

ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΡΑΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΜΥΚΗΤΕΣ *TRAMETES* sp.,

GANODERMA sp., *PHELLINUS* sp.

ΚΑΙ *SEPEDONIUM* sp.

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

της

ΔΕΣΠΟΙΝΑΣ ΦΑΣΟΛΗ

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Σχολή Περιβάλλοντος

ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ



Αργοστόλι Κεφαλληνίας

Σεπτέμβριος 2022

ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΡΑΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΜΥΚΗΤΕΣ *TRAMETES* sp.,

GANODERMA sp., *PHELLINUS* sp.

ΚΑΙ *SEPEDONIUM* sp.

Η πτυχιακή εργασία εγκρίθηκε από:

Δρ. Αικατερίνη Παπαδάκη

Δρ. Νικόλαος Κοψαχείλης

Δρ. Βασιλική Καχριμανίδου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η υλοποίηση της πτυχιακής μελέτης πραγματοποιήθηκε στο Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Ιονίου Πανεπιστημίου με έδρα το Αργοστόλι Κεφαλλονιάς κι ειδικότερα στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων και Βιομηχανικών Ζυμώσεων. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους ανθρώπους που βοήθησαν στην περάτωση αυτής της εργασίας.

Κατά κύριο λόγο, υποχρέωση μου είναι να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα της πτυχιακής, την Επίκουρη Καθηγήτρια Αικατερίνη Παπαδάκη, για την ανάθεση του θέματος της πτυχιακής μελέτης, καθώς και την μεταδιδακτορική ερευνήτρια Δρ. Βασιλική Καχριμανίδου για όλες τις συμβουλές, την συνεχή καθοδήγηση και την στήριξη που έλαβα όλη τη διάρκεια του εξαμήνου.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες επίσης θέλω να αποδώσω στο υπόλοιπο προσωπικό του εργαστηρίου, όπου είχα άμεση καθοδήγηση και ουσιώδεις συμβουλές καθώς και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Νικόλαο Κοψαχείλη, ο οποίος επέτρεψε να λάβει χώρα στο εργαστήριο του όλη η πειραματική μου πορεία.

Τέλος, χρέος μου είναι να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την ηθική και οικονομική στήριξη κατά τη διάρκεια των σπουδών μου, τους φίλους μου και τα άτομα που είναι κάτοχοι πτυχίου για την γόνιμη ανταλλαγή απόψεων.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η αξιοποίηση αγροτοβιομηχανικών παραπροϊόντων και ειδικότερα των αποβλήτων του οίνου και του πορτοκαλιού. Αναλυτικότερα διευρύνθηκε η αξιοποίηση των στέμφυλων, ως παραπροϊόν της οиноποίησης, και η φλούδα πορτοκαλιού, ως απόβλητο της διαδικασίας της χυμοποίησης, σε ζυμώσεις υγρής κατάστασης. Τα στελέχη που μελετήθηκαν στη τρέχουσα πτυχιακή ανήκουν στα γένη *Ganoderma* sp, *Phellinus* sp, *Trametes* sp, και *Sepedonium* sp. τα οποία σύμφωνα με τη βιβλιογραφία παρουσιάζουν φαρμακευτικές ιδιότητες.

Στο πρώτο μέρος της πτυχιακής μελέτης πραγματοποιήθηκε βιβλιογραφική ανασκόπηση για τα εν λόγω απόβλητα. Ειδικότερα, έγινε αναφορά στη διαδικασία οиноποίησης και στα απόβλητα που προκύπτουν, όπως στέμφυλα, γίγαρτα, οινολάσπη, και πως αξιοποιούνται από τον άνθρωπο. Ύστερα αναφέρθηκε ο όρος «φαρμακευτικά μανιτάρια» με σκοπό την πλήρη κατανόηση και ανάλυση των ιδιοτήτων και εφαρμογών τους.

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε πειραματική μελέτη για την παραγωγή θρεπτικών υποστρωμάτων από τα στέμφυλα και τις φλούδες πορτοκαλιών. Αρχικά έγινε επεξεργασία των στέμφυλων για την παραλαβή των διαλυτών σακχάρων και των φαινολικών συστατικών. Το εκχύλισμα των σακχάρων χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα και πραγματοποιήθηκαν υγρές ζυμώσεις σε κωνικές φιάλες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όλοι οι μύκητες μπορούν να αναπτυχθούν, παράγοντας βιομάζα. Η μέγιστη παραγωγή βιομάζας παρήχθη κατά τη ζύμωση του *Trametes* sp. Στο τελευταίο μέρος του πειράματος, πραγματοποιήθηκε έρευνα με υπόστρωμα το εκχύλισμα από τις φλούδες πορτοκαλιού. Σε αυτή τη μελέτη χρησιμοποιήθηκε μόνο ο *Trametes* sp, καθώς έδειξε τα καλύτερα αποτελέσματα στα στέμφυλα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο εν λόγω μύκητας αξιοποίησε το υπόστρωμα και παρήγαγε 6,2 g/L βιομάζα κατά την 18^η ημέρα της ζύμωσης.

Λέξεις κλειδιά: απόβλητα τροφίμων, στέμφυλα, φλούδα πορτοκαλιού, φαινολικά συστατικά, υγρή ζύμωση, φαρμακευτικοί μύκητες.

ABSTRACT

In the present study, the agro-industrial by-products grape pomace and orange peels waste were valorized using the fungal strains *Ganoderma* sp, *Phellinus* sp, *Trametes* sp, and *Sepedonium* sp. in submerged fermentations.

In the first part of this study, a literature review was carried out regarding the vinification process and the resulting waste, such as grape pomace and wine lees, and the valorization processes that have been currently developed. Additionally, the term "medicinal mushrooms" was mentioned in order to fully understand their properties and applications.

Subsequently, an experimental study was carried out for the production of fermentation substrate deriving from grape pomace and orange peel. Initially, grape pomace was characterized as far as concern the soluble sugars and phenolic components rich fractions. The sugar-rich fraction was used as substrate for the development of shake-flasks submerged fermentations. The results showed that all fungal strains were able to utilize the substrate and produce biomass. The maximum biomass production was obtained from *Trametes* sp.

In the last part of the experimental set-up, submerged fermentations were carried out using the sugar-rich orange peel fraction. Initially, orange peel extract was characterized concerning their sugar composition and then it was utilized for submerged fermentations. In this stage, only *Trametes* sp was utilized, as it showed the best results during fermentations with grape pomace. The results showed that *Trametes* sp. produced 6.2 g/L biomass on 18th fermentation day.

Key words: food waste, grape pomace, orange peels, phenolic compounds, submerged fermentation, pharmaceutical fungi

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Κεφάλαιο I

Σελίδα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1.Αγροτοβιομηχανικά υπολείμματα: παραγωγή και διαχείριση.....	1
1.1.2 Διαδικασία οиноποίησης και απόβλητα που απορρέουν.....	2
1.1.3. Οινολάσπη.....	9
1.1.4. Στέμφυλα.....	10
1.1.5 Γίγαρτα.....	11
1.1.6 Αξιοποίηση αποβλήτων οиноποιίας	14
1.1.7 Μεταβολικά προϊόντα.....	16
1.2 Αξιοποίηση αποβλήτων από το πορτοκάλι.....	19
1.2 Αξιοποίηση πηκτίνης.....	19
1.2.1 Αξιοποίηση φλούδας πορτοκαλιού.....	19
1.2.2 Αξιοποίηση φλοιού πορτοκαλιού.....	20
1.2.3 Βιοδραστικά απόβλητα πορτοκαλιού	23
1.2.4Αιθέρια έλαια	26
1.2.5 Χρωστικές.....	30
1.2.6 Εφαρμογές και ιδιότητες βακτηριακής κυτταρίνης	33
1.2.7 Μεταβολικά προϊόντα της φλούδας πορτοκαλιού	38

II ΚΕΦΑΛΑΙΟ

2.1 Φαρμακευτικά μανιτάρια.....	37
2.2 Ιδιότητες	38
2.3 Χρήση μυκήτων	40
2.4.1 Ganoderma sp.	41
2.4.2 Trametes sp.	45
2.4. Phellinus sp.	49
2.4.4 Sepedonium sp.....	52

III. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

3.1 Ενότητα.....	53
------------------	----

IV ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 Βιολογικό υλικό	54
4.2 Προετοιμασία προκαλλιέργειας.....	54
4.3 Επεξεργασία αποβλήτων για την παραγωγή θρεπτικών υποστρωμάτων.....	55
4.3.1 Στέμφυλα οиноποιίας	55
4.3.2 Φλούδες πορτοκαλιών	57
4.4 Καλλιέργειες υγρής κατάστασης.....	58
4.5 Αναλυτικές μέθοδοι	59
4.5.1 Προσδιορισμός συγκέντρωσης φαινολικών συστατικών των στέμφυλων,.....	59
4.5.2 Προσδιορισμός σακχάρων με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης	60
4.5.3 Ανάκτηση και προσδιορισμός βιομάζας	61

V. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1 Παραγωγή θρεπτικών υποστρωμάτων από στέμφυλα και φλούδες πορτοκαλιών	62
5.2 Καλλιέργειες υγρής κατάστασης σε υπόστρωμα από στέμφυλα	64
5.3 Καλλιέργειες υγρής κατάστασης σε υπόστρωμα από φλούδες πορτοκαλιών.....	68

V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	69
----------------------	----

Βιβλιογραφία	71
--------------------	----

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα	Σελίδα
Εικόνα 1.1.2-1 : Διαδικασία λευκής οινοποίησης	3
Εικόνα 1.1.2-3 : Διαδικασία ερυθρής οινοποίησης	5
Εικόνα 1.1.4-1 : Κατηγορίες στέμφυλων.....	11
Εικόνα 1.1.5-1 : Χημική σύσταση γιγάρτων	13
Εικόνα 1.1.6-1 : Ανατομία γιγάρτου.....	16
Εικόνα 1.2.2-2 : Εφαρμογές πορτοκαλιού.....	22
Εικόνα 1.2.3-1 Δομικά στοιχεία πηκτινών.....	25
Εικόνα 1.2.4-1 : Σύσταση του d-limonene	27
Εικόνα 1.2.6-1 : Δομή 6 χρωστικών από το γένος <i>Monascus</i>	33
Εικόνα 1.2.6-1 : Μικροϊνίδια βακτηριακή κυτταρίνης.....	35
Εικόνα 1.2.6-2 : Δομή βακτηριακής κυτταρίνης	35
Εικόνα 2.4.1-1 : Μύκητας του γένους <i>Ganoderma</i> sp	42
Εικόνα 2.4.2-1 Μύκητας του γένους <i>Trametes</i> sp.....	47
Εικόνα 2.4.3-1 : Μύκητας του γένους <i>Phellinus</i> sp.....	49
Εικόνα 2.4.4-1 : Μύκητας του γένους <i>Sepedonium</i> sp.....	52
Εικόνα 4.3.1-1 Διαδικασία εκχύλισης φαινολικών συστατικών από στέμφυλα με χρήση συσκευής υπερήχων και εξάτμιση του διαλύτη με περιστροφικό εξάτμιστήρα	56
Εικόνα 4.3.1-2 Διαδικασία εκχύλισης σακχάρων από στέμφυλα οινοποίησης.....	57
Εικόνα 4.3.2-1 Διαδικασία εκχύλισης σακχάρων από φλούδες πορτοκαλιών	58
Εικόνα 4.4.1 Εμβολιασμός της ζύμωσης με προκαλλιέργεια του μύκητα <i>Trametes</i> sp. και κωνικές φιάλες κατά τη διάρκεια της ζύμωσης.....	59
Εικόνα 4.5.3.1 Διαδικασία διήθησης προς παραλαβή της βιομάζας και συλλογή τους υγρού της ζύμωσης.....	61

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας	Σελίδα
Πίνακας 1.2.4.-2: Διάφορα έλαια που συναντώνται στο πορτοκαλί.....	29
Πίνακας 1.2.5-1 Μικροοργανισμοί και χρωστικές.....	31
Πίνακας 4.2 Σύσταση θρεπτικού υλικού προκαλλιέργειας.....	55
Πίνακας 5.1-1 Αποτελέσματα ανάκτησης φαινολικών συστατικών από στέμφυλα οινοποιίας.....	63

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα

Σελίδα

Γράφημα 1.1.2-1 Κατά μήνα η πορεία των αποβλήτων από τα στέμφυλα.....	6
Γράφημα 1.1.2-2 Ποσοστά οργανικών στερεών αποβλήτων οινοποιείου	7
Γράφημα 1.1.2-3. Στάδια παραλαβής υγρών και στερεών αποβλήτων οινοποιίας.....	9
Γράφημα 1.2.2-1: Σύσταση φλοιού	21
Γράφημα 4.5.1-1 Καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος (mg/L) με τη μέθοδο Folin- Ciocalteu.....	60
Γράφημα 5.2-2 Κατανάλωση σακχάρων και παραγωγή βιομάζας του μύκητα <i>Sepedonium</i> sp. κατά την ανάπτυξή του σε υπόστρωμα από στέμφυλα.	65
Γράφημα 5.2-3 Κατανάλωση σακχάρων και παραγωγή βιομάζας του μύκητα <i>Ganoderma</i> sp. κατά την ανάπτυξή του σε υπόστρωμα από στέμφυλα.....	66
Γράφημα 5.2-4 Κατανάλωση σακχάρων και παραγωγή βιομάζας του μύκητα <i>Trametes</i> sp. κατά την ανάπτυξή του σε υπόστρωμα από στέμφυλα.....	67
Γράφημα 5.3-1 Κατανάλωση σακχάρων και παραγωγή βιομάζας του μύκητα <i>Trametes</i> sp. κατά την ανάπτυξή του σε υπόστρωμα από φλούδες πορτοκαλιών.	68

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Αγροτοβιομηχανικά υπολείμματα: παραγωγή και διαχείριση.

Ο αγροτοβιομηχανικός τομέας αποτελούν κύρια βάση της οικονομίας μας. Η μεταποίηση και η τυποποίηση των αγροτικών προϊόντων είναι κρίσιμα στάδια για την αύξηση της αξίας τους, ειδικά γι' αυτά που εξάγονται σε χώρες με υψηλές ποιοτικές απαιτήσεις. Η αυξημένη παραγωγή αυτών των προϊόντων οδηγεί και σε αυξημένη παραγωγή αποβλήτων και υποπροϊόντων. Έτσι για κάθε είδους αποβλήτων που δημιουργούνται επιβάλλεται η ανάπτυξη μιας συγκεκριμένης μεθόδου επεξεργασίας, με σκοπό την πλήρη αξιοποίηση του αλλά και την παραλαβή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας στοχεύοντας στην προστασία του περιβάλλοντος .

Στο πλήθος ενός μεγάλου φάσματος που αποτελείται από μικρού και μεσαίου μεγέθους, μονάδων επεξεργασίας και μεταποίησης παράγονται διάφορα παραπροϊόντα όπως υγρά και στερεά απόβλητα. Η εκμετάλλευση και η σωστή περιβαλλοντική διαχείριση αυτών αποτελεί μια σημαντικότερη πρόκληση διεθνώς. Τα απόβλητα από τη μεταποίηση γεωργικών προϊόντων έχουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, όπως υψηλό οργανικό φορτίο, έντονη μεταβλητότητα, εποχικότητα στην παραγωγή κ.ά., τα οποία οδηγούν στη δύσκολη διαχείρισή τους. Ο μεγάλος όγκος και το οργανικό φορτίο των αποβλήτων συνιστούν σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα, αφού το οργανικό φορτίο τους διαθέτει σημαντική αντιμικροβιακή και φυτοτοξίνη δραστηριότητα, η οποία περιορίζει σημαντικά τη δράση των μικροοργανισμών που συμμετέχουν στη διαδικασία της βιοαποικοδόμησης με αποτέλεσμα να επιβραδύνεται η βιοαποικοδόμηση και η ανεξέλεγκτη εναπόθεση των αποβλήτων να έχει ως επακόλουθο την εμφάνιση φαινόμενων φυτοτοξικότητας, που:

α. επηρεάζει την ανάπτυξη των φυτών

β. μολύνει τον υδροφόρο ορίζοντα, υποβαθμίζοντας την ποιότητα του πόσιμου ύδατος

γ. θανατώνει τους ευαίσθητους θαλάσσιους οργανισμούς

Ειδικότερα, η καλλιέργεια σταφυλιών θεωρείται η μεγαλύτερη καλλιέργεια φρούτου παγκοσμίως, άνω των 60 εκατομμυρίων τόνων σταφυλιού παράγονται ετησίως σε ολόκληρο τον πλανήτη καθώς το 80% της παραγωγής προορίζεται για την διαδικασία της οινοποίησης. Κάθε οινοποιείο, λόγω της μοναδικότητάς του, παράγει διαφορετικό είδος και όγκο αποβλήτων, γεγονός που καθιστά δύσκολη την ομαδοποίηση τους καθώς και τον καθορισμό τους (Παπαδάκη 2013).

Με γνώμονα την ΚΥΑ 50910/2727/2003, απόβλητο θεωρείται κάθε ουσία ή αντικείμενο όπου προκύπτει από την επεξεργασία τροφίμων και ο κάτοχός του το απορρίπτει. Καθοδήγηση για την διαχείριση αποβλήτων απαιτείται προκειμένου να μειωθεί το περιβαλλοντικό αποτύπωμα, να προστατευτεί η δημόσια υγεία, το οικονομικό αλλά και κοινωνικό κόστος. Μεγάλο τμήμα των αποβλήτων προέρχεται από διάφορες αγροτοβιομηχανικές δραστηριότητες, με πιο σημαντικά απόβλητα να είναι το τυρόγαλα, τα στέμφυλα, οι φλούδες φρούτων, η μελάσα κτλ. Για αυτό το λόγο έχει μελετηθεί από πολλούς ερευνητές η σωστή αξιοποίησή αυτών προς όφελος του πλανήτη και της ανθρώπινης ζωής. Στην παρούσα μελέτη θα δοθεί έμφαση στα απόβλητα που προκύπτουν από την βιομηχανική οινοποιία.

1.1.2 Διαδικασία οινοποίησης και απόβλητα που απορρέουν.

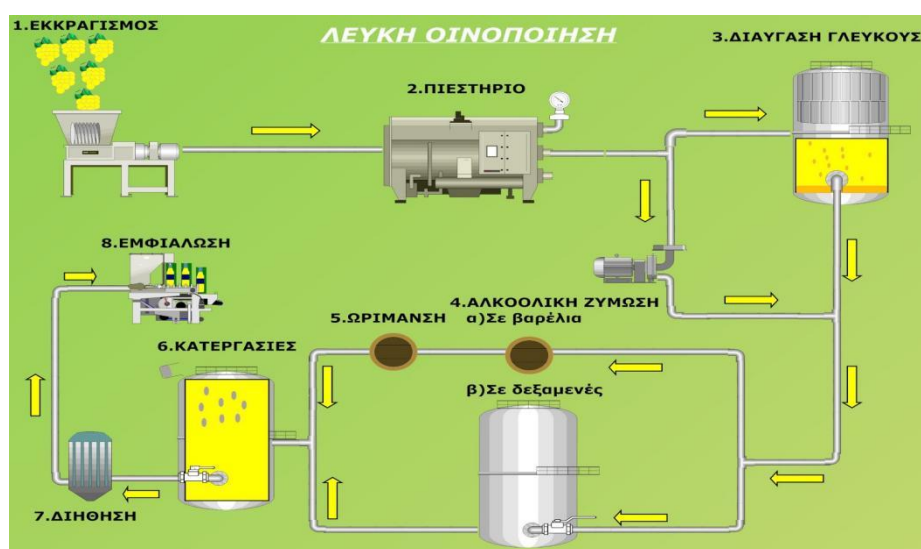
- Λευκή οινοποίηση

Τα στέμφυλα απομακρύνονται από το γλεύκος και γίνεται χρήση θειώδη ανυδρίτη για την προστασία από οξειδώσεις. Πιο συγκεκριμένα για την λευκή οινοποίηση, έχει παρατηρηθεί πως οι οίνοι από απολασπώμενα γλεύκη εμφανίζουν φρεσκάδα, με αυξημένη οξύτητα, όχι έντονο άρωμα, μειωμένη ευαισθησία στην οξείδωση και όχι ανεπιθύμητες γεύσεις. Οι τρόποι απολάσπωσης είναι δύο (εικόνα 1.1.2):

- i. Στατική απολάσπωση: όπου συναντάται καθίζηση των στερεών συστατικών του γλεύκους με προσθήκη διοξειδίου του θείου (SO_2) χωρίς απομάκρυνση

ζυμών και χρήση πηκτινολυτικών ενζύμων, αφού καταστρέφει τις πηκτικές ουσίες και διευκολύνει τη διαδικασία.

- ii. Δυναμική απολάσπωση: όπου χρησιμοποιείται η φυγόκεντρος για το γλεύκος ή απευθείας μετά την παραλαβή του ή αφού προηγηθεί στατική απολάσπωση. Θεωρείται γρήγορη και αποτελεσματική μέθοδος με ελάττωμα την απομάκρυνση ζυμών .



Εικόνα 1.1.2-1 : Διαδικασία λευκής οινοποίησης

- Ερυθρή οινοποίηση

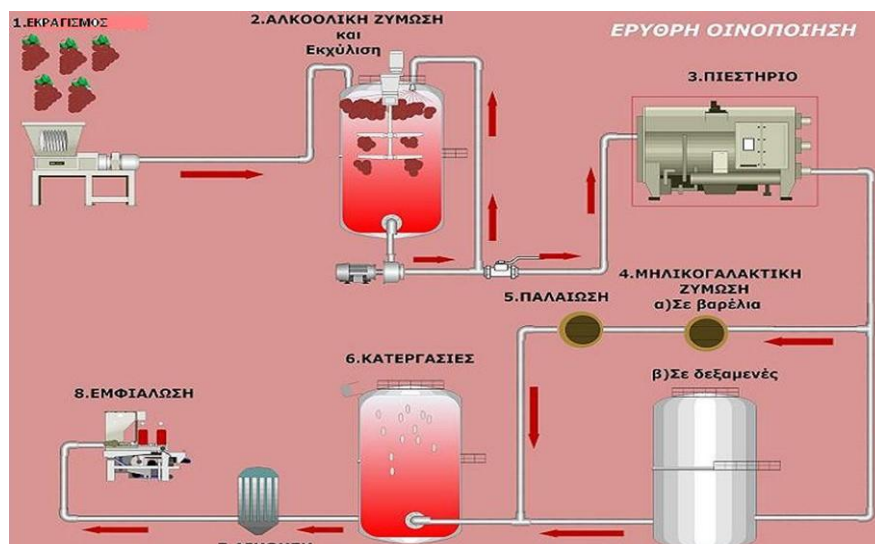
Όσον αφορά την ερυθρή οινοποίηση η διαδικασία απολάσπωσης διαφέρει ,καθώς το πρώτο βήμα λαμβάνει χώρα αφού ολοκληρωθεί η αλκοολική ζύμωση. Με αυτόν τον τρόπο η μετάγγιση διαχωρίζει τον οίνο από την οινολάσπη ,όπου καθιζάνει στα δοχεία ζύμωσης. Η οινολάσπη απαρτίζεται από σακχαρομύκητες ή νεκρούς η αδρανείς, άλλους μικροοργανισμούς, υπολείμματα ραγών ή βοστρύχων, άλατα με πρωταρχικό ρόλο να έχουν τα τρυγικά (όξινο τρυγικό κάλιο και τρυγικό

ασβέστιο),αδιαλυτοποιημένες πρωτεΐνες,δεψικές και χρωστικές ύλες, ενώσεις πρωτεϊνικών υλών κ.α.Με το πέρασμα των ημερών οι εν ζωή μικροοργανισμοί έχουν την δυνατότητα να προκαλέσουν ορισμένες αλλοιώσεις στα συστατικά της υποστάθμης και κυρίως στις πρωτεϊνικές ύλες. Το αποτέλεσμα είναι πως αν δεν απομακρυνθεί σύντομα η οινολάσπη από τον οίνο θα αναπτυχθούν ασθένειες ή ανεπιθύμητες μυρωδιές και γεύσεις στο τελικό αποτέλεσμα. Ο ρόλος της μετάγγισης είναι απαραίτητος, διότι επιτυγχάνεται επιπλέον:

- i. Ο αερισμός του οίνου που βοηθάει στην ολοκλήρωση του της ζύμωσης.
- ii. Η απομάκρυνση διοξειδίου του άνθρακα, όπου συνεισφέρει στην γρηγορότερη ωρίμανση του κρασιού.
- iii. Η ομογενοποίηση του οίνου
- iv. Η δυνατότητα καθαρισμού και συντήρησης οινοδοχείων (Τσαλή, 2018)

Οι κόκκινοι οίνοι που δίνονται σχετικά γρήγορα στην αγορά κατανάλωσης ,υποβάλλονται σε μία μόνο μετάγγιση,όπως παρατηρούμε στην εικόνα 1.1.3,την απολάσπωση ,με σκοπό την μεγαλύτερη αποβολή της οινολάσπης ενώ το υπόλοιπο μέρος αφαιρείται με άλλες διαδικασίες ,όπως η διήθηση. Οι οίνοι που διατηρούνται για παλαίωση εφαρμόζονται 4 μετάγγισης (Chassagne, D., 2005).

- η πρώτη μετάγγιση πραγματοποιείται με την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης(συνήθως αρχές Δεκέμβρη).
- η δεύτερη γίνεται στο τέλος του χειμώνα ,με την έλευση των πιο κρύων μηνών.
- η τρίτη λαμβάνει χώρα την άνοιξη, πριν την έναρξη των θερινών μηνών.
- η τέταρτη γίνεται λίγο πριν το καινούργιο τρυγητό και συγχρονίζεται με τη μεταφορά του οίνου στο κελάρι (Wines Hazzidakis, 2020).



Εικόνα 1.1.2-3 : Διαδικασία ερυθρής οινοποίησης

Τα απόβλητα της οινοποίησης τα οποία τείνουν να αυξάνονται κατά τους θερινούς μήνες, όπως παρατηρείται και στο Γράφημα 1.1.2-1 μπορούν να χωριστούν σε δύο κύριες κατηγορίες, τα στερεά και τα υγρά απόβλητα.



Γράφημα 1.1.2-1 Κατά μήνα η πορεία των αποβλήτων από τα στέμφυλα.

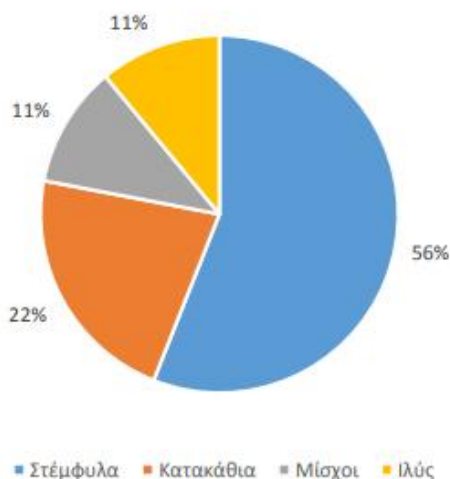
Στερεά απόβλητα

Δημιουργούνται κατά τη συλλογή των σταφυλιών αποτελούνται κυρίως από βόστρυχες, στέμφυλα, σπόρους σταφυλιών, φύλλα και ποικίλλουν ανάλογα με τη χημική σύνθεση και την υφή τους, όπου αυτό σημαίνει ότι το 10-15% της κατεργαζόμενης στα θλιπτήρια μάζας απορρίπτεται υπό μορφή στερεών αποβλήτων· ενώ τα υγρά απόβλητα δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παραγωγής κρασιού. Οι βόστρυχες των σταφυλιών είναι το κυριότερο παραπροϊόν των αμπελώνων με μέση παραγωγή 5 τόνους ετησίως, είναι πλούσιοι σε περιεκτικότητα λιγνίνης, κυτταρίνης, άζωτο (N) και κάλιο (K), που έχουν υψηλή αγρονομική αξία και χρησιμοποιούνται για κομποστοποίηση. Τα στερεά αυτά απόβλητα μπορούν στη συνέχεια να προστεθούν σε αμπελώνες ή βοσκοτόπια για την τροποποίηση της σύστασης του εδάφους (λίπασμα). Ένα άλλο στερεό απόβλητο της διαδικασίας της οινοποίησης είναι η οινολάσπη. Ως οινολάσπη ορίζεται:

- α) το υπόλειμμα που συσσωρεύεται στον πυθμένα των δοχείων που περιέχουν οίνο μετά τη ζύμωση, κατά την αποθήκευση ή μετά από επιτρεπόμενες επεξεργασίες,
- β) το υπόλειμμα που συσσωρεύεται στα δοχεία τα οποία περιέχουν γλεύκος
- γ) το υπόλειμμα που μένει μετά από φιλτράρισμα ή φυγοκέντρηση του προϊόντος της περίπτωσης α και β (Καν. (ΕΚ) 479/2008).

Η σύστασή της είναι πλούσια σε β-γλυκάνες, λόγω των ζυμομυκήτων που απέμειναν από τη ζύμωση του οίνου, και σε τρυγικό οξύ και αιθανόλη, προϊόντα τα οποία μπορούν να ανακτηθούν και να αποτελέσουν χρήσιμες πρώτες ύλες για τη βιομηχανία τροφίμων. Η οινολάσπη έχει πληθώρα εφαρμογών καθώς με επεξεργασία μπορούν να προκύψουν πολλά προϊόντα προστιθέμενης αξίας όπως αιθανόλη και τρυγικό οξύ. Καθώς περισσότερο από το 20% της παραγωγής οίνου είναι στερεά οργανικά απόβλητα, γίνεται αμέσως αντιληπτό ότι αποτελούν ένα σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα που χρίζει άμεσης αντιμετώπισης. Το κύριο πρόβλημα είναι το υψηλό οργανικό φορτίο σε φλούδες και ιζήματα, τα οποία μπορούν να οδηγήσουν σε εξάντληση του διαλυμένου οξυγόνου στα γενικά επιφανειακά ύδατα. Για το λόγο αυτό τα στερεά υπολείμματα οινοποιείων όπως απαρυθμίζονται και στο Γράφημα 1.2

πρέπει να επεξεργάζονται πριν την εναπόθεσή τους με μεθόδους που θα παρουσιαστούν στη συνέχεια. ((Christ & Burritt, 2013).

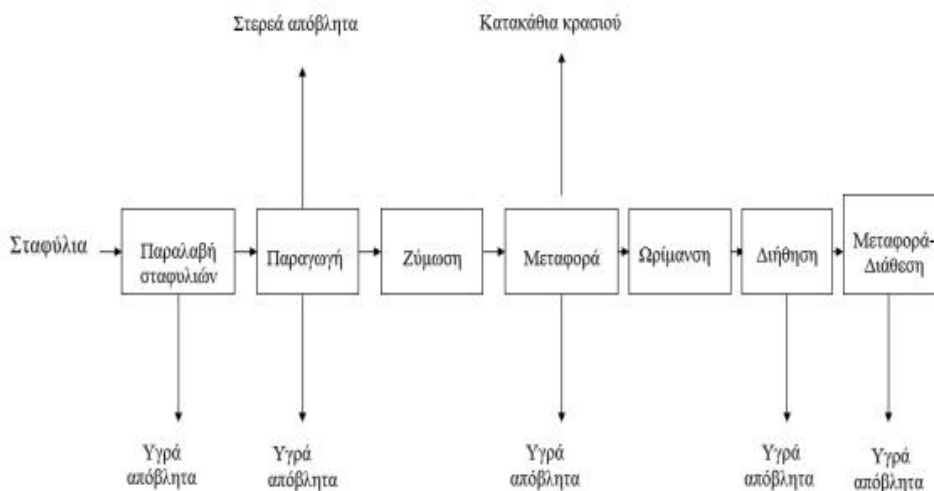


Γράφημα 1.1.2-2 Ποσοστά οργανικών στερέων αποβλήτων οινοποιείου

Όσον αφορά στα στερεά οργανικά απόβλητα, υπάρχουν πολλές βιολογικές και χημικές διεργασίες που μπορούν να επιτύχουν την επεξεργασία και εξυγίανση αυτών των αποβλήτων μέσω βιώσιμων πρακτικών με σκοπό τη οικονομική και περιβαλλοντική προσέγγιση. Κάποιες από τις διεργασίες περιλαμβάνουν: καύση, ζύμωση στερεάς κατάστασης, αποτέφρωση, κομποστοποίηση, αερόβια και αναερόβια χώνευση, ηλεκτροδιάλυση και πυρόλυση (Strong & Burgess, 2008).

Υγρά απόβλητα

Τα υγρά απόβλητα της οινοποίησης, συγκαταλέγονται στα υψηλής ισχύος απόβλητα. Κυρίως απαρτίζονται από αιωρούμενα και διαλυμένα στο νερό συστατικά. Στα συστατικά που θεωρούνται ευδιάλυτα συγκαταλέγονται ανάγοντα σάκχαρα, αιθανόλη, οργανικά οξέα, αλδεΐδες και άλλα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης, καθώς επίσης σάπωνες και απορρυπαντικά που αναμιγνύονται εξαιτίας των διεργασιών καθαρισμού.



Ωστόσο τα αιωρούμενα σωματίδια μεγαλύτερου μεγέθους, αποτελούνται κυρίως από φλούδες από τις ρόγες των σταφυλιών, φύλλα, κοτσάνια και γίγαρτα. Στα μικρότερου μεγέθους σωματίδια περιλαμβάνονται νεκρά κύτταρα ζυμών και κομμάτια κυττάρων, γαιώδεις προσμίξεις, γη διατομών και μπεντονίτης, που συναντώνται στα απόβλητα εξαιτίας των επεξεργασιών διαχωρισμού υγρού – στερεού, όπως το κολλάρισμα και η διαύγαση. Από την επεξεργασία της ζύμωσης δημιουργούνται επίσης και απλά οργανικά οξέα, τα οποία δίνουν απόβλητα με καθόλου ψηλό pH περιέχουν ανάγοντα σάκχαρα, αιθανόλη, οργανικά οξέα, αλδεϋδες και άλλα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης. Στα απόνερα των οινοποιείων υπάρχουν σε χαμηλή περιεκτικότητα το άζωτο, τα έλαια και τα λίπη. Επίσης, στα υγρά απόβλητα περιλαμβάνονται και μικρότερου μεγέθους διαλυμένα στο νερό σωματίδια που προέρχονται από διάφορες επεξεργασίες διαχωρισμού υγρού-στερεού (κολλάρισμα, διαύγαση κ.ά.), όπως νεκρά κύτταρα ζύμης και κομμάτια κυττάρων (Christ & Burritt, 2013).

Γράφημα 1.1.2-3. Στάδια παραλαβής υγρών και στερεών αποβλήτων οινοποιίας

1.1.3. Οινολάσπη.

Η παρουσία της οινολάσπης δεν συναντάται μόνο στην παραγωγή παραπροϊόντων αλλά και στην παραγωγή οίνου. Το προϊόν αυτό με βάση κανονισμού της ΕΕ

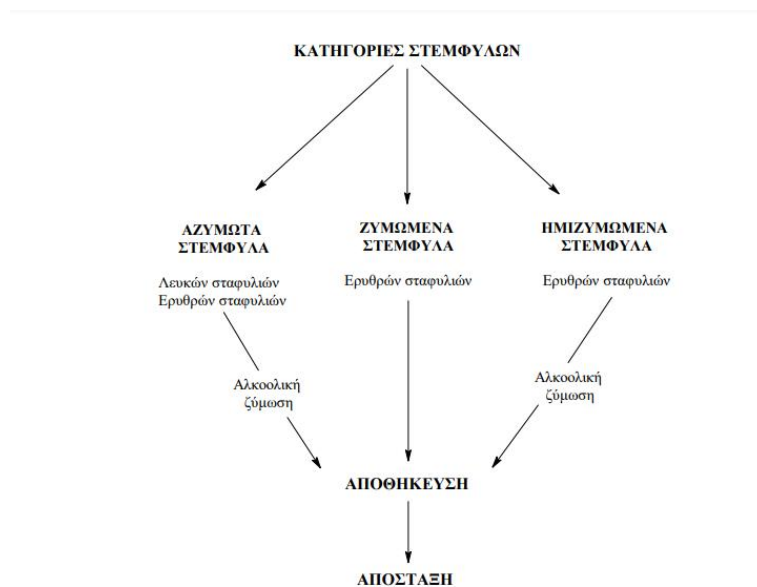
No.337/79, θεωρείται υπόλειμμα που δημιουργείται στον πυθμένα των δεξαμενών οиноποίησης, αφού προηγηθεί ζύμωση και αποτελεί το 2%-6% του αρχικού σταφυλιού. Μελέτες ανέλυσαν τον ρόλο των συσσωρευμένων ιζημάτων ως προς την επιρροή της οινολάσπης στις βιογενείς αμίνες του οίνου, τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών και των φαινολικών ενώσεων αλλά και τη σημασία των μαννοπρωτεϊνών και των λιπιδίων που απελευθερώνονται από αυτά. Το συμπέρασμα είναι ότι η επαφή με την οινολάσπη δρα θετικά στην απομάκρυνση των ανεπιθύμητων ουσιών από τον οίνο αλλά και αρνητικά των αμινών, ωστόσο απροσδιόριστος είναι ακόμα ο ρόλος για τις φαινόλες, τα λιπίδια και τις μαννοπρωτεΐνες. Η οινολάσπη παραλαμβάνεται με τη μέθοδο της απολάσπωσης, δηλαδή την απομάκρυνση της οινολάσπης από τον πυθμένα των δεξαμενών. Συνάττονται δύο είδη απολάσπωσης και σχετίζονται με το είδος της ποικιλίας του οίνου, δηλαδή λευκή και ερυθρή οиноποίηση, που κατ' επέκταση ορίζει και τις πρακτικές που πρέπει να ακολουθήσουν για την πραγματοποίησή της. Έπειτα, κάθε είδος υποδιαιρείται ανάλογα με το αν χρησιμοποιούνται μηχανικά μέσα, δηλαδή απολάσπωση ή απολάσπωση με φυγοκέντρωση. Η διαδικασία της οиноποίησης πέρα από τα παραπάνω απόβλητα που αναφέρθηκαν παράγει μεγάλες ποσότητες κυρίως από σάκχαρα, πολυφαινόλες, λιπίδια, ταννίνες κλπ (Berbegal et al., 2017).

1.1.4. Στέμφυλα.

Είναι το κύριο υποπροϊόν της οиноποίησης, όπου η ποσότητα τους εξαρτάται από την ποικιλία και την τεχνολογία οиноποίησης και αντιπροσωπεύουν συνήθως το 20–30% του αρχικού βάρους των σταφυλιών. Στην λευκή οиноποίηση, τα στέμφυλα δεν ζυμώνονται μαζί με το γλεύκος, γι' αυτό και περιέχουν υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα. Έχει υπολογιστεί ότι περίπου το 70% των φαινολικών συστατικών παραμένει στα στέμφυλα μετά την επεξεργασία σταφυλιών. Επομένως, τα στέμφυλα αποτελούν μια πηγή ανάκτησης συστατικών υψηλής προστιθέμενης αξίας με σημαντικές βιολογικές ιδιότητες όπως αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση. (Beres C., Costa G.N.S., Cabezudo I., da Silva-James N.K., Teles A.S.C., Cruz

A.P.G., Mellinger-Silva C., Tonon R.V., Cabral L.M.C., Freitas S.P., 2017) .Τα στέμφυλα παράγονται σε μεγάλες ποσότητες μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα και η εναπόθεσή τους αποτελεί σοβαρή περιβαλλοντική ανησυχία. Γι' αυτόν τον λόγο, επιβάλλεται η αξιοποίησή τους, η οποία μπορεί να αποδώσει προϊόντα υψηλής προστιθέμενης αξίας που σχετίζονται με τα λειτουργικά τρόφιμα, τα καλλυντικά, τις φαρμακευτικές ουσίες και τα συμπληρώματα διατροφής. Έχει υπολογιστεί ότι η παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας από στέμφυλα μπορεί ν' αποφέρει επιπλέον κέρδος στις οينوβιομηχανίες, που ανέρχεται σε εκατοντάδες εκατομμύρια ευρώ (Strong & Burgess, 2008).

Πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά & χρωστικές :Τα στέμφυλα που απομένουν μετά την ζύμωση περιέχουν υψηλά επίπεδα πολυφαινολών. Εκτιμάται ότι κατά την οиноποίηση εκχυλίζεται μόνο το 30–40% των φαινολικών ενώσεων, ανάλογα με την τεχνολογία οиноποίησης(εικόνα 1.2.2.1). Μια πληθώρα πολυφαινολών έχει τακτοποιηθεί στα στέμφυλα, οι κυριότερες εκ των οποίων είναι οι ανθοκυανίνες, τα υδροξυκινναμωνικά οξέα και οι φλαβανόλες (κατεχίνες). Οι κυριότερες ανθοκυανίνες που ανευρίσκονται στα στέμφυλα είναι γλυκοζίτες της μαλβιδίνης, της πετουνιδίνης, της πεονιδίνης και της δελφινιδίνης. Οι ανθοκυανίνες είναι υδατοδιαλυτές χρωστικές και παρουσιάζουν πολύ μεγάλο ενδιαφέρον στην βιομηχανία τροφίμων ως φυσικά πρόσθετα (, Ξαγοράρης 2018, Arvatioanniq et al 2006).



Εικόνα 1.1.4-1: Κατηγορίες στέμφυλων

1.1.5 Γίγαρτα.

Τα γίγαρτα σε σχέση με τα άλλα όργανα παρουσιάζουν μεγάλη σταθερότητα, δεν μπορούν όμως από μόνα τους να εξυπηρετήσουν σκοπούς ταξινόμησης των ποικιλιών. Ο αριθμός των γιγάρτων στη ράγα κυμαίνεται από 0 έως 4, συνήθως όμως απαντούν 2-3 γίγαρτα ανά ράγα.

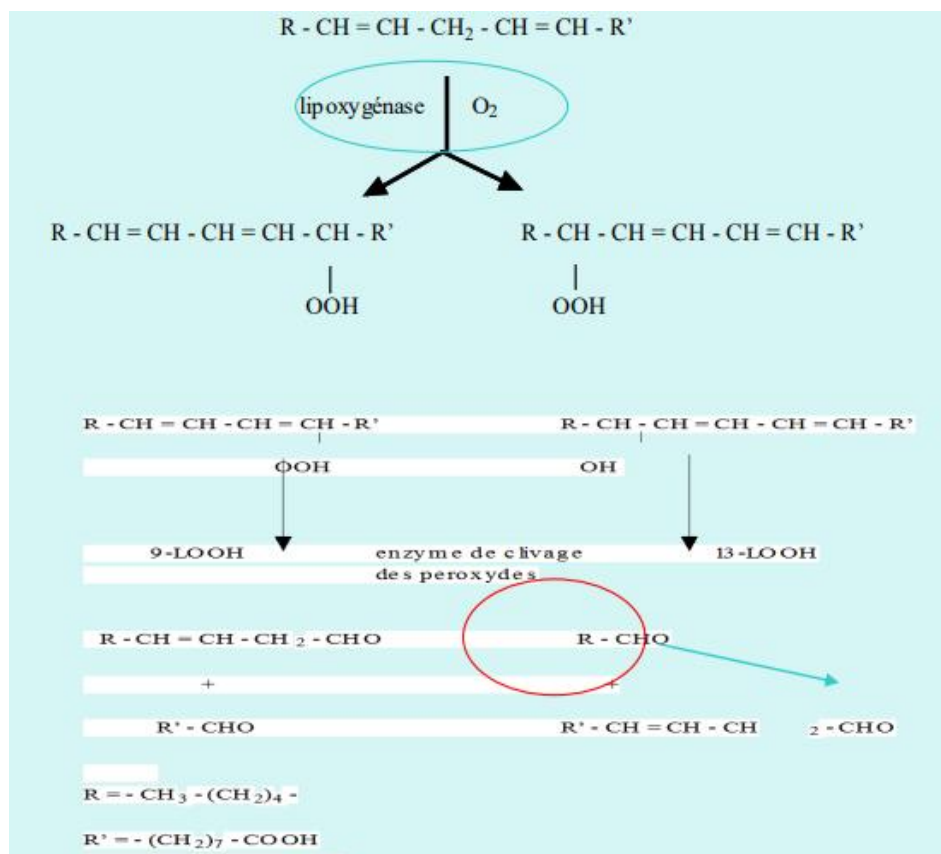
Δομή γιγάρτων

Το κέλυφος του απαρτίζεται από τρία διαφορετικά στρώματα. Το εξωτερικό είναι μαλακό, αποτελεί το φλοιό του γιγάρτου και περιέχει κόκκους αμύλου και ραφίδες οξαλικού ασβεστίου. Το ενδιάμεσο είναι σκληρό, συνίσταται από 2-3 στοιβάδες κυττάρων, με έντονα παχιά τοιχώματα πλούσια σε τανίνες. Το στρώμα αυτό αποτελεί τον κερατοειδή ιστό, είναι το πιο σκληρό τμήμα του κελύφους του γιγάρτου και είναι αδιαπέραστο στο νερό. Τελευταίο είναι το εσωτερικό στρώμα του κελύφους όπου συντελείται από 2-3 στοιβάδες κυττάρων με μαλακά τοιχώματα και περιέχεται ελάχιστο άμυλο. Ο σπόρος των σταφυλιών περιέχει περίπου 40% ίνες, 16% έλαιο, 14% πρωτεΐνες και 7% σύνθετες φαινολικές ενώσεις όπως τανίνες και άλλες ουσίες, όπως σάκχαρα και ανόργανα άλατα. Ευρύτερα, περίπου το 90% των φαινολικών

ενώσεων υπάρχουν στο εξωτερικό περίβλημα του σπόρου, ενώ περίπου το 60% του ελαίου βρίσκεται στο ενδοσπέρμιο και το έμβρυο. Η περιεκτικότητα των γιγάρτων σε έλαιο εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ποικιλία των σταφυλιών, αν και συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 10 και 16% ξηρού βάρους. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι τα γίγαρτα των κόκκινων σταφυλιών περιέχουν κατά μέσο όρο 14.34% έλαιο, ενώ τα γίγαρτα των λευκών σταφυλιών 14.72% (Τσακίρης, 1998).

Το έλαιο αυτό είναι πηγή κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων, όπως λινολεϊκό, ελαϊκό, παλμιτικό και στεατικό οξύ, σε περιεκτικότητα 65-75%, τα οποία είναι βασικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών, ενώ η ανάκτηση είναι της τάξης του 94-95%. Τα γίγαρτα χαρακτηρίζονται από αφθονία φαινολικών ενώσεων, όπως φλαβονοειδή (προανθοκυανιδίνες), φαινολικά οξέα (γαλλικό οξύ και ελλαγικό οξύ) και στιλβένια (συνθέσεις ρεσβερατρόλης). Οι βασικοί τύποι φαινολικών που υπάρχουν στα σταφύλια και στα γίγαρτα είναι προανθοκυανιδίνες, ανθοκυανίνες, ρεσβερατρόλη και προκυανιδίνες (αποτελούνται από μονάδες σχηματισμού (+)-κατεχίνης και (α)-επικατεχίνης συνδεδεμένες 9 μεταξύ τους με C4-C6 και C4-C8 ενδοφλαβονοειδείς δεσμούς και διάφορους γαλικούς εστέρες (Beveridge et al., 2005; Ozogul et al., 2007) .

Το γιγαρτέλαιο αποτελεί ήδη εμπορικό προϊόν σε ορισμένες χώρες και χρησιμοποιείται και στην παρασκευή καλλυντικών. Πρόσφατες μελέτες έχουν παρουσιάσει τις ενδιαφέρουσες βιοδραστικότητα του γιγαρτέλαιου. Οι βιοδραστικότητες του γιγαρτέλαιου οφείλονται στην σύσταση των λιπαρών οξέων και στην περιεκτικότητά του σε αντιοξειδωτικά πολυφαινολικά. Τα γίγαρτα των σταφυλιών περιέχουν έως και 15% έλαιο, το οποίο έχει υψηλά ποσοστά ακόρεστων λιπαρών οξέων, όπως το ολεϊκό και το λινολεϊκό όπου Αυτά τα οξέα αντιπροσωπεύουν περίπου το 90% του συνόλου. Το λινολεϊκό οξύ βρίσκεται σε ποσοστό περίπου 60–78%, ενώ το ολεϊκό σε 10–24%. Το γιγαρτέλαιο περιέχει επίσης τα κορεσμένα παλμιτικό και στεατικό, β-σιτοστερόλη και α-τοκοφερόλη



Εικόνα 1.1.5-1:Χημική σύσταση γιγάρτων

1.1.6 Αξιοποίηση αποβλήτων οينوποιίας.

Οινολάσπη

Χρησιμοποιείται για ανάκτηση αιθανόλης με απόσταξη στα οينوποιεία και για πολυφαινολικές ενώσεις που χρησιμεύουν για την παραγωγή αρωματικών υγρών μιγμάτων. Εφικτό επίσης είναι να χρησιμοποιηθεί για ανάκτηση αλάτων, αν και η διαδικασία της εξάτμισης είναι υψηλού σχετικά κόστους λόγω της υψηλής ενέργειας που απαιτείται για να εφαρμοστεί η διαδικασία σε μεγάλη κλίμακα (Berbegal et al., 2017). Η οινολάσπη, επομένως, αποτελεί ένα υποτιμημένο παραπροϊόν της βιομηχανίας. Η κύρια παρούσα χρήση της είναι η ανάκτηση τρυγικού οξέος, που έχει μεγάλο εύρος από πιθανές εφαρμογές για πολλές βιομηχανίες (zoyridi.blogspot 2016) τροφίμων ως φυσικό οξύ, εναλλακτική στα ευρέως χρησιμοποιούμενα κιτρικό οξύ

και φωσφορικό οξύ στη βιομηχανία ποτών και τροφίμων, μιας και η σχετική μικροβιακή σταθερότητα του τρυγικού οξέος κάνει τα προϊόντα αυτά πιο σταθερά με μικρότερη ανάγκη για χημική ή θερμική διατήρηση. Επίσης, ξαναχρησιμοποιείται για να διορθώσει το pH του μούστου πριν τη ζύμωση και πριν την απόσταξη περίσσειας γλεύκους για την ανάκτηση αιθανόλης. Στην Ελλάδα, όπου η αιθυλική αλκοόλη παράγεται αποκλειστικά από τη ζύμωση, η οινολάσπη χρησιμοποιείται ως πρωτεύον υλικό για την παραγωγή της. Το τρυγικό οξύ μπορεί να ληφθεί από όξινο τρυγικό κάλιο και τρυγικό ασβέστιο ανακτημένο σε οινοποιεία και αποστακτήρια από οινολάσπη. Με τα χρόνια οι διάφορες επιστημονικές ομάδες που ασχολήθηκαν με την οινολάσπη βελτιστοποίησαν τη διαδικασία για την αξιοποίησή της που περιλαμβάνει την εκχύλιση του τρυγικού οξέος με υψηλό βαθμό καθαρότητας και τη μείωση του κόστους της εξάτμισης. Έχει επίσης μελετηθεί η χρήση της οινολάσπης ως λίπασμα εδάφους, ωστόσο τα υπολείμματα των φαινολικών έχουν αρνητικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις για τη μικροχλωρίδα του εδάφους. Πρόσφατα, η οινολάσπη βρήκε εφαρμογή στην παραγωγή βιοαερίου και υψηλής ποιότητας κομπόστ μέσω αναερόβιας χώνευσης. Παλαιότερα, είχαν γίνει απόπειρες χρήσης της οινολάσπης ως ζωοτροφής, αλλά οι ζύμες της οινολάσπης έχουν πολύ φτωχή διατροφική αξία, πράγμα που τις καθιστά ακατάλληλες για το σκοπό αυτό. Παρ' όλα αυτά, το 2000 η οινολάσπη προτάθηκε ως συμπλήρωμα διατροφής, τόσο για τον άνθρωπο, όσο και για τα ζώα χάρη στο υψηλό περιεχόμενό της σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Καθώς η οινολάσπη είναι μία φτηνή κι εύκολη πηγή βιομάζας, έχει προταθεί η χρήση της ως «βιορροφητικό» για την απομάκρυνση ανεπιθύμητων ενώσεων από το κρασί, καθώς οι ζύμες που αυτή περιέχει έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν οργανικά σύμπλοκα όπως οι ανθοκυανίνες (Dwyer et al., 2014; Teixeira et al., 2014; Llobera & Canellas, 2007).

Στέμφυλα

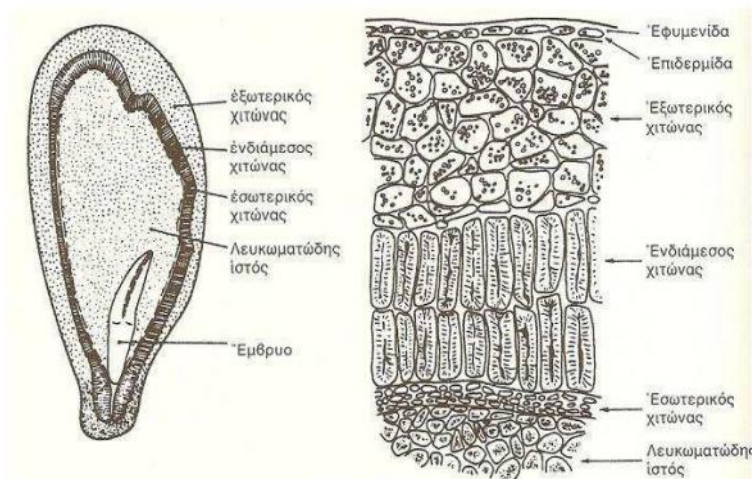
Τα στέμφυλα είναι η βασικότερη κατηγορία παραγόμενων στερεών οργανικών αποβλήτων, και αν δεν επεξεργαστούν σωστά, μπορούν να προκαλέσουν ποικίλους περιβαλλοντικούς κινδύνους, λόγω ρύπανσης υδάτων, απελευθέρωσης οσμών και

αύξηση διάδοσης ασθενειών. Τα στέμφυλα είναι πηγή υψηλής περιεκτικότητας σε μια σειρά αξιοποιήσιμων παραπροϊόντων όπως αιθανόλη, τρυγικά και μηλεϊνικά άλατα, κιτρικό οξύ, έλαια σπόρων σταφυλιών και διαιτητικές ίνες . Τα στέμφυλα είναι εύκολο να ανακυκλωθούν χρησιμοποιούμενα ως κομπόστ, πίσω στο έδαφος, καθώς χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά και οργανικό υλικό. Επίσης προτείνεται η χρήση τους ως καύσιμη ύλη για θέρμανση, ή ακόμη και ως τροφή σε κτηνοτροφικές μονάδες. Τα κατακάθια συλλέγονται χωριστά και διανέμονται σε εταιρείες ανακύκλωσης για ανάκτηση τρυγικών αλάτων. Επιπλέον, συγκεκριμένα στερεά οργανικά απόβλητα μπορούν να επιφέρουν κέρδος από μεταπώληση στα οινοποιεία καθώς μπορούν να ανακυκλωθούν και να επαναχρησιμοποιηθούν σε άλλου είδους βιομηχανίες ως πρώτες ύλες.

Γίγαρτα

Η σάρκα του γιγάρτου είναι πλούσια σε έλαια ,λιπαρά οξέα ,ελαικό οξύ ,λινολενικό οξύ, λενολεϊκό οξύ. Λόγω των αντιοξειδωτικών και άλλων χημειοπροστατευτικών ιδιοτήτων των πολυφαινόλων, τα εκχυλίσματα από τους φλοιούς και τα γίγαρτα των σταφυλιών χρησιμοποιούνται ολοένα περισσότερο ως βασικά συστατικά από βιομηχανίες τροφίμων και συμπληρωμάτων διατροφής, ενώ παράλληλα, μελετάται 1η ανάπτυξη φαρμάκων με βάση συγκεκριμένες δραστικές ουσίες του σταφυλιού. Έτσι, τα γίγαρτα αποτελούν μια άριστης ποιότητας πρώτη ύλη για την παραγωγή εκχυλισμάτων συνήθως με διαλύτη αιθανόλη ή μεθανόλη. Επιπλέον, τα γίγαρτα αξιοποιούνται ως πρώτη ύλη για την παραγωγή γιγαρτέλαιου, το οποίο έχει πολλές εφαρμογές σε βιομηχανίες καλλυντικών και συμπληρωμάτων διατροφής. Σε αυτήν την περίπτωση, η εκχύλιση λαμβάνει χώρα με εξάνιο. Η εκχύλιση βασικών συστατικών (φαινολικών ενώσεων, λιπαρών οξέων, πρωτεϊνών) από τα γίγαρτα μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορες μεθόδους, όπως οι υπέρηχοι, τα μικροκύματα, η κλασική ανάδευση, η εκχύλιση Soxhlet κ.ά. Πολλές φορές, όμως, λόγω έλλειψης μονάδας επεξεργασίας, ο όγκος των γιγάρτων που προέρχεται από τα μεγάλα συνεταιριστικά ή ιδιωτικά οινοποιεία παραμένει ουσιαστικά αναξιοποίητος, με ένα μικρό μέρος να χρησιμοποιείται είτε ως ζωοτροφή, όσο τα γίγαρτα είναι

φρέσκα, είτε ως λίπασμα αφού ζυμωθούν (Campos et al., 2008, Nassiri-Asl & Hosseinzadeh, 2009).



Εικόνα 1.1.6-1 : Ανατομία γιγάρτου

1.1.7 Μεταβολικά προϊόντα από από τη ζύμωση σε στέμφυλα.

Είναι σημαντικό να βρεθούν εναλλακτικές χρήσεις του κόκκινου Grape Pomace που μπορούν να βελτιώσουν την αξία του μειώνοντας παράλληλα τις αρνητικές επιπτώσεις που έχει για το περιβάλλον . Ο πυρήνας του κόκκινου σταφυλιού αποτελείται από ένα ευρύ φάσμα φαινολικών ενώσεων, φυσική κυτταρίνη, μέταλλα, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και φυτοχημικά. Παρατηρήθηκε πως οι ενώσεις στο GP έχουν θρεπτικές, ανθελμινθικές, αντιοξειδωτικές, αντιμεθανογόνες και αντιμικροβιακές ιδιότητες. Ωστόσο, έχει αναφερθεί ότι περίπου το 3% του GP επαναχρησιμοποιείται ως ζωοτροφή παγκοσμίως, πιθανώς λόγω των διατροφικών περιορισμών που επιβάλλονται από αντιδιατροφικά συστατικά όπως οι συμπυκνωμένες τανίνες και οι μη εύπεπτες ίνες στο GP, Το εκχύλισμα σταφυλιού

θεωρείται πρώτη ύλη που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή προϊόντων προστιθέμενης αξίας, όπως ενώσεις βιοσυντήρησης. Η χημική σύνθεση του θα μπορούσε να αποτελέσει ένα κατάλληλο εναλλακτικό μέσο για την ανάπτυξη διαφόρων μικροοργανισμών, αφού περιέχονται ζυμώσιμα αναγώγιμα σάκχαρα, όπως γλυκόζη, φρουκτόζη και άζωτο που μπορούν να καλύψουν τις θρεπτικές απαιτήσεις για τη μικροβιακή ανάπτυξη τους. Η διαδικασία για την παραγωγή των ενώσεων βιοσυντήρησης πρέπει να βελτιστοποιηθεί για υψηλότερη απόδοση προϊόντος και ελάχιστο κόστος παραγωγής. Οι προσεγγίσεις βελτιστοποίησης, όπως η μεθοδολογία επιφανειακής απόκρισης (RSM) και η μέθοδος Box-Behnken έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν. Ένα άλλο χαρακτηριστικό είναι η παραγωγή εξωκυτταρικών ενώσεων, όπως οι φονικές τοξίνες και οι πτητικές οργανικές ενώσεις.

Σταφύλι αποτελούν το κύριο υποπροϊόν και παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον για τη βιομηχανία τροφίμων, δεδομένου ότι το διαθέσιμο κλάσμα υδατανθράκων μπορεί να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παροχή διαιτητικών ινών και άλλων βιοδραστικών ενώσεων (González-Centeno et al., 2012).

Ένας αναδυόμενος τομέας κλινικής σημασίας είναι το αυξανόμενο ενδιαφέρον για το ρόλο των διαιτητικών υδατανθράκων. Προηγούμενες αναφορές υποδεικνύουν ότι Οι πολυσακχαρίτες διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα φαρμακολογικών ιδιο- όπως αντικαρκινικές και αντιοξειδωτικές, καθώς και αντιδιαβητικές ιδιότητες.

Η ζύμωση σε στερεά κατάσταση με μύκητες χαρακτηρίζεται γενικά ως μια οικονομικά και περιβαλλοντικά βιώσιμη στρατηγική για τη βιομετατροπή υποστρωμάτων πλούσιων σε λιγνίνη. Έχει αναφερθεί ότι η χρήση των μυκήτων της λευκής σήψης είναι οικονομικά αποδοτική, απαιτεί ήπιες περιβαλλοντικές συνθήκες, ενώ παράλληλα υποβαθμίζεται η αξία της κυτταρίνης. Επιπλέον, τα βρώσιμα μανιτάρια μπορούν να είναι άμεση πηγή τροφής ωστόσο καμία μελέτη δεν έχει διερευνήσει τη χρήση μανιταριού για την ενίσχυση της θρεπτικής αξίας του κόκκινου GP. Ως εκ τούτου, αυτή η προκαταρκτική μελέτη δημιουργήθηκε για να

προσδιορίζει την επίδραση των διαφορετικών ποσοστών των μανιταριών στη χημική σύνθεση και στις *in vitro* παραμέτρους ζύμωσης του πυρήνα του κόκκινου σταφυλιού. Η χρήση πυρήνων από κόκκινο σταφύλι ως υπόστρωμα μανιταριού μειώνει την περιεκτικότητα σε λιγνίνη του συγκεκριμένου υποστρώματος και επομένως βελτιώνει τη ζύμωση σε σύγκριση με τα μη επεξεργασμένα υποστρώματα (Sabater, Ruiz, Delgado, Ruas-Madiedo και Margolles, 2020).

1.2 Αξιοποίηση αποβλήτων από το πορτοκάλι.

Η αυξανόμενη κατανάλωση και η βιομηχανική επεξεργασία των βρώσιμων φρούτων έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια με αποτέλεσμα σε μεγάλες πόλεις να σημειώνεται αύξηση και των αποβλήτων των εσπεριδοειδών όπως φλούδες. Η φλούδα έχει χαρακτηριστεί ένα από τα κύρια προβλήματα των αστικών απορριμμάτων και η ακατάλληλη διαχείριση έχει ως αποτέλεσμα την εκπομπή μεθανίου και διοξειδίου του άνθρακα με αποτέλεσμα να μας οδηγεί στην αναζήτηση πόρων για την ανάκτηση των βιοδραστικών ενώσεων και κυρίως των φαινολικών. Τα βιομηχανικά απόβλητα φρούτων εμπλέκονται στους μετασυλλεκτικούς χειρισμούς με σκοπό τον περιορισμό της αλλοίωσης των αγροτικών προϊόντων κατά την αποθήκευση. Οι μέθοδοι εφαρμογής των μυκητοκτόνων στα φρούτα ποικίλουν και περιλαμβάνουν τον ψεκασμό πυκνών διαλυμάτων μυκητοκτόνων με υψηλή -χαμηλή ένταση, εμβάπτιση σε πυκνά διαλύματα μυκητοκτόνων (Bourafa et al 2015).

Η φλούδα του πορτοκαλιού περιέχει πάνω από 80% νερό ωστόσο πηκτίνη ,το D-λεμονένιο ,τα αιθέρια έλαια όπου συνάπτονται στον φλοιό χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία τροφίμων ,στον κλάδο της ιατρικής αλλά και της κοσμηματολογίας ,στην παραγωγή βιοκαυσίμων και βιοπλαστικών ,αντιθέτως τα σάκχαρα μπορούν να αξιοποιηθούν ως πηγή άνθρακα σε μικροβιακές μετατροπές, αρωματικών και χρωστικών ενώσεων.

1.2.1 Αξιοποίηση φλούδας πορτοκαλιού.

Οι φλούδες απαρτίζονται από μια ουσία που ονομάζεται εσπεριδίνη Πρόκειται για ένα φλαβονοειδές που έχει την ικανότητα να μεταβολίζει τα λιπίδια στο αίμα και ταυτόχρονα να μειώνει το λίπος που υπάρχει σε αυτό. Οι φλούδες των πορτοκαλιών περιέχουν 20% περισσότερη εσπεριδίνη από την σάρκα τους ενώ παράλληλα μπορούν να συνεισφέρουν στη μείωση της χοληστερίνης για τους παρακάτω λόγους:

- Αποτελούνται από φυτικές ίνες για την εντερική μας χλωρίδα:Οι φλούδες των πορτοκαλιών περιέχουν επίσης πηκτίνη. Αυτή είναι μια φυτική ίνα που προστατεύει από πιθανά στομαχικά προβλήματα διατηρώντας παράλληλα τα υγιή επίπεδα σακχάρου στο αίμα. Εκτός από αυτό, μια σειρά καλών βακτηρίων βοηθά στη φροντίδα της εντερικής μας χλωρίδας, διευκολύνοντας την πέψη και εξαλείφοντας τις περιόδους της δυσκοιλιότητας.
- Καταπολεμούν τις λοιμώξεις: Διαθέτουν περισσότερες ιδιότητες από τη σάρκα και προφυλάσσουν από τις λοιμώξεις καθώς έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε βιταμίνες οι οποίες προστατεύουν το ανοσοποιητικό σύστημα από κρυολογήματα και γρίπες.
- Βοηθούν στην απώλεια βάρους .

1.2.2 Αξιοποίηση φλοιού πορτοκαλιού.

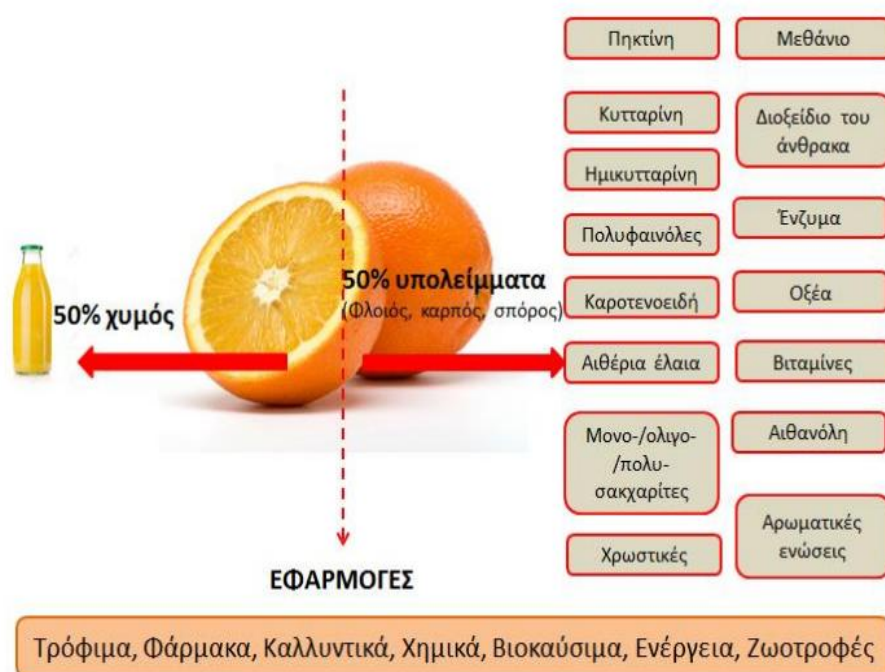
Ο φλοιός παρουσιάζει σημαντικό ενδιαφέρον λόγω των ποικίλων συστατικών που περιλαμβάνει όπως αναλύεται στην εικόνα 2.2.2.1 .Θεωρείται πηγή διαιτητικών ινών ,φυσικών αντιοξειδωτικών, αρωματικών και χρωστικών ενώσεων ,όπου μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε τρόφιμα. Επίσης για την εξαγωγή διαφόρων συστατικών έχει χρησιμοποιηθεί ,το ινώδες τμήμα του φλοιού αποτελούμενο από την πηκτίνη ,την κυτταρίνη και ημικυτταρίνη ,τις πολυφαινόλες, τα καροτονοειδή ,τα αιθέρια έλαια και διάφορα σάκχαρα .Εξίσου σημαντική είναι η μετατροπή του φλοιού σε άλλες βιοδραστικές ενώσεις μετά την βιοτεχνολογική αξιοποίηση ειδικότερα η αιθανόλη ,το μεθάνιο και το διοξείδιο του άνθρακα με αναερόβια ζύμωση διάφορες πρωτεΐνες αμινοξέα βιομηχανικά ένζυμα κυτταρινάση ξυλανάση οξέα βιταμίνη αλλά και πτητικές αρωματικές ενώσεις (Wicker et al 1989,Siles et al ,2010).



Εικόνα 1.2.2-1:Σύσταση φλοιού

Ολοκληρώνοντας, διάφορα προϊόντα που προκύπτουν από την εκχύλιση πορτοκαλιού προωθούνται για καούρα, ρινική συμφόρηση, απώλεια βάρους, διέγερση ή

καταστολή της όρεξης και αθλητική απόδοση. Επίσης η φλούδα βρίσκει εφαρμογή στο δέρμα ,στο πόνο, στους μώλωπες, στις μυκητιασικές λοιμώξεις, στο μαγείρεμα, για την προσθήκη γεύσης σε μύρα και στα οиноπνευματώδη ποτά.Το εκχύλισμα του αποτελείται από π-συνεφρίνη και άλλες φυσικές χημικές ουσίες.Η συνεφρίνη είναι δομικά παρόμοια με την εφεδρίνη, το κύριο συστατικό τουφυτού ephedra, αλλά διαφέρουν προς τις φαρμακολογικές ιδιότητες (Καντιφαδάκη, 2016).



Εικόνα 1.2.2-2 :Εφαρμογές πορτοκαλιού

Η Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων απαγόρευσε τη χρήση του ephedra σε συμπληρώματα διατροφής επειδή αυξάνει την αρτηριακή πίεση και συνδέεται με καρδιακή προσβολή και εγκεφαλικό επεισόδιο. Το πικρό πορτοκάλι χρησιμοποιείται συνήθως ως υποκατάστατο του ephedra.

- Οφέλη εκχυλίσματος

1. 1. Δυσπεψία, καούρα, και χαμηλή οξύτητα στομαχιών

Το εκχύλισμα πικρού πορτοκαλιού χρησιμοποιείται παραδοσιακά ως πεπτικό βοήθημα. Τα πικρά βότανα πιστεύεται ότι διεγείρουν την πεπτική λειτουργία αυξάνοντας την παραγωγή σάλιου και προωθώντας τόσο την παραγωγή οξέος στομάχου όσο και πεπτικών ενζύμων. Ως αποτέλεσμα, χρησιμοποιούνται ιδιαίτερα όταν υπάρχει χαμηλό οξύ του στομάχου αλλά όχι σε καούρα (όπου το υπερβολικό οξύ του στομάχου θα μπορούσε αρχικά να επιδεινώσει την κατάσταση).

2. Αϋπνία

Το εκχύλισμα πικρών πορτοκαλιών φρούτων έχει ιστορικό χρήσης ως ηρεμιστικό παράγοντα και για την εξουδετέρωση της αϋπνίας. Δεν υπάρχουν δεδομένα κλινικών δοκιμών που να υποστηρίζουν την αποτελεσματικότητά του σε αυτό το θέμα.

3. Παχυσαρκία

Το εκχύλισμα πικρής φλούδας περιέχει συνεφρίνη, η οποία μπορεί να προωθήσει την απώλεια βάρους. Αν και ιστορικά χρησιμοποιείται για την τόνωση της όρεξης, πικρό πορτοκαλί βρίσκεται συχνά σε σύγχρονες φόρμουλες απώλειας βάρους, επειδή η συνεφρίνη είναι παρόμοια με την ένωση εφεδρίνη, η οποία είναι γνωστό ότι προωθεί την απώλεια βάρους.

1.2.3 Βιοδραστικά απόβλητα πορτοκαλιού

Πηκτίνη

Όπως προαναφέρθηκε η πηκτίνη θεωρείται ένας ετεροπολυσακχαρίτης με δομικό ρολό όπου συναντάται σε μη ξυλώδεις φυτικούς ιστούς ,συμβάλλοντας στη δομή και στη αντοχή του κυτταρικού τοιχώματος. Η πηκτίνη είναι υπεύθυνη για την

σταθερότητα και τη δομή του φυτικού ιστού ,σχηματίζοντας σταθερά δίκτυα από ασβέστιο και ασταθή αλκάλια.Είναι ένα συστατικό της πρωτεοπηκτίνης του κυτταρικού τοιχώματος και συναντάται κυρίως από αλυσίδες μονάδων D-γαλακτορινικού οξέος (εικόνα 1.2.3-1) συνδεδεμένες μεταξύ τους με $\alpha(1-4)$ γλυκοζιτικούς δεσμούς και εμπεριέχονται σάκχαρα όπως ραμνόζη,γαλακτόζη,αραβινόζη, και ξυλόζη (Αγγέλου, 2019).

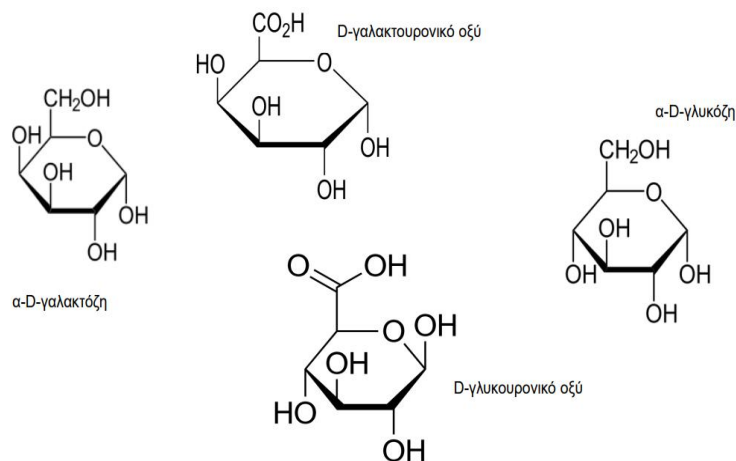
Η δομή της είναι χωρισμένη σε τέσσερις ξεχωριστές υποομάδες ,όπου οι τρεις έχουν διακλαδισμένα σάκχαρα και βρίσκονται στο σκελετό polygala:ραμνογαλακτουρονάνη I και II ξυλογαλακτουρανίη,γνωστές ως τριχωτές περιοχές. Ο μη διακλαδισμένος σκελετός του polygala ονομάζεται HG ή ομογαλακτουρονάνη και θεωρείται ομαλή περιοχή .Αυτές οι τέσσερις διαφορετικές υποομάδες σχηματίζουν δεσμούς γύρο από την κύρια αλυσίδα polygala.Η σύνθεση της πηκτίνης επηρεάζεται από τον τύπο και την ποικιλία της βιομάζας και τις συνθήκες εξαγωγής, με τη διαδικασία εκχύλισης της όξινης υδρόλυσης παράγεται η πηκτίνη που αποτελείται από αλυσίδες γαλακτουρονικού οξέος και με βάση τα πρότυπα της Ευρωπαϊκής ένωσης η πηκτίνη μπορεί να περιέχει πάνω από 65% D-γαλακτουρονικού οξέος.

Παράγοντες που επηρεάζουν το σχηματισμό πηκτής:

- pH (+ σάκχαρα) .Με την αύξηση του pH το μόριο φορτίζεται αρνητικά, δηλαδή αύξηση του ιξώδους, αλλά δεν σχηματίζεται συνεκτική δομή, διότι δεν σχηματίζεται τρισδιάστατη δομή που να δεσμεύει ποσότητα υγρού. Σε ουδέτερο pH οι δεσμοί H δεν δημιουργούνται διότι υπάρχει ισχυρή ενυδάτωση της πηκτίνης.
- Αριθμός μεθοξυλομάδων: Ο βαθμός εστεροποίησης (βαθμός μεθοξυλίωσης) επηρεάζει: Τη διαλυτότητα. Την ικανότητα σχηματισμού πηκτής. Τη θερμοκρασία σχηματισμού πηκτής. Ανάλογα με το βαθμό εστεροποίησης (>50%) οι πηκτίνες διαίρονται σε δύο κατηγορίες που σχηματίζουν πηκτές με διαφορετικούς μηχανισμούς. >50% (HM) Οι πηκτίνες HM απαιτούν μία

ελάχιστη ποσότητα διαλυτών στερεών (SS, πχ γλυκόζη, σουκρόζη) και ένα pH γύρω στο 3.0 (< 3.5) προκειμένου να δώσουν πηκτώματα.

- Μοριακό βάρος Με σταθερά pH και βαθμό εστεροποίησης,: η ικανότητα πήξης είναι ανάλογη με το μοριακό βάρος, όσο αυξάνεται το ένα αυξάνεται και το άλλο . Εμπορικές πηκτίνες, κατάταξη: Πηκτινικός βαθμός Τα μέρη της ζάχαρης που χρειάζονται για να παραχθεί πηκτή με καλή σύσταση από ένα μέρος πηκτινικής ουσίας σε καθορισμένο pH Ταχύτητα πήξεως Μεγάλη, μεσαία, χαμηλή .
- Ιόντα Προσθήκη μονοσθενών κατιόντων :προκαλεί μείωση του ιζώδους, επειδή γίνεται εξουδετέρωση των αρνητικών φορτίων των καρβοξυλικών ομάδων των οποίων οι απωστικές δυνάμεις προκαλούν την ακαμψία του μορίου. Η μείωση του ιζώδους γίνεται εντονότερη όταν η εστεροποίηση είναι ελαττωμένη. Όταν ο βαθμός μεθοξυλίωσης είναι χαμηλός, ιόντα ασβεστίου μπορούν να προκαλέσουν το σχηματισμό πηκτής. Η δομή αυτή είναι σταθερότερη από το συνδυασμό χαμηλού pH και σακχάρων και χρησιμοποιείται για παρασκευή γλυκισμάτων διαίτης. Ο βαθμός εστεροποίησης μπορεί να ελαττωθεί με τη χρήση πηκτινικής μεθυλεστεράσης. Το αποτέλεσμα είναι υψηλότερο ιζώδες και στερεότερα πηκτώματα παρουσία ιόντων Ca^{2+} .
- Θέρμανση



Εικόνα 1.2.3-1 Δομικά στοιχεία πηκτινών

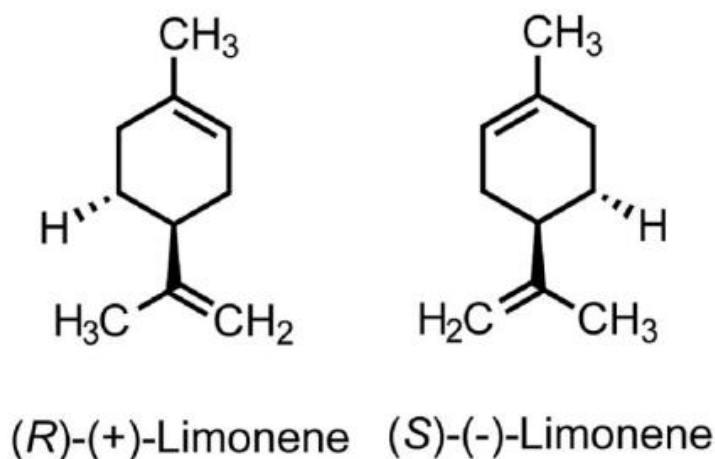
Αυτή η ουσία μπορεί να χρησιμοποιηθεί πλήρως στο τομέα των τροφίμων ως παράγοντα πηκτωματοποίησης και πάχυνσης, της κοσμηματολογίας και των φαρμάκων. Η πηκτίνη έχει την ικανότητα να σχηματίζει ένα δίκτυο που συγκρατεί το νερό και για αυτό το λόγο χρησιμοποιείται στην παρασκευή μαρμελάδας, σε χυμούς φρούτων, σε γαλακτοκομικά προϊόντα και ως υποκατάστατο λίπους.

Η εκχύλιση της πραγματοποιείται με όξινη υδρόλυση με αποτέλεσμα τη δημιουργία όξινων υγρών αποβλήτων. Κάτω από όξινες συνθήκες πραγματοποιείται η επεξεργασία της πρώτης ύλης με τη χρήση ανόργανων και οργανικών οξέων όπως υδροχλωρικό οξύ, θειικό οξύ, νιτρικό, κιτρικό κάτω από υψηλές τιμές θερμοκρασίας και 3 με 12 ώρες. Τα αδιάλυτα σωματίδια απομακρύνονται, η πηκτίνη επανακτάται με κατακρήμνιση χρησιμοποιώντας αιθανόλη. Έπειτα καθαρίζεται με όξινη αιθανόλη, ξηραίνεται έως ποσοστού υγρασίας 6-10%, η ξηρή πηκτίνη έχει απόδοση 25-30% του συνολικού βάρους του φλοιού του πορτοκαλιού.

1.2.4 Αιθήρια έλαια.

Από τα σημαντικότερα συστατικά που περιέχονται στο πορτοκαλί και συγκεκριμένα στον φλοιό ,είναι τα αιθήρια έλαια. Είναι φυσικές πηγές πτητικών ουσιών και η χρήση τους συναντάται ευρέως στην παρασκευή φαρμακευτικών σκευασμάτων, αρωμάτων ,τροφίμων, καλλυντικών και αντιμικροβιακών πρόσθετων. [Βλάμης].Αρωματικές ασφαλείς φυσικές ουσίες που παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον στα εσπεριδοειδή συναντώνται 400 αιθήρια έλαια όπου το 85-99% έχουν πτητικά συστατικά (όπως μονοτερπένια υδρογονάνθρακες και οξυγονωμένα παράγωγά τους ,αλδεύδες,κετόνες οξέα αλκοόλες και εστέρες)και το 1-15% μη πτητικά.Τα οποία είτε βρίσκονται μέσα σε σάκους είτε σε αδένες, θεωρούνται πηγή βιονεργών ενώσεων όπως οι κουμαρίνες ,τα φλαβονοειδή, οι φαινόλες,τα καροτένια τα τερπένια ,η λιναλόολη,οι βιταμίνες C και A, τα σάκχαρα, το κάλιο, το ασβέστιο, το φώσφορο και μία αρκετά ενδιαφέρουσα ουσία η οποία ονομάζεται d-limonene(Citrus Sinensis).Η χρήση του D-λιμονενίου συναντάται στη παρασκευή τροφίμων και φαρμάκων ως αρωματική ένωση, ως πράσινο διαλύτης, στην χημική βιομηχανία ,στην κοσμηματολογία αλλά και στην οικιακή χρήση ωστόσο οι τελευταίες δεκαετίες έχουν φέρει στο φως και τις αντιμικροβιακές του δράσεις. Η παραλαβή του γίνεται με διάφορους οργανικούς διαλύτες αλλά και με απόσταξη (Braddock et al 1986 Hull et al 1953).

Η d-limonene έχει γίνει γνωστή ότι έχει πολλά οφέλη για την υγεία λόγω των αντικαρκινικών ιδιοτήτων αλλά και για την γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση ,γνωστή ως καούρα .



Εικόνα 1.2.4-1:Σύσταση του d-limonene

Τα αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών, εξάγονται από τη φλούδα του φρούτου με την διαδικασία της ψυχρής έκθλιψης, όπου τα αντιοξειδωτικά προστατεύονται όπως και οι ευεργετικές ιδιότητες του λαδιού και αναφερόμαστε σε μηχανική πίεση του φλοιού , στην απόσταξη με υδρατμούς ,ελω τα μέρη του φυτού τοποθετούνται πάνω από το νερό που βλάζει και τέλος με την εξαγωγή με διαλύτη αυτή η μέθοδος εφαρμοόζεται σε άνθη με μικρή ποσότητα ελαίου,η παραγόμενη ουσία αποκαλείται βάμμα,το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθει όπως είναι ή αλλιώς να γίνει εκχύλιση με αιθυλική αλκοόλη.Υπάρχουν δύο τύποι εξαγωγής.Μια μέθοδος εκχύλισης ξύνει το εξωτερικό στρώμα της φλούδας πορτοκαλιού, εν συνεχεία προστίθεται νερό και το αιθέριο έλαιο διαχωρίζεται σε φυγόκεντρο. Μια άλλη μέθοδος εκχύλισης χρησιμοποιεί πορτοκάλια σε φέτες οι οποίες πιέζονται και το αποτέλεσμα είναι ένα μείγμα χυμού και αιθέριου ελαίου το οποίο διαχωρίζεται σε φυγόκεντρο.

Ο φλοιός των εσπεριδοειδών αποτελείται από :

- Το εξωτερικό στρώμα, όπου βρίσκεται μία λεπτή μεμβράνη η “flavedo”.

Εκεί βρίσκονται διάφοροι τύποι καροτενοειδών, τα οποία δίνουν το χαρακτηριστικό χρώμα της φλούδας του κάθε είδους και αιθέρια έλαια που δίνουν το χαρακτηριστικό χρώμα του κάθε φρούτου.

- Ένα παχύτερο, ινώδες και σπογγώδες λευκό στρώμα το “albedo”. Όπου απορροφά γρήγορα την απελευθερούμενη ποσότητα αιθέριου ελαίου από την στοιβάδα “flavedo”, ελλατώνοντας αισθητά την τελική απόδοση. Εκεί περιέχονται ενώσεις, που ανήκουν σε διαφορετικές χημικές ομάδες και μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά την ποιότητα του παραλαμβανόμενου χυμού, αν βρουν διέξοδο και αναμειχτούν με τον χυμό. Αυτές οι ενώσεις είναι της κατηγορίας των φλαβονοειδών, αλλά και d – λιμονένιο, λιμονένιο και πηκτίνες. Στη βιομηχανία των χυμών, φροντίζουν να διαχωρίζουν αυτές τις ουσίες, τόσο για την καλή ποιότητα του χυμού όσο και για την οικονομική σημασία τους σαν αυτοτελή προϊόντα. Επιπλέον, το αιθέριο έλαιο όταν παραλαμβάνεται, δεσμεύεται από τους κηρούς και τις πηκτίνες που προέρχονται από τα διαταραγμένα κύτταρα του flavedo. Έτσι, είναι δύσκολος ο διαχωρισμός του ελαίου από το ημιστερεό μίγμα που σχηματίζεται και απαιτούνται κι άλλες διεργασίες όπως διήθηση και διαχωρισμός με φυγοκέντριση για να παραληφθεί ένα διαυγές και καθαρό αιθέριο έλαιο. Μέχρι σήμερα έχουν τακτοποιηθεί σαράντα πτητικά συστατικά των αιθέριων ελαίων στις βιομηχανίες χυμών, ενώ στις βιομηχανίες αρωματοποιίας μόνο από τα περγαμότα έχουν απομονωθεί 70 πτητικά συστατικά.

Components (%)	Fresh (%)	Air dried (%)
Monoterpene Hydrocarbons		
a-pinene	1.65±0.12	1.77±0.13
Sabinene	0.37±0.03	-
a-phyllandrene	-	0.46±0.05
b-myrcene	4.19±0.25	3.76±0.13
Δ3-carene	1.03±0.10	0.78±0.04
Limonene	80.9±1.51	72.7±2.40
Z-β-ocimene	0.34±0.03	-
4-carene	0.85±0.05	0.61±0.05
1,3,8 p-methatriene	1.69±0.10	1.21±0.05
Oxygenated Monoterpene Hydrocarbons		
linalool oxide	-	0.48±0.04
linalool	1.52±0.08	2.10±0.12
trans-p-2.8 methadien-1-ol	-	0.79±0.05
Limonen oxide	0.76±0.08	-
a-terpinenol	-	2.34±0.14
Decanal	1.02±0.08	0.71±0.04
z-carveol	0.68±0.06	2.38±0.13
Citronelol	0.71±0.05	1.24±0.06
d-carvone	-	-
Isophorone	1.09±0.07	1.31±0.08
4-vinyl guaiacol	-	1.27±0.08
Pipitenone	-	-
Eugenol	-	-
SEQUITERPENE HYDROCARBONS		
a-cubebene	0.70±0.06	-
Valencene	1.20±0.09	0.41±0.04
δ-cadinene	-	-
Oxygenated SEQUITERPENE Hydrocarbons		
3-furanacetic acid	-	-
β-sinensal	0.83±0.07	-
α-sinensal	0.49±0.04	-
Nikkol	-	5.70±0.23
Total	100.00	100.00

Εικόνα 1.2.4.-2: Διάφορα έλαια που συναντώνται στο πορτοκαλί

1.2.5 Χρωστικές.

Η απόχρωση στα φρούτα έχει πρωταγωνιστικό ρόλο καθώς συνδέεται άμεσα με την ποιότητα του .Με βάση την νομοθεσία Codex Alimentarius οι χρωστικές και των δυο κατηγοριών ,δηλαδή συνθετικές και φυσικές, συγκαταλέγονται στα προσθετά των τροφίμων και στη χώρα μας οι προδιαγραφές για την χρήση τους καθορίζονται από τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Stich et al 2002). Από το εκχύλισμα κρασιών

και φυτών προήλθαν οι φυσικές χρωστικές ,οπού και εκχυλίζονται με συγκεκριμένους διαλύτες ,οι απαιτήσεις όμως για εντονότερη χρήση φυσικών προϊόντων επηρέασε άμεσα αυτή τη κατηγορία χρωστικών σε σχέση με τις συνθετικές χρωστικές οι οποίες πρέπει να χρησιμοποιούνται περιορισμένα..Στα τρόφιμα οι χρωστικές που συναντώνται είναι οι χλωροφύλλες με πράσινο χρώμα,οι φαιοφυτίνες με καστανοπράσινο χρώμα,η αιμογλοβίνη και η μυογλοβίνη που ναι χρώματα του κρέατος,τα φλαβονοειδή με κίτρινο χρώμα ,οι ταννίνες,κιτόνες και ξανθόνες,τα καρατονοειδή και τα παράγωγα του,όπως λυκοπένιο και τέλος οι ανθοκυάνες όπως η κυανιδίνη με κόκκινο μπλε χρώμα ανάλογα του pH (Spears 1988).

Οι αδυναμίες λόγω κλιματικών συνθήκων επηρεάζουν τις φυσικοχημικές ιδιότητες και λειτουργίες των φυσικών χρωστικών. Για αυτό το λόγο η αξιοποίηση των φυσικών χρωστικών από μικροοργανισμούς έχουν την ικανότητα να παραλείψουν την κλιματική αλλαγή και την διακύμανση χαρακτηριστικών των χρωστικών .

Μόριο	Μικροοργανισμός	Χρώμα	Κατάσταση
Ankaflavin	<i>Monascus sp.(fungus)</i>	Κίτρινο	B
Anthraquinone	<i>Penicillium oxalicum(fungus)</i>	Κόκκινο	B
Lycopene	<i>Blakeslea trispora(fungus)</i>	Κόκκινο	A
Lycopene	<i>Fusarium sporotrichioides(fungus)</i>	Κόκκινο	E
Monascorubramin	<i>Monascus sp.(fungus)</i>	Κόκκινο	B
Naphtoquinone	<i>Cordyceps unilateralis(fungus)</i>	Βαθύ κόκκινο	E
Riboflavin	<i>Ashbya gossypii(fungus)</i>	Κίτρινο	B
Rubropunctatin	<i>Monascus sp.(fungus)</i>	Πορτοκαλί	B
β-carotene	<i>Blakeslea trispora(fungus)</i>	Κίτρινο-Πορτοκαλί	B
β-carotene	<i>Fusarium sporotrichioides(fungus)</i>	Κίτρινο-Πορτοκαλί	E
β-carotene	<i>Mucor circinelloides(fungus)</i>	Κίτρινο-Πορτοκαλί	A
β-carotene	<i>Neurospora crassa(fungus)</i>	Κίτρινο-Πορτοκαλί	E
β-carotene	<i>Phycomyces blakesleeanus(fungus)</i>	Κίτρινο-Πορτοκαλί	E
Άγνωστο	<i>Penicillium purpurogenum(fungus)</i>	Κόκκινο	A
Άγνωστο	<i>Paecilomyces sinclairii(fungus)</i>	Κόκκινο	E
Astaxanthin	<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i> πρ. <i>Phaffia rhodozyma</i> (yeast)	Ροζ-Κόκκινο	A
Melanin	<i>Saccharomyces neoformans</i> var. <i>nigricans</i> (yeast)	Μαύρο	E
Torularhodin	<i>Rodhotrula sp.(yeast)</i>	Πορτοκαλί-Κόκκινο	A
Astaxanthin	<i>Agrobacterium aurantiacum(bacteria)</i>	Ροζ-Κόκκινο	E
Astaxanthin	<i>Paracoccus carotinifaciens(bacteria)</i>	Ροζ-Κόκκινο	E
Canthaxanthin	<i>Bradyrhizobium sp.(bacteria)</i>	Σκούρο κόκκινο	E
Rubrolone	<i>Streptomyces echinoruber(bacteria)</i>	Κόκκινο	A
Zeaxanthin	<i>Flavobacterium sp.(bacteria)</i>	Κίτρινο	A
Zeaxanthin	<i>Paracoccus zeaxanthinifaciens(bacteria)</i>	Κίτρινο	E

Το B: Βιομηχανική Παραγωγή, το A: Υπό Αναπτυξη, το E: Υπό Έρευνα

Εικόνα 1.2.5-1 Μικροοργανισμοί και χρωστικές.

Καθοριστικό ρολό έχουν οι συνθήκες καλλιέργειας και συγκεκριμένα η θερμοκρασία ,το pH,η υγρασία και το μέγεθος των κόκων σε στερεά κατάσταση. Η αρχική υγρασία του υποστρώματος παίζει καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη του μύκητα. Ζύμωση στερεάς κατάστασης θεωρείται η ζύμωση που πραγματοποιείται απουσία ελεύθερου νερού, έχοντας την κατάλληλη τιμή υγρασίας ώστε να διασφαλιστεί η ομαλή ανάπτυξη του μύκητα υπό νορμάλ συνθήκες. Ενώ στη υγρή κατάσταση σημαντική επίδραση παρουσιάζει η ανάδευση αερισμός ,η συγκέντρωση του εμβολίου φάση ανάπτυξης του μύκητα πηγή αζώτου και ο λόγος άνθρακα προς το άζωτο (C/N,carbon to nitrogen ratio).Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία της ζύμωσης σημασία έχει ο τρόπος εκχύλισης και παραλαβής των χρωστικών.

1.2.6 Ο ρόλος των φυσικών χρωστικών στη βιοτεχνολογία τροφίμων.

Σε σύγκριση με τις φυσικές χρωστικές που προέρχονται από οργανισμούς είτε φυτικούς είτε ζωικούς, η βιοτεχνολογική παραγωγή χρωστικών υπερέρχει αφού οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται αναπτύσσονται με ταχύτατους ρυθμούς σε οικονομικά υποστρώματα ανεξαρτήτου καιρικών συνθήκων . Οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται συναντώνται είτε στη κατηγορία των βακτηρίων είτε των ζυμών είτε των βασιδιομυκήτων.

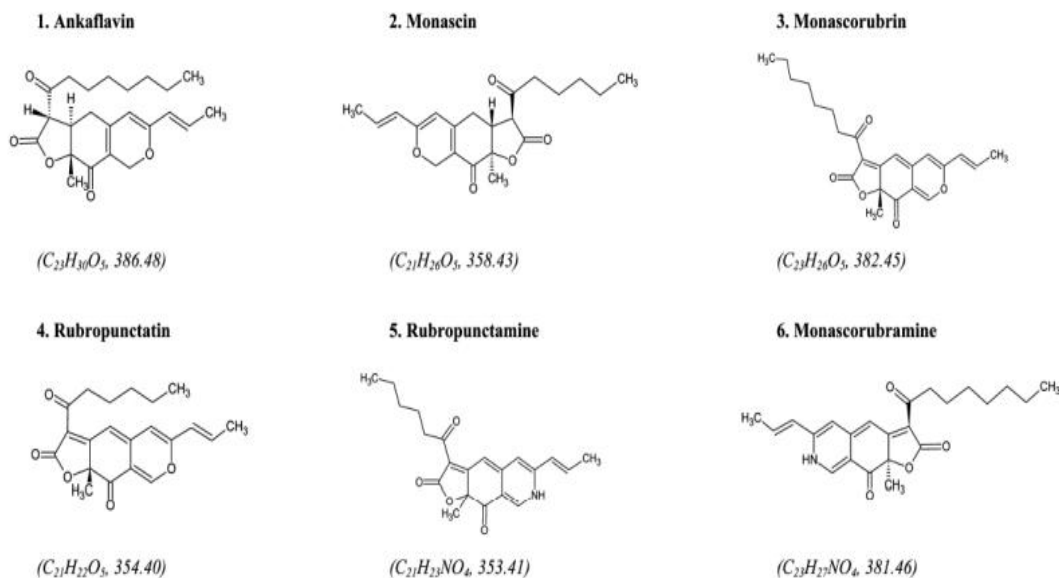
Χρωστικές MRS

Οι φυσικές χρωστικές MPs ανήκουν στους δευτερογενείς μεταβολίτες πολυκετεδικής δομής, όπου χρησιμοποιούνται ευρέως στις βιομηχανίες τροφίμων κυρίως του Ανατολικού κόσμου. Άλλοι επίσης δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από το γένος *Monascus* με σημαντική δράση είναι οι λοβοστανίνες ή μονοκαλίνες,το γ-αμινοβουτυρικό οξύ ή GABA,το διμερικό οξύ ,η εργοστερόλη, και μυκοτοξίνη κιτρινίνη.Εως και σήμερα έχουν μελετηθεί πάνω από 50 είδη χρωστικών MPs και

ιδιότητες που καλύπτουν μεγάλο εύρος όπως αντικαρκινικές, αντιμικροβιακές, μείωση της χοληστερίνης. Γενικότερα ,οι εφαρμογές του συγκεκριμένου είδους χρωστικών βρίσκουν ανταπόκριση σε πολλούς τομείς, ειδικότερα στα τρόφιμα χρησιμοποιούνται ως ενισχυτές χρώματος και γεύσης(γάλα ,λουκάνικα, σώς, πάστες ψαριών),ως εκκινητές σε προϊόντα ζυθοποιίας -οινοποιίας, ως σταθεροποιητές σε ζελέδες,ως μπαχαρικά ,ως συντηρητικά και στα φάρμακα.(Babitha 2009, Manchand and Whalley 1973).

Χημική δομή

Οι κύριες χρωστικές αυτού του είδους που παράγονται από το γένος *Monascus* (εικόνα 2.5.1.1) είναι εξ και ταξινομούνται ανάλογα των αποχρώσεών τους .Περιλαμβάνονται οι κίτρινες χρωστικές monascin $C_{21}H_{26}O_5$ ankaflavin $C_{23}H_{30}O_5$,οι πορτοκαλοί monascorubrin $C_{23}H_{26}O_5$ και rubropunctain $C_{21}H_{23}O$ και τέλος,οι κόκκινες monascorubraimine $C_{23}H_{27}O_4$ και rubropunctain $C_{21}H_{23}O_4$.Η δομή τους έχει καθοριστικό ρόλο για τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες ,είναι αδιάλυτες σε νερό και διαλυτές σε αιθανόλη,ακετικό οξύ,εξάνιο και διαλύονται επίσης στη προσθήκη γλουταμινικού ,λευκίνης,γλυκίνης,καρβοξυλομάδων ή αμινομάδων ,είναι σταθερές σε ένα μεγάλο εύρος τιμών θερμοκρασίας 30-60,σε pH 6-8,είναι ευαίσθητες στην ηλιακή και υπεριώδη ακτινοβολία, ενώ τα αμινοξικά παράγωγα τους και οι διαλυτές χρωστικές είναι σταθερότερες σε σύγκριση με τις έξι πτώτες χρωστικές. Τέλος στη παρουσίαση μικρή ποσότητας μεταλλικών ιόντων Na,Mg,K,Al,Ca,Cu και Zn ανιχνεύεται επιπλέον σταθερότητα σε αντίθεση με ιόντα Fe^{3+} και Fe^{2+} (Fend et al 2012).



Εικόνα 1.2.6-1: Δομή 6 χρωστικών από το γένος *Monascus*.

1.2.7 Εφαρμογές και ιδιότητες βακτηριακής κυτταρίνης.

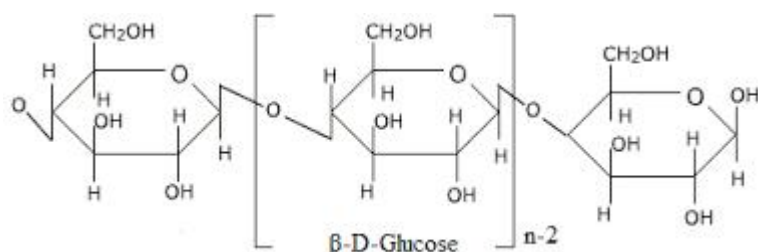
Η βακτηριακή κυτταρίνη διαθέτει ένα ευρύ φάσμα από παροντικές και μελλοντικές εφαρμογές και λόγω των ιδιοτήτων της βρίσκει εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων, στα βιογένη προϊόντα, στην ιατρική αλλά και σε άλλους τομείς. Οι ιδιότητες της κυτταρίνης είναι φυσικές και μηχανικές όπου στη φυσική της κατάσταση η BC είναι υδατό διογκωμένο δίκτυο ινιδίων κυτταρίνης όπου παίζει μεγάλο ρόλο στις μηχανικές ιδιότητες όπου καθορίζονται με τη σειρά τους από την πηγή άνθρακα και αζώτου. (Καντιφεδάκη, 2016) Οι απόψεις ωστόσο δίστανται καθώς κάποιοι ερευνητές θεωρούν πως οι πηγές αζώτου και άνθρακα επηρεάζουν την bc ενώ κάποιοι δεν το ενστερνίζονται αυτό. Ευρύτερα η Bc παρουσιάζει υψηλή βιοσυμβατότητα και βιοαποικοδόμηση, ο βαθμός πολυμερισμού κυμαίνεται ανάμεσα 2000-6000, αφού έχει προηγηθεί μέτρηση του ιξώδους διαλύματος κυτταρίνης σε διαλυτή Copper ethylenediamine.

Βιοσύνθεση και δομή βακτηριακής κυτταρίνης.

Η κυτταρίνη είναι το πιο άφθονο πολυμερές στον πλανήτη ,αποτελείται από γλυκόζες ενωμένες με β-14 γλυκοζιτικό δεσμό και χωρίζονται σε δύο κατηγορίες στη φυτική κυτταρίνη και βακτηριακή κυτταρίνη πρώτη κατηγορία συνυπάρχει με την λιγνίνη και την ημικυτταρίνη ενώ η δεύτερη συναντάται σε προϊόντα πρωτογενούς βακτηριακού μεταβολισμού και έχει προστατευτικό ρόλο σε σύγκριση με την φυτική που έχει ρόλο δομικό .Έχουν τον ίδιο μοριακό τύπο αλλά διαφέρουν σε φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Η σύνθεση της είναι μια διαδικασία περίπλοκη από το βακτήριο *K.sucrofermentas* κατά την φάση της ανάπτυξης του .Η διαδικασία περιέχει τη σύνθεση της ουριδίνης της διφωσφογλυκόζης ,ενός πρόδρομου μορίου της κυτταρίνης ακολουθούμενη από το πολυμερισμό της γλυκόζης. Ωστόσο το πρωταγωνιστικό ρόλο στη βιοσύνθεση την έχει το ένζυμο πυροφωσφορυλάση, αφού κάπου κύτταρα εκδηλώνουν ανεπάρκεια αυτού του ενζύμου και εμφανίζουν ενεργότητα κατά την σύνθεση της κυτταρίνης. Επίσης η ενεργότητα ποικίλει ανάλογα το στέλεχος και η υψηλότερη τιμή εντοπίστηκε στο στέλεχος *A.xyllinum* ssp. Η βακτηριακή κυτταρίνη είναι γραμμικό πολυμερές μονάδων D-γλυκόζης όπου τα βακτήρια ενώνονται εντός του πολυσακχαρίτη,όπως παρουσιάζεται στην εικόνα 1.2.7-2 ,του οποίου η μορφολογία διαφέρει όταν παράγεται υπό στατικές συνθήκες ή συνθήκες ανάδευσης .Στην πρώτη περίπτωση δημιουργείται μια κυτταρινούχος μεμβράνη ενώ στη δεύτερη σχηματίζονται ακανόνιστοι κόκκοι .Οι δυο κρυσταλλικές μορφές της κυτταρίνης ορίζονται ως I (φυτική κυτταρίνη με δομές Ia Ib και η II όπου παράγεται από φύκι ,μύκητες και βακτήρια (Καντιφεδάκη, 2016).



Εικόνα 1.2.7-1:Μικροϊνίδια βακτηριακή κυτταρίνης



Εικόνα 1.2.7-2: Δομή βακτηριακής κυτταρίνης

1.2.8 Μεταβολικά προϊόντα της φλούδας πορτοκαλιού.

Οι σημαντικές απώλειες και τα απόβλητα στις βιομηχανίες νωπών και μεταποιητικών βιομηχανιών αποτελούν σοβαρό περιβαλλοντικό ζήτημα, κυρίως λόγω των επιπτώσεων της μικροβιακής υποβάθμισης. Υπήρξε πρόσφατη αύξηση της έρευνας και της καινοτομίας που σχετίζεται με τα τρόφιμα, τη συσκευασία και τις φαρμακευτικές εφαρμογές για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων. Τα υποχρησιμοποιημένα απόβλητα (σπόροι, δέρμα, φλοιό και πυρήνισκο) αποτελούν δυνητικά καλές πηγές πολύτιμων βιοδραστικών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων λειτουργικών θρεπτικών συστατικών, αμυλοπηκτικής, φυτοχημικών, βιταμινών, ενζύμων, διαιτητικών ινών και ελαίων. Τα απόβλητα φρούτων και λαχανικών (FVW) είναι πλούσια σε θρεπτικά συστατικά και επιπλέον θρεπτικές ενώσεις που συμβάλλουν στην ανάπτυξη των ζωοτροφών, βιοδραστικών συστατικών και παραγωγής αιθανόλης. Στην ανάπτυξη ενεργών μεμβρανών συσκευασίας, χρησιμοποιούνται συνήθως πηκτίνη και άλλα βιοπολυμερή. Επιπλέον, οι πιο πρόσφατες ερευνητικές μελέτες που ασχολούνται με το FVW έχουν ενισχύσει τις φυσικές, μηχανικές, αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες των συσκευασιών και των βιοσύνθετων συστημάτων. Οι καινοτόμες τεχνολογίες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκχύλιση και την ενίσχυση ευαίσθητων βιοενεργών ενώσεων θα είναι ζωτικής σημασίας για την πλήρη αξιοποίηση του FVW (Mohd Salahuddin Mohd Basri, 2021).

Κεφάλαιο II

2.1 Φαρμακευτικά μανιτάρια .

Η ονομασία λειτουργικά τρόφιμα πρωτοεμφανίστηκε στην Ιαπωνία την δεκαετία του 1980 . Ο ευρύτερος ορισμός των λειτουργικών τροφίμων που υποστηρίζεται από τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) δηλώνει ότι λειτουργικό τρόφιμο είναι η πηγή που παρέχει στον οργανισμό τις απαραίτητες ποσότητες θρεπτικών συστατικών,όπως πρωτεϊνών, υδατανθράκων, λιπών, βιταμινών, ανόργανων συστατικών και άλλων.

Τα μανιτάρια θεωρούνται λειτουργικά τρόφιμα που μπορούν να καταναλωθούν ως διατροφικά συμπληρώματα. Σε παγκόσμιο επίπεδο, είναι γνωστά περίπου 14.000 είδη μανιταριών, μεταξύ των οποίων,περίπου 2000 είδη θεωρούνται βρώσιμα μανιτάρια. Ακόμη μπορούν να θεωρηθούν θεραπευτική τροφή ,διότι είναι πηγή βιοδραστικών ουσιών, όπως γλυκοπρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες,κυρίως β-γλυκάνες, και δευτερογενείς μεταβολίτες- δηλαδή, ανάλογα νουκλεοτιδίων, χηλικές ενώσεις μετάλλων.Ωστόσο μόνο τα 200 είδη μανιταριών έχουν καλλιεργηθεί εμπορικά για την δημιουργία φαρμάκων και την ανθρώπινη κατανάλωση μπορούν να συγκριθούν με διάφορα προϊόντα κρέατος, ψαριών, αυγών και γαλακτοκομικών προϊόντων. Εκτός από τη διατροφική σημασία, τα μανιτάρια είναι γνωστά για τις βιοδραστικές τους ενώσεις (λεκτίνες, πολυσακχαρίτες (β-γλυκάνες), πολυσακχαρίτες-πεπτίδια, πολυσακχαρίτες-πρωτεΐνες έχουν χρησιμοποιηθεί ως βασικά συστατικά για την παραγωγή πολλών τύπων λειτουργικών τροφίμων (Nutritional Profile and Health Benefits of *Ganoderma lucidum*“Lingzhi, Reishi, or Mannentake”,et 2022).

2.2 Τα φαρμακευτικά μανιτάρια συμπεριλαμβάνονται ως τα λεγόμενα λειτουργικά τρόφιμα, διότι οι λειτουργίες τους επηρεάζουν θετικά τον ανθρώπινο οργανισμό υπερβαίνοντας έτσι την θρεπτική αξία του τροφίμου. Στην χώρα μας έχουν απαριθμηθεί, 2.500 είδη μυκήτων εκ των οποίων τα 900 είναι μανιτάρια · ο αριθμός αυτός χαρακτηρίζεται μικρός αφενός γιατί η ανίχνευση και καταγραφή τους συνεχίζεται ακόμα και σήμερα και αφετέρου επειδή η υψηλή ποικιλομορφία των

οικολογικών συνθηκών σε συνδυασμό με την πλούσια χλωρίδα, δημιουργούν πολλούς διαφορετικούς βιότοπους για την ανάπτυξη με το να αποδίδονται σε αυτά δεκάδες θεραπευτικές ιδιότητες. Με τη συνεχή μελέτη της χημείας, της βιοτεχνολογίας και της μοριακής βιολογίας των μανιταριών, παρατηρήθηκε ταχεία αύξηση της χρήσης τους για φαρμακευτικούς σκοπούς. Ένας μεγάλος αριθμός μανιταριών έχουν ενδιαφέρουσες φαρμακευτικές ιδιότητες και αποτελούν αντικείμενο έρευνας σε όλο τον κόσμο.

Σύμφωνα με το National Cancer Institute:

"Τα φαρμακευτικά μανιτάρια είναι μανιτάρια που χρησιμοποιούνται ως φάρμακα. Έχουν χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση λοιμώξεων για εκατοντάδες χρόνια, κυρίως στην Ασία. Σήμερα, τα φαρμακευτικά μανιτάρια χρησιμοποιούνται επίσης για την αντιμετώπιση πνευμονικών παθήσεων και του καρκίνου. Για περισσότερα από 30 χρόνια, τα μανιτάρια έχουν εγκριθεί ως προσθήκη στις τυπικές θεραπείες για τον καρκίνο στην Ιαπωνία και την Κίνα. Σε αυτές τις χώρες, τα μανιτάρια έχουν χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια για μεγάλο χρονικό διάστημα, είτε μόνα τους είτε σε συνδυασμό με ακτινοβολία ή χημειοθεραπεία. Τα φαρμακευτικά μανιτάρια, αντιπροσωπεύουν μία κατηγορία διατροφφαρμακευτικών ουσιών, που δεν είναι ευρέως γνωστά στο Δυτικό κόσμο, ενώ καλλιεργούνται και καταναλώνονται εδώ και χιλιάδες χρόνια στις χώρες της Ανατολής".

2.3 Ιδιότητες

Τα φαρμακευτικά μανιτάρια μπορούν να οριστούν ως μακροσκοπικοί μύκητες (ορατοί με γυμνό μάτι), κυρίως ανώτεροι βασιδιομύκητες. οι οποίοι χρησιμοποιούνται :

- ✓ για την πρόληψη, την ανακούφιση ή την επούλωση παθήσεων
- ✓ για διατροφικούς λόγους.

Στην εποχή μας χρησιμοποιούνται κυρίως ως συμπληρώματα διατροφής ή λειτουργικά τρόφιμα, όπως αναφέρθηκε κι προηγουμένως. Τα μανιτάρια είναι από τις λίγες τροφές που παρουσιάζουν ανοσοτροποποιητική ή ανοσορρυθμιστική δράση, όπου συνεπάγεται με το ότι έχουν την ικανότητα να τροποποιούν τη δράση του ανοσοποιητικού συστήματος ώστε αυτό να λειτουργεί εντός φυσιολογικών ορίων. Από το 1992 μια μελέτη έδειξε ότι τα φαρμακευτικά μανιτάρια έχουν δείξει ειδικές ιαματικές επιδράσεις λόγω της πολυπλοκότητας των χημικών συστατικών τους και των διαφορετικών βιοδράσεων. .

Οι φαρμακευτικές ιδιότητες όπου διαθέτουν καλύπτουν ένα μεγάλο εύρος , και συγκεκριμένα πιστεύεται ότι ξεπερνούν τις 130 διαφορετικές λειτουργίες όπως:

- ❖ ανοσορρυθμιστικές
- ❖ αντιοξειδωτικές
- ❖ αντιδιαβητικές
- ❖ αντι-υπερχοληστερολαιμίες
- ❖ αντι-ιικές συμπεριλαμβανομένου του κορωνοϊού
- ❖ αντικαρκινικές
- ❖ καρδιαγγειακές
- ❖ αντιβακτηριακές
- ❖ αντιπαρασιτικές
- ❖ αποτοξινωτικές
- ❖ ηπατοπροστατευτικές
- ❖ αντιμικροβιακές
- ❖ αντιμυκητιασικές
- ❖ ενάντια στους όγκους

- ❖ ενάντια στην παχυσαρκία
- ❖ αντιγηραντικές
- ❖ αντιφλεγμονώδεις
- ❖ αντιβιοτικές
- ❖ φωτοπροστατευτικές
- ❖ νευροπροστατευτικές και άλλες
- ❖ καταπολέμηση κατά της σκλήρυνσης κατά πλάκας
- ❖ καταπολέμηση παχυσαρκίας

Επίσης ,ιδιαιτερη έμφαση τους έχει δοθεί τις τελευταίες δεκαετίες λόγω του εντοπισμού των πολυσακχαριτών ενεργών συστατικών τους. Ο μεγαλύτερος αριθμός από τους μύκητες αξιοποιούνται σχεδόν πλήρως ως εμπορικά προϊόντα σε Ανατολικές χώρες όπως Ιαπωνία και Κίνα. Η σύνθεση μαζί με τις πιθανές εφαρμογές στον καρκίνο και την ανοσοθεραπεία, τις φλεγμονώδεις ασθένειες και το ΚΝΣ έχουν αναθεωρηθεί, ακόμη οι αξιόπιστες εφαρμογές μυκητιακών πολυσακχαριτών στη θεραπεία του καρκίνου καταδείχθηκε για το Ganoderma και όλα του τα είδη.

2.4 Οι μύκητες λόγω των πλούσιων συστατικών τους μπορούν να συμπληρώσουν και να ενισχύσουν την ευεξία και παράλληλα να βοηθήσουν σε διάφορα προβλήματα υγείας με το να εξισορροπήσουν και να αποκαταστήσουν το ανοσοποιητικό σας σύστημα, να αυξήσουν τη ροή οξυγόνου στα κύτταρά, να ενισχύσουν την ψυχική και δημιουργική οξύτητά, να ρυθμίσουν το σάκχαρο του αίματός , να μειώσουν τα επίπεδα στρες, να εξασφαλίσουν ξεκούραστο ύπνο και ψυχική ηρεμία (Natura, 2020).

2.4.1 Ganoderma sp.

Το Ganoderma είναι ένα αρκετά διαδεδομένο μανιτάρι με ιδιαίτερη εξάπλωση στην Ελλάδα, καρποφορεί από το καλοκαίρι έως και τους πρώτους μήνες του

χειμώνα σε κορμούς, σε θαμμένες ρίζες πλατύφυλλων και σπανιότερα σε κωνοφόρα είδη. Το μανιτάρι είναι σκληρό σαν ξύλο και δεν τρώγεται αλλά χρησιμοποιείτε σαν προϊόν με ευεργετικές ιδιότητες για τον ανθρώπινο οργανισμό. Το συγκεκριμένο φαρμακευτικό μανιτάρι είναι ευρέως γνωστό στην Κίνα ως LingZhi που σημαίνει πνευματική δύναμη ,χρησιμοποιείται στην Ιαπωνία για πάνω από 2000 χρόνια και θεωρείται το γηραιότερο μανιτάρι που παρουσιάζει τέτοιες ιδιότητες..Αξίζει να σημειωθεί ότι στην Κορέα, την Ιαπωνία και ιδιαιτέρως στην Κίνα αποκαλείται ως “το μανιτάρι της αθανασίας». Είναι το πιο διάσημο από όλα τα θεραπευτικά μανιτάρια με πολλά οφέλη για την υγεία αφού έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 130 οφέλειμμα συστατικά.

Το γανόδερμα είναι ένα από τα 300 παγκοσμίως καταγεγραμμένα προσαρμογόνα βότανα, το οποίο σημαίνει ότι εφόσον το λαμβάνει κάποιος τότε αυτό προσαρμόζει τις ιαματικές του ιδιότητες στις ανάγκες του οργανισμού για σωστή λειτουργία τη δεδομένη στιγμή.Το μεγαλύτερο μέρος αυτού του μύκητα αποτελείται από νερό (έως και 90%) αλλά η περιεκτικότητά του είναι πλούσια σε αμινοξέα ιδιαίτερα σε λυσίνη και λευκίνη, αλκαλοειδή, κουμαρίνη, τριτερπενοειδή, πτητικά έλαια, μαννιτόλη, υδατάνθρακες, βιταμίνη B2, βιταμίνη C ,γενικά ένζυμα που το καθιστά πολύτιμο, πολυσακχαρίτες, στεροειδή, λιπαρά οξέα,πεπτίδια,ιχνοστοιχεία και το ευρύ φάσμα των ενώσεων τριτερπενοειδή (γανοντερικό οξύ, λουσιντεμικό οξύ, μεθυλο-γανοντερικό οξύ), ανόργανα στοιχεία (όπως ψευδάργυρος, χαλκός, ιώδιο, σελήνιο και σίδηρος.) Επιπλέον είναι διαδεδομένο για την περιεκτικότητά του σε βιοδραστικές ουσίες,που αποτελούνται από τερπενοειδή, στεροειδή, φαινόλες και νουκλεοτίδια με αποτέλεσμα η πλειοψηφία των επιδράσεων του reishi οφείλεται σε αυτές.

Οι πολυσακχαρίτες, οι πεπτιδογλυκάνες και τα τριτερπένια είναι τα τρία κύρια ενεργά συστατικά του.Έτσι λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς σε πολυσακχαρίτες, μπορεί να έχει αντιφλεγμονώδες, αντιοξειδωτικές, υπογλυκαιμικές και ανοσοδιεγερτικές δράσεις επίσης όλα αυτά τα συστατικά που περιέχονται στο reishi διαθέτουν μια σειρά από επιπλέον αποτελέσματα. Για παράδειγμα, έχουν χημειοπροληπτικές ή ογκοκτόνες ικανότητες. .

Μπορεί να βοηθήσει με τη σταθεροποίηση των επιπέδων σακχάρου στο αίμα (γλυκαιμία) και να υποστηρίξει την άμυνα του οργανισμού. Ρόλο παίζουν και τα τριπτένια που περιέχει ο μύκητας, καθώς σχετίζονται με την αυξημένη αντοχή του οργανισμού στις ασθένειες.



Εικόνα 2.4.1-1: Μύκητας του γένους *Ganoderma* sp

Θεραπευτικές ιδιότητες:

Οι υδατοδιαλυτοί πολυσακχαρίτες που περιέχει το γανόδερμα και συγκεκριμένα οι β-8-(1,3)-D-γλυκάνες θεωρούνται τα πιο ενεργά συστατικά του.

- ❖ Ενισχύουν την κυτταρική λειτουργία και έτσι μπορεί το ανοσοποιητικό σύστημα να αντιμετωπίσει κάποιες δυσάρεστες καταστάσεις για τον οργανισμό μας, όπως το άσθμα, η δερματίτιδα, η βρογχίτιδα, οι ρευματισμοί, ενώ έρευνες έχουν δείξει ότι παρεμποδίζουν την απελευθέρωση ισταμίνης ανακουφίζοντας έτσι από τις κοινές αλλεργίες.
- ❖ Το *Ganoderma lucidum*, σε επιθετικές μορφές καρκίνου, ενισχύει την επιφάνεια του καρκινικού κυττάρου εμποδίζοντας την εξάπλωσή του.

- ❖ Εμποδίζει επίσης το σχηματισμό θρόμβων,βοηθώντας τη δράση της φαρμακευτικής θεραπείας, σε τοπικό επίπεδο.
- ❖ Ελαττώνει τις παρενέργειες της χημειοθεραπείας και αυξάνει την αποτελεσματικότητά της σε συνδυασμό με άλλα αντικαρκινικά φάρμακα.
- ❖ Έντοπίζονται ευεγερτικές ικανότητες και έναντι διαφόρων νευρολογικών παθήσεων (νευρομυικές νόσοι, σκλήρυνση κατά πλάκας), ψυχοσωματικών παθήσεων, του σακχαρώδους διαβήτη, του συνδρόμου χρόνιας κόπωσης, καθώς διαθέτει και αντιγηραντικές ιδιότητες.
- ❖ Παράλληλα, κάποια οξέα που εντοπίστηκαν στο γανόδερμα προκαλούν μείωση στα επίπεδα της κακής χοληστερόλης (LDL), της υψηλής αρτηριακής πίεσης, αλλά και αντιπηκτικές ιδιότητες.
- ❖ Ανοσορρυθιστική δράση.
- ❖ Περιέχονται ενώσεις με ανοσοβιολογικές και αντιφλεγμονώδεις εφαρμογές. Μελέτες σε ασθενείς με χαμηλή ανοσία έχουν πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα όπως αύξηση σωματικού βάρους, των CD4 T-λεμφοκυττάρων και των επιπέδων αιμοσφαιρίνης στο αίμα.
- ❖ Αντικές δράσεις/Αντιμικροβιακές Βοηθά στην προφύλαξη του ανοσοποιητικού συστήματος από βακτήρια, ιούς και λοιμώξεις από ανθεκτικά πρωτόζωα στα υπάρχοντα αντιβιοτικά.
- ❖ Αντιυπερτασική δράση Με την χορήγηση του φαρμακευτικού μύκητα σε υπερτασικά άτομα η πίεση μειώθηκε .Η υπέρταση που σχετίζεται με το ένζυμο ανεστάλη με τα γανοδερμικά οξέα,γοναδερόλη Α και γανοδερόλη Β .
- ❖ Προστατευτικό ρόλο για το ήπαρ.

❖ Υπογλυκαιμική δράση.

❖ Αντιοξειδωτική δράση .

Επί προσθέτως τα βιοενεργά συστατικά που βρίσκονται στο μανιτάρι πιθανόν να προσφέρουν θεραπεία σε παθήσεις όπως η ηπατοπάθεια(η χρόνια ηπατίτιδα),η νεφρίτιδα, υπέρταση, υπερλιπαιμία, αρθρίτιδα, νευρασθένεια, αϋπνία, βρογχίτιδα, άσθμα, γαστρικά έλκη, αθηροσκλήρωση, λευκοπενία, διαβήτη, ανορεξία, και καρκίνος. Ένα από τα πιο σημαντικά αποτελέσματα του μανιταριού reishi είναι ότι μπορεί να ενισχύσει το ανοσοποιητικό σας σύστημα.

Το μανιτάρι μπορεί να ενισχύσει τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος μέσω των λευκών αιμοσφαιρίων, που βοηθούν στην καταπολέμηση της λοίμωξης και του καρκίνου. Αυτό μπορεί να συμβεί κυρίως σε εκείνους που είναι άρρωστοι, όμως έρευνες έχουν δείξει ανάμεικτα αποτελέσματα σε εκείνους που είναι υγιείς.

Γανόδερμα πίεση και συκώτι

Πέρα από την καταπολέμηση του καρκίνου, θεωρείται εξίσου σημαντικό, στην καταπολέμηση της χρόνιας κόπωσης, της ρευματοειδή αρθρίτιδας, και βοηθά τους διαβητικούς ασθενείς .

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα γανοντερικά οξέα, που εντιπίστηκαν στο μανιτάρι , προκαλούν μείωση της αρτηριακής πίεσης και της χοληστερόλης, διεγείρει το συκώτι, αλλά και παρεμπόδιζει τη πήξη του αίματος. Βελτιώνει την κυκλοφορία και μειώνει την υψηλή πίεση .Υποστηρίζει και ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα ώστε να είναι σε καλύτερη κατάσταση για την καταπολέμηση των ιών και των βακτηρίων, αυξάνει το επίπεδο των αντιοξειδωτικών στο σώμα που καταπολεμούν τις ελεύθερες ρίζες.

Επίσης χρησιμοποιείται το γανόδερμα για:

- ❖ Για έναν καλύτερο και ξεκούραστο ύπνο
- ❖ Για την μείωση στρες
- ❖ Για τη Θεραπεία εποχιακών αλλεργιών

Επιπλέον, η έρευνα επιβεβαιώνει επίσης μπορεί να βοηθήσει με τη μείωση των συμπτωμάτων της νευρασθένειας, μιας ασθένειας της οποίας τα συμπτώματα περιλαμβάνουν πονοκεφάλους, ευερεθιστότητα, κόπωση και μειωμένη συγκέντρωση. Αυτός ο μύκητας είναι επομένως πολύ δημοφιλής μεταξύ των ανθρώπων που προσπαθούν να ενισχύσουν το ανοσοποιητικό τους σύστημα, να καταπολεμήσουν τη φλεγμονή ή θέλουν να υποστηρίξουν στο μέγιστο τον μεταβολισμό των υδατανθράκων και τα βέλτιστα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. (Natura, 2020).

Αλληλεπιδράσεις με τα φάρμακα και οι παρενέργειες που προκαλούνται
Με έρευνες έχει αποδειχθεί ότι ο μύκητας αυτός έχει την ικανότητα να ανταγωνισθεί τις αποδράσεις των αμφεταμινών. Πιο συγκεκριμένα, έχει την δυνατότητα να αυξομειώνει την κινητικότητα συγκεκριμένων αντιβιοτικών όπως αμπικιλίνη, καφεζολίνη, οξυτετρακυλίνη και χλωραμφαινικόλης όμως σε συνδυασμό με αντιπηκτικά φάρμακα μπορεί να οδηγήσει σε κίνδυνο έντονης αιμορραγίας και αναστέλλει τη συσσώρευση αιμοπεταλίων. Ωστόσο όμως αν το Ganoderma χρησιμοποιηθεί παραπάνω από μισό χρόνο μπορεί να προκαλέσει κάποιες παρενέργειες όπως δερματικά εξανθήματα, στομαχικές διαταραχές, ρινορραγίες, ξηροστομία, ζάλη και κεφαλαλγία. Χρήζει προσοχή σε άτομα που λαμβάνουν αγωγή για διαβητικούς ή υπογλυκαιμικούς λόγους, διότι ο μύκητας έχει την δυνατότητα να μειώνει το σάκχαρο ή την πίεση του αίματος αλλά μπορεί να προκαλέσει και γαστρική αιμορραγία.

2.4.2 *Trametes sp.*

Ο Βασιδιομύκητας *Trametes versicolor* είναι γνωστός στη ξένη βιβλιογραφία ως «Turkey tail fungus» Χαρακτηρίζεται ως σαπροτροφικό είδος μανιταριού που συνήθως εντοπίζεται κατά τη διάρκεια και των 12 μηνών με εντονότερη εμφάνιση τους χειμερινούς μήνες, που πέφτουν τα φύλλα των δέντρων αναπτύσσεται σε κορμούς, σε κλαδιά και ευρύτερα σε όλες τις δασώδεις εύκρατες ζώνες της Ασίας, της

Ευρώπης, και της Βόρειας Αμερικής. επίσης χρησιμοποιείται παραδοσιακά στην Ασία ως εναλλακτική ιατρική στη θεραπεία πολλών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων των καρκίνων και ορισμένων λοιμώξεων. Μορφολογικά, είναι ένας λευκοσκληρωτικός λιγνιόμορφος μύκητας που καλλιεργείται συνήθως σε πεύκα και βελανιδιές ενώ γίνεται χρήση ευρέως ως παραδοσιακό φάρμακο σε διάφορες Ασιατικές και Αφρικανικές χώρες. Ωστόσο, λόγω της πολυποικιλίας του φύσης και της ξυλώδους γεύσης του, είναι λιγότερο προτιμώμενος. Επιπλέον, αποτελεί πλούσια πηγή διαιτητικών ινών και βιταμινών B1, B2, D2 και C (Ασημοπούλου, 2018). Μπορεί να αξιοποιηθεί ως θεραπευτικό συστατικό, καθώς αποτελείται από κύριες φαρμακευτικές ιδιότητες λόγω των πολυφαινόλων, των πολυσακχαριτών, των πρωτεϊνών και των τερπενοειδών. Έχουν υπάρξει αναφορές για β-γλυκάνες σε αυτό το μανιτάρι, για στερόλες και τα τερπενοειδή που είναι υπεύθυνα για την αντιοξειδωτική τους δράση (Institute for Natural Products Research, Davis, California, USA, et 2004).



Εικόνα 2.4.2-1 Μύκητας του γένους *Trametes* sp.

Ο συγκεκριμένος μύκητας είναι από τα καλύτερα ερευνημένα φαρμακευτικά μανιτάρια των τελευταίων ετών στον χώρο της κινεζικής ιατρικής ή φαρμακευτική

του αζία είναι ανεκτίμητη ενώ παρ'αλληλα εδώ και 2000 χρόνια έχουν εντοπιστεί γενικές ευεργετικές δράσεις συμπεριλαμβανομένης της αντοχής και της μακροζωίας.

Όπως και άλλα βρώσιμα μανιτάρια, το καρποφόρο σώμα του *C. versicolor* αποτελείται από υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, αμινοξέα και μέταλλα τα κύρια βιοδραστικά συστατικά του όμως είναι τα πολυσακχαροπεπτίδια (PSP), όπου παράγονται από τα στελέχη "COV-1" (PSP στην Κίνα) και "CM-101" (πολυσακχαρίτης K PSP Krestin ή PSK, στην Ιαπωνία), αντίστοιχα. Και τα δύο προϊόντα έχουν εγκριθεί ως φάρμακα κυρίως ως βοηθητικά στη θεραπεία του καρκίνου. Δεδομένου ότι είναι γνωστό ότι υπάρχουν πάνω από 100 στελέχη των μυκήτων, πρέπει να αναγνωριστεί η ποικιλομορφία αυτών των προϊόντων που προέρχονται από διαφορετικές γενετικές και περιβαλλοντικές πηγές, συμπεριλαμβανομένων των συνθηκών καλλιέργειας *in vitro* της μυκηλιακής παραγωγής τους. Αποτελούνται από πολυσακχαρίτες ομοιοπολικά συνδεδεμένους με πεπτίδια μέσω Ο- ή Ν-γλυκοζιτικών δεσμών. Πολυάριθμες μελέτες έχουν διαπιστώσει ότι η D-γλυκόζη είναι ο κύριος μονοσακχαρίτης των PSP και PSK, αν και άλλα σάκχαρα όπως η αραβινόζη και η ραμνόζη βρίσκονται επίσης αλλά σε μικρές ποσότητες. Μια αξιολογούμενη διαφορά σε αυτά τα προϊόντα θα μπορούσε να είναι η σύνθεση της αναλογίας πολυσακχαριτών:πεπτιδίων και το σχετικό μοριακό τους βάρος ..

Όπως όλα τα άλλα μανιτάρια, το καρποφόρο σώμα του *C. versicolor* συλλέγεται για τη διατροφική και φαρμακευτική του αξία. Εκτός από τα κύρια μακρομόρια (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λιπίδια) και τα ανόργανα άλατα, ο μύκητας είναι γνωστό ότι περιέχει πιθανούς φαρμακολογικά ενεργούς δευτερογενείς μεταβολίτες που ανήκουν σε ενώσεις μικρού μοριακού βάρους. Η μελέτη των Wang ανέφερε την απομόνωση τεσσάρων νέων σπειροαζανικών σεσκιτερπενίων των τραμσπιροινών A-D (1-4), μιας νέας ροσενονακτόνης 15,16-ακετονίδης και των γνωστών δραμανικών σεσκιτερπενίων ισοδριμενδιόλης και φουνατρόλης D από τις καλλιέργειες. Οι

Janjušević μελέτησαν τη φαινολική σύνθεση του καρποφόρου σώματος του *C. versicolor* ευρωπαϊκής προέλευσης. Στη μελέτη τους που βασίστηκε σε HPLC-MS/MS, εντόπισαν 38 φαινολικές ενώσεις που ανήκουν στα φλαβονοειδή (φλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβανόνες, φλαβανόλες, διφλαβονοειδή, ισοφλαβονοειδή) και στα υδροξυκινναμωμικά οξέα. Παρόλο που τα εκχυλίσματα αιθανόλης και μεθανόλης είναι γενικά οι πλουσιότερες πηγές αυτών των φαινολικών ενώσεων, τα εκχυλίσματα νερού αποδείχθηκε ότι περιέχουν επίσης (μg/g ξηρού βάρους) σημαντική ποσότητα μπαϊκαλεΐνης, βαϊκαλίνη, κερκετίνη, ισοραμνετίνη, κατεχίνη, αμεντοφλαβόνη, p-υδροξυβενζοϊκό οξύ και κυκλοεξανικό καρβοξυλικό οξύ. Οι βιολογικές δραστηριότητες των υδατικών εκχυλισμάτων του *C. versicolor*, ιδίως στον αντιοξειδωτικό τομέα, πρέπει, επομένως, να λαμβάνουν υπόψη τις αθροιστικές επιδράσεις των φαινολικών ενώσεων. Ωστόσο, οι ενώσεις αυτές δεν έχουν καθιερωθεί ως τα κύρια συστατικά του μύκητα και απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να καθοριστεί η πιθανή συμβολή τους στις γνωστές βιολογικές δραστηριότητες του *C. versicolor*.

2.4.3 *Phellinus* sp.

Το συγκεκριμένο είδος ανήκει στην οικογένεια Hymenochaetaceae Basidiomycetes και έχοντας χρησιμοποιηθεί ευρέως στην Ανατολική Ασία, ιδίως στην Κορέα, την Κίνα και την Ιαπωνία ως ενισχυτικό της υγείας. Είναι ένα φαρμακευτικό μανιτάρι που έχει χρησιμοποιηθεί για αιώνες στην Ιαπωνία γνωστό ως Mesimakobu, στην Κορέα ως Sang-Hwang και στην Κίνα ως Song-Gen για την πρόληψη και θεραπεία πολλών ασθενειών.



Εικόνα 2.4.3-1: Μύκητας του γένους *Phellinus* sp.

Στην ασιατική βιβλιογραφία η βοτανοθεραπεία είναι αποτελεσματική σε μια ποικιλομορφία ασθενειών, συμπεριλαμβανομένης της βελτίωσης της κυκλοφορίας του αίματος, της αποτοξίνωσης, της ηπατοπροστασίας, της αλλεργίας και του διαβήτη, τη θεραπεία του στοματικού έλκους και την ανακούφιση του γαστρεντερικού και λεμφική νόσο. Επίσης η ικανότητά της να καταστέλλει τις ασθένειες του καρκίνου ή την ενίσχυση της ανοσίας του οργανισμού σε χημειοθεραπείες.

Στα είδη *Phellinus* εντοπίζονται φυσικοχημικές ιδιότητες που κερδίζουν την προσοχή της επιστήμης και περιλαμβάνουν τη φυσική ισπιδίνη, βιοενεργές ,φελιγριδίνες και φελλίνες. Τα σώματα του συγκεκριμένου είδους έχουν χρησιμοποιηθεί για ιατρική χρήση και συγκεκριμένα ο καπνός τους είναι κατάλληλος για πονόλαιμο, βήχα, πυρετό και διάρροια.

Είναι ένα φαρμακευτικό μανιτάρι που έχει χρησιμοποιηθεί για αιώνες στην Ιαπωνία για την πρόληψη και θεραπεία πολλών ασθενειών και κυρίως των εντερικών λειτουργιών, της διάρροιας, της αιμορραγίας, των αλλεργιών αλλά και του καρκίνου. Καταναλώνεται κυρίως ως ζεστό τσάι, επιδρώντας ευεργετικά στο ανοσοποιητικό σύστημα λόγω της παρουσίας της β-γλυκάνης και λεκτίνης που περιέχουν πολυσακχαρίτες με καθοριστικό ρόλι στην ρύθμιση του σακχάρου στο αίμα. Σχετικά με την αιμορραγική διάθεση το μανιτάρι ελέγχει την ροή του αίματος στις ωοθήκες, την υπερβολική αιμορραγία κατά τη διάρκεια της έμμηνης ρήσεις και εντερική αιμορραγία αλλά και το αντιοξειδωτικό hispidin που βοηθά στην εξολόθρευση των ελεύθερων ριζών στο σώμα. Στην ανάλυση της διαθέσιμης έρευνας για το *Phellinus linteus*, οι συγγραφείς της έκθεσης διαπίστωσαν επίσης ότι μπορεί να συμβάλει στην αύξηση της αποτελεσματικότητας των υπάρχοντων αντικαρκινικών φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του καρκίνου. Αύτη η έρευνα περιλαμβάνει μια σειρά από προκαταρκτικές μελέτες που δείχνουν ότι τα εκχυλίσματα από *Phellinus linteus* θα μπορούσαν να βοηθήσουν στην ενίσχυση της ανοσολογικής λειτουργίας, να περιορίσουν τη φλεγμονή και να καταστείλουν την ανάπτυξη και την εξάπλωση καρκινικών όγκων και ιδιαίτερα του καρκίνου του μαστού (όπου ερευνάται αρκετά εντατικά τα τελευταία χρόνια), του δέρματος, του στομάχου, των πνευμόνων και του προστάτη. Σε κάποιες περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία στην ενίσχυση ορισμένων συμβατικών χημικοθεραπευτικών φαρμάκων.

Το *Phellinus* αυξάνει την επίδραση της ανοσίας μετά την επέμβαση και αφαίρεση του καρκίνου του στομάχου, του οισοφάγου, του παχέος εντέρου, του ορθού και του ήπατος, και μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη της επανεμφάνισης αυτών των καρκίνων. Τα αντιφλεγμονώδη συστατικά του μειώνουν τη φλεγμονή στις αρθρώσεις των χεριών και των ποδιών, ενώ ταυτόχρονα πρόσφατη έρευνα *in vivo* έδειξε ανακούφιση από τα συμπτώματα της ρευματοειδούς αρθρίτιδας.

Χρήσεις

Στην εναλλακτική ιατρική, ο *Phellinus linteus* λέγεται ότι βοηθά με τα ακόλουθα προβλήματα υγείας:

- ❖ Καρκίνος
- ❖ Διαβήτης
- ❖ Διάρροια
- ❖ Εκζεμα
- ❖ Καρδιακή ασθένεια
- ❖ Υψηλή πίεση του αίματος
- ❖ Ηπατική νόσος

2.4.4 *Sepedonium* sp.

Ο συγκεκριμένος μύκητας είναι σαπροφυτικός κατοικεί στο έδαφος και στα φυτά. Στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν πληροφορίες για το συγκεκριμένο φαρμακευτικό μανιτάρι το μόνο που παρατηρήθηκε κατά την πειραματική μου πορεία είναι ότι δεν υπήρχε φυσιολογική πορεία των σακχάρων στο Red pommas αυτό πιθανότατα να οφείλεται στην ύπαρξη των φαινολικών και να εμποδίζεται η ανάπτυξη του. Αντιθέτως στο δεύτερο πείραμα με υπόστρωμα το υγρό που εκχυλίστηκε από την φλούδα πορτοκαλιού παρατηρήθηκε μια πιο ομαλή ανάπτυξη καθώς τα σάκχαρα μειώθηκαν, δηλαδή υπήρχε κατανάλωση του θρεπτικού υποστρώματος, και ταυτόχρονα σημειώθηκε αύξηση της βιομάζας.



Εικόνα 2.4.4-1 : Μύκητας του γένους *Sepedon*

ΚΕΦΑΛΑΙΟ III

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η πειραματική πορεία είχε ως επίκεντρο την αξιοποίηση των στέμφυλων οινοποιίας και των φλούδων πορτοκαλιού από τους μύκητες *Trametes*, *Ganoderma*, *Sepedonium* και *Phellinus* μέσω ζυμώσεων υγρής καλλιέργειας. Ο σκοπός της μελέτης αυτής είναι:

- ✓ Η επεξεργασία στέμφυλων και των φλούδων πορτοκαλιού ώστε να προκύψουν θρεπτικά υποστρώματα
- ✓ Η μελέτη των εν λόγω μυκήτων σε υγρές ζυμώσεις χρησιμοποιώντας τα θρεπτικά υποστρώματα που παράχθηκαν από τα στέμφυλα και τις φλούδες πορτοκαλιών
- ✓ Η συγκριτική αξιολόγηση των μυκήτων σε ότι αφορά την παραγωγή βιομάζας

ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 Βιολογικό υλικό

Οι μύκητες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν *Trametes* sp., *Ganoderma* sp., *Phellinus* sp. και *Sepedonium* sp. Οι καθαρές καλλιέργειες των μυκήτων αυτών έχουν απομονωθεί και διατηρούνται στην τράπεζα καλλιεργειών του Εργαστηρίου Χημείας Τροφίμων και Βιομηχανικών Ζυμώσεων, του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Ιονίου Πανεπιστημίου, σε σωλήνες με Potato Dextrose Agar (PDA, Condalab) και παραφινέλαιο στους 3 °C αλλά και σε φιαλίδια που περιέχουν 30% γλυκερόλη στους -20 °C.

4.2 Προετοιμασία προκαλλιέργειας.

Για την ανάπτυξη του εμβολιαστικού υλικού και την παρασκευή της προκαλλιέργειας, αρχικά πραγματοποιήθηκε ανανέωση των μυκήτων σε τρυβλία με PDA στους 26 °C έως ότου αποικιστεί όλο το τρυβλίο. Στη συνέχεια, κωνικές φιάλες των 500 mL πληρώθηκαν με 150 mL θρεπτικό υλικό η σύσταση του οποίου φαίνεται στον Πίνακα 4.2. Αφού αποστειρώθηκαν οι κωνικές φιάλες με το θρεπτικό υπόστρωμα σε αυτόκαυστο στους 121 °C για 20 min, αυτές εμβολιάστηκαν με δύο ροδέλες διαμέτρου 6 mm από την ανανεωμένη καλλιέργεια σε PDA και επώσθησαν στους 26 °C, υπό ανάδευση σε επιτραπέζιο επωαστικό κλίβανο στις 100 rpm. Η ανεπτυγμένη προκαλλιέργεια ομογενοποιήθηκε, με τη χρήση οικιακού αναδευτήρα, και χρησιμοποιήθηκε για τον εμβολιασμό (10% v/v) των ζυμώσεων, όπως περιγράφεται στις επόμενες ενότητες.

Πίνακας 4.2 Σύσταση θρεπτικού υλικού προκαλλιέργειας

Συστατικά (g/L)		pH
Γλυκόζη	10	6,2
Yeast	1,5	
Peptone	1,5	
KH ₂ PO ₄	1	
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5	
CaCl ₂	0,23	
FeCl ₃ · 6 H ₂ O	0,08	
MnSO ₄ · H ₂ O	0,04	
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0,02	

4.3 Επεξεργασία αποβλήτων για την παραγωγή θρεπτικών υποστρωμάτων.

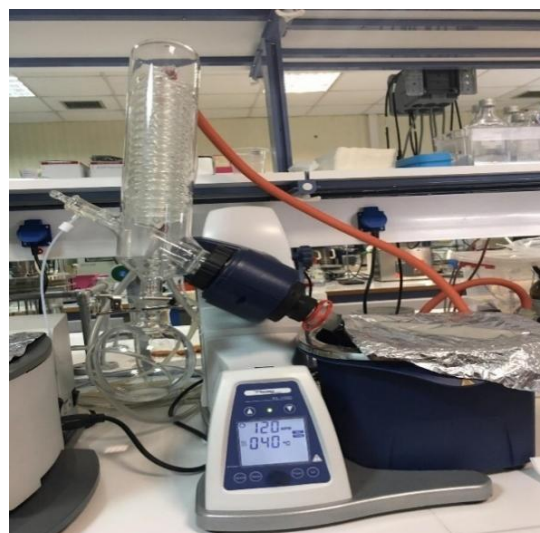
Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν δύο στερεά απόβλητα αγροτοβιομηχανικής δραστηριότητας, τα στέμφυλα οиноποιίας και οι φλούδες πορτοκαλιών που απορρέουν ως απόβλητα μετά τη χυμοποίηση. Τα απόβλητα αυτά επεξεργάστηκαν καταλλήλως, όπως περιγράφεται στις επόμενες ενότητες, ούτως ώστε να προκύψουν υγρά θρεπτικά υποστρώματα για την ανάπτυξη των μυκήτων.

4.3.1 Στέμφυλα οиноποιίας.

Τα στέμφυλα οиноποιίας παραλήφθηκαν από το οινόποιείο Πετρακόπουλος (Θηράμονας Ελειός, Κεφαλονιά) και προέκυψαν ως το στερεό υπόλειμμα ερυθρής οиноποίησης της τοπικής Κεφαλλονίτικης ποικιλίας, Μαυροδάφνη. Τα στέμφυλα ξηράθηκαν σε χαμηλή θερμοκρασία (63°C) έως ότου αποκτήσουν σταθερό βάρος. Στη συνέχεια, έγινε διαλογή των στεμφύλων για υπολογιστεί η ποσοστιαία σύσταση σε φλοιούς, γίγαρτα και βόστρυχες επί νωπού βάρους, για τους βόστρυχες δηλαδή 8,1 %, για τον φλοιό 66,72 % και για τα γίγαρτα 24,7 %.

Προτού γίνει οποιαδήποτε επεξεργασία για την παραλαβή των σακχάρων, μελετήθηκε η συγκέντρωση φαινολικών συστατικών στα στέμφυλα. Για αυτή την εκχύλιση χρησιμοποιήθηκαν ξηρά στέμφυλα και διάλυμα αιθανόλης 70% (v/v) σε

αναλογία στερεού:υγρού ίση με 1:30. Το μίγμα τοποθετήθηκε σε λουτρό υπερήχων για 20 min (Εικόνα 4.3.1-1), ακολούθησε διήθηση για την παραλαβή του εκχυλίσματος απαλλαγμένο από τα στερεά. Τα στερεά παραλήφθηκαν κι η διαδικασία εκχύλισης επαναλήφθηκε άλλη μία φορά. Τα υγρά εκχυλίσματα συμπυκνώθηκαν σε περιστροφικό εξάτμιστήρα σε χαμηλή θερμοκρασία (40 °C) (Εικόνα 4.3.1-1), επαναδιαλύθηκαν σε 5 mL μεθανόλη και αποθηκεύτηκαν στους -20 °C έως ότου αναλυθούν με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.



Εικόνα 4.3.1-1 Διαδικασία εκχύλισης φαινολικών συστατικών από στέμφυλα με χρήση συσκευής υπερήχων (αριστερά) και εξάτμιση του διαλύτη με περιστροφικό εξάτμιστήρα (δεξιά).

Στη συνέχεια, η επεξεργασία των στεμφύλων περιλάμβανε την υδατική εκχύλισή τους για να παραληφθούν τα υδατοδιαλυτά σάκχαρα και να χρησιμοποιηθούν ως υπόστρωμα ανάπτυξης των μυκήτων. Για την υδατική εκχύλιση, ακολουθήθηκε η εξής μεθοδολογία: 100 g ξηρών και κονιορτοποιημένων στεμφύλων και 200 mL απιονισμένου νερού τοποθετήθηκαν σε γυάλινη φιάλη με μαγνήτη ανάδευσης. Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε σε υδατόλουτρο που είχε ρυθμιστεί στους 50 °C για 1 h (Εικόνα 4.3.2). Μετά την θέρμανση το μείγμα φυγοκεντρίθηκε (4.500 rpm, 15 min) εις διπλούν, προκειμένου να διαχωριστούν τα στερεά υπολείμματα από το υγρό

εκχύλισμα. Η διαδικασία παραλαβής του εκχυλίσματος ολοκληρώθηκε με διήθηση υπό κενό. Το υγρό εκχύλισμα που προέκυψε αναλύθηκε ως προς τη σύσταση των σακχάρων με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα των υγρών ζυμώσεων.



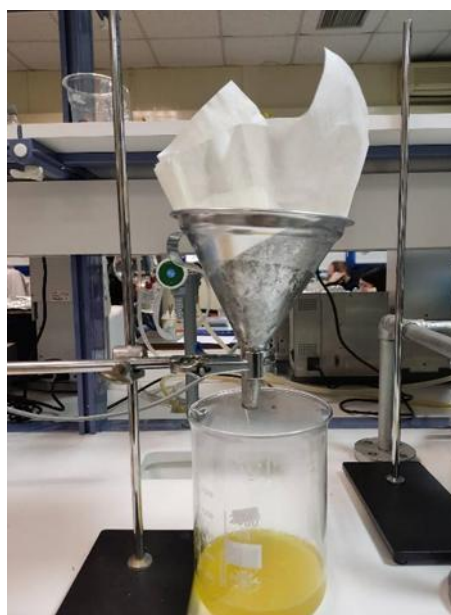
Εικόνα 4.3.1-2 Διαδικασία εκχύλισης σακχάρων από στέμφυλα οиноποιίας.

4.3.2 Φλούδες πορτοκαλιών

Οι φλούδες πορτοκαλιών παραλήφθηκαν από τοπικό κατάστημα της Κεφαλονιάς που παράγει φρέσκο χυμό πορτοκαλιού προς λιανική πώληση. Οι φλούδες που παραλήφθηκαν τοποθετήθηκαν σε απιονισμένο νερό σε αναλογία 30/90 και θερμάνθηκαν στους 50 °C. Για την υδάτινη εκχύλιση ακολουθήθηκε ένα συγκεκριμένο πρωτόκολλο. Πιο συγκεκριμένα ζυγίστηκαν και κόπηκαν 790 g φλούδες πορτοκαλιού. Οι τεμαχισμένες φλούδες τοποθετήθηκαν σε κωνικές φιάλες των 2000 mL, όπου και εκεί δημιουργήθηκε το υδατόλουτρο στους 50 °C για 60 λεπτά. Μετά την ολοκλήρωση της θέρμανσης φυγοκεντρήθηκε ώστε να γίνει διαχωρισμός των στερεών υπολειμμάτων από το πυθμένα και τέλος το υγρό εκχυλίστηκε με διήθηση υπό κενό. Το υγρό εκχύλισμα που προέκυψε αναλύθηκε ως προς τη

σύσταση των σακχάρων με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα των υγρών ζυμώνσεων.

Το εκχύλισμα των φλούδων πορτοκαλιών αναλύθηκε με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), όπως αναφέρεται σε επόμενη ενότητα, και χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα των υγρών ζυμώνσεων.



Εικόνα 4.3.2-1... Διαδικασία εκχύλισης σακχάρων από φλούδες πορτοκαλιών.

4.4 Καλλιέργειες υγρής κατάστασης

Πραγματοποιήθηκαν υγρές καλλιέργειες χρησιμοποιώντας ως υποστρώματα ανάπτυξης τα εκχυλίσματα στεμφύλων οиноποιίας και φλούδων πορτοκαλιών, με σκοπό να αξιολογηθεί η ικανότητα ανάπτυξης των μυκήτων σε αυτά τα υποστρώματα. Τα εκχυλίσματα χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω εμπλουτισμό με άλλες πηγές άνθρακα και αζώτου. Η αρχική συγκέντρωση των σακχάρων ρυθμιζόταν, όπου χρειάστηκε, στα 10 g/L περίπου, ενώ το τελικό pH ρυθμιζόταν πριν την αποστείρωση στο 6,2. Κωνικές φιάλες χωρητικότητας 150 mL και ενεργό όγκο 45 mL εμβολιάστηκαν με 10% υγρό εμβόλιο από την προκαλλιέργεια (Εικόνα 4.4-1.). Ακολούθησε επώαση στους 26 ± 1 °C, υπό στατικές συνθήκες.



Εικόνα 4.4.-1 Εμβολιασμός της ζύμωσης με προκαλλιέργεια του μύκητα *Trametes* sp. (αριστερά) και κωνικές φιάλες κατά τη διάρκεια της ζύμωσης (δεξιά).

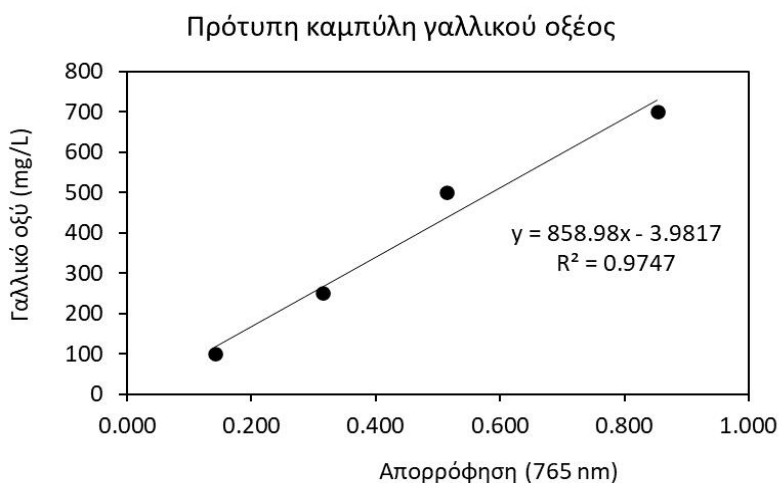
4.5 Αναλυτικές μέθοδοι

4.5.1 Προσδιορισμός συγκέντρωσης φαινολικών συστατικών των στέμφυλων

Η ανάλυση των εκχυλισμάτων ως προς την περιεχόμενη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Η μέθοδος Folin, έχει ως αρχή την οξείδωση των φαινολικών συστατικών σε αλκαλικό περιβάλλον, με μίγμα φωσφοροβολφραμικού και φωσφορομολυβδαινικού οξέος (αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu). Η οξείδωση προκαλεί μία αλλαγή χρώματος από κίτρινο σε μπλε, που μπορεί να ανιχνευθεί εύκολα από ένα φασματοφωτόμετρο. Το αντιδραστήριο δεν μετρά μόνο φαινολικά συστατικά, αλλά θα αντιδράσει με οποιαδήποτε αναγωγική ουσία, ανάγοντα σάκχαρα και τα νουκλεϊνικά οξέα κατά κύριο λόγο. Μετράει τη συνολική αναγωγική ικανότητα ενός δείγματος κι όχι μόνο των φαινολικών ενώσεων. Κατά την εφαρμογή της μεθόδου σε ξηρούς οίνους δεν δημιουργείται πρόβλημα, αφού η περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα είναι της τάξης των 20 mg/L, οπότε η συνεισφορά τους στην τιμή της μέτρησης μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα (Waterhouse, 2005).

Μεθοδολογία Folin

Σε 0,05 mL αραιωμένου δείγματος, προστέθηκαν 0,45 mL H₂O και 2,5 mL 0,2 N διάλυμα Folin. Ακολουθεί έντονη ανάδευση για 30 sec και προστίθενται 2 mL Na₂CO₃ 75 g/L. Τα δείγματα αφήνονται για μιάμιση ώρα σε σκοτεινό μέρος και κατόπιν μετράται η απορρόφηση στα 765 nm. Κατά την μέτρηση είχε παρασκευαστεί και τυφλό, στο οποίο αντί για δείγμα χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο νερό. Τα αποτελέσματα υπολογίστηκαν με βάση την καμπύλη αναφοράς που παρασκευάστηκε με συγκεντρώσεις 0-700 mg /L γαλλικού οξέος (Γράφημα 4.5.1-1). Τα αποτελέσματα είναι ο μέσος όρος τριών επαναλήψεων κι εκφράστηκαν σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος mg GA/ g στεμφύλων.



Γράφημα 4.5.1-1 Καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος (mg/L) με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.

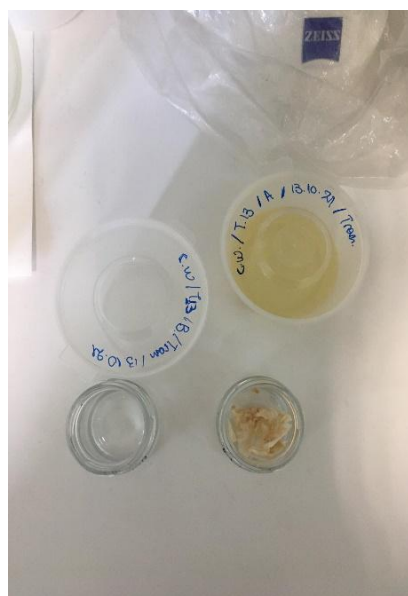
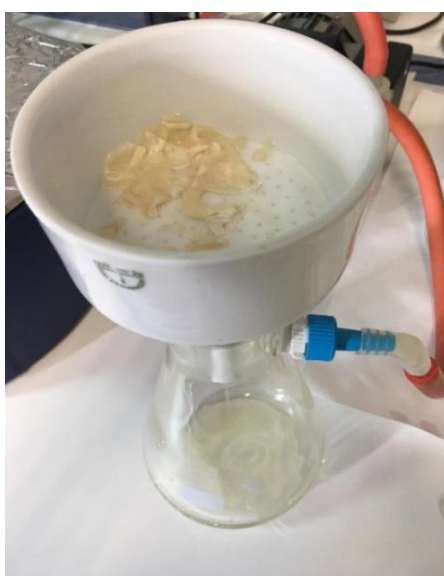
3.5.2 Προσδιορισμός σακχάρων με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)

Η ανάλυση με HPLC χρησιμοποιήθηκε για τον ποσοτικό προσδιορισμό των σακχάρων τόσο στα εκχυλίσματα που παράχθηκαν όσο και κατά τη διάρκεια της ζύμωσης με σκοπό να παρακολουθηθεί η κατανάλωση των σακχάρων από τους

μύκητες. Ειδικότερα, χρησιμοποιήθηκε τα δείγματα αραιώθηκαν καταλλήλως και φιλτραρίστηκαν με φίλτρο Whatman 0,2 μm . Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε HPLC (Shimadzu), χρησιμοποιώντας ως στήλη ανάλυσης την ROA organic acid H^+ (300 mm μήκος x 7.8 mm εσωτερική διάμετρο, Phenomenex), συνδεδεμένο με ανιχνευτή δείκτη διάθλασης. Η κινητή φάση ήταν θειικό οξύ 10 mM, με ροή 0,6 mL/min και θερμοκρασία φούρνου 65 °C.

4.5.3 Ανάκτηση και προσδιορισμός βιομάζας

Η βιομάζας από τις κωνικές φιάλες συλλέχθηκε μέσω διήθησης υπό κενό (Εικόνα 4.5.3-1), ώστε να γίνει διαχωρισμός από το υγρό της ζύμωσης. Ακολούθησε έκπλυση της βιομάζας με απιονισμένο νερό, ενώ το υγρό της καλλιέργειας αποθηκεύτηκε σε συνθήκες κατάψυξης (-20 °C) έως ότου αναλυθεί περαιτέρω ως προς την περιεκτικότητα σε σάκχαρα με τη μέθοδο της HPLC που προαναφέρθηκε. Το μυκήλιο τοποθετήθηκε σε προζυγισμένα φιαλίδια και ξηράθηκε στους 60 °C μέχρι απόκτησης σταθερού βάρους (περίπου 3 ημέρες). Το ξηρό βάρος μετρήθηκε σε ζυγαριά ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων κι εκφράστηκε σε g/L.



Εικόνα 4.5.3.1 Διαδικασία διήθησης προς παραλαβή της βιομάζας (αριστερά) και συλλογή τους υγρού της ζύμωσης (δεξιά).

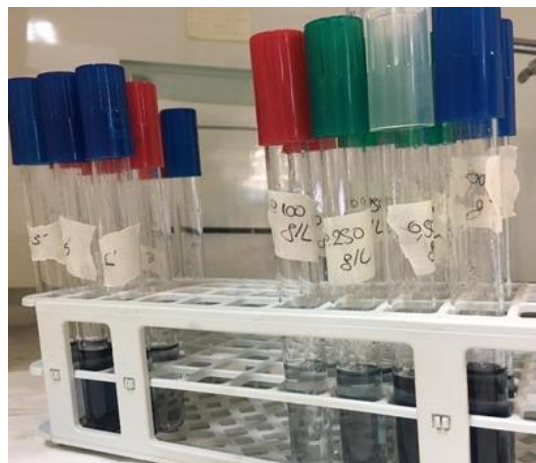
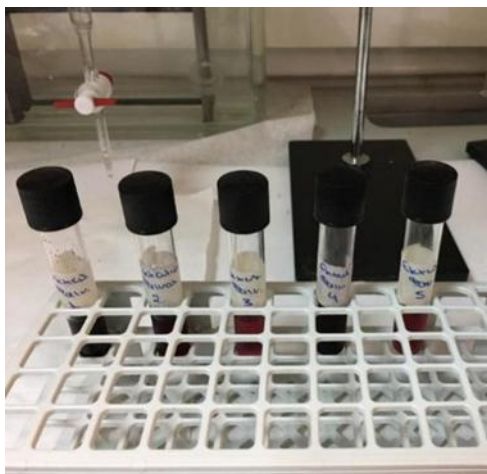
ΚΕΦΑΛΑΙΟ VI

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1 Παραγωγή θρεπτικών υποστρωμάτων από στέμφυλα και φλούδες πορτοκαλιών

Η παρούσα μελέτη ασχολήθηκε με την επεξεργασία στερών αποβλήτων της βιομηχανίας τροφίμων με σκοπό να παραχθούν υγρά θρεπτικά υποστρώματα που θα μπορούσαν να υποστηρίξουν την ανάπτυξη μυκήτων. Τα στερεά απόβλητα που επιλέχθηκαν να μελετηθούν ήταν τα στέμφυλα οινοποιίας και οι φλούδες πορτοκαλιών. Πρωταρχικός στόχος, της μελέτης ήταν η παραγωγή εκχυλισμάτων από αυτά τα στερεά απόβλητα τα οποία θα ήταν πλούσια σε σάκχαρα.

Τα στέμφυλα που μελετήθηκαν περιείχαν 66,7% φλοιού, 24,7% γίγαρτα και βόστρυχες 8,1%. Σε ό,τι αφορά την επεξεργασία των στεμφύλων το παραγόμενο εκχύλισμα μελετήθηκε με HPLC και βρέθηκε ότι περιείχε περίπου 10 g/L σάκχαρα. Ειδικότερα η σύσταση των σακχάρων ήταν σουκρόζη 1,08 g/L, γλυκόζη 3,49g/L, φρουκτόζη g/L 5,5. Τα στέμφυλα μελετήθηκαν επιπρόσθετα ως προς την περιεχόμενη ποσότητα φαινολικών συστατικών. Συγκεκριμένα, τα εκχυλίσματα μεθανόλης που προέκυψαν αναλύθηκαν με την μέθοδο Folin (Εικόνα 5.1-1) και τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 5.1-1 Όπως παρατηρείται, το ποσοστό ανάκτησης φαινολικών συστατικών ήταν 0,55 g/100 g ξηρών στεμφύλων. Στην βιβλιογραφία αναφέρονται ποσότητες αναλτηθέντων φαινολικών συστατικών από 0,28 έως και 8,7 g/100 g (Antonić et al., 2020).



Εικόνα 5.1-1 Εκχυλίσματα φαινολικών συστατικών από στέμφυλα (αριστερά) και ανάλυση με τη μέθοδο Folin (δεξιά).

Πίνακας 5.1-1 Αποτελέσματα ανάκτησης φαινολικών συστατικών από στέμφυλα οиноποιίας μετά από δύο διαδοχικές εκχυλίσεις

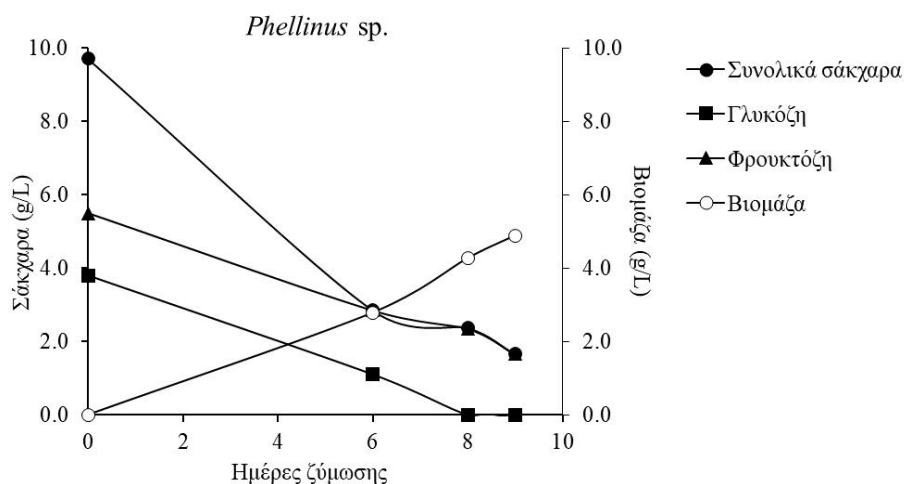
Ανακτηθέντα φαινολικά συστατικά (g/ 100 g στεμφύλων)	Βιβλιογραφική αναφορά
0,55 ± 0,10	Η παρούσα μελέτη
0,28 – 8,7	Antonić et al. (2020)

Αντίστοιχη ανάλυση σε ό,τι αφορά τα σάκχαρα, πραγματοποιήθηκε και για το εκχύλισμα από τις φλούδες πορτοκαλιού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το εκχύλισμα αυτό περιείχε γλυκόζη σε ποσοστό 10,0 g/L και φρουκτόζη 10,2 g/L ξαναμετρήθηκαν και είναι γυρω στα 20, άρα τα συνολικά σάκχαρα ήταν περίπου 20 g/L.

5.2 Καλλιέργειες υγρής κατάστασης σε υπόστρωμα από στέμφυλα.

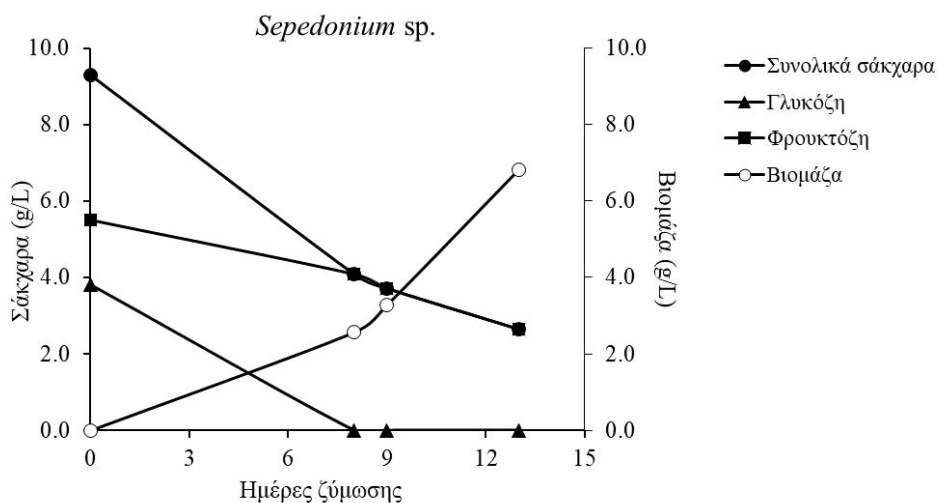
Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ανάπτυξης των μυκήτων *Trametes* sp., *Ganoderma* sp., *Sepedonium* sp. και *Phellinus* sp. κατά την υγρή καλλιέργειά τους σε υπόστρωμα από στέμφυλα οиноποιίας. Κατά την καλλιέργεια των μυκήτων παρακολουθήθηκε η κατανάλωση των σακχάρων, η παραγωγή της βιομάζας και η μεταβολή στις τιμές pH του υποστρώματος.

Στο Γράφημα 5.2-1 που ακολουθεί φαίνεται η πορεία της ζύμωσης για τον μύκητα *Phellinus* sp. Παρατηρείται ότι η πορεία του μύκητα *Phellinus* sp κατά την υγρή ζύμωση διάρκειας 9 ημερών. Μέχρι τις 5 πρώτες ημέρες της ζύμωσης διακρίνεται μια υστέρηση, δηλαδή τα σάκχαρα δεν είχαν καταναλωθεί και επίσης δεν παράχθηκε βιομάζα. Από εκεί και έπειτα ο μύκητας άρχισε να καταναλώνει σταδιακά τα σάκχαρα και να παράγει την βιομάζα. Συγκεκριμένα, η μέγιστη παραγωγή βιομάζας έφτασε 4,9 g/L κατά την 9η ημέρα της ζύμωσης. Σε ότι αφορά την κατανάλωση των σακχάρων ο μύκητας κατανάλωσε όλη τη γλυκόζη και αρκετή ποσότητα από την φρουκτόζη.



Γράφημα 5.2-1 Κατανάλωση σακχάρων και παραγωγή βιομάζας του μύκητα *Phellinus* sp. κατά την ανάπτυξή του σε υπόστρωμα από στέμφυλα.

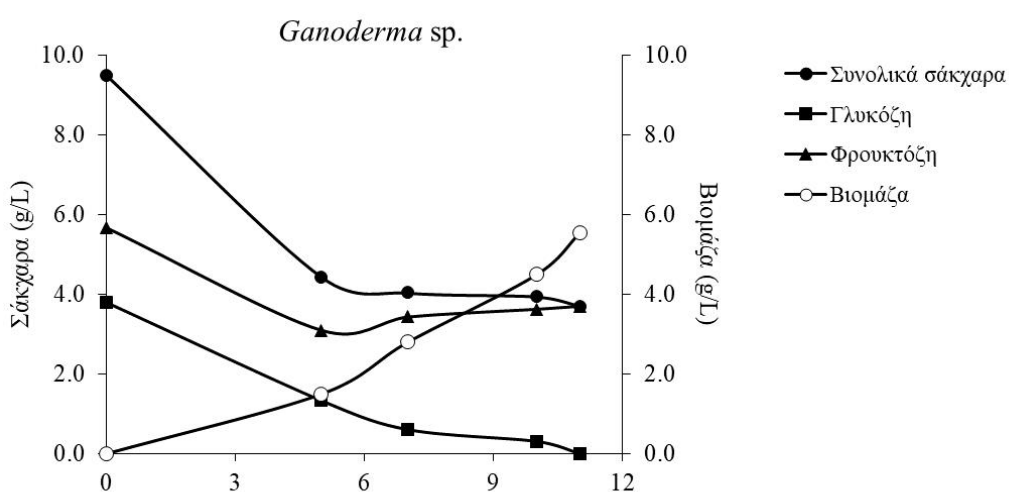
Στο Γράφημα 5.2-2 που ακολουθεί φαίνεται η πορεία της ζύμωσης για τον μύκητα *Sepedonium* sp. Παρατηρείται ότι η πορεία του μύκητα *Sepedonium* sp κατά την υγρή ζύμωση διάρκειας 15 ημερών. Μέχρι τις 8 πρώτες ημέρες της ζύμωσης διακρίνεται μια υστέρηση, δηλαδή τα σάκχαρα δεν είχαν καταναλωθεί και επίσης δεν παράχθηκε βιομάζα. Από εκεί και έπειτα ο μύκητας άρχισε να καταναλώνει σταδιακά τα σάκχαρα και να παράγει την βιομάζα. Συγκεκριμένα, η μέγιστη παραγωγή βιομάζας έφτασε 7 g/L κατά την 13η ημέρα της ζύμωσης. Σε ότι αφορά την κατανάλωση των σακχάρων ο μύκητας κατανάλωσε μόνο τη φρουκτόζη και ελάχιστη ποσότητα από την γλυκόζη.



Γράφημα 5.2-2 Κατανάλωση σακχάρων και παραγωγή βιομάζας του μύκητα *Sepedonium* sp. κατά την ανάπτυξη του σε υπόστρωμα από στέμφυλα.

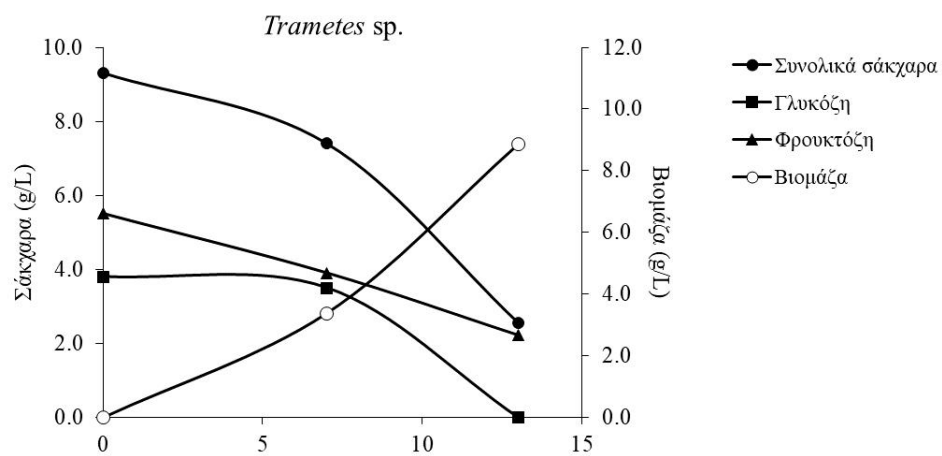
Στο Γράφημα 5.2-3 που ακολουθεί φαίνεται η πορεία της ζύμωσης για τον μύκητα *Ganoderma* sp. Παρατηρείται ότι η πορεία του μύκητα *Ganoderma* sp κατά την υγρή ζύμωση διάρκειας 12 ημερών. Μέχρι τις 5 πρώτες ημέρες της ζύμωσης διακρίνεται μια υστέρηση, δηλαδή τα σάκχαρα δεν είχαν καταναλωθεί και επίσης δεν

παράχθηκε βιομάζα.Από εκεί και έπειτα ο μύκητας άρχισε να καταναλώνει σταδιακά τα σάκχαρα και να παράγει την βιομάζα.Συγκεκριμένα,η μέγιστη παραγωγή βιομάζας έφτασε 5,9 g/L κατά την 11η ημέρα της ζύμωσης.Σε ότι αφορά την κατανάλωση των σακχάρων ο μύκητας κατανάλωσε μόνο τη γλυκόζη.



Γράφημα 5.2-3 Κατανάλωση σακχάρων και παραγωγή βιομάζας του μύκητα *Ganoderma sp.* κατά την ανάπτυξή του σε υπόστρωμα από στέμφυλα.

Στο Γράφημα 5.2-4 που ακολουθεί φαίνεται η πορεία της ζύμωσης για τον μύκητα *Trametes sp.* Παρατηρείται ότι η πορεία του μύκητα κατά την υγρή ζύμωση διαρκεί 15 ημέρες.Μέχρι τις 7 πρώτες ημέρες της ζύμωσης διακρίνεται μια υστέρηση ,δηλαδή τα σάκχαρα δεν είχαν καταναλωθεί και επίσης δεν παράχθηκε βιομάζα.Από εκεί και έπειτα ο μύκητας άρχισε να καταναλώνει σταδιακά τα σάκχαρα και να παράγει την βιομάζα.Συγκεκριμένα,η μέγιστη παραγωγή βιομάζας έφτασε 9 g/L κατά την 13η ημέρα της ζύμωσης.Σε ότι αφορά την κατανάλωση των σακχάρων ο μύκητας κατανάλωσε μόνο τη γλυκόζη και ελάχιστη ποσότητα από την φρουκτόζη.

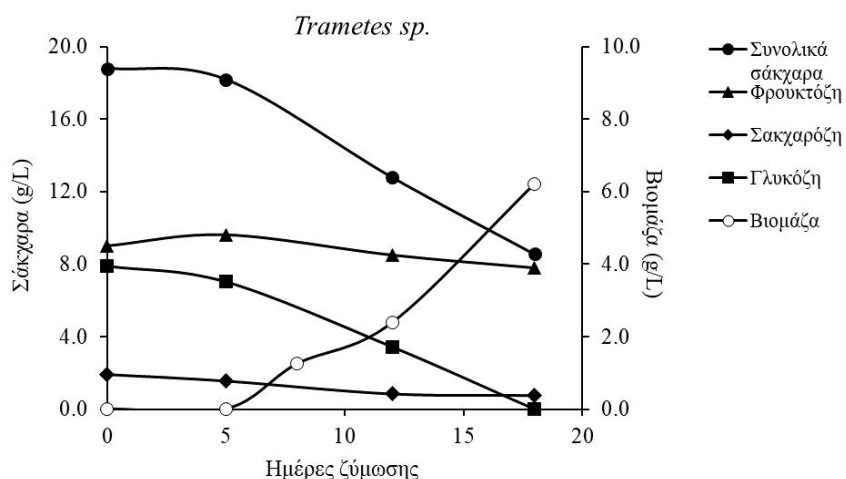


Γράφημα 5.2-4 Κατανάλωση σακχάρων και παραγωγή βιομάζας του μύκητα *Trametes sp.* κατά την ανάπτυξή του σε υπόστρωμα από στέμφυλα.

5.3 Καλλιέργειες υγρής κατάστασης σε υπόστρωμα από φλούδες πορτοκαλιών

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ανάπτυξης του μύκητα *Trametes* sp., κατά την υγρή καλλιέργειά του σε υπόστρωμα από φλούδες πορτοκαλιών. Κατά την καλλιέργεια παρακολουθήθηκε η κατανάλωση των σακχάρων και η παραγωγή της βιομάζας.

Στο Γράφημα 5.3-1 που ακολουθεί παρατηρείται η πορεία του μύκητα *Trametes* sp. κατά τη υγρή ζύμωση διάρκειας 18 ημερών. Μέχρι τις πρώτες 5 ημέρες της ζύμωσης παρατηρείται μία υστέρηση, δηλαδή τα σάκχαρα δεν είχαν καταναλωθεί καθώς επίσης ότι δεν παράχθηκε βιομάζα. Από εκεί κι έπειτα φαίνεται ότι ο μύκητας άρχισε να καταναλώνει σταδιακά τα σάκχαρα και να παράγει βιομάζα. Συγκεκριμένα, η μέγιστη παραγωγή βιομάζας έφτασε τα 6,2 g/L κατά την 18^η ημέρα της ζύμωσης. Σε ό,τι αφορά την κατανάλωση των σακχάρων παρατηρείται ότι ο μύκητας κατανάλωσε μόνο τη γλυκόζη κι ελάχιστη ποσότητα από τη φρουκτόζη.



Γράφημα 5.3-1 Κατανάλωση σακχάρων και παραγωγή βιομάζας του μύκητα *Trametes* sp. κατά την ανάπτυξή του σε υπόστρωμα από φλούδες πορτοκαλιών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ V

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μελέτη έδωσε έμφαση στους φαρμακευτικούς μύκητες *Ganoderma* sp, *Trametes* sp, *Phellinus* sp, και *Sepedonium* sp και στη δυνατότητα να αξιοποιούν διάφορα αγροτο-βιομηχανικά υποστρώματα. Η ερευνητική μελέτη εστίασε στην επεξεργασία των στεμφύλων και των φλούδων πορτοκαλιού για την παραγωγή σακχαρούχων υποστρωμάτων για την ανάπτυξη των μυκήτων. Τα συμπεράσματα που μπορούν να προκύψουν από αυτή τη μελέτη είναι τα εξής:

- ✓ Τα στέμφυλα οиноποιίας και οι φλούδες πορτοκαλιών περιέχουν διαλυτά σάκχαρα τα οποία μπορούν να αξιοποιηθούν για ζυμώσεις.
- ✓ Μεταξύ των μυκήτων που μελετήθηκαν, η μέγιστη παραγωγή βιομάζας (9 g/L) προήλθε από την ζύμωση του *Trametes* στα στέμφυλα οиноποιίας.
- ✓ Η συγκριτική αξιολόγηση στα δύο υποστρώματα έδειξε ότι ο μύκητας *Trametes* sp. παρουσίασε καλύτερα αποτελέσματα παραγωγής βιομάζας στο υπόστρωμα των στεμφύλων σε σχέση με αυτό των φλούδων πορτοκαλιού.
- ✓ Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι είναι εφικτή η ανάπτυξη φαρμακευτικών μυκήτων σε αυτά τα απόβλητα τροφίμων.

Αυτή είναι μία πρωταρχική μελέτη για τη συμπεριφορά των φαρμακευτικών μυκήτων στα συγκεκριμένα απόβλητα τροφίμων. Περαιτέρω έρευνα θα μπορούσε να συμπεριλαμβάνει τη μελέτη και άλλων αγροτοβιομηχανικών υποπροϊόντων, όπως το απόβλητο βρώσιμων ελιών το τυρόγαλα και την ανάπτυξη μυκήτων σε αυτά ή την ανάκτηση ενέργειας από σακχαρούχα απόβλητα μέσω μικροβιακών διεργασιών.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΗ BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Berbegal, C., Spano, G., Tristezza, M., Grieco, F., & Capozzi, V. (2017). Microbial resources and innovation in the wine production sector. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 38(2), 156–166.

Chassagne, D., Guilloux-Benatier, M., Alexandre, H., Voilley, A. (2005). Sorption of wine volatile phenols by yeast lees. *Food Chemistry*, 91, 39–44

Christ K.L., Burritt R.L. (2013). Critical environmental concerns in wine production: an integrative review. *Journal of Cleaner Production*. 53, 232-242.

Beveridge T.H.J., Girard B., Kopp T., Drover J.C.G. (2005). Yield and composition of grape seed oil extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: varietal effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(5), 1799-1804.

Strong, P. J., & Burgess, J. E. (2008). Treatment methods for wine-related and distillery wastewaters: a review. *Bioremediation Journal*, 12(2), 70-87.

Beres C., Costa G.N.S., Cabezudo I., da Silva-James N.K., Teles A.S.C., Cruz A.P.G., Mellinger-Silva C., Tonon R.V., Cabral L.M.C., Freitas S.P., (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 68, 581–594.

Campos L.M.A.S., Leimann F.V., Pedrosa R.C., Ferreira S.R.S. (2008). Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*). *Bioresource Technology*. 99: 8413-20

Nassiri-Asl M., Hosseinzadeh H. (2009). Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (Grape) and its bioactive compounds. *Phytotherapy Research*. 23: 1197-1204.

Llobera A., Cañellas J. (2007). Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. *Food Chemistry*. 101(2): 659-666.

Babitha, S.C.R., Soccol & Pandey, A. (2007). Solid state fermentation for the product of *Monascus* pigments from jackfruit seed. *Bioresource Technology*, 98, 1554-1560.

Braddock, R.J., Temelli, F., Cadwallader, K.R., (1986). Citrus essential oils – a dossier for material safety data sheets. *Food Technol*. 40 (11), 114– 116.

Hull, W.Q., Lindsay, C.W., Baier, W.E., (1953). Chemicals from oranges. *Ind. Eng. Chem*. 45 (5), 876–890.

Manchand P.S., Whalley W.B., (1973). Isolation and structure of ankaflavin: a new pigment from *Monascus anka*. *Phytochemistry* 12(10), 2531–2.

Spears, K., (1988). Developments in food colourings: the natural alternatives. *Trends Biotechnol*. 6:283–288.

Stich E., Chaundry, Y. Schnitter, C. (2002). Colour, you eat with your eyes, Int. Food Ingred. 1:6–8.

Wicker, L., Hart, H. E. and Parish, M. E. (2005). Recovery and utilization of by-products from citrus processing wastes. ACS Symp. Ser. 1989, 405:368-380.

Antonić B., Jančíková S., Dordević D., Tremlová B. (2020). Grape Pomace Valorization: A Systematic Review and Meta-Analysis. Foods, 9(11), 1627.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Σοφία Μαραγκουδάκη, Μελέτη παραγωγής βακτηριακής κυτταρίνης με χρήση αποβλήτων και διεργασίες επεξεργασίας εσπεροειδών και αξιοποίησης της ως μέσο ακινητοποίησης μικροοργανισμών προς παραγωγή ηλεκτρικού οξέος, Αθήνα 2017

Σταμάτης Κ., Διεργασίες φωτοκατάλυσης στην απορρύπανση αποβλήτων οινοποιείου, Πολυτεχνείο Κρήτης, 2013

Μαρίνος Ξαγοράρης, Μελέτη της χημικής σύστασης και αντιοξειδωτικής ικανότητας φαινολικών συστατικών στέμφυλων προερχομένων από ποικιλίες των Ιονίων Νήσων

Σουφλερός Ε. (1997). Οίνος και αποστάγματα. Μέθοδοι ανάλυσης. Θεσσαλονίκη .

Σουφλερός Ε. (1997). Οινολογία, επιστήμη και τεχνολογία. Τόμος Ι. Θεσσαλονίκη.

Αναστασία Καντιφεδάκη, Βιοτεχνολογική αξιοποίηση αποβλήτων της βιομηχανίας τροφίμων προς παραγωγή χρωστικών ουσιών με την χρήση μυκήτων, Αθήνα 2016.

Αικατερίνη Παπαδάκη,Μελέτη της παραγωγής της μυκηλιακής μάζας,ενζύμων και βιολογικών ενεργών μεταβολικών προϊόντων κατά την αύξηση μυκήτων σε υπολείμματα και παραπροϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων,Αθήνα 2013

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ

Καν. (ΕΚ) 479/2008).

ΚΥΑ 50910/2727/2003