νωπό δείγμα *Pleurotus eryngii*



Σχήμα 2. Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAMES) που ανιχνεύθηκαν σε πτητικά συστατικά νωπού *Pleurotus eryngii*

6.5. Στατιστική ανάλυση

Η σύγκριση των μέσων όρων πραγματοποιήθηκε μέσω του προγράμματος Statgraphics Centurion με ανάλυση διασποράς ANOVA (κριτήριο Fisher's LSD, σε επίπεδο σημαντικότητας $p \leq 0,05$).

7. Αποτελέσματα

Στην παρούσα εργασία αναλύθηκαν 4 διαφορετικά στελέχη του είδους *Pleurotus eryngii* που αναπτύχθηκαν σε 3 διαφορετικά υποστρώματα, ως προς το πτητικό τους προφίλ. Στα δείγματα αυτά ανιχνεύθηκαν συνολικά περισσότερες από 86 πτητικές ενώσεις, στις οποίες περιλαμβάνονται ενώσεις 8 ατόμων άνθρακα, κετόνες, αλκοόλες, αλδεΐδες, υδρογονάνθρακες, τερπένια, εστέρες, καθώς και μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων. Σε μεγαλύτερη αφθονία ανιχνεύθηκαν οι ενώσεις 8 ατόμων άνθρακα (C8 Compounds).

7.1. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε πτητικά συστατικά mg/g FW

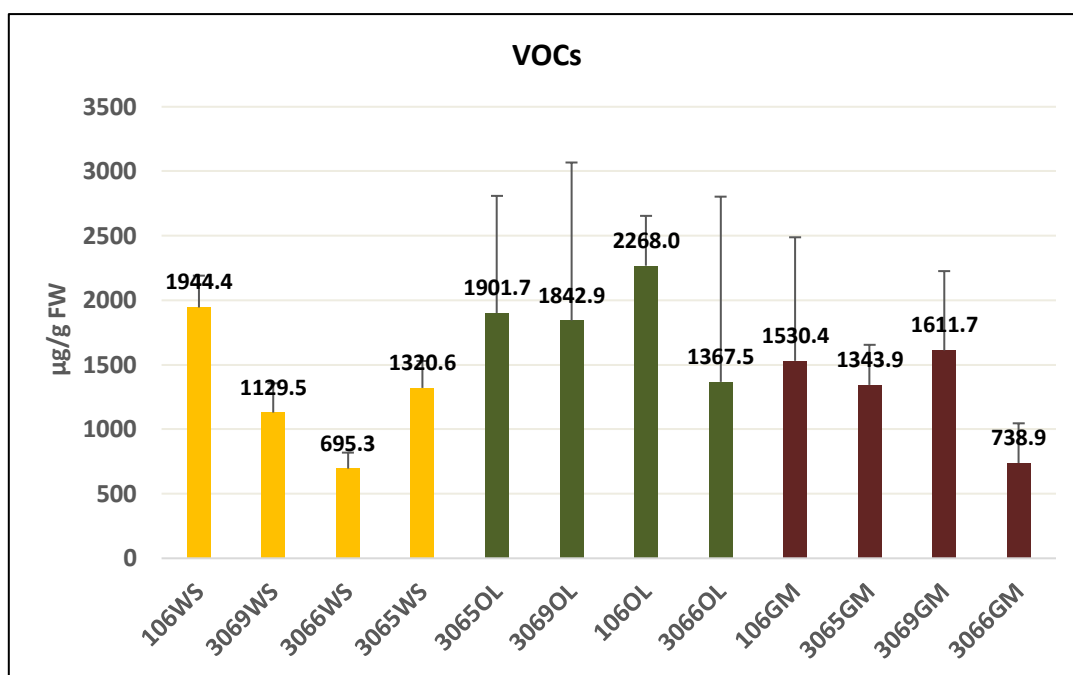
❖ Η ολική περιεκτικότητα σε πτητικά οργανικά συστατικά των δειγμάτων *Pleurotus eryngii* παρουσιάζεται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12. Περιεκτικότητα σε πτητικά συστατικά των μανιταριών σε μg/g FW (όπου WS: άχυρο σίτου, OL: φύλλα ελιάς, GM: στέμφυλα σταφυλιού)

#	Δείγμα	Υπόστρωμα	VOCs (μg/g) FW
1.	106WS	WS	1940
2.	3069WS	WS	1130
3.	3066WS	WS	700
4.	3065WS	WS	1320
5.	106OL	OL	2270
6.	3069OL	OL	1840
7.	3066OL	OL	1370
8.	3065OL	OL	1900
9.	106GM	GM	1530

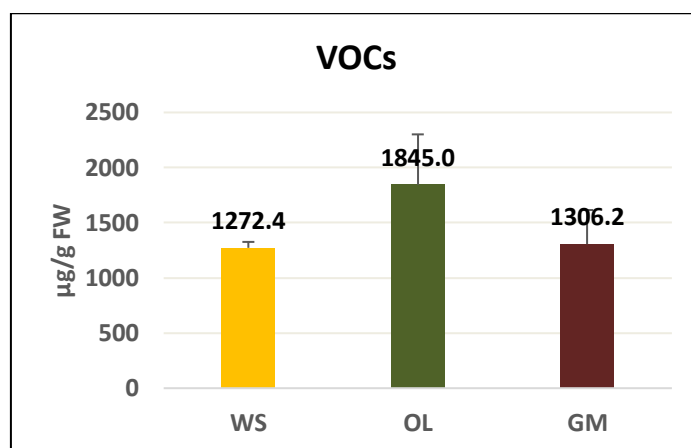
10.	3069GM	GM	1610
11.	3066GM	GM	740
12.	3065GM	GM	1340

- ❖ Η περιεκτικότητα των μανιταριών *P. eryngii* σε πτητικά συστατικά παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.



Σχήμα 3. Περιεκτικότητα δειγμάτων *P. eryngii* σε VOCs (μg/g) FW

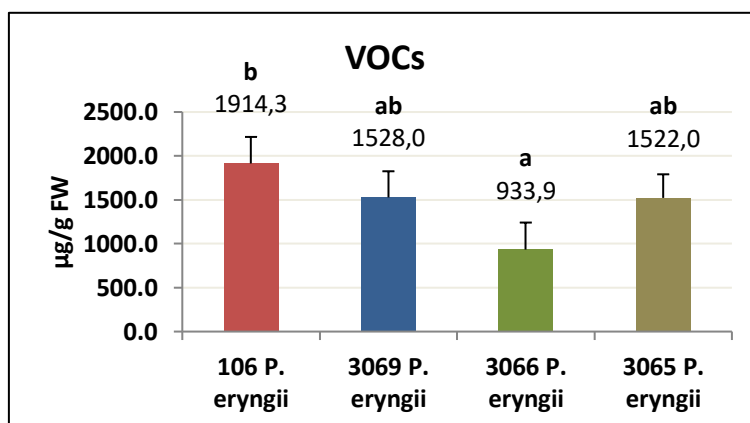
Από το Σχήμα 3 προκύπτει ότι η περιεκτικότητα των *P. eryngii* σε πτητικά οργανικά συστατικά (μg/g FW), ήταν υψηλότερη στο καλλιεργητικό υπόστρωμα ανάπτυξης με τα φύλλα ελιάς (OL). Πιο αναλυτικά, την υψηλότερη περιεκτικότητα σε VOCs εμφάνισε το στέλεχος 106 *P. eryngii* κατά την ανάπτυξή του σε OL με $2268,0 \pm 386,5$ μg/g FW, ακολουθούμενο από το στέλεχος 106 *P. eryngii* καλλιεργημένο σε υπόστρωμα WS με $1944,4 \pm 246,7$ μg/g FW.



Σχήμα 4. Περιεκτικότητα μανιταριών σε VOCs (μg/g FW), ανάλογα με το καλλιεργητικό υπόστρωμα

Επίσης, τα πτητικά συστατικά εμφανίζουν ελάχιστη αύξηση κατά την ανάπτυξή τους σε στέμφυλα σταφυλιού (GM) σε σχέση με την ανάπτυξή τους σε άχυρο σίτου (WS), όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός, πως το στέλεχος 106 *P. eryngii* παρουσίασε συνολικά την υψηλότερη περιεκτικότητα σε πτητικά συστατικά, σε σχέση με τα υπόλοιπα στελέχη, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $1914,3 \pm 301,8$ μg/g FW. Το στέλεχος 3069 *P. eryngii* παρουσίασε περιεκτικότητα $1528,0 \pm 297,2$ μg/g, το 3065 *P. eryngii* $1522,0 \pm 268,6$ μg/g, και τη μικρότερη περιεκτικότητα σε πτητικά εμφάνισε το στέλεχος 3066 *P. eryngii*, με μόλις $933,9 \pm 307,1$ μg/g νωπού μανιταριού. Παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μέσων όρων των στελεχών 106 και 3066 *P. eryngii* (Σχήμα 5).



Σχήμα 5. Περιεκτικότητα σε πτητικά συστατικά των στελεχών *P. eryngii* (μg/g FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)

7.2. Πτητικά συστατικά σε *Pleurotus eryngii* καλλιεργημένων σε διαφορετικά υποστρώματα

7.2.1. Ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα (C8 Compounds)

- ❖ Η περιεκτικότητα των μανιταριών σε ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα παρουσιάζεται στους Πίνακες 13, 14 και 15.

Πίνακας 13. Περιεκτικότητα δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα WS σε ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα (μg/g FW)

Ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα	106WS	3069WS	3066WS	3065WS
1,3-Octadiene	1,0	0,1	nd	nd
3-Octanone	104,6	59,7	44,5	71,9
2-Octanone	3,9	2,0	1,7	4,1
Octanal	18,9	18,6	2,4	19,9
1-Octen-3-one	18,2	13,1	4,2	14,2
2,3-Octanedione	5,6	6,0	2,3	8,7
1-Octen-3-yl acetate	0,9	nd	nd	0,2
Octanoic acid methyl ester	4,1	nd	nd	0,2
3-Octanol	13,2	32,5	11,2	31,7
3-Octen-2-one	4,0	4,2	3,0	8,7
2-Octanol	nd	0,1	nd	0,1
2-Octenal	91,8	49,9	19,8	45,9
2-Ethylhexanol	1,5	2,3	2,2	2,9
1-Octen-3-ol	1203,9	661,0	411,4	736,6
1-Octanol	53,7	2,3	4,5	2,1
2,4-Octadienal	0,6	0,2	nd	0,1
2-Octen-1-ol	22,2	0,5	0,1	0,3

Πίνακας 14. Περιεκτικότητα δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα OL σε ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα (μg/g FW)

Ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα	106OL	3069OL	3066OL	3065OL
1,3-Octadiene	3,7	0,2	nd	0,5
3-Octanone	93,6	74,5	27,2	149,3
2-Octanone	nd	0,5	0,5	0,2
Octanal	21,3	54,2	2,9	143,2
1-Octen-3-one	13,7	13,0	3,3	18,6
2,3-Octanedione	1,6	3,1	3,3	4,2
1-Octen-3-yl acetate	1,5	nd	nd	nd
Octanoic acid methyl ester	1,4	nd	nd	nd

3-Octanol	18,1	9,9	6,4	45,3
3-Octen-2-one	0,1	2,0	1,5	1,6
2-Octanol	nd	nd	nd	Nd
2-Octenal	29,9	44,6	7,4	95,2
1-Hexanol, 2-ethyl-	1,9	1,8	1,5	2,7
1-Octen-3-ol	1529,1	1216,3	376,8	1915,7
1-Octanol	78,0	5,7	5,3	25,1
2,4-Octadienal	nd	nd	nd	1,0
2-Octen-1-ol	52,6	5,5	3,3	2,9

Πίνακας 15. Περιεκτικότητα δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα GM σε ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα (μg/g FW)

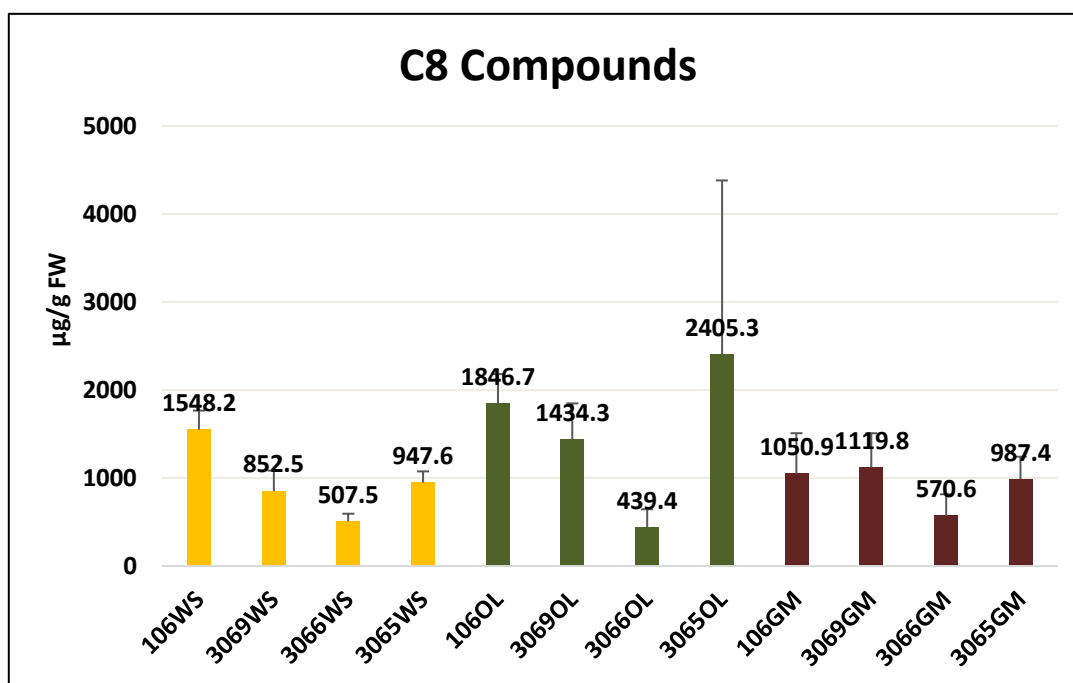
Ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα	106GM	3069GM	3066GM	3065GM
1,3-Octadiene	1,0	0,8	0,6	nd
3-Octanone	50,4	84,4	45,6	96,3
2-Octanone	0,3	3,2	1,8	4,2
Octanal	6,8	21,5	2,7	18,6
1-Octen-3-one	8,3	15,5	4,6	13,5
2,3-Octanedione	2,2	5,1	1,6	6,7
1-Octen-3-yl acetate	nd	nd	0,2	nd
Octanoic acid methyl ester	1,0	0,8	0,4	0,2
3-Octanol	2,7	26,9	16,4	35,0
3-Octen-2-one	1,4	6,1	1,9	7,3
2-Octanol	nd	0,3	0,3	0,6
2-Octenal	30,5	48,6	9,6	45,5
1-Hexanol, 2-ethyl-	0,3	1,8	1,4	1,9
1-Octen-3-ol	871,4	899,7	478,5	752,0
1-Octanol	34,3	3,1	4,7	1,6
2,4-Octadienal	nd	nd	nd	0,3
2-Octen-1-ol	36,3	0,8	0,3	3,6

Στα δείγματα *P. eryngii* ανιχνεύθηκαν 17 ενώσεις οκτώ ατόμων άνθρακα, εκ των οποίων 5 ήταν κετόνες, 6 αλκοόλες, 3 αλδεΐδες, 1 υδρογονάνθρακες, 1 μεθυλεστέρας λιπαρού οξέος και 1 εστέρας. Πράγματι, κύρια ένωση ανάμεσα σε αυτές εμφανίζεται η αλκοόλη Οκτενόλη (1-Octen-3-ol), που όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, είναι το πτητικό συστατικό που παράγεται σε αφθονία από ταμανιτάρια (Hanson, 2008), και συγκεκριμένα βρέθηκε σε συγκεντρώσεις 376,8-1915,7 μg/g FW. Ακολουθεί η κετόνη 3-Οκτανόνη (3-Octanone) με συγκεντρώσεις 27,2-149,3 μg/g FW, η αλδεΐδη 2-Οκτενόλη (2-Octenal) με συγκεντρώσεις 7,4-95,2 μg/g FW και η αλκοόλη Οκτανόλη (Octanal) σε συγκεντρώσεις 2,4-143,2 μg/g FW. Επιπλέον, σε μικρότερες

ποσότητες ανιχνεύονται η 1-Οκτανόλη (1-Octanol), η 2-Οκτεν-1-όλη (2-Octen-1-ol) και η 1-Οκτεν-3-όνη (1-Octen-3-one).

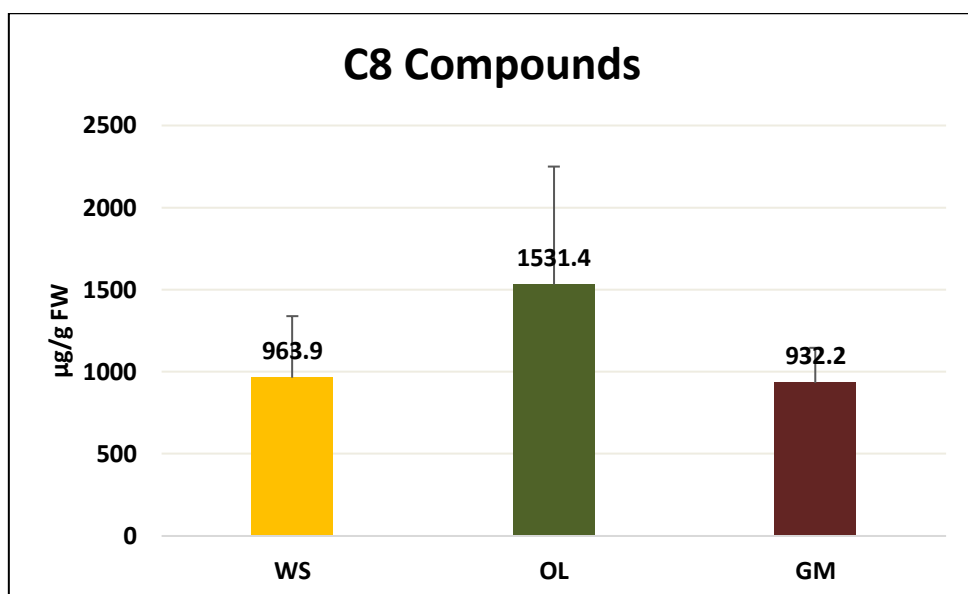
Όπως φαίνεται και στα Σχήματα 6 και 7, οι υψηλότερες συγκεντρώσεις σε C8 Compounds παρατηρήθηκαν στα δείγματα που καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα με φύλλα ελιάς (OL), ενώ τα δείγματα που καλλιεργήθηκαν σε άχυρο (WS) και στέμφυλα σταφυλιού (GM), παρουσίασαν παρόμοιες μεταξύ τους συγκεντρώσεις.

Συγκεκριμένα, το στέλεχος 3065 *P. eryngii* που αναπτύχθηκε σε υπόστρωμα OL εμφάνισε την υψηλότερη συγκέντρωση σε C8 Compounds με συνολική συγκέντρωση $2405,3 \pm 1977,2$ $\mu\text{g/g}$ FW (Σχήμα 6).



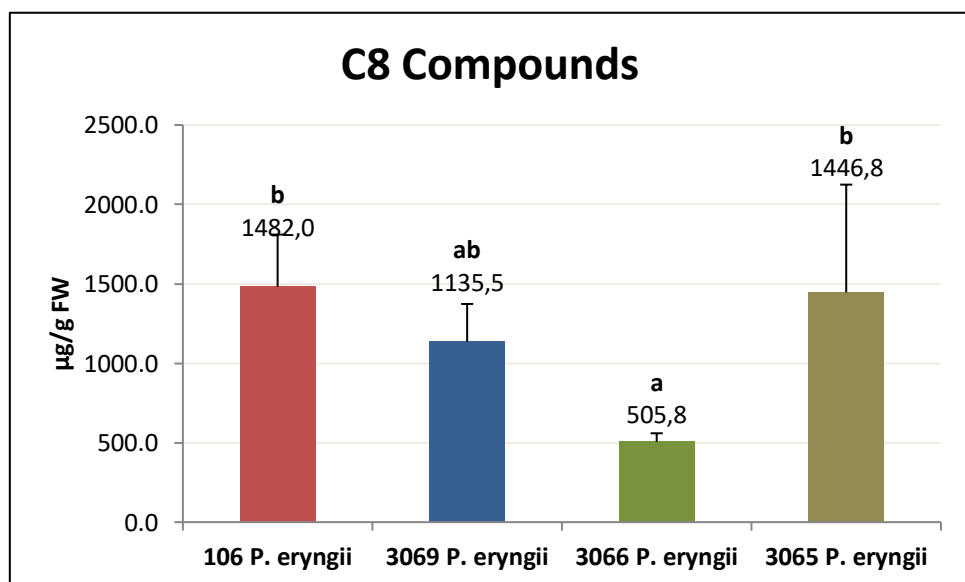
Σχήμα 6. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε C8 Compounds ($\mu\text{g/g}$ FW)

Ο υψηλότερος μέσος όρος συγκεντρώσεων των C8 Compounds ήταν στο υπόστρωμα OL με $1531,4 \pm 718,5$ $\mu\text{g/g}$ FW. Ακολούθησαν τα δείγματα σε υπόστρωμα WS με μέσο όρο συγκεντρώσεων $963,9 \pm 375,0$ $\mu\text{g/g}$ FW και τα δείγματα σε GM με μέσο όρο συγκεντρώσεων $932,2 \pm 213,9$ $\mu\text{g/g}$ FW (Σχήμα 7).



Σχήμα 7. Μέσος όρος συγκεντρώσεων σε C8 Compounds ανάλογα με το υπόστρωμα (μg/g FW)

Το στέλεχος 106 *P. eryngii* παρουσίασε την υψηλότερη περιεκτικότητα σε C8 Compounds με μέσο όρο συγκεντρώσεων $1482,0 \pm 328,2$ μg/g FW. Ακολούθησε το στέλεχος 3065 *P. eryngii* με μέσο όρο συγκεντρώσεων $1446,8 \pm 678,0$ μg/g FW, χωρίς όμως να εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά. Στο στέλεχος 3066 *P. eryngii* βρέθηκε η μικρότερη περιεκτικότητα σε C8 Compounds, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $505,8 \pm 53,6$ μg/g FW, και με στατιστικά σημαντική διαφορά με το 106 και 3065 *P. eryngii* (Σχήμα 8).



Σχήμα 8. Περιεκτικότητα σε C8 Compounds των στελεχών *P. eryngii* (μg/g FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)

7.2.2. Κετόνες

- ❖ Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε κετόνες παρουσιάζεται στους Πίνακες 16, 17 και 18.

Πίνακας 16. Συγκεντρώσεις δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα με άχυρο σίτου (WS) σε κετόνες (μg/g FW)

	Ketones	106WS	3069WS	3066WS	3065WS
C8	3-Octanone	104,6	59,7	44,5	71,9
C8	2-Octanone	3,9	2,0	1,7	4,1
C8	1-Octen-3-one	18,2	13,1	4,2	14,2
C8	2,3-Octanedione	5,6	6,0	2,3	8,7
	6-Methyl-5-hepten-2-one	0,4	0,7	0,3	1,1
C8	3-Octen-2-one	4,0	4,2	3,0	8,7
	Acetophenone	0,9	1,5	0,2	1,8

Πίνακας 17. Συγκεντρώσεις δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα OL σε κετόνες (μg/g FW)

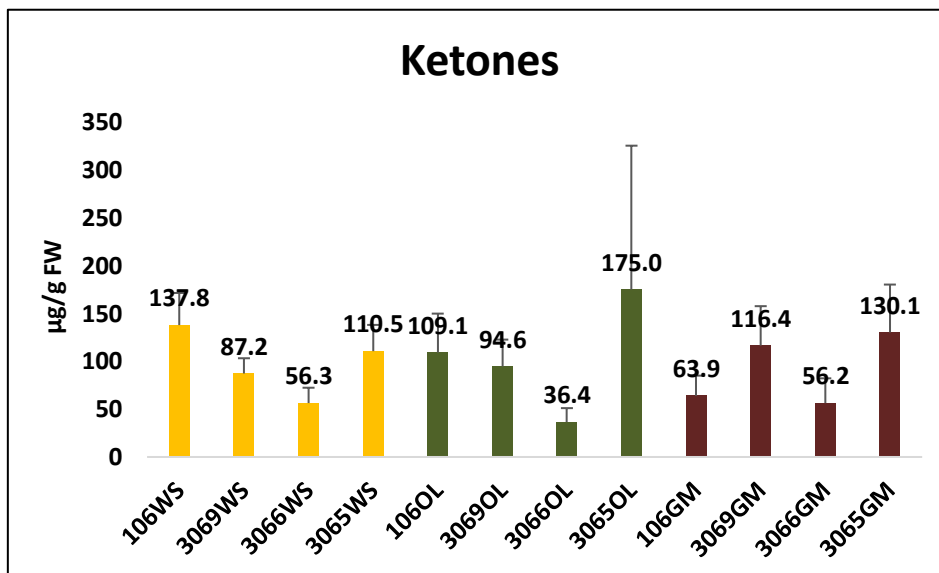
	Ketones	106OL	3069OL	3066OL	3065OL
C8	3-Octanone	93,6	74,5	27,2	149,3
C8	2-Octanone	nd	0,5	0,5	0,2
C8	1-Octen-3-one	13,7	13,0	3,3	18,6
C8	2,3-Octanedione	1,6	3,1	3,3	4,2
	6-Methyl-5-hepten-2-one	nd	0,5	0,3	0,3
C8	3-Octen-2-one	0,1	2,0	1,5	1,6
	Acetophenone	nd	0,9	0,2	1,0

Πίνακας 18. Συγκεντρώσεις δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα με στέμφυλα σταφυλιού (GM) σε κετόνες (μg/g FW)

	Ketones	106GM	3069GM	3066GM	3065GM
C8	3-Octanone	50,4	84,4	45,6	96,3
C8	2-Octanone	0,3	3,2	1,8	4,2
C8	1-Octen-3-one	8,3	15,5	4,6	13,5
C8	2,3-Octanedione	2,2	5,1	1,6	6,7
	6-Methyl-5-hepten-2-one	0,3	0,5	0,4	0,6
C8	3-Octen-2-one	1,4	6,1	1,9	7,3
	Acetophenone	0,9	1,7	0,4	1,6

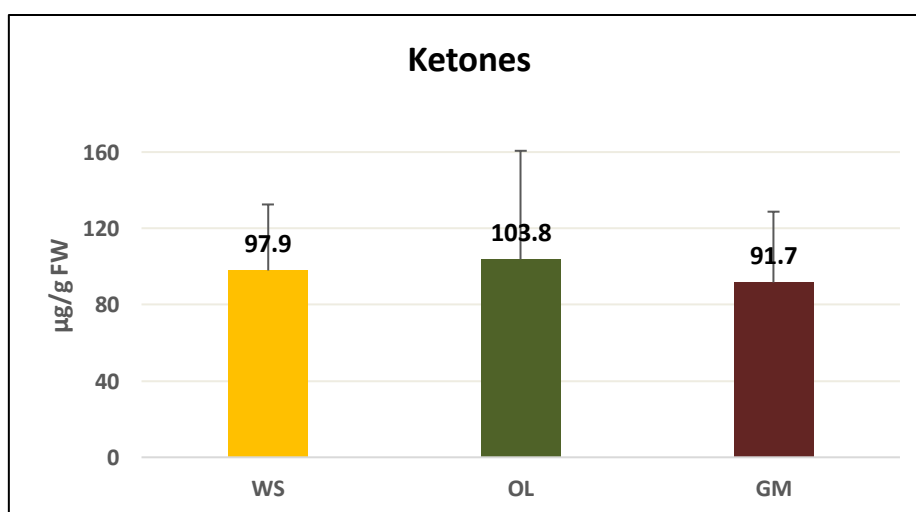
Στα δείγματα ανιχνεύθηκαν 7 κετόνες, εκ των οποίων οι 5 ανήκουν στις ενώσεις 8 ατόμων άνθρακα που αναφέρθηκαν προηγουμένως, 1 μεθυλοκετόνη (6-Methyl-5-hepten-2-one ή Sulcatone) και 1 αρωματική κετόνη (Acetophenone).

Σε όλα τα υποστρώματα πιο άφθονη ήταν η 3-Οκτανόνη (3-Octanone) με μέσο όρο συγκεντρώσεων 27,2-149,3 $\mu\text{g/g FW}$. Η 1-Οκτεν-3-όνη (1-Octen-3-one) ήταν η δεύτερη κετόνη με μέσο όρο συγκεντρώσεων 3,3-18,6 $\mu\text{g/g FW}$, και ακολουθεί η 2,3-Οκτανεδιόνη (2,3-Octanedione) με μέσο όρο συγκεντρώσεων 1,6-8,7 $\mu\text{g/g FW}$.



Σχήμα 9. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε κετόνες ($\mu\text{g/g FW}$)

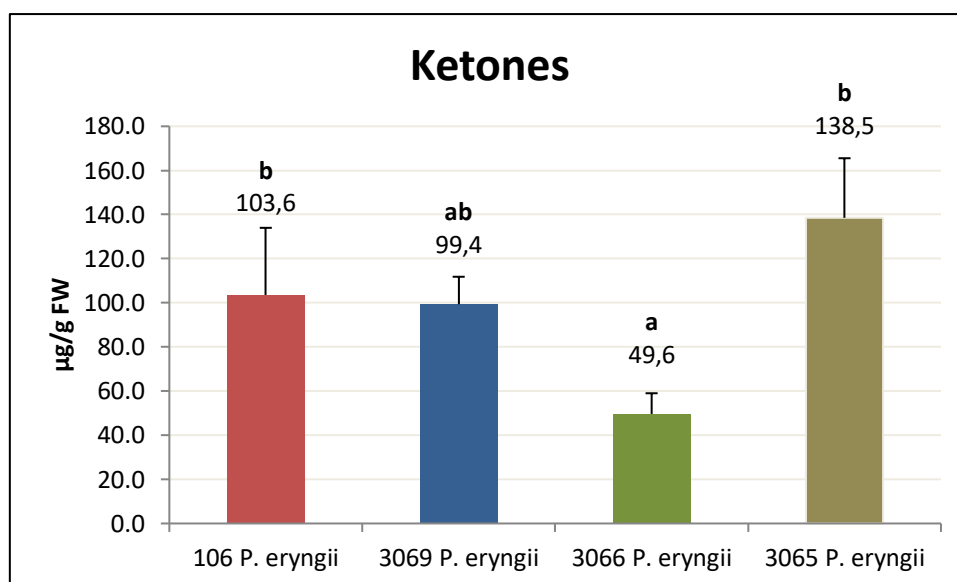
Στο Σχήμα 9 παρατηρείται πως την υψηλότερη συγκέντρωση σε κετόνες εμφάνισε το στέλεχος 3065 *P. eryngii* που αναπτύχθηκε σε υπόστρωμα OL, με συνολική συγκέντρωση $175,0 \pm 150,2$ $\mu\text{g/g FW}$. Ακολούθησε το στέλεχος 106 *P. eryngii* σε υπόστρωμα WS, με συνολική συγκέντρωση $137,8 \pm 33,6$ $\mu\text{g/g FW}$.



Σχήμα 10. Μέσος όρος συγκεντρώσεων δειγμάτων σε κετόνες ανάλογα με το υπόστρωμα ($\mu\text{g/g FW}$)

Στο Σχήμα 10 παρουσιάζεται ο μέσος όρος συγκεντρώσεων των δειγμάτων σε κετόνες ανάλογα με το καλλιεργητικό υπόστρωμα. Την υψηλότερη συγκέντρωση σε κετόνες εμφάνισαν τα δείγματα που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα OL, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $103,8 \pm 56,9$ $\mu\text{g/g}$ FW. Ακολούθησαν τα δείγματα σε υπόστρωμα WS, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $97,9 \pm 34,6$ $\mu\text{g/g}$ FW και τέλος, τα δείγματα σε GM, που εμφάνισαν μέσο όρο συγκεντρώσεων σε κετόνες $91,7 \pm 37,1$ $\mu\text{g/g}$ FW.

Το στέλεχος 3065 *P. eryngii* εμφάνισε την υψηλότερη περιεκτικότητα σε κετόνες, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $138,5 \pm 27,0$ $\mu\text{g/g}$ FW. Ακολούθησε το στέλεχος 106 με μέσο όρο συγκεντρώσεων $103,6 \pm 30,4$ $\mu\text{g/g}$ FW. Τη μικρότερη περιεκτικότητα σε κετόνες παρουσίασε το στέλεχος 3066, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $49,6 \pm 9,4$ $\mu\text{g/g}$ FW, με στατιστικά σημαντική διαφορά με τα στελέχη 3065 και 106 *P. eryngii* (Σχήμα 11).



Σχήμα 11. Περιεκτικότητα σε κετόνες των στελεχών *P. eryngii* ($\mu\text{g/g}$ FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)

7.2.3. Αλκοόλες

Στα δείγματα ανιχνεύθηκαν 8 αλκοόλες, εκ των οποίων οι 5 ανήκουν στις ενώσεις 8 ατόμων άνθρακα (C8 Compounds).

- ❖ Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε αλκοόλες παρουσιάζεται στους Πίνακες 19, 20 και 21.

Πίνακας 19. Περιεκτικότητα δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε άχυρο σίτου (WS) σε αλκοόλες (μg/g FW)

	Alcohols	106WS	3069WS	3066WS	3065WS
	Cyclopentanol	1,5	0,3	0,2	2,1
	1-Pentanol	2,2	0,5	0,2	0,3
	1-Hexanol	11,1	0,1	1,2	0,7
C8	3-Octanol	13,2	32,5	11,2	31,7
C8	1-Octen-3-ol	1203,9	661,0	411,4	736,6
	2-Ethylhexanol	1,5	2,3	2,2	2,9
C8	1-Octanol	53,7	2,3	4,5	2,1
C8	2-Octen-1-ol	22,2	0,5	0,1	0,3

Πίνακας 20. Περιεκτικότητα δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε φύλλα ελιάς (OL) σε αλκοόλες, (μg/g FW)

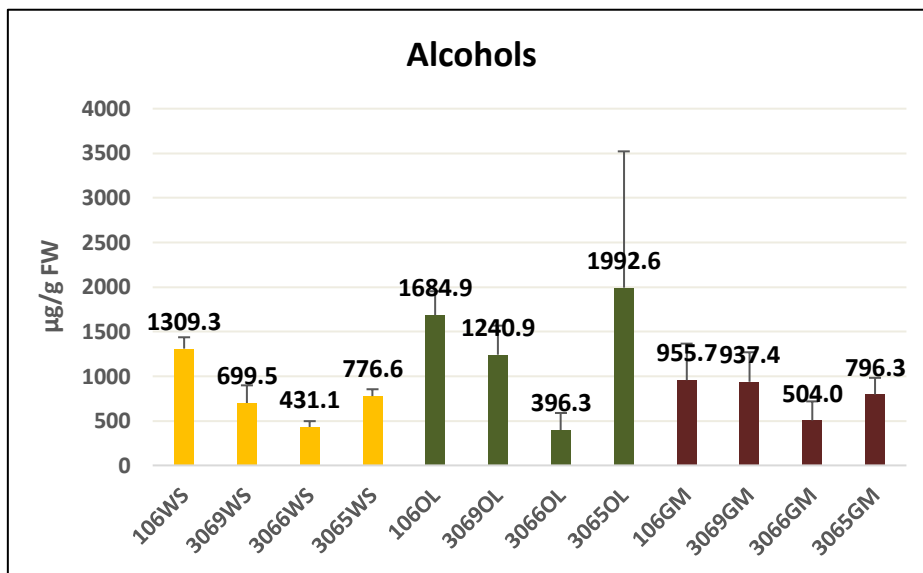
	Alcohols	106OL	3069OL	3066OL	3065OL
	Cyclopentanol	1,8	1,5	1,0	0,7
	1-Pentanol	nd	nd	0,3	0,1
	1-Hexanol	3,5	0,2	1,7	0,1
C8	3-Octanol	18,1	9,9	6,4	45,3
C8	1-Octen-3-ol	1529,1	1216,3	376,8	1915,7
	2-Ethylhexanol	1,9	1,8	1,5	2,7
C8	1-Octanol	78,0	5,7	5,3	25,1
C8	2-Octen-1-ol	52,6	5,5	3,3	2,9

Πίνακας 21. Περιεκτικότητα δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε στέμφυλα σταφυλιού (GM) σε αλκοόλες, (μg/g FW)

	Alcohols	106GM	3069GM	3066GM	3065GM
	Cyclopentanol	1,0	1,9	0,9	0,2
	1-Pentanol	0,8	1,4	0,3	1,4
	1-Hexanol	8,9	1,9	1,5	0,5
C8	3-Octanol	2,7	26,9	16,4	35,0
C8	1-Octen-3-ol	871,4	899,7	478,5	752,0
	2-Ethylhexanol	0,3	1,8	1,4	1,9
C8	1-Octanol	34,3	3,1	4,7	1,6
C8	2-Octen-1-ol	36,3	0,8	0,3	3,6

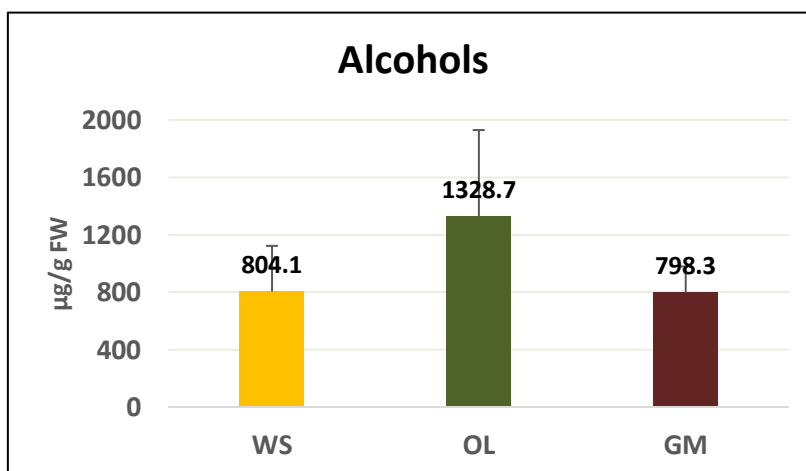
Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως στις ενώσεις με 8 ατόμων άνθρακα, ανάμεσα στις αλκοόλες ανιχνεύεται σε αφθονία η 1-Οκτεν-3-όλη (1-Octen-3-ol) σε συγκεντρώσεις 376,8-1915,7 μg/g FW. Εκτός από τις ενώσεις C8 Compounds, ανιχνεύεται ανάμεσα στις αλκοόλες και η 1-Εξανόλη (1-Hexanol) σε συγκεντρώσεις 0,1-11,1 μg/g FW.

Στο Σχήμα 12 φαίνεται πως την υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλες εμφάνισε το στέλεχος 3065 *P. eryngii* που αναπτύχθηκε σε υπόστρωμα OL, με συνολική συγκέντρωση $1992,6 \pm 1528,9$ $\mu\text{g/g}$ FW. Ακολούθησε το στέλεχος 106 *P. eryngii* σε OL, με συνολική συγκέντρωση σε αλκοόλες $1684,9 \pm 267,5$ $\mu\text{g/g}$ FW.



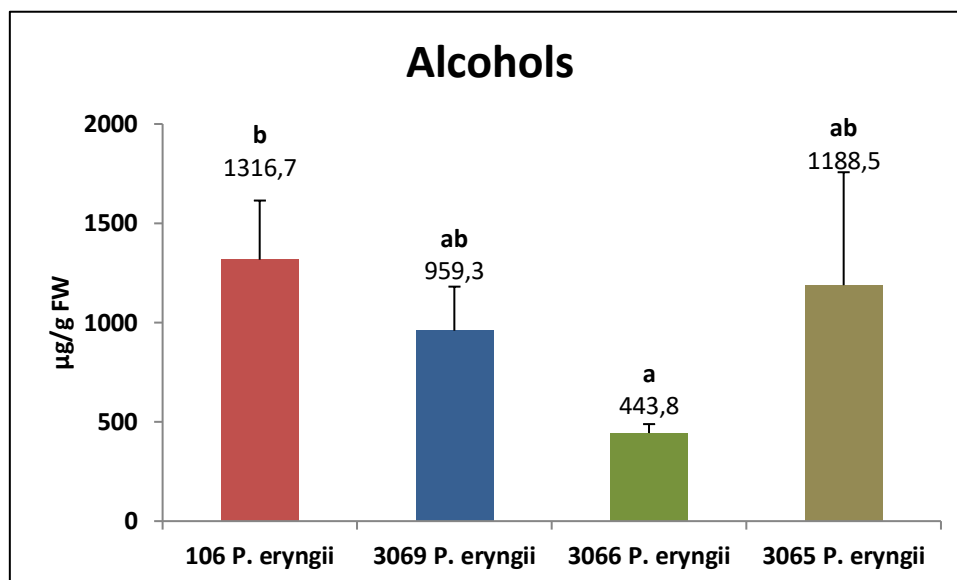
Σχήμα 12. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε αλκοόλες ($\mu\text{g/g}$ FW)

Από το Σχήμα 13 παρατηρείται πως τα δείγματα που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα OL εμφάνισαν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλες, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $1328,7 \pm 601,0$ $\mu\text{g/g}$ FW. Τα δείγματα σε υποστρώματα WS και GM εμφάνισαν ελάχιστη διαφορά μεταξύ τους, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $804,1 \pm 318,6$ $\mu\text{g/g}$ FW και $798,3 \pm 180,8$ $\mu\text{g/g}$ FW αντίστοιχα.



Σχήμα 13. Μέσος όρος συγκεντρώσεων δειγμάτων σε αλκοόλες ανάλογα με το καλλιεργητικό υπόστρωμα ($\mu\text{g/g}$ FW)

Στο Σχήμα 14, φαίνεται πως την υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλες εμφανίζει το στέλεχος 106 *P. eryngii*, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $1316,7 \pm 297,8$ $\mu\text{g/g FW}$. Στατιστικά σημαντική διαφορά παρουσιάζει το στέλεχος 3066 *P. eryngii*, με τη μικρότερη περιεκτικότητα $443,8 \pm 44,9$ $\mu\text{g/g FW}$.



Σχήμα 14. Περιεκτικότητα σε αλκοόλες των στελεχών *P. eryngii* ($\mu\text{g/g FW}$) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)

7.2.4. Αλδεΐδες

Στα δείγματα *P. eryngii* ανιχνεύθηκαν 10 αλδεΐδες, εκ των οποίων οι 3 ανήκουν στις ενώσεις 8 ατόμων άνθρακα (C8 Compounds).

- ❖ Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε αλδεΐδες (% των ολικών VOCs) παρουσιάζεται στους Πίνακες 22, 23 και 24.

Πίνακας 22. Περιεκτικότητα δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα WS σε αλδεΐδες, ($\mu\text{g/g FW}$)

	Aldehydes	106WS	3069WS	3066WS	3065WS
	Hexanal	70,7	78,1	33,2	103,7
	Heptanal	Nd	2,4	0,1	4,2
C8	Octanal	18,9	18,6	2,4	19,9
	2-Heptenal	29,2	24,2	11,8	34,2
	Nonanal	2,8	3,1	0,8	4,4

C8	2-Octenal	91,8	49,9	19,8	45,9
	Benzaldehyde	62,3	23,2	10,0	29,7
C8	2,4-Octadienal	0,6	0,2	nd	0,1
	2,4-Nonadienal	7,5	7,5	3,4	11,5
	2,4-Decadienal	2,2	2,2	0,5	3,5

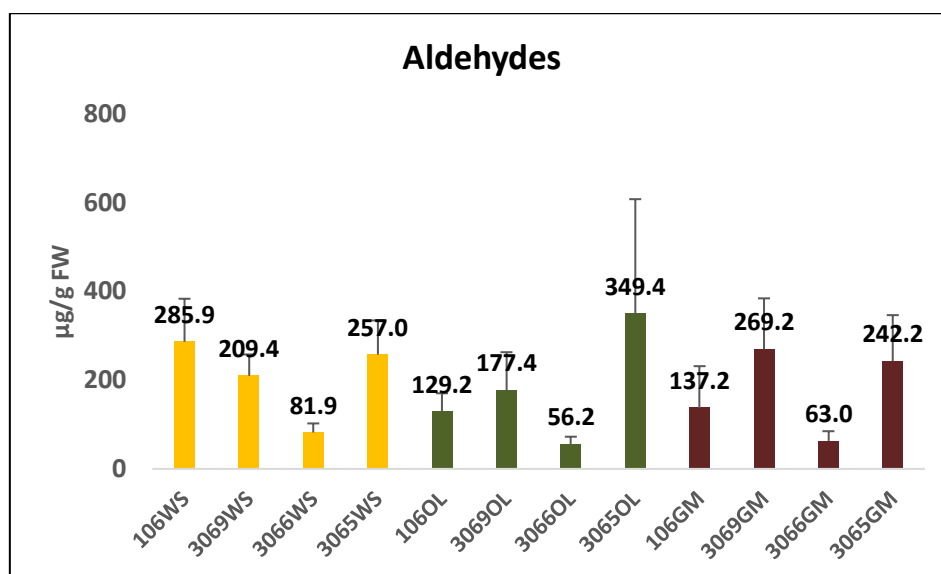
Πίνακας 23. Περιεκτικότητα δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα OL σε αλδεΐδες, (μg/g FW)

	Aldehydes	106OL	3069OL	3066OL	3065OL
	Hexanal	26,5	42,7	28,9	54,7
	Heptanal	0,3	0,8	0,6	1,2
C8	Octanal	21,3	54,2	2,9	143,2
	2-Heptenal	8,8	16,9	6,6	21,6
	Nonanal	4,7	2,5	1,5	3,5
C8	2-Octenal	29,9	44,6	7,4	95,2
	Benzaldehyde	34,3	10,6	5,6	23,6
C8	2,4-Octadienal	nd	nd	nd	1,0
	2,4-Nonadienal	1,8	3,4	1,6	3,2
	2,4-Decadienal	1,6	1,7	1,2	2,3

Πίνακας 24. Περιεκτικότητα δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα GM σε αλδεΐδες, (μg/g FW)

	Aldehydes	106GM	3069GM	3066GM	3065GM
	Hexanal	52,4	97,5	33,4	98,7
	Heptanal	nd	0,6	0,1	2,5
C8	Octanal	6,8	21,5	2,7	18,6
	2-Heptenal	13,1	28,1	7,8	31,7
	Nonanal	0,7	1,5	0,9	3,0
C8	2-Octenal	30,5	48,6	9,6	45,5
	Benzaldehyde	29,7	62,8	5,4	30,2
C8	2,4-Octadienal	nd	nd	nd	0,3
	2,4-Nonadienal	3,2	7,1	2,8	9,6
	2,4-Decadienal	0,7	1,6	0,3	2,1

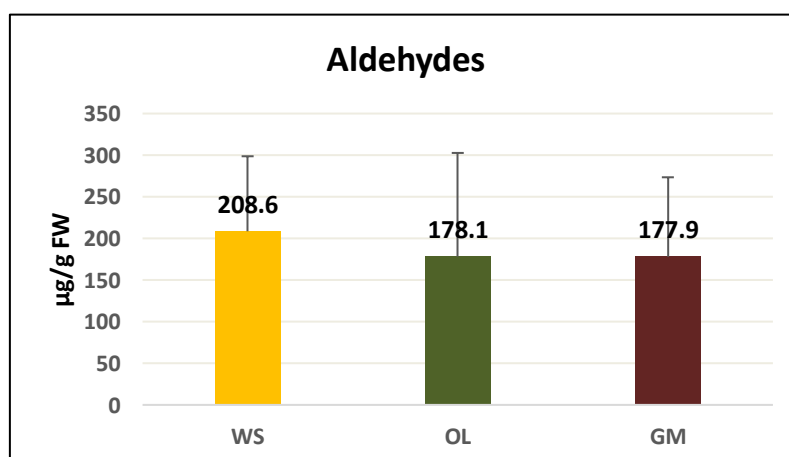
Από τους Πίνακες 22, 23 και 24 φαίνεται πως σε υψηλότερη περιεκτικότητα ανάμεσα στις αλδεΐδες ανιχνεύεται η Εξανάλη (Hexanal), και συγκεκριμένα σε συγκεντρώσεις 26,5-103,7 μg/g FW. Ακολουθεί η 2-Οκτενάλη (2-Octenal), που ανήκει στις ενώσεις ατόμων άνθρακα, με συγκεντρώσεις 7,4-95,2 μg/g FW, η Οκτανάλη (Octanal) σε συγκεντρώσεις 2,4-143,2 μg/g FW, και η Βενζαλδεΐδη (Benzaldehyde) σε συγκεντρώσεις 5,4-62,8 μg/g FW.



Σχήμα 15. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε αλδεΐδες (μg/g FW)

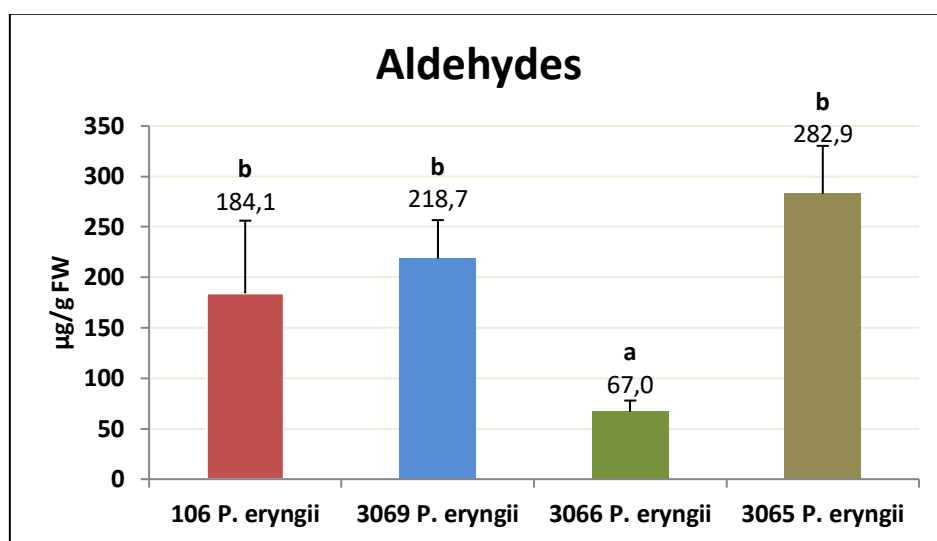
Από το Σχήμα 15, παρατηρείται πως η υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλδεΐδες ανιχνεύθηκε στο στέλεχος 3065 *P. eryngii* σε υπόστρωμα OL, με συγκέντρωση $349,4 \pm 257,4$ μg/g FW. Ακολούθησε το στέλεχος 106 *P. eryngii* σε υπόστρωμα WS, με συγκέντρωση $285,9 \pm 96,8$ μg/g FW.

Παρόλα αυτά, τα δείγματα σε υπόστρωμα WS εμφάνισαν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλδεΐδες, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $208,6 \pm 90,1$ μg/g FW, ενώ τα δείγματα σε OL και GM παρουσίασαν χαμηλότερες περιεκτικότητες σε αλδεΐδες με μικρή διαφορά μεταξύ τους, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $178,1 \pm 124,6$ μg/g FW και $177,9 \pm 95,5$ μg/g FW αντίστοιχα (Σχήμα 16).



Σχήμα 16. Μέσος όρος συγκεντρώσεων δειγμάτων σε αλδεΐδες, ανάλογα με το καλλιεργητικό υπόστρωμα (μg/g FW)

Το στέλεχος 3065 *P. eryngii* εμφάνισε την υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλδεΐδες, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $282,9 \pm 47,4$ $\mu\text{g/g}$ FW. Στατιστικά σημαντική διαφορά εμφάνισε το 3066 με το χαμηλότερο μέσο όρο συγκεντρώσεων $67,0 \pm 10,9$ $\mu\text{g/g}$ FW (Σχήμα 17).



Σχήμα 17. Περιεκτικότητα σε αλδεΐδες των στελεχών *P. eryngii* ($\mu\text{g/g}$ FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)

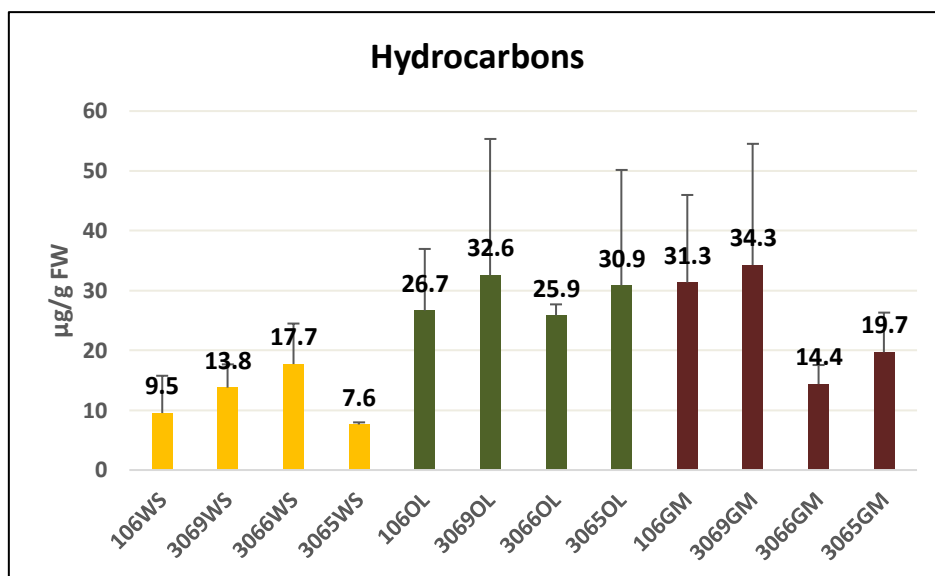
7.2.5. Υδρογονάνθρακες

Στα δείγματα ανιχνεύθηκαν 3 υδρογονάνθρακες. Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε υδρογονάνθρακες παρουσιάζεται στον Πίνακα 25.

Πίνακας 25. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε υδρογονάνθρακες ($\mu\text{g/g}$ FW)

Hydrocarbons	1,3-Octadiene (C8)	Hendecane	Octadecane (C8)
106WS	1,0	8,5	nd
3069WS	0,1	13,7	nd
3066WS	nd	17,7	nd
3065WS	nd	7,6	nd
106OL	3,7	22,8	0,1
3069OL	0,2	29,3	3,0
3066OL	nd	25,9	nd
3065OL	0,5	30,3	nd
106GM	1,0	26,5	3,9
3069GM	0,8	32,3	1,2
3066GM	0,6	13,7	nd
3065GM	nd	19,5	0,2

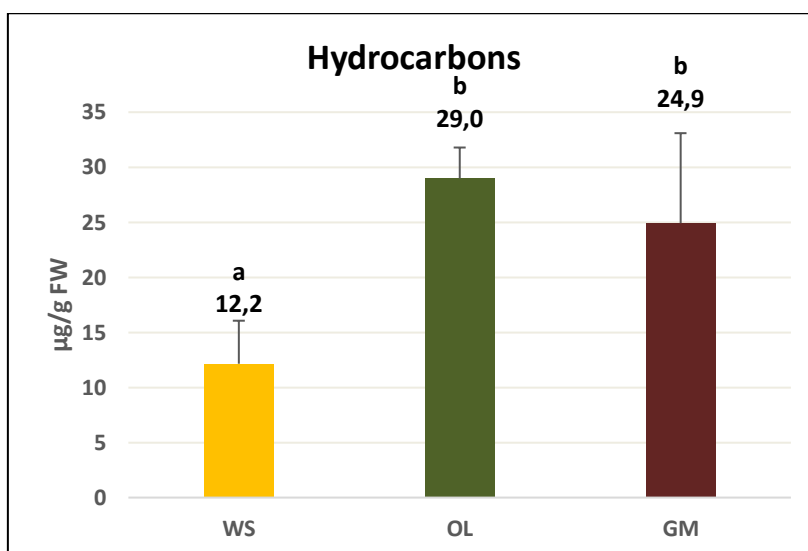
Σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα ανιχνεύθηκε το Ενδεκάνιο (Hendecane), σε συγκεντρώσεις 7,6-32,3 $\mu\text{g/g}$ FW. Οι υδρογονάνθρακες Δεκαοκτάνιο (Octadecane) και 1,3-Οκταδιένιο (1,3-Octadiene) ανιχνεύθηκαν σε πολύ μικρότερες ποσότητες και μόνο σε ορισμένα δείγματα.



Σχήμα 18. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε υδρογονάνθρακες ($\mu\text{g/g}$ FW)

Στο Σχήμα 18, φαίνεται πως τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε υδρογονάνθρακες εμφάνισε το στέλεχος 3069 *P. eryngii* σε υπόστρωμα GM, με συγκέντρωση $34,3 \pm 20,3$ $\mu\text{g/g}$ FW. Ακολούθησε το ίδιο στέλεχος 3069 *P. eryngii* στο υπόστρωμα OL, με συγκέντρωση $32,6 \pm 22,8$ $\mu\text{g/g}$ FW.

Στο Σχήμα 19, φαίνεται πως τα δείγματα σε υπόστρωμα OL εμφάνισαν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε υδρογονάνθρακες, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $29,0 \pm 2,8$ $\mu\text{g/g}$ FW. Ακολούθησε η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε GM, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $24,9 \pm 8,2$ $\mu\text{g/g}$ FW, ενώ τα δείγματα σε υπόστρωμα WS εμφάνισαν τη μικρότερη περιεκτικότητα σε υδρογονάνθρακες, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $12,2 \pm 3,9$ $\mu\text{g/g}$ FW. Οι μέσοι όροι των συγκεντρώσεων σε υδρογονάνθρακες παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ και των τριών υποστρωμάτων.



Σχήμα 19. Μέσος όρος συγκεντρώσεων δειγμάτων σε υδρογονάνθρακες, ανάλογα με το υπόστρωμα (µg/g FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)

7.2.6. Τερπένια

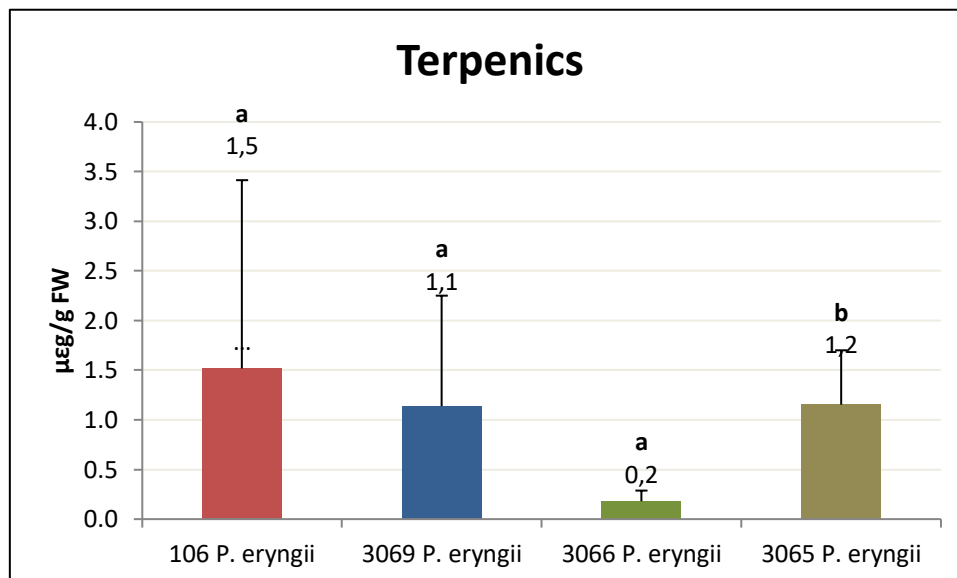
❖ Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε τερπένια παρουσιάζεται στον Πίνακα 26.

Πίνακας 26. Περιεκτικότητα δειγμάτων σε τερπένια (µg/g FW)

Terpenics	Λεμονένιο	Πιπεριτόνη
106WS	0,3	nd
3069WS	nd	0,2
3066WS	nd	nd
3065WS	1,8	0,1
106OL	nd	0,1
3069OL	0,2	0,2
3066OL	nd	0,2
3065OL	0,2	0,5
106GM	0,3	0,4
3069GM	nd	0,3
3066GM	0,1	0,2
3065GM	0,6	0,2

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 26, στα δείγματα ανιχνεύθηκαν 2 τερπένια, το Λεμονένιο (Limonene) και η Πιπεριτόνη σε συγκεντρώσεις 0,1-1,8 και 0,1-0,5 µg/g FW αντίστοιχα. Η παρουσία τους δεν ανιχνεύθηκε σε όλα τα δείγματα.

Την υψηλότερη περιεκτικότητα σε τερπένια παρουσίασε το στέλεχος 106 *P. eryngii* με μέσο όρο συγκεντρώσεων $1,5 \pm 1,9$ $\mu\text{g/g}$ FW, ενώ ο χαμηλότερος μέσος όρος συγκεντρώσεων ανιχνεύθηκε στο στέλεχος 3066, με $0,2 \pm 0,1$ $\mu\text{g/g}$ FW, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (Σχήμα 20).



Σχήμα 20. Περιεκτικότητα σε τερπένια των στελεχών *P. eryngii* ($\mu\text{g/g}$ FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)

7.2.7. Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAMES)

Στα δείγματα ανιχνεύθηκαν 10 μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (Fatty Acid Methyl Esters, FAMES).

- ❖ Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων ($\mu\text{g/g}$ FW) παρουσιάζεται στους Πίνακες 27, 28 και 29.

Πίνακας 27. Περιεκτικότητα δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα WS σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAMES)($\mu\text{g/g}$ FW)

	FAMES	106WS	3069WS	3066WS	3065WS
	Butyric acid methyl ester	0,44	0,68	0,88	0,79
	Hexanoic acid methyl ester	1,28	2,18	0,17	1,20
C8	Octanoic acid methyl ester	4,13	nd	nd	0,21
	Dodecanoic acid methyl ester	nd	0,31	0,01	nd
	Tetradecanoic acid methyl ester	2,18	3,00	0,97	2,74

	Pentadecanoic acid methyl ester	3,60	5,81	1,35	6,25
	Hexadecanoic acid methyl ester	26,72	20,82	10,02	25,89
	Octadecanoic acid methyl ester	nd	0,26	0,01	0,42
	9-Octadecenoic acid methyl ester	14,08	11,74	7,03	15,94
	Linoleic acid methyl ester	11,41	14,62	7,06	18,52

Πίνακας 28. Περιεκτικότητα δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα OL σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAMES)(μg/g FW)

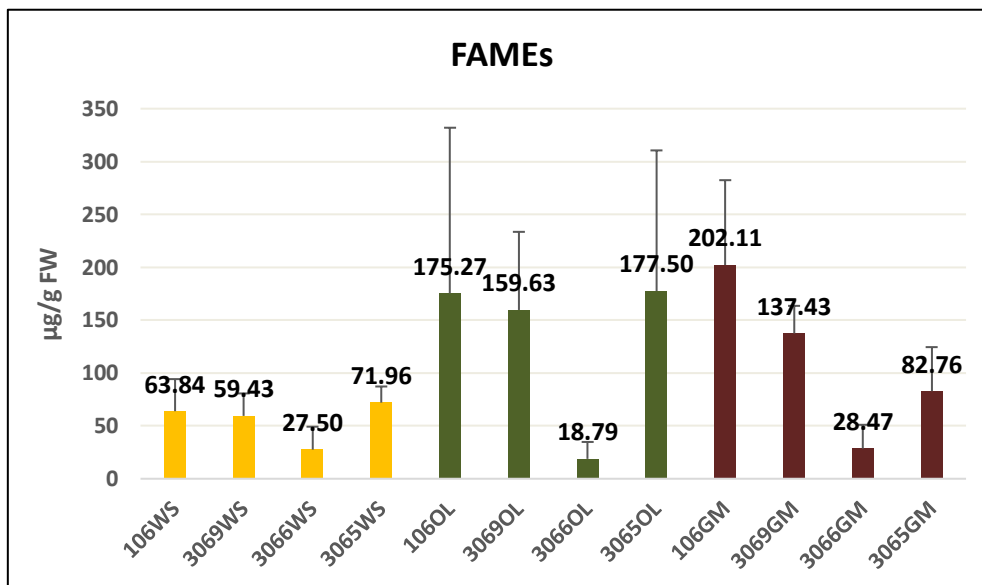
	FAMES	106OL	3069OL	3066OL	3065OL
	Butyric acid methyl ester	2,32	2,66	1,29	3,74
	Hexanoic acid methyl ester	nd	0,03	0,10	0,17
C8	Octanoic acid methyl ester	1,43	0,04	nd	nd
	Dodecanoic acid methyl ester	0,80	0,58	0,13	2,13
	Tetradecanoic acid methyl ester	5,91	5,66	1,04	6,34
	Pentadecanoic acid methyl ester	7,73	10,82	0,82	12,11
	Hexadecanoic acid methyl ester	79,36	66,32	6,83	68,28
	Octadecanoic acid methyl ester	1,54	2,83	nd	2,19
	9-Octadecenoic acid methyl ester	46,49	40,98	3,58	46,25
	Linoleic acid methyl ester	29,69	29,70	5,00	36,27

Πίνακας 29. Περιεκτικότητα δειγμάτων που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα GM σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAMES)(μg/g FW)

	FAMES	106GM	3069GM	3066GM	3065GM
	Butyric acid methyl ester	2,19	1,57	1,39	1,44
	Hexanoic acid methyl ester	2,15	2,79	0,50	1,60
C8	Octanoic acid methyl ester	1,04	0,84	0,37	0,23
	Dodecanoic acid methyl ester	1,18	0,58	0,09	0,55
	Tetradecanoic acid methyl ester	7,75	5,76	1,83	3,80
	Pentadecanoic acid methyl ester	9,71	10,32	1,74	6,08
	Hexadecanoic acid methyl ester	82,66	50,60	11,08	34,03
	Octadecanoic acid methyl ester	0,96	2,01	nd	0,48
	9-Octadecenoic acid methyl ester	54,30	31,16	6,13	17,07
	Linoleic acid methyl ester	40,18	31,81	5,34	17,48

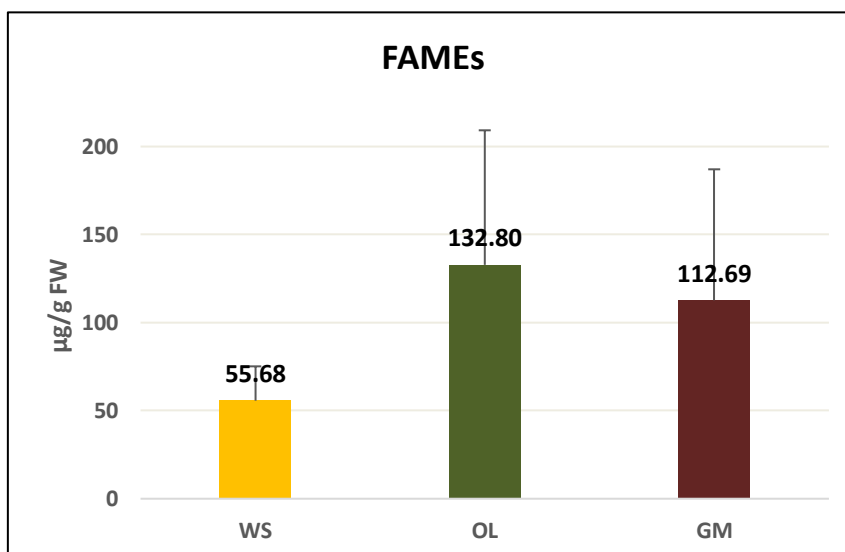
Όπως φαίνεται από τους Πίνακες 27, 28 και 29, την υψηλότερη περιεκτικότητα εμφανίζει ο μεθυλεστέρας του παλμιτικού οξέος ή δεκαεξανοϊκού οξέος (Hexadecanoic acid methyl ester), και πιο συγκεκριμένα σε περιεκτικότητα 6,83-82,66 μg/g νωπού μανιταριού. Επίσης, υψηλές περιεκτικότητες εμφανίζουν ο μεθυλεστέρας του ελαϊκού οξέος (9-Octadecenoic acid methyl ester) με περιεκτικότητα 3,58-54,30 μg/g νωπού και ο μεθυλεστέρας του λινελαϊκού οξέος (Linoleic acid methyl ester) με 5,00-40,18 μg/g FW.

Από το Σχήμα 21, φαίνεται πως το στέλεχος 106 *P. eryngii* σε υπόστρωμα GM εμφάνισε την υψηλότερη περιεκτικότητα σε FAMES με συγκέντρωση $202,1 \pm 80,3$ $\mu\text{g/g FW}$, και ακολούθησε το στέλεχος 3065 *P. eryngii* που αναπτύχθηκε σε υπόστρωμα OL, με συγκέντρωση $177,5 \pm 133,0$ $\mu\text{g/g FW}$.



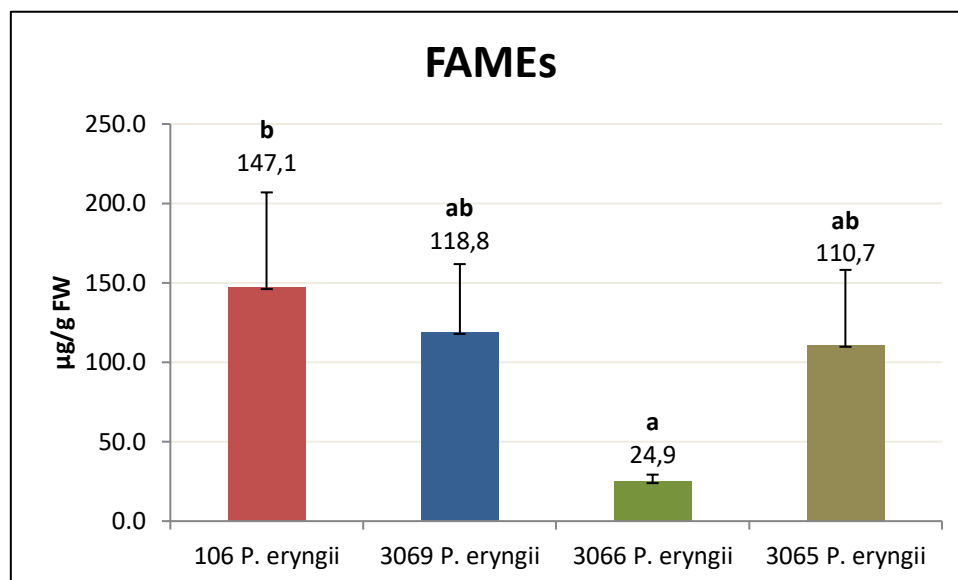
Σχήμα 21. Συγκεντρώσεις δειγμάτων σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων ($\mu\text{g/g FW}$)

Την υψηλότερη συνολική περιεκτικότητα σε FAMES εμφάνισαν τα δείγματα σε υπόστρωμα OL, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $132,8 \pm 66,2$ $\mu\text{g/g FW}$ και τη μικρότερη τα δείγματα σε υπόστρωμα WS, με μέσο όρο συγκεντρώσεων $55,7 \pm 16,9$ $\mu\text{g/g FW}$ (Σχήμα 22).



Σχήμα 22. Μέσος όρος συγκεντρώσεων μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων (FAMES), ανάλογα με το υπόστρωμα ($\mu\text{g/g FW}$)

Τέλος, την υψηλότερη περιεκτικότητα σε FAMES εμφάνισε το στέλεχος 106 *P. eryngii* με μέσο όρο συγκεντρώσεων $147,1 \pm 59,9$ $\mu\text{g/g}$ FW. Στατιστικά σημαντική διαφορά με το 106 *P. eryngii* εμφάνισε το στέλεχος 3066 *P. eryngii*, που εμφάνισε και τη μικρότερη περιεκτικότητα σε FAMES με μέσο όρο συγκεντρώσεων $24,9 \pm 4,4$ $\mu\text{g/g}$ FW (Σχήμα 23).



Σχήμα 23. Περιεκτικότητα σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAMES) των στελεχών *P. eryngii* ($\mu\text{g/g}$ FW) (*τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό λατινικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher's LSD, $p=0,05$)

8. Συζήτηση

Στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη, πραγματοποιήθηκε η απομόνωση, η ανίχνευση και η ποσοτικοποίηση των πτητικών οργανικών ενώσεων σε τέσσερα διαφορετικά στελέχη μανιταριών του είδους *Pleurotus eryngii*, τα οποία καλλιεργήθηκαν σε τρία διαφορετικά υποστρώματα: (α) άχυρο σίτου (WS), (β) φύλλα ελιάς και απόβλητα διφασικού ελαιοτριβείου (OL) και (γ) άχυρο σίτου και στέμφυλα σταφυλιού (GM). Για την ανάλυση, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της μικροεκχύλισης στερεής φάσης στον υπερκείμενο χώρο (Headspace Solid Phase Microextraction, HS-SPME) και η συνδυασμένη τεχνική της αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (GC-MS).

Συνολικά ανιχνεύθηκαν περισσότερες από ενενήντα ενώσεις, οι οποίες ομαδοποιήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν με τον υπολογισμό των συγκεντρώσεών τους. Στις ενώσεις αυτές περιλαμβάνονταν ενώσεις 8 ατόμων άνθρακα, κετόνες, αλκοόλες, αλδεΐδες, υδρογονάνθρακες, τερπένια, και μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων. Σε αφθονία ανιχνεύθηκαν οι ενώσεις 8 ατόμων άνθρακα (C8 Compounds), οι οποίες σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία είναι οι ενώσεις που ευθύνονται κατά κύριο λόγο για τη διαμόρφωση της γεύσης και του αρώματος στα μανιτάρια. Οι ενώσεις 8 ατόμων άνθρακα που βρέθηκαν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ήταν οι 1-Οκτεν-3-όλη, η 3-Οκτανόνη, η 2-Οκτενάλη και η Οκτανάλη.

Βρέθηκε ότι η συνολική περιεκτικότητα των *P. eryngii* σε πτητικά οργανικά συστατικά ήταν υψηλότερη στο καλλιεργητικό υπόστρωμα OL, με τα φύλλα ελιάς και τα απόβλητα διφασικού ελαιοτριβείου. Συγκεκριμένα, την υψηλότερη περιεκτικότητα σε πτητικά συστατικά παρουσίασε το στέλεχος 106 *P. eryngii* κατά την ανάπτυξή του σε αυτό το υπόστρωμα. Τη χαμηλότερη συνολική περιεκτικότητα σε πτητικά συστατικά εμφάνισαν τα δείγματα μανιταριών που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα WS (άχυρου σίτου). Επιπροσθέτως, το στέλεχος 106 *P. eryngii* παρουσίασε την υψηλότερη περιεκτικότητα σε πτητικά συστατικά κατά την ανάπτυξή του σε όλα τα υποστρώματα, ενώ στο στέλεχος 3066 *P. eryngii* παρατηρήθηκαν οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε πτητικές ενώσεις.

Η ομάδα ενώσεων που παρουσίασε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις στα μανιτάρια ήταν οι ενώσεις 8 ατόμων άνθρακα, οι οποίες αποτελούνταν από αλκοόλες, κετόνες, αλδεΐδες, υδρογονάνθρακες και μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων. Το στέλεχος 3065 στο υπόστρωμα με

φύλλα ελιάς παρουσίασε την υψηλότερη περιεκτικότητα στις ενώσεις αυτές. Επίσης, τα δείγματα που καλλιεργήθηκαν στο υπόστρωμα αυτό εμφάνισαν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε C8 Compounds σε σχέση με τα δείγματα που καλλιεργήθηκαν στα άλλα υποστρώματα.

Αξίζει να αναφερθεί, πως το στέλεχος 3065 που καλλιεργήθηκε σε υπόστρωμα με φύλλα ελιάς παρουσίασε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις και στις ομάδες των αλκοολών, των αλδεϋδών και των κετονών, ενώ γενικότερα τα δείγματα μανιταριών που αναπτύχθηκαν σε αυτό το υπόστρωμα παρουσίασαν τις υψηλότερες περιεκτικότητες και στις ομάδες των αλκοολών, των κετονών, των υδρογονανθράκων και των μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων.

Τέλος, τα δείγματα που αναπτύχθηκαν σε άχυρο σίτου εμφάνισαν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλδεϋδες και το στέλεχος 106 που αναπτύχθηκε σε υπόστρωμα με άχυρο σίτου και στέμφυλα σταφυλιού παρουσίασε την υψηλότερη περιεκτικότητα σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων.

Αξίζει να σημειωθεί, πως η παρούσα ερευνητική εργασία είναι η πρώτη που εξετάζει τα πτητικά οργανικά συστατικά των *Pleurotus eryngii* με μικροεκχύλιση στερεής φάσης στον υπερκείμενο χώρο (Headspace SPME), σε καρποσώματα που έχουν καλλιεργηθεί σε διαφορετικά αγροτικά παραπροϊόντα.

Συμπερασματικά, δύνανται να προκύψουν σημαντικές πληροφορίες για τα πτητικά συστατικά των μανιταριών όταν αυτά αναπτύσσονται σε διαφορετικά υποστρώματα και όταν καλλιεργούνται διαφορετικά στελέχη ενός είδους. Με περαιτέρω έρευνες και αναλύσεις, η επιστημονική κοινότητα μπορεί να αποκτήσει πληροφορίες και δεδομένα, τα οποία θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη νέων προϊόντων προστιθέμενης αξίας από την αξιοποίηση των λιγνινοκυτταρινούχων αποβλήτων που προκύπτουν από τις βιομηχανίες επεξεργασίας τροφίμων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Διαδίκτυο:

- GBIF Backbone Taxonomy (2017). *Pleurotus eryngii* (DC.) Quéf. In: GBIF Secretariat. Διαθέσιμο: <https://doi.org/10.15468/39omei>. Τελευταία επίσκεψη: 16/5/2019.
- PubChem. U.S. National Library of Medicine. Διαθέσιμο: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Τελευταία επίσκεψη: 1/2/2020.
- The Good Scents Company Information System. Διαθέσιμο: <http://www.thegoodscentcompany.com/>. Τελευταία επίσκεψη: 1/2/2020.
- USDA (2018). *National Nutrient Database for Standard Reference Legacy Release*. Διαθέσιμο: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/>. Τελευταία επίσκεψη: 21/5/2019.

Ελληνική:

- Διαμαντής Σ. Μ. ed. (1992). *Τα Μανιτάρια της Ελλάδος*. Αθήνα: ΙΩΝ.
- Παπαδογιάννης Ι. Ν., Σαμανίδου Β. Φ. (2001). *Ενόργανη Χημική Ανάλυση*. 2^η έκδοση. Θεσσαλονίκη: ΠΗΓΑΣΟΣ.

Ξενόγλωσση:

- Abdel-Hamid A. M., Solbiati J. O., Cann I. K. (2013). Chapter One-Insights into Lignin Degradation and its Potential Industrial Applications. In: Sariaslani S. and Gadd G. M. eds. *Advances in Applied Microbiology*. USA: Academic Press. pp. 1-28.
- Akpinar M., Urek R. O. (2012). Production of Ligninolytic Enzymes by Solid-state Fermentation using *Pleurotus eryngii*. *Biochemistry & Biotechnology*, 42, pp. 582-597.
- Alam N., Amin R., Khan A., Ara I., Shim M. J., Lee M. W., Lee T. S. (2008). Nutritional Analysis of Cultivated Mushrooms in Bangladesh - *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus florida* and *Calocybe indica*. *Mycobiology*, 36, pp. 228-232.
- Anjana S., Savita J. (2017). Oyster Mushroom: Answer to Human Ailments. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10, pp. 24-27.
- Arthur C. L., Pawliszyn J. (1990). Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. *Analytical Chemistry*, 62, pp. 2145-2148.
- Badole S. L., Patel N. M., Thakurdesai P. A., Bodhankar S. L. (2008). Interaction of Aqueous Extract of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel-Champ. with Glyburide in Alloxan

Induced Diabetic Mice. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 5, pp. 159-164.

- Bai J., Ren Y., Li Y., Fan M., Qian H., Wang L., Wu G., Zhang H., Qi X., Xu M., Rao Z. (2019). Physiological functionalities and mechanisms of β -glucans. *Trends in Food Science & Technology*, 88, pp. 57-66.
- Bellettini M. B., Fiorda F. A., Maieves H. A., Teixeira G. L., Avila S., Hornung P. S., Junior A. M., Ribani R. H. (2019). Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26, pp. 633-646.
- Bergendiova K., Tibenska E., Majtan J. (2011). Pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) supplementation, cellular immune response and respiratory tract infections in athletes. *European Journal of Applied Physiology*, 111, pp. 2033-2040.
- Carrasco-González J. A., Serna-Saldívar S. O., Gutiérrez-Urbe J. A. (2017). Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58, pp. 69-81.
- Chalamcherla V., Vidya Sagar Reddy G., Vinusha B. (2015). Biobleaching of Unbleached Craft Pulp by a White-Rot Fungus *Pleurotus Ostreatus* through Solid State Fermentation: Optimization Studies. In: International Institute of Chemical, Biological and Environmental Engineering, *3rd International Conference on Biological, Chemical and Environmental Sciences*. Kuala Lumpur: Malaysia 21-22 September 2015.
- Chen J., Yong Y., Xing M., Gu Y., Zhang Z., Zhang S., Lu L. (2013). Characterization of polysaccharides with marked inhibitory effect on lipid accumulation in *Pleurotus eryngii*. *Carbohydrate Polymers*, 97, pp. 604-613.
- Cheung P. C. (2008). *Mushrooms as functional foods*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Cohen R., Persky L., Hadar Y. (2002). Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58, pp. 582-594.
- Correa R. C. G., Brugnari T., Bracht A., Peralta R. M., Ferreira I. C. F. R. (2016). Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. *Trends in Food Science & Technology*, 50, pp. 103-117.

- Couto S. R., Herrera J. L. (2006). Industrial and biotechnological applications of laccases: A review. *Biotechnology Advances*, 24, pp. 500-513.
- Deepalakshmi K., Mirunalini S. (2014). *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. *Journal of Biochemical Technology*, 5, pp. 718-726.
- Du B., Zhu F., Xu B. (2018). An insight into the anti-inflammatory properties of edible and medicinal mushrooms. *Journal of Functional Foods*, 47, pp. 334-342.
- Eckel R. H., Grundy S. M., Zimmet P. Z. (2005). The metabolic syndrome. *The Lancet*, 365, pp. 1415-1428.
- Eleftheriadis E., Mavraganis G. V., Israilides C. (2014). The Potential Use of Mushrooms β -Glucans in the Food Industry. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, 3, 15-18.
- Gargano M. L., van Griensven L., Isikhuemhen O. S., Lindequist U., Venturella G., Wasser S. P., Zervakis G. I. (2017). Medicinal mushrooms: Valuable biological resources of high exploitation potential. *Plant Biosystems*, 151, pp. 548-565.
- Gírio F. M., Fonseca C., Carvalho F., Duarte L. C., Marques S., Bogel-Lukasik B. (2010). Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. *Bioresource Technology*, 101, pp. 4775-4800.
- Gregori A., Svagelj M., Pohleven J. (2007). Cultivation Techniques and Medicinal Properties of *Pleurotus* spp. *Food Technology and Biotechnology*, 45, pp. 238-249.
- Grover R., Goel A., Wati L., Raj K. (2015). Ethanol production from spent oyster mushroom substrate. *Pollution Research*, 34, pp. 121-124.
- Hanson J. R. (2008). Pigments and Odours of Fungi. In: *The Chemistry of fungi*. Cambridge: Royal Society of Chemistry. pp. 127-144.
- Hossain S., Alam N., Amin S. M. R., Basunia M. A., Rahman A. (2007). Essential Fatty Acid Contents of *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum* and *Agaricus bisporus*. *Bangladesh Journal of Mushroom*, 2, pp. 1-7.
- Huang H. Y., Korivi M., Yang H. T., Huang C. C., Chaing Y. Y., Tsai Y. C. (2014). Effect of *Pleurotus tuber-regium* Polysaccharides Supplementation on the Progression of Diabetes Complications in Obese-Diabetic Rats. *Chinese Journal of Physiology*, 57, pp. 198-208.
- Huyen N. T., Tuan B. Q., Nghien N. X., Thuy N. T. B., Le N. T. T. (2019). Effect of Using Fungal Treated Rice Straw in Sheep Diet on Nutrients Digestibility and Microbial Protein Synthesis. *Asian Journal of Animal Sciences*, 13, pp. 1-7.

- Ibadallah B. X., Abdullah N., Shuib A. S. (2015). Identification of angiotensin-converting enzyme inhibitory proteins from mycelium of *Pleurotus pulmonarius* (oyster mushroom). *Planta Medica*, 81, pp. 123-129.
- Inamdar A. A., Moore J. C., Cohen R. I., Bennett J. W. (2012). A Model to Evaluate the Cytotoxicity of the Fungal Volatile Organic Compound 1-octen-3-ol in Human Embryonic Stem Cells. *Mycopathologia*, 173, pp. 13-20.
- Jesenak M., Majtan J., Rennerova Z., Kyselovic J., Banovcin P., Hrubisko M. (2013). Immunomodulatory effect of pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) in children with recurrent respiratory tract infections. *International Immunopharmacology*, 15, pp. 395-399.
- Kabbaj W., Breheret S., Guimberteau J., Talou T., Olivier J., Bensoussan M., Sobal M., Roussos S. (2002). Comparison of Volatile Compound Production in Fruit Body and in Mycelium of *Pleurotus ostreatus* Identified by Submerged and Solid-State Cultures. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 102-103, pp. 463-469.
- Kataoka H., Lord H. L., Pawliszyn J. (2000). SOLID-PHASE MICROEXTRACTION | Biomedical Applications. In: Cooke M. and Poole C. F. eds. *Encyclopedia of Separation Science*. UK: Academic Press. pp. 4153-4169.
- Khan A. A., Gani A., Khanday F. A., Masoodi F. A. (2018). Biological and pharmaceutical activities of mushroom β -glucan discussed as a potential functional food ingredient. *Carbohydrates and Dietary Fibre*, 16, pp. 1-13.
- Khan N. A., Hussain S., Ahmad N., Alam S., Bezabhi M., Hendriks W. H., Yu P., Cone J. W. (2015). Improving the feeding value of straws with *Pleurotus ostreatus*. *Animal Production Science*, 55, pp. 241-245.
- Khan M. A., Tania M. (2012). Nutritional and Medicinal Importance of *Pleurotus* Mushrooms: An Overview. *Food Reviews International*, 28, pp. 313-329.
- Koutrotsios G., Kalogeropoulos N., Stathopoulos P., Kaliora A. C., Zervakis G. I. (2017). Bioactive compounds and antioxidant activity exhibit high intraspecific variability in *Pleurotus ostreatus* mushrooms and correlate well with cultivation performance parameters. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33, pp. 1-14.
- Krishnapriya P. J., Geetha D., Priya R. U. (2017). Morphological and Molecular Characterization of Oyster Mushrooms of Kerala. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 5, pp. 716-724.

- Krüzselyi D., Kovacs D., Vetter J. (2016). Chemical analysis of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) fruitbodies. *Acta Alimentaria*, 45, pp. 20-27.
- Li Y. R., Liu Q. H., Wang H. X., Ng T. B. (2008). A novel lectin with potent antitumor, mitogenic and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from the edible mushroom *Pleurotus citrinopileatus*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1780, pp. 51-57.
- Liguori R., Faraco V. (2016). Biological processes for advancing lignocellulosic waste biorefinery by advocating circular economy. *Bioresource Technology*, 215, pp. 13-20.
- (a) Liu C., Wu S., Zhang H., Xiao R. (2019). Catalytic oxidation of lignin to valuable biomass-based platform chemicals: A review. *Fuel Processing Technology*, 191, pp. 181-201.
- (b) Liu C. G., Xiao Y., Xia X. X., Zhao X. Q., Peng L., Srinophakun P., Bai F. W. (2019). Cellulosic ethanol production: Progress, challenges and strategies for solutions. *Biotechnology Advances*, 37, pp. 491-504.
- Maftoun P., Jahari H., Soltani M., Malik R., Othman N. Z., El Enshasy H. A. (2015). The Edible Mushroom *Pleurotus* spp.: I. Biodiversity and Nutritional Values. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, 4, pp. 67-83.
- Meerovich I. G., Yang M., Jiang P., Hoffman R. M., Gerasimenya V. P., Orlov A. E., Savitsky A. P., Popov V. O. (2005). Study of action of cyclophosphamide and extract of mycelium of *Pleurotus ostreatus* in vivo on mice, bearing melanoma B16-F0GFP. *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, 5704.
- Menaga D., Rajakumar S., Ayyasamy P. M. (2013). Free Radical Scavenging Activity of Methanolic Extract of *Pleurotus florida* Mushroom. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, pp. 601-606.
- Ng S. H., Mohd Zain M. S., Zakaria F., Wan Ishak W. R., Wan Ahmad W. A. (2015). Hypoglycemic and Antidiabetic Effect of *Pleurotus sajor-caju* Aqueous Extract in Normal and Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *BioMed Research International*, 2015.
- Ngai P. H., Ng T. B. (2006). A hemolysin from the mushroom *Pleurotus eryngii*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72, pp. 1185- 1191.
- Osma J. F., Toca-Herrera J. L., Rodriguez-Couto S. (2010). Uses of Laccases in the Food Industry. *Enzyme Research*, 2010.

- Othman R. A., Moghadasian M. H., Jones P. J. (2011). Cholesterol-lowering effects of oat β -glucan. *Nutrition Reviews*, 69, pp. 299-309.
- Palazzolo E., Saiano F., Laudicina V. A., Gargano M. L., Venturella G. (2017). Volatile organic compounds in wild fungi from Mediterranean forest ecosystems. *Journal of Essential Oil Research*, 29, pp. 385-390.
- Patil S. S., Ahmed S. A., Telang S. M., Baig M. M. (2010). The nutritional value of *Pleurotus ostreatus* (JACQ.:FR.) Kumm cultivated on different lignocellulosic agrowastes. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 7, pp. 66-76.
- Patrabansh S., Madan M. (1999). Mineral Content of the Fruiting Bodies of *Pleurotus sajor-caju* (FR.) SINGER Cultivated on Different Kinds of Biomass. *Acta Biotechnologica*, 19, pp. 101-109.
- Pennerman K. K., Yin G., Bennett J. W. (2015). Health effects of small volatile compounds from East Asian medicinal mushrooms. *Mycobiology*, 43, pp. 9-13.
- de Pinho P. G., Ribeiro B., Goncalves R. F., Baptista P., Valentao P., Seabra R. M., Andrade P. (2008). Correlation between the Pattern Volatiles and the Overall Aroma of Wild Edible Mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, pp. 1704-1712.
- Polemis E., Zervakis G.I., Gargano M.L., Denchev C.M., Denchev T.T., Venturella G. (2013). Selected choice wild edible mushrooms. In: Venturella G., Zervakis G. I., Denchev C. M., Polemis E., Gargano M. L., Denchev T. T. eds. *Identification and sustainable exploitation of wild edible mushrooms in rural areas*. Larissa, Greece: Technological Educational Institute of Thessaly.
- Rajarathnam S., Bano Z., Miles P. G. (1987). *Pleurotus* mushrooms. Part I A. morphology, life cycle, taxonomy, breeding, and cultivation. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 26:2, pp. 157-223.
- Rajarathnam S. and Sashirekha M. N. (2003). Mushrooms and Truffles/Use of wild mushrooms. In: Caballero B., Finglas P., Toldra F. eds. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. 2nd ed. Academic Press. pp. 4048-4054.
- Rathore H., Prasad S., Sharma S. (2017). Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: a review. *PharmaNutrition*, 5, pp. 35-46.
- Ritz K. (2005). Fungi. In: Hillel D. ed. *Encyclopedia of Soils in the Environment*. Academic Press. pp. 110-119.

- Roncero-Ramos I., Delgado-Andrade C. (2017). The beneficial role of edible mushrooms in human health. *Current Opinion in Food Science*, 14, pp. 122-128.
- Rühl M., Fischer C., Kües U. (2008). Ligninolytic enzyme activities alternate with mushroom production during industrial cultivation of *Pleurotus ostreatus* on wheatstraw-based substrate. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 2, pp. 478-492.
- Ruszova E., Pavek S., Hajkova V., Jandova S., Velebny V., Papezikova I., Kubala L. (2008). Photoprotective effects of glucomannan isolated from *Candida utilis*. *Carbohydrate Research*, 343, pp. 501-511.
- Sakellari A., Karavoltsos S., Tagkouli D., Rizou C., Sinanoglou V. J., Zoumpoulakis P., Koutrotsios G., Zervakis G. I., Kalogeropoulos N. (2019). Trace Elements in *Pleurotus Ostreatus*, *P. Eryngii*, and *P. Nebrodensis* Mushrooms Cultivated on Various Agricultural By-Products. *Analytical Letters*.
- Sano M., Yoshino K., Matsuzawa T., Ikekawa T. (2002). Inhibitory Effects of Edible Higher Basidiomycetes Mushroom Extracts on Mouse Type IV Allergy. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 4.
- Sekan A. S., Myronycheva O. S., Karlsson O., Gryganskyi A. P., Blume Y. B. (2019). Green potential of *Pleurotus* spp. in biotechnology. *PeerJ Life & Environment*, 7.
- Sneddon J., Masuram S., Richert J. C. (2007). Gas Chromatography-Mass Spectrometry-Basic Principles, Instrumentation and Selected Applications for Detection of Organic Compounds. *Analytical Letters*, 40, pp. 1003-1012.
- Stajic M., Vukojevic J., Duletic-Laušević S. (2009). Biology of *Pleurotus eryngii* and role in biotechnological processes: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 29, pp. 55-66.
- Synytsya A., Mickova K., Jablonsky I., Slukova M., Copikova J. (2008). Mushrooms of Genus *Pleurotus* as a Source of Dietary Fibres and Glucans for Food Supplements. *Czech Journal of Food Sciences*, 26, pp. 441-446.
- Ukaogo S., Ukaogo O. P. (2017). Spawned Casing vs Simple Casing. *Asian Journal of Advances in Agricultural Research*, 4, pp. 1-5.
- Valverde M. E., Hernández-Pérez T., Paredes-López O. (2015). Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. *International Journal of Microbiology*, 2015.

- Van Sant M. J. (1997). Gas Chromatography. In: Settle F. eds. *Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry*. New Jersey: Prentice Hall. pp. 125-146.
- Venturella G. (2000). Typification of *Pleurotus nebrodensis*. *Mycotaxon*, 75, pp. 229-231.
- Vetvicka V., Gover O., Karpovsky M., Hayby H., Danay O., Ezov N., Hadar Y., Schwartz B. (2019). Immune-modulating activities of glucans extracted from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*. *Journal of Functional Foods*, 54, pp. 81-91.
- Volk T. J. (2000). Fungi. In: Levin S. A. ed. *Encyclopedia of Biodiversity*. Academic Press. pp. 141-163.
- Wang H., Gao J., Ng T. B. (2000). A New Lectin with Highly Potent Antihepatoma and Antisarcoma Activities from the Oyster Mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 275, pp. 812-816.
- Wang H., Ng T. B. (2004). Eryngin, a novel antifungal peptide from fruiting bodies of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*. *Peptides*, 25, pp. 1-5.
- Wang W., Zhu Y., Tang Y., Lu N., Song J., Yuan W., Jia Y. (2016). Non-Volatile Taste Components of Different Cultivated Mushrooms at Mycelia, Primordium, and Fruit Body Cultivation Stages. *International Journal of Food Properties*, 19, pp. 1938-1948.
- Wasser S. P. (2014). Medicinal mushroom science: Current perspectives, advances, evidences, and challenges. *Biomedical Journal*, 37, pp. 345-356.
- Wong S. M., Wong K. K., Chiu L. C. M., Cheung P. C. K. (2007). Non-starch polysaccharides from different developmental stages of *Pleurotus tuber-regium* inhibited the growth of human acute promyelocytic leukemia HL-60 cells by cell-cycle arrest and/or apoptotic induction. *Carbohydrate Polymers*, 68, pp. 206-217.
- Wu G. H., Lu C. L., Jiang J. G., Li Z. Y., Huang Z. L. (2014). Regulation effect of polysaccharides from *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) on the immune activity of mice macrophages. *Food & Function*, 5, pp. 337-344.
- Wu S., Lv G., Lou R. (2012). Applications of Chromatography Hyphenated Techniques in the Field of Lignin Pyrolysis. In: Davarnejad R. ed. *Applications of Gas Chromatography*. IntechOpen. pp. 41-64.
- Xu C., Chen G., Xiong Z., Fan Y., Wang X., Liu Y. (2016). Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 80, pp. 12-29.

- Zervakis G., Balis C. (1996). A pluralistic approach in the study of *Pleurotus* species with emphasis on compatibility and physiology of the European morphotaxa. *Mycological Research*, 100, pp. 717-731.
- Zervakis G. I., Koutrotsios G., Katsaris P. (2013). Composted versus raw olive mill waste as substrates for the production of medicinal mushrooms: an assessment of selected cultivation and quality parameters. *BioMed Research International*, 2013.
- Zervakis G. I., Ntougias S., Gargano M. L., Besi M. I., Polemis E., Typas M. A., Venturella G. (2014). A reappraisal of the *Pleurotus eryngii* complex - New species and taxonomic combinations based on the application of a polyphasic approach, and an identification key to *Pleurotus* taxa associated with *Apiaceae* plants. *Fungal Biology*, 118, pp. 814-834.
- Zervakis G. I., Venturella G., Papadopoulou K. (2001). Genetic polymorphism and taxonomic infrastructure of the *Pleurotus eryngii* species-complex as determined by RAPD analysis, isozyme profiles and ecomorphological characters. *Microbiology*, 147, pp. 3183-3194.
- Zervakis G., Yiatras P., Balis C. (1997). Edible Mushrooms from Olive Mill Wastes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38, pp. 237-243.
- Zhang Z. M., Wu W. W., Li G. K. (2008). A GC-MS study of the volatile organic composition of straw and oyster mushrooms during maturity and its relation to antioxidant activity. *Journal of Chromatographic Science*, 46, pp. 691-696.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 30. Ενώσεις που απομονώθηκαν από τα μανιτάρια (compounds), οι χρόνοι κατακράτησης (R.t.) και το χαρακτηριστικό τους άρωμα-γεύση (odor-flavor)

Compounds	R.t.	Odor-Flavor (http://www.thegoodscentscompany.com ; https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)
Acetic acid	2,99	Flavor: pungent sour overripe fruit
Dichloromethane	3,41	Odor: sweet, pleasant odor (like chloroform)
Ethanol	3,50	Odor: strong alcoholic ethereal medical
1,3-Octadiene	3,74	<i>not determined</i>
Cyclopentanol	3,93	Odor: of amyl alcohol, like peppermint
Butyric acid methyl ester	3,99	Odor: fruity (apple, sweet, banana, pineapple) Flavor: fusel, fruity, estery, dairy, acidic
Decane	4,14	<i>not determined</i>
Chloroform	4,36	Odor: pleasant, etheric, nonirritating Flavor: sweet
Toluene	4,59	Odor: sweet
Hexanal	4,98	Odor: fresh, green, fatty, aldehydic, grass, leafy, fruity Flavor: green, woody, vegetative, apple, with a fresh, lingering aftertaste
Hendecane	5,07	Odor: faint
Ethylbenzene	5,41	Odor: sweet, gasoline-like odor
2-Heptanone	5,97	Odor: cheesy Flavor: cheesy
Heptanal	6,00	Odor: fresh, aldehydic, fatty, green, herbal Flavor: green, aldehydic, oily, grassy, clover, cilantro
Hexanoic acid methyl ester	6,00	Odor: fruity, pineapple Flavor: fruity, banana, pineapple, fatty
Dodecane	6,11	<i>not determined</i>
Limonene	6,12	Odor: citrus, orange, fresh, sweet Flavor: sweet, orange, citrus, terpenic
Trans-2-Hexenal	6,37	Odor: green, banana, aldehydic, fatty, cheesy Flavor: fresh, green, leafy, fruity, vegetable
2-Amylfuran	6,46	Odor: fruity Flavor: green
Isoamyl alcohol	6,66	Odor: fusel, alcoholic, whiskey, fruity, banana Flavor: fusel, fermented, fruity, banana, ethereal
1-Pentanol	6,67	Odor: fusel, oily, sweet, balsamic

		Flavor: fusel, fermented, bready, cereal, fruity
3-Octanone	6,74	Odor: fresh, herbal, lavender, sweet, mushroom Flavor: mushroom , earthy
2-Octanone	7,09	Odor: earthy, weedy, natural, woody, herbal Flavor: dairy, waxy, cheesy, woody, mushroom , yeasty
Heptanoic acid methyl ester	7,11	Odor: sweet, fruity, green, waxy, floral, berry Flavor: sweet, fruity, green
Octanal	7,13	Odor: aldehydic, waxy, citrus, orange peel, green, fatty Flavor: aldehydic, green, peely, citrus, orange
Tridecane	7,19	Odor: hydrocarbon
16-oxosalutaridine	7,21	<i>not determined</i>
1-Octen-3-one	7,29	Odor: herbal, mushroom , earthy, musty, dirty Flavor: creamy, earthy, mushroom , fishy, vegetable
2,3-Octanedione	7,50	Odor: dill, asparagus, cilantro, herbal, aldehydic, earthy Flavor: green, spicy, cilantro, fatty, leafy, cortex, herbal
2-Heptenal	7,60	Odor: green, fatty
6-Methyl-5-hepten-2-one	7,71	Odor: powerful, fatty, green, citrus Flavor: fruity
1-Hexanol	7,89	Odor: pungent, ethereal, fusel, oily, fruity, alcoholic Flavor: green, fruity, apple, oily
Fluoroethylene	7,89	Odor: faint, ethereal
1-Octen-3-yl acetate	8,21	Odor: fresh, green, herbal, lavender, fruity, oily Flavor: green, earthy, waxy, dairy, fruity
Octanoic acid methyl ester	8,40	Odor: waxy, green, sweet, orange, aldehydic, vegetable Flavor: green, fruity, waxy, citrus, aldehydic, fatty
3-Octanol	8,42	Odor: earthy, mushroom , herbal, melon, citrus, woody Flavor: musty, mushroom , earthy, creamy, dairy
Tetradecane	8,47	<i>not determined</i>
Nonanal	8,48	Odor: waxy, aldehydic, citrus, fresh, green, lemon peel Flavor: aldehydic, citrus, cucumber, melon, rindy, potato
Ethylene diformate	8,51	<i>not determined</i>
3-Octen-2-one	8,72	Odor: earthy, oily, ketonic, sweet, hay, mushroom Flavor: creamy, earthy, oily, mushroom
2-Octanol	8,79	Odor: fresh, spicy, green, woody, herbal, earthy Flavor: herbal, spicy, green, nasturtium, mushroom
2-Octenal	9,04	Odor: fatty, green, herbal
1-Octen-3-ol	9,28	Odor: mushroom , earthy, green, oily, fungal Flavor: mushroom , umami, fungal, green, oily
2-Ethylhexanol	9,90	Odor: citrus, fresh, floral, oily, sweet Flavor: sweet, fatty, fruity
Nonanoic acid methyl ester	9,95	Odor: sweet, fruity, pear, waxy, winey, tropical Flavor: winey, waxy, green, celery, pear, fruity

Pentadecane	9,99	Odor: waxy
Piperitone semicarbazone	10,02	<i>not determined</i>
Benzaldehyde	10,56	Odor: almond, fruity, powdery, nutty, cherry Flavor: Sweet, oily, almond, cherry, nutty, woody
1-Octanol	11,06	Odor: waxy, green, orange, aldehydic, rose, mushroom Flavor: waxy, green, citrus, orange, aldehydic, fruity
2,4-Octadienal	11,68	Odor: green, fatty, oily, citrus, melon Flavor: green, fruity, melon, citrus, fatty, tallow
Hexadecane	11,72	<i>not determined</i>
Decanoic acid methyl ester	11,72	Odor: oily, winey, fruity, floral Flavor: fatty, oily, fruity
2-Undecanone	11,80	Odor: waxy, fruity, creamy, fatty, orris, floral Flavor: waxy, fruity, creamy, cheesy
2-Octen-1-ol	12,11	Odor: green, citrus, vegetable, fatty Flavor: fatty, oily, sweet, fruity
Phenyl acetaldehyde	12,78	Odor: green, sweet, floral, hyacinth, clover, honey Flavor: honey, sweet, floral, cocoa with a spicy nuance
Acetophenone	12,81	Odor: sweet, pungent, hawthorn, mimosa, almond Flavor: powdery, bitter, almond, cherry, coumarinic
Heptadecane	13,59	<i>not determined</i>
2,4-Nonadienal	13,74	Odor: fatty, green, cucumber, fruit, tropical, fruit Flavor: chicken, fat, citrus, peel, waxy, melon, cucumber
Naphthalene	14,50	Odor: pungent, dry, resinous
3-Dodecen-1-al	14,67	Odor: orange, bitter, orange mandarin, coriander
Dodecanoic acid methyl ester	15,64	Odor: waxy, soapy, creamy, coconut, mushroom Flavor: waxy, creamy, fatty, soapy, coconut
2,4-Decadienal	15,82	Odor: orange, sweet, fresh, citrus, fatty, green Flavor: fatty, oily, chicken, fried rancid, tallow
Benzeneethanol	17,78	Odor: floral, rose Flavor: sweet, floral, fresh, bready, rose, honey
Tetradecanoic acid methyl ester	19,65	Odor: fatty, waxy, petal
Pentadecanoic acid methyl ester	21,58	<i>not determined</i>
Hexadecanoic acid methyl ester	23,46	Odor: oily, waxy, fatty, orris
Hexadecenoic acid methyl ester	23,94	<i>not determined</i>
Patchouli alcohol	24,17	Odor: woody, patchouli, earthy, camphoreous
Octadecanoic acid methyl ester	27,01	Odor: oily, waxy
Octadecenoic acid methyl ester	27,36	Odor: fatty

Linoleic acid methyl ester	28,15	Odor: oily, fatty, woody
Benzothiazole	28,89	Odor: similar to quinoline