

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΤΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΑΚΡΟΜΥΚΗΤΩΝ ΔΙΑΤΡΟΦΟ-ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΑΞΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

της

ΤΣΙΟΓΚΑ ΣΟΦΙΑ

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Σχολή Περιβάλλοντος

ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ



Αργοστόλι Κεφαλληνίας

Σεπτέμβριος 2024

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΤΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΑΚΡΟΜΥΚΗΤΩΝ ΔΙΑΤΡΟΦΟ-ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΑΞΙΑΣ

Η πτυχιακή εργασία εγκρίθηκε από:

ΚΑΧΡΙΜΑΝΙΔΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ

ΚΟΨΑΧΕΙΛΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΠΑΠΑΔΑΚΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων και Βιομηχανικών Ζυμώσεων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, του Ιόνιου πανεπιστημίου.

Η ολοκλήρωση αυτής της εργασίας θα ήταν αδύνατη χωρίς την πολύτιμη υποστήριξη της επιβλέπουσας καθηγήτριάς μου, κυρία Καχριμανίδου Βασιλική. Της εκφράζω ένα βαθύ ευχαριστώ για την ανάθεση της συγκεκριμένης μελέτης, καθώς και για την καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησής της.

Επιπλέον, για την ανιδιοτελή τους βοήθεια, όποτε αυτή χρειαζόταν, ευχαριστώ τις υποψήφιες διδάκτορες Αλιμπούμπα Δήμητρα, Νάτσια Αικατερίνη και Σερέτη Φανή καθώς και όλο το προσωπικό του εργαστηρίου για τις συμβουλές και την αμέριστη εμπιστοσύνη στο πρόσωπό μου.

Θα ήθελα επίσης, να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου προς τον σύντροφό μου, για την κατανόηση και την αδιάλειπτη στήριξή του, καθώς και στους φίλους μου, για την εμπύχωση και τη συμπαράστασή τους, που αποτέλεσαν σημαντική πηγή δύναμης σε όλη τη διάρκεια αυτής της διαδρομής.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου, η οποία υπήρξε πάντα ένα ανεκτίμητο στήριγμα για μένα βοηθώντας με στην πραγματοποίηση των στόχων μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παραγωγή βιομάζας από διατροφο-φαρμακευτικούς μακρομυκήτες αποτελεί ένα καινοτόμο πεδίο της βιοτεχνολογίας, με έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον λόγω των βιοδραστικών συστατικών που δύνανται να παράγουν, και ειδικότερα της αντιοξειδωτικής τους δράσης. Παράλληλα, η ανάπτυξη των μακρομυκήτων μπορεί να επιτευχθεί μέσω της αξιοποίησης αγροτο-βιομηχανικών αποβλήτων, κάτι το οποίο συνάδει και με τις αρχές της κυκλικής οικονομίας. Για το λόγο αυτό, στην παρούσα μελέτη, αξιολογήθηκε η χρήση αποβλήτων φλοιών πορτοκαλιού (WOP) και ορού γάλακτος (CW) ως θρεπτικά υποστρώματα για την ελεγχόμενη καλλιέργεια των στελεχών *Ganoderma lucidum* και *Trametes versicolor*, με στόχο την παραγωγή βιομάζας και πολυσακχαριτών. Οι καλλιέργειες έγιναν υπό στατικές και αναδευόμενες συνθήκες, προκειμένου να εξεταστεί η επίδραση της εκάστοτε συνθήκης τόσο στην ανάπτυξη των μυκήτων όσο και στην παραγωγή πολυσακχαριτών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι αναδευόμενες συνθήκες ενίσχυσαν την ανάπτυξη των μυκήτων. Στο πείραμα με το εκχύλισμα από τους φλοιούς πορτοκαλιού (WOP) παρατηρήθηκε μερική ανάπτυξη του *T. versicolor*, ενώ το στέλεχος *G. lucidum* εμφάνισε τη μέγιστη παραγωγή βιομάζας με τιμή 15,4 g/L και 9,4 g/L κατά τις αναδευόμενες και στατικές συνθήκες αντίστοιχα. Συνεπώς, στην περίπτωση του ορού γάλακτος ως θρεπτικό μέσο (CW) χρησιμοποιήθηκε μόνο το στέλεχος *G. lucidum* και εφαρμόστηκε η προσθήκη Tween 80 ως βιοδιεγέρτη αναφορικά με την επίδραση στην παραγωγικότητα της ζύμωσης. Η μέγιστη παραγωγή βιομάζας παρατηρήθηκε τη 18^η ημέρα υπό συνθήκες ανάδευσης αποδίδοντας 15,35 g/L. Τέλος, οι ενδοπολυσακχαρίτες (IPS) που εκχυλίστηκαν από το WOP αξιολογήθηκαν ως προς την αντιοξειδωτική δράση και την περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες και πρωτεΐνες, για να μελετηθούν πιθανές βιολειτουργικές ιδιότητες.

ABSTRACT

Biomass production from nutraceutical macrofungi is an innovative field of biotechnology, gaining significant research interest due to the bioactive compounds these strains produced, particularly regarding the antioxidant properties. At the same time, the cultivation of macrofungi can be achieved through the utilization of agro-industrial waste, that is also in line with the pillars of circular economy. Therefore, in this study, the use of waste orange peel (WOP) and cheese whey (CW) were evaluated as nutrient substrates for the submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* and *Trametes versicolor*, for the production of biomass and intracellular polysaccharides. The cultures were carried out under static and shaking conditions in order to examine the effect of each condition on fungal growth and polysaccharide production. The results showed that shaking conditions enhanced fungal growth. The experiments performed with the aqueous extract from waste orange peels (WOP), partial growth of *T. versicolor* was observed, whereas *G. lucidum* strain showed maximum biomass production, reaching 15,4 g/L and 9.4 g/L under shaking and static conditions respectively. Subsequently, in the case of cheese whey (CW) as a nutrient medium, only the strain *G. lucidum* was employed, and the addition of Tween 80 as a biostimulator was evaluated on biomass productivity. Evidently, maximum biomass production, specifically 15.35 g/L was achieved on the 18th day under shaking conditions. Finally, the intracellular polysaccharides (IPS) extracted from WOP were assessed for their antioxidant activity and their carbohydrate and protein content, to investigate potential bioactive properties.

Περιεχόμενα	
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	III
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	IV
ABSTRACT.....	V
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	VIII
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ	IX
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	X
ΚΕΦΑΛΑΙΟ I	1
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Γενικά στοιχεία.....	1
1.2 Ιστορική αναδρομή	2
1.3 Κινέζικη παραδοσιακή ιατρική	3
1.4 Μορφολογία.....	4
1.4.1. Σώμα	4
1.4.2. Υφές	5
1.4.3. Αναπαραγωγή	5
1.5 Αξιοποίηση μανιταριών από τον άνθρωπο.....	6
1.6 Θρεπτική αξία – Φαρμακευτικές ιδιότητες μανιταριών.....	8
1.7. Οι μακρομύκητες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία.....	13
1.7.1. <i>Ganoderma lucidum</i>	13
1.7.2. <i>Trametes versicolor</i>	14
1.8. Αγροτο-βιομηχανικά παραπροϊόντα και απόβλητα	16
1.8.1 Αξιοποίηση αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων για την ανάπτυξη μυκηλιακής βιομάζας	18
1.8.2. Αξιοποίηση τυρογάλακτος για την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας	21
1.8.2.1. Μονοκυτταρική πρωτεΐνη (Single Cell Protein, SCP).....	23
1.8.2.2. Βιοαιθανόλη.....	24
1.8.2.3. Προβιοτικά.....	25
1.8.3. Αξιοποίηση αποβλήτων επεξεργασίας πορτοκαλιού για την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας	25
1.9.3.1. Βιομηχανικά ένζυμα	26
1.9.3.2. Αιθέρια έλαια.....	27
1.9.3.3. Πηκτίνη.....	28
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	30
ΚΕΦΑΛΑΙΟ II.....	31

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	31
2.1. Βιολογικό υλικό	31
2.2. Ανανέωση και συντήρηση στελεχών	31
2.3. Προετοιμασία θρεπτικού υλικού προκαλλιέργειας	32
2.4. Θρεπτικό υλικό υγρής ζύμωσης - Προετοιμασία υποστρώματος.....	33
2.4.1. Αξιοποίηση αποβλήτων εσπεριδοειδών ως υπόστρωμα για την ανάπτυξη των μακρομυκήτων	33
2.4.2. Αξιοποίηση τυρογάλακτος ως υπόστρωμα για την για την ανάπτυξη των μακρομυκήτων	34
2.5. Παραλαβή βιομάζας και ανάλυση.....	35
2.5.1. Δειγματοληψία και μέτρηση pH	35
2.5.2. Υδατική εκχύλιση ενδοπολυσακχαριτών (IPS) από την βιομάζα	36
2.6. Αναλυτικές μέθοδοι	36
2.6.1. Προσδιορισμός σακχάρων του υποστρώματος.....	36
2.6.2. Προσδιορισμός αζώτου των ελεύθερων αμινομάδων των αμινοξέων και πεπτιδίων και ολικών φαινολικών συστατικών.....	37
2.6.3. Προσδιορισμός σακχάρων στο υγρό ζύμωσης με τη μέθοδο Dubois.....	38
2.6.4. Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών με τη μέθοδο Lowry	38
2.6.5. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο DPPH	39
2.7. Υπολογισμός παραγωγικότητας βιομάζας	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ III.....	42
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	42
3.1. Αξιολόγηση του εκχυλίσματος από τους φλοιούς πορτοκαλιού (Waste orange peels, WOP) ως υπόστρωμα υγρής καλλιέργειας.....	42
3.1.1. Ανάπτυξη του στελέχους <i>T. versicolor</i> με WOP ως θρεπτικό υπόστρωμα σε στατικές και αναδευόμενες συνθήκες.....	42
3.1.2. Ανάπτυξη του στελέχους <i>G. lucidum</i> με WOP ως θρεπτικό υπόστρωμα σε στατικές και αναδευόμενες συνθήκες.....	45
3.1.3. Παραγωγή και αξιολόγηση της σύνθεσης ακατέργαστων ενδοπολυσακχαριτών (IPS) από τα στελέχη <i>T. versicolor</i> και <i>G. lucidum</i> με WOP ως θρεπτικό υπόστρωμα	48
3.2. Αξιολόγηση του ορού γάλακτος (Cheese Whey, CW) ως υπόστρωμα υγρής καλλιέργειας για την ανάπτυξη του στελέχους <i>G. lucidum</i>	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV	54
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	54
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	55

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Φαρμακευτικές ιδιότητες μακρομυκήτων (Miles & Chang, 1997)	12
Πίνακας 2: Συγκεντρώσεις συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν για την σύνθεση της προκαλλιέργειας.....	32
Πίνακας 3: Ποσότητες συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν για την σύνθεση των αντιδραστηρίων για FAN.	37
Πίνακας 4: Συγκεντρώσεις συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν για την σύνθεση του αντιδραστηρίου για LOWRY.	39
Πίνακας 5: Παραγωγή ενδοπολυσακχαριτών (IPS), μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, καθώς και αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες και ολικούς υδατάνθρακες κατά τη στατική και αναδεδόμενη καλλιέργεια του <i>T. versicolor</i> σε WOP.	49
Πίνακας 6: Παραγωγή ενδοπολυσακχαριτών (IPS), μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, καθώς και αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες και ολικούς υδατάνθρακες κατά τη στατική και αναδεδόμενη καλλιέργεια του <i>G.lucidum</i> σε WOP.	49

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα 3.1: Κινητική παραγωγής βιομάζας (■),κατανάλωση γλυκόζης (●) και φρουκτόζης (▲), και FAN (□) του μύκητα <i>T. versicolor</i> σε στατικές συνθήκες με εκχύλισμα από απόβλητα πορτοκαλιών ως υπόστρωμα (WOP).	43
Γράφημα 3.2: Κινητική παραγωγής βιομάζας (■),κατανάλωση γλυκόζης (●) και φρουκτόζης (▲) και FAN (□) του μύκητα <i>T. versicolor</i> σε αναδευόμενες συνθήκες με εκχύλισμα από απόβλητα πορτοκαλιών ως υπόστρωμα (WOP).	43
Γράφημα 3.3: Ρυθμός παραγωγής βιομάζας (productivity, g/L/d), ρυθμός κατανάλωσης γλυκόζης (consumption rate, g/L/d) και συντελεστής απόδοσης (Yield, g/g) του μύκητα <i>T. versicolor</i> σε στατικές και αναδευόμενες συνθήκες χρησιμοποιώντας εκχύλισμα από απόβλητα πορτοκαλιού (WOP).	44
Γράφημα 3.4: Κινητική παραγωγής βιομάζας (■),κατανάλωση γλυκόζης (●) και φρουκτόζης (▲) και FAN (□) του μύκητα <i>G. lucidum</i> σε στατικές συνθήκες με εκχύλισμα από απόβλητα πορτοκαλιών ως υπόστρωμα (WOP).	46
Γράφημα 3.5: Κινητική παραγωγής βιομάζας (■),κατανάλωση γλυκόζης (●) και φρουκτόζης (▲) και FAN (□) του μύκητα <i>G. lucidum</i> σε αναδευόμενες συνθήκες με εκχύλισμα από απόβλητα πορτοκαλιών ως υπόστρωμα (WOP).	47
Γράφημα 3.6: Ρυθμός παραγωγής βιομάζας (productivity, g/L/d) και ρυθμός κατανάλωσης σακχάρων (consumption rate, g/L/d) του μύκητα <i>G. lucidum</i> σε στατικές (static) και αναδευόμενες (shaking) συνθήκες χρησιμοποιώντας το WOP ως υπόστρωμα.	47
Γράφημα 3.7: (α) Κινητική παραγωγή βιομάζας (■) Κατανάλωση λακτόζης (●) και FAN (♦) κατά τη διάρκεια στατικής ζύμωσης του <i>G. lucidum</i> σε CW συμπληρωμένο με Tween 80 (β) Μακροσκοπική παρατήρηση του <i>G. lucidum</i>	51
Γράφημα 3.8 (α) Κινητική παραγωγή βιομάζας (■), Κατανάλωση λακτόζης (●), συνολικών σακχάρων (▲) και FAN (♦) κατά τη διάρκεια αναδευόμενης ζύμωσης του <i>G. lucidum</i> σε CW συμπληρωμένο με Tween (β) Μακροσκοπική παρατήρηση του <i>G. lucidum</i>	52

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση βασικών τμημάτων ενός μανιταριού.....	4
Εικόνα 2: Απεικόνιση υφών.....	5
Εικόνα 3: Απεικόνιση σπορίων μακρομυκήτων (Guarro et al., 1999b).....	6
Εικόνα 4: Κύριες βιοδραστικές ενώσεις μανιταριών και μέθοδοι εκχύλισης (Antunes et al., 2020).	10
Εικόνα 5: Ορισμένα φαρμακευτικά μανιτάρια	10
Εικόνα 6: Μορφολογία του <i>G. lucidum</i>	13
Εικόνα 7: Κύριες φαρμακολογικές ουσίες που περιέχονται στο <i>G. lucidum</i> και η θεραπευτική τους επίδραση (Zajac et al., 2023).....	14
Εικόνα 8: Μορφολογία του <i>T. Versicolor</i>	15
Εικόνα 9: Αγροτοβιομηχανικά απόβλητα τροφίμων ως πρώτη ύλη για την παραγωγή διαφορετικών βιοπροϊόντων (Bilal et al., 2019).	18
Εικόνα 10: Ενδεικτικά υποστρώματα αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καλλιέργεια μανιταριών (Suwannarach et al., 2022).....	19
Εικόνα 11: Προϊόντα που προέρχονται από τον ορό γάλακτος (Mollea et al., 2013) .	23
Εικόνα 12: Κατανομή του Πορτοκαλιού σε Χυμό και Απόβλητα	26
Εικόνα 13:Χημική δομή D-Λιμονένιου (Klimek-Szczykutowicz et al., 2020).....	27
Εικόνα 14: Η ανάπτυξη της παγκόσμιας αγοράς αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών, όπως υποδεικνύεται από στοιχεία που εκτείνονται από το 2015 έως το 2025.	28
Εικόνα 15: Σύνθεση φλοιού πορτοκαλιού (Ποσοστό σε ξηρή βάση) (Rivas et al., 2008)	29
Εικόνα 16: Ανάπτυξη μυκηλίου σε τρυβλία με PDA. α) <i>G. lucidum</i> β) <i>T. versicolor</i> .	32
Εικόνα 17: Θερμική επεξεργασία φλουδών πορτοκαλιού	33
Εικόνα 18: Ορός γάλατος πριν και μετά τη διαδικασία της αποπρωτεΐνωσης (Αλιμπούμπα, 2022).....	34
Εικόνα 19: Απεικόνιση παραλαβής βιομάζας (Shaker)	35
Εικόνα 20: Χημική δομή της ένωσης 1,1 διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH•) και της ανηγμένης της μορφής 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη (DPPH-H).	40

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικά στοιχεία

Οι μύκητες (FUNGI) αντιπροσωπεύουν μια σημαντική ομάδα ευκαρυωτικών μικροοργανισμών και είναι ετερότροφοι μικροοργανισμοί, δηλαδή τρέφονται από άλλους ζωντανούς οργανισμούς και λαμβάνουν τα θρεπτικά συστατικά που χρειάζονται απορροφώντας οργανική ύλη από το περιβάλλον τους. Είναι επίσης ένα από τα πέντε βασίλεια (ANIMALIA, PLANTAE, FUNGI, PROTISTA, MONERA) στο ταξινομικό σχήμα του Whittaker (1969), το οποίο ταξινομεί τους ζωντανούς οργανισμούς σύμφωνα με την κυτταρική δομή. Ταυτόχρονα σε αυτούς περιλαμβάνεται ένα ευρύ φάσμα οργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των ζυμομυκήτων και των μανιταριών. Η παρούσα πτυχιακή, εστιάζει σε αυτούς τους οργανισμούς. Ο όρο μανιτάρι αναφέρεται στους μακρομύκητες που παρουσιάζουν χαρακτηριστικό διακριτό καρπόσωμα και αναπτύσσονται είτε στο υπέργειο είτε στο υπόγειο τμήμα του εδάφους (Martinez-Medina et al., 2021). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα μανιτάρια καρποφορούν μόνο συγκεκριμένες περιόδους του χρόνου και υπό ιδανικές συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας. Επιπλέον, οι μύκητες κατηγοριοποιούνται σε δύο οικογένειες, στους Ασκομύκητες και τους Βασιδιομύκητες. Τα σπόρια αυτών των μυκήτων στεγάζονται σε μια ξεχωριστή δομή, με τον ασκό να είναι το διακριτό χαρακτηριστικό των Ασκομυκήτων και το βασίδιο να είναι το καθοριστικό χαρακτηριστικό των Βασιδιομυκήτων (Sánchez, 2017).

Η ποσότητα μυκητιακών ειδών που υπάρχουν παγκοσμίως δεν είναι ακριβής. Ωστόσο, οι ειδικοί υπολογίζουν ότι ο αριθμός κυμαίνεται μεταξύ 1,5 και 5 εκατομμυρίων. Αυτό που προκαλεί ακόμη μεγαλύτερη έκπληξη είναι ότι λιγότερο από το 10% αυτού του αριθμού έχει εντοπιστεί μέχρι στιγμής (Amend et al., 2019). Επιπλέον, εκτός από αυτά που καλλιεργούνται, περίπου 200 είδη άγριων μανιταριών συγκεντρώνονται από διάφορες περιοχές του κόσμου και διατίθενται στο εμπόριο (El Sheikha et al., 2018). Τέλος, με βάση το βαθμό σημασίας τους για τη διατροφή και την ευημερία του ανθρώπου, αυτά τα μανιτάρια μπορούν να ταξινομηθούν σε τέσσερις κατηγορίες, ως βρώσιμα, φαρμακευτικά, δηλητηριώδη και «άλλα» μανιτάρια, των οποίων οι ιδιότητες δεν έχουν ακόμη προσδιοριστεί.

1.2 Ιστορική αναδρομή

Οι μύκητες εμφανίστηκαν στη γη πριν από 600 εκατομμύρια χρόνια (Berbee et al., 2017). Ο ρόλος τους στον αποικισμό της γης ήταν καθοριστικός καθώς βοήθησαν στην αποσύνθεση της οργανικής ύλης και στην ανάπτυξη του εδάφους. Πριν από περίπου 400 εκατομμύρια χρόνια, οι μύκητες δημιούργησαν αμοιβαία ωφέλιμη σχέση με τα φυτά, με αποτέλεσμα να σχηματιστούν μυκορριζικές ενώσεις. Ειδικότερα, οι μυκορριζικοί μύκητες βοηθούν έως και σήμερα τα φυτά να απορροφούν θρεπτικά συστατικά από το έδαφος, ενώ παράλληλα λαμβάνουν από αυτά σάκχαρα που παρήγαγαν. Ακόμη, έχει υπολογιστεί ότι εμφανίζονται στο 85% όλων των ζωντανών ειδών φυτών (Brundrett, M.C., & Tedersoo, L., 2018).

Η επιστημονική κατανόηση των μυκήτων ως μια διακριτή ομάδα οργανισμών πραγματοποιήθηκε τον 17ο αιώνα. Κατά τη διάρκεια αυτής της εποχής, ο Robert Hooke και ο Antonie van Leeuwenhoek πρωτοστάτησαν στη χρήση μικροσκοπίων για τη μελέτη μυκητιακών δομών. Ο Carl Linnaeus προώθησε αυτή τη μελέτη τον επόμενο αιώνα διακρίνοντας τους μύκητες ως ξεχωριστό βασίλειο τόσο από τα φυτά όσο και από τα ζώα. Στη συνέχεια, η μυκητολογία αναπτύχθηκε περαιτέρω καθώς τον 19ο και τον 20ο αιώνα, η μικροσκοπία και η ταξινόμηση προάχθηκαν και οι επιστήμονες απέκτησαν καλύτερη εικόνα για την ταξινόμηση και τη βιολογία των μυκήτων. Αυτό οδήγησε στην κατηγοριοποίηση και περιγραφή των διαφόρων ειδών, καθώς και στην ανάλυση των κύκλων ζωής και των οικολογικών ρόλων τους.

Συμπερασματικά, οι άνθρωποι είναι εξοικειωμένοι με του μύκητες εδώ και χιλιετίες. Τα μοναδικά χαρακτηριστικά τους στον φυσικό κόσμο έγιναν σταδιακά κατανοητά καθώς η τεχνολογία βελτιώθηκε και αναπτύχθηκαν επιστημονικές μεθοδολογίες. Η εξέλιξη της μυκητολογίας ως επιστημονικού πεδίου και η επίσημη αναγνώριση των μυκήτων ως ξεχωριστής ομάδας οργανισμών που διαχωρίζονται από τα φυτά και τα ζώα συνέβαλαν σε αυτήν την κατανόηση. Από τον πρώιμο ρόλο τους στον χερσαίο αποικισμό μέχρι την τρέχουσα σημασία τους στα οικοσυστήματα και την ανθρώπινη κοινωνία, οι μύκητες έχουν διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του κόσμου στον οποίο ζούμε. Έτσι, η μακροχρόνια αλληλεπίδρασή τους με τους ανθρώπους έχει οδηγήσει σε βαθύτερη εκτίμηση της σημασίας τους.

1.3 Κινέζικη παραδοσιακή ιατρική

Η κλίση του ανθρώπου προς τα φαρμακευτικά φυτά και τα φυτικά προϊόντα τα τελευταία χρόνια, αποτελεί αδιαμφισβήτητο γεγονός. Παρά τις εξελίξεις στον επιστημονικό τομέα και ειδικότερα της φαρμακολογίας, ο σύγχρονος άνθρωπος τείνει να προτιμά θεραπείες που βασίζονται σε φυσικές ουσίες. Τα μανιτάρια είναι επίσης γνωστά για τις φαρμακευτικές τους ιδιότητες, καθώς έχουν αποδειχθεί διαχρονικά ως αξιόπιστη πηγή ιατρικών οφελών λόγω της ευεργετικής τους φύσης.

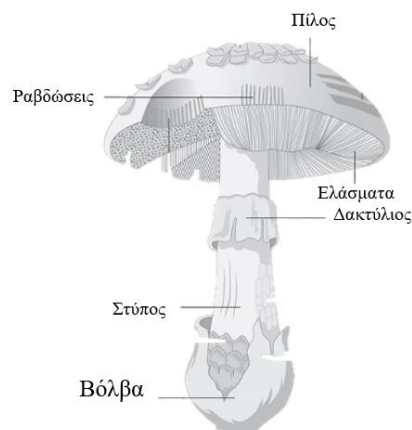
Χαρακτηριστικοί μακρομύκητες λοιπόν, που χρησιμοποιούνται ανά τα χρόνια στην Κινέζικη Παραδοσιακή Ιατρική είναι οι *Reishi Mushroom (Ganoderma lucidum)*, *Shiitake Mushroom (Lentinula edodes)* και *Maitake Mushroom (Grifola frondosa)*, οι οποίοι κατέχουν σημαντικό ρόλο λόγω των αξιοσημείωτων πλεονεκτημάτων τους για την υγεία. Οι πιο κοινές φαρμακευτικές λειτουργίες αυτών των μανιταριών είναι αντικαρκινικές, αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές. Είναι σημαντικό να επισημανθεί, ότι το *G. lucidum (Reishi)*, γνωστό και ως *Lingzhi (灵芝)*, είναι ένα από τα πιο ισχυρά και προτιμώμενο φαρμακευτικό βότανο της Κινέζικης αλλά και Ιαπωνικής κοινωνίας εδώ και χιλιάδες χρόνια. Λέγεται ότι είναι γνωστό για τις προσαρμογόνες του ιδιότητες, βοηθάει δηλαδή το σώμα να προσαρμοστεί σε στρεσογόνους παράγοντες και να διατηρήσει την ομοιόσταση προάγοντας τη συνολική ζωτικότητα και μακροζωία (Zajac et al. 2023). Ωστόσο, σύμφωνα με τους Wu et al., (2019), έχει παρατηρηθεί, ότι αρκετά είδη μακρομυκήτων είναι δηλητηριώδη εξαιτίας της παραγωγής μυκοτοξινών.

Συμπερασματικά, μέσω της ενσωμάτωσης των μανιταριών στο αρχαίο αυτό θεραπευτικό σύστημα αναδεικνύεται η εκτενής γνώση των Κινέζων. Το καθένα από αυτά με τη μοναδική σύνθεση βιοδραστικών ενώσεων, αποτελεί παράδειγμα της περίπλοκης σχέσης μεταξύ των χαρισμάτων της φύσης και της ανθρώπινης ευημερίας στο πλαίσιο της Παραδοσιακής Κινεζικής Ιατρικής.

1.4 Μορφολογία

1.4.1. Σώμα

Στο βασίλειο των μυκήτων ανάλογα με τις αναπαραγωγικές δομές διακρίνονται οι κατηγορίες των Βασιδιομυκήτων, των Ασκομυκήτων, των ατελών μυκήτων και των ζυγομυκήτων. Το μανιτάρι στην περίπτωση των Βασιδιομυκήτων, που είναι και η πιο συνηθισμένη υποδιαίρεση ανώτερων μυκήτων, έχει μορφή ομπρέλας και αποτελείται από τον πύλο, τον υμενοφόρο, το στύπο και το βολβό. Ως πύλος ορίζεται το ορατό άνω μέρος των μανιταριών και ρόλος του είναι η προστασία του υμενοφόρου, ο οποίος με τη σειρά του βρίσκεται στο κάτω μέρος του μύκητα και φιλοξενεί τα αναπαραγωγικά όργανα τα οποία αποβάλλουν σπόρους προς το έδαφος (The Fungi, 2015). Έπειτα, ο στύπος είναι ο μίσχος του μύκητα και αποτελεί ένα μη αναπαραγωγικό τμήμα του βασιδιώματος στο οποίο στηρίζεται ο πύλος. Τέλος, σε ορισμένα είδη ο στύπος βγαίνει απευθείας από το χώμα ενώ σε άλλα βγαίνει από το βολβό, δηλαδή τη μεμβράνη που αναπτύσσεται στο υπόγειο τμήμα του εδάφους η οποία προσδίδει προστασία και επιτρέπει την ανάπτυξη του μύκητα μέσα σε αυτήν.



Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση βασικών τμημάτων ενός μανιταριού.

1.4.2. Υφές

Οι μύκητες είναι οργανισμοί που μπορούν να υπάρχουν είτε ως μονοκύτταροι είτε ως πολυκύτταροι. Ένας από τους κύριους παράγοντες που διαφοροποιούν τις δύο μορφές είναι η δομή τους. Το θεμελιώδες δομικό συστατικό των μυκήτων είναι η υφή τους. Οι μονοκύτταροι μύκητες έχουν μια πιο ομοιογενή εμφάνιση και ως εκ τούτου, οι μεμονωμένες υφές τους δεν είναι εύκολα εμφανείς. Αντίθετα, οι πολυκύτταροι μύκητες σχηματίζουν υφές, δηλαδή νηματοειδείς δομές που σχηματίζουν το μυκήλιο του μύκητα (Εικόνα 2). Επιπλέον, παρατηρείται να αναπτύσσονται είτε προς μια κατεύθυνση, γραμμικά είτε ως μάζα διακλαδισμένων, κυλινδρικών νημάτων. Συμπληρωματικά, οι υφές χωρίζονται σε δύο τύπους, στις πολυκύτταρες υφές, που έχουν εγκάρσια διαφράγματα κατά διαστήματα (septa) και φαίνεται να αποτελούνται από κύτταρα όταν παρατηρούνται με οπτικό μικροσκόπιο και στις μονοκύτταρες υφές, οι οποίες έχουν ένα ενιαίο εσωτερικό χώρο και στερούνται διαφραγμάτων σε όλο το μήκος τους. Τέλος, οι μύκητες εμφανίζουν μια εκτεταμένη ποικιλία υφών που υπόκεινται σε αλλαγές με βάση διάφορους παράγοντες, όπως το είδος, την ηλικία και το περιβάλλον (Liu, 2024, Guarro et al., 1999a, Carlile, 1995).

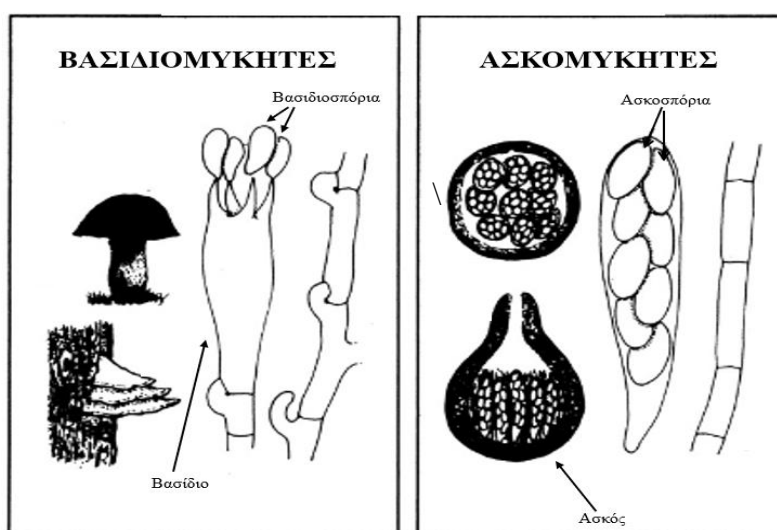


Εικόνα 2: Απεικόνιση υφών

1.4.3. Αναπαραγωγή

Η κύρια μέθοδος αναπαραγωγής και πολλαπλασιασμού των μυκήτων πραγματοποιείται με ειδικές αναπαραγωγικές μονάδες, τα σπόρια, τα οποία σχηματίζονται συνήθως από εξειδικευμένα αναπαραγωγικά όργανα, τις καρποφορίες. Η εμφάνιση των σπορίων ποικίλλει ανάλογα με το είδος των μακρομυκήτων, με δύο μεγάλες κατηγορίες να είναι

οι βασιδιομύκητες και οι ασκομύκητες. Από τη μία, οι βασιδιομύκητες παράγουν βασιδιοσπόρια τα οποία σχηματίζονται πάνω σε μικροσκοπικές ραβδοειδείς δομές που ονομάζονται βασίδια, ενώ από την άλλη οι ασκομύκητες παράγουν ασκοσπόρια που αναπτύσσονται μέσα σε σχήματος αυγού ή επιμήκεις σάκους γνωστούς ως ασκοί (Lutzoni et al., 2004, Pöggeler et al., 2006).



Εικόνα 3: Απεικόνιση σπορίων μακρομυκήτων (Guarro et al., 1999b)

1.5 Αξιοποίηση μανιταριών από τον άνθρωπο

Τα μανιτάρια κατέχουν σημαντική θέση στην ανθρώπινη ιστορία, καθώς έχουν χρησιμοποιηθεί στη διατροφή, για ιατρικούς σκοπούς και σε τελετουργικές πρακτικές από την αρχαιότητα. Στη σύγχρονη κοινωνία, ορισμένα είδη μανιταριών ερευνώνται για τις δυνατότητές τους στην παραγωγή ενζύμων, φαρμάκων και άλλων ευεργετικών ουσιών για ανθρώπινη κατανάλωση. Κάποιες ποικιλίες καλλιεργούνται σε βιομηχανική κλίμακα προς κατανάλωση, ενώ άλλες χρησιμοποιούνται για τη βιολογική επεξεργασία αποβλήτων λόγω της υψηλής ενζυμικής τους δράσης. Επιπλέον, τα μανιτάρια έχουν καθοριστική συμβολή στη διατήρηση του οικοσυστήματος δρώντας ως αποικοδομητές, διότι διευκολύνουν τη διάσπαση της οργανικής ύλης και την αποκατάσταση των θρεπτικών συστατικών του εδάφους, ανακυκλώνοντας θρεπτικά συστατικά πίσω σε αυτό (Daranagama, 2023, Karaman et al., 2012).

Αρχικά, μεταξύ της μεγάλης ποικιλίας βρώσιμων μανιταριών που είναι διαθέσιμα, όπως το *Pleurotus*, το *Shiitake* και το *Portobello*, χρησιμοποιούνται στην

μαγειρική καθώς αποτελούν πηγή βασικών θρεπτικών συστατικών. Αυτά τα μανιτάρια εκτιμώνται επίσης στη φαρμακοβιομηχανία για την αφθονία τους σε βιοδραστικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων των πολυσακχαριτών, των τερπενοειδών και των φαινολικών ενώσεων (Elkhateeb et al., 2019). Σε όλη την ιστορία, τα μανιτάρια έπαιξαν σημαντικό ρόλο στις παραδοσιακές ιατρικές πρακτικές των ανατολικών χωρών, χρησιμεύοντας τόσο ως προληπτικό μέτρο όσο και ως θεραπεία για πολλές παθήσεις. Επιπλέον, παρουσιάζουν ευελιξία σε περιβάλλον καλλιέργειας γεγονός που επιτρέπει την ελεγχόμενη ανάπτυξη σε εσωτερικούς χώρους για ερευνητικούς σκοπούς, καθώς και μεγάλης κλίμακας παραγωγή σε εξωτερικούς χώρους για τη βιομηχανία τροφίμων. Αξίζει να σημειωθεί, ότι οι πρώτες επιτυχημένες μέθοδοι καλλιέργειας μανιταριών αναπτύχθηκαν στην Κίνα για πρώτη φορά με την ανάπτυξη του μύκητα *Auricularia auricula-judae* (Rahman et al., 2020). Ακόμα, τα μανιτάρια χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία βιοδιυλιστηρίων ως βιολογική προεπεξεργασία, με τη βιομάζα τους και τα εκκρινόμενα ένζυμα να είναι ικανά να διασπούν πολύπλοκες οργανικές ενώσεις όπως η λιγνίνη και η ημικυτταρίνη αλλά και να βοηθηθούν στην απελευθέρωση πολυφαινολών. (Meini et al., 2021, Diamantopoulou et al., 2019).

Συγκεκριμένα, οι Jin et al. (2005), μελέτησαν την ανάπτυξη της μυκηλιακής βιομάζας και την παραγωγή γαλακτικού οξέος δύο στελεχών του γένους *Rhizopus*, το *R. arrhizus* 36017 και το *R. oryzae* 2062, σε συνθήκες υγρής ζύμωσης. Ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκαν απόβλητα επεξεργασίας πατάτας, καλαμποκιού, αμύλου, σιταριού και ανανά. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το στέλεχος *R. oryzae* 2062 παρουσίασε υψηλή παραγωγή μυκηλιακής βιομάζας με 15–20 g/L, η οποία σχετίζεται με την παραγωγή περίπου 20 g/L γαλακτικού οξέος. Αντίστοιχα, οι Kachrimanidou et al. (2023), για την ανάπτυξη μυκηλιακής βιομάζας, χρησιμοποίησαν τα στελέχη *Sepedonium sp.* και *Phellinus sp.*, σε υγρή καλλιέργεια υπό στατικές συνθήκες με θρεπτικό υπόστρωμα στεμφύλων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι για το στέλεχος *Sepedonium sp.*, η μέγιστη παραγωγή βιομάζας παρατηρήθηκε την 13η ημέρα της ζύμωσης (6,8g/L), και την 9η ημέρα της ζύμωσης (4,9 g/L), αντίστοιχα για το στέλεχος *Phellinus sp.* Επιπλέον, σε μια μελέτη των Anto et al. (2006), εξετάστηκε η παραγωγή του ένζυμου γλυκοαμυλάση από το στέλεχος *Aspergillus sp.*, κατά τη στερεά καλλιέργειά του σε απόβλητα επεξεργασίας ρυζιού υπό στατικές συνθήκες. Ιδιαίτερα σημαντικό ήταν, ότι η προσθήκη εκχυλίσματος μαγιάς στην ζύμωση είχε ως αποτέλεσμα σχεδόν διπλάσια δραστηριότητα γλυκοαμυλάσης.

Οι μύκητες, εκμεταλλευόμενοι το πλούσιο ενζυμικό δυναμικό τους διαδραματίζουν επίσης ρόλο στη διατήρηση του περιβάλλοντος, καθώς χρησιμοποιούνται για τη βιοαποδόμηση γεωργικών υπολειμμάτων και υποπροϊόντων. Αποδεικνύεται λοιπόν, ότι οι ευεργετικές επιδράσεις των μυκήτων συμβάλλουν στην επίλυση τριών μεγάλων παγκόσμιων ζητημάτων, της επισιτιστικής κρίσης, της πρόληψης ασθενειών και της περιβαλλοντικής ρύπανσης.

1.6 Θρεπτική αξία – Φαρμακευτικές ιδιότητες μανιταριών

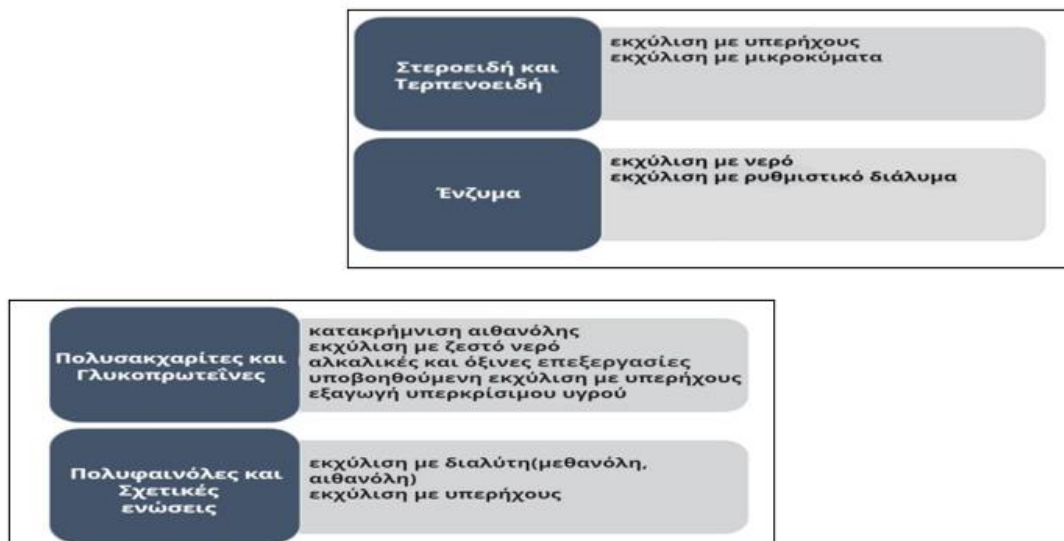
Τα μανιτάρια είναι μια εξαιρετικά θρεπτική τροφή λόγω των άφθονων φυτικών ινών τους που αντιπροσωπεύουν το 10% του ξηρού βάρους τους, καθώς και της χαμηλής περιεκτικότητάς τους σε σάκχαρα και λιπαρά. Είναι πλούσια σε ακόρεστα λίπη, που περιλαμβάνουν τόσο μονοακόρεστα όσο και πολυακόρεστα λιπαρά. Επιπλέον, η σύνθεση υδατανθράκων, πρωτεϊνών, βιταμινών, μετάλλων και ιχνοστοιχείων είναι ένας σημαντικός παράγοντας που πρέπει να ληφθεί υπόψιν, ο οποίος θα αναλυθεί παρακάτω (Yilmaz et al., 2006, Sławińska, A. et al., 2021, Assemie et al., 2022).

Κατά κύριο λόγο, οι υδατάνθρακες αποτελούν περίπου το ήμισυ του ξηρού βάρους στα μανιτάρια, με τους μονοσακχαρίτες, και τα παράγωγά τους, τους ολιγοσακχαρίτες και τους πολυσακχαρίτες να είναι οι κύριοι (Kalač, 2013). Στην κατηγορία των υδατανθράκων περιλαμβάνονται και οι διαιτητικές ίνες, οι οποίες, παρόλο που είναι δύσπεπτες, είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της σωστής πεπτικής υγείας και της συνολικής ευεξίας. Επιπλέον, ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) έχει σημειώσει ότι οι πρωτεΐνες των μανιταριών ξεπερνούν τις φυτικές πρωτεΐνες στη θρεπτική τους αξία, καθώς περιέχουν και τα εννέα απαραίτητα αμινοξέα που απαιτούνται για τη διατροφή του ανθρώπου (González et al., 2020). Παράλληλα, τα μανιτάρια μπορούν να χρησιμεύσουν ως εξαιρετικό υποκατάστατο των ζωικών προϊόντων, καθώς οι πρωτεΐνες τους έχουν υψηλή βιολογική αξία και είναι εύκολα αφομοιώσιμες από τον ανθρώπινο οργανισμό, με αποτέλεσμα υψηλό δείκτη κορεσμού (Hess et al., 2017). Έχουν επίσης, χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά σε σύγκριση με άλλα θρεπτικά συστατικά, που κυμαίνεται από 0,6-4,7% ολικό λίπος ξηρής βάσης για διάφορους τύπους μανιταριών (Kavishree et al., 2008), με το ελαϊκό, το λινολεϊκό και το παλμιτικό οξύ να είναι τα πιο σημαντικά λιπαρά οξέα που υπάρχουν στα βρώσιμα μανιτάρια (Sande et al., 2019). Αξίζει να σημειωθεί ότι ο καρπός του μανιταριού που είναι βρώσιμος περιέχει μια σειρά βιταμινών του Β-συμπλέγματος όπως η θειαμίνη (B1), η ριβοφλαβίνη, η νιασίνη (B3) και

το φολικό οξύ (B9). Αυτές οι βιταμίνες είναι απαραίτητες για το μεταβολισμό και την παραγωγή ενέργειας. Τα μανιτάρια είναι επίσης μια από τις λίγες φυσικές τροφικές πηγές βιταμίνης D, η οποία είναι ζωτικής σημασίας για την υγεία των οστών και το ανοσοποιητικό σύστημα (Atila et al., 2017). Ακόμη, είναι πλούσια σε μέταλλα και ιχνοστοιχεία, με το κάλιο και τον φώσφορο να είναι τα πιο κοινά μέταλλα και το αργίλιο, τον χαλκό, το ψευδάργυρο, το σελήνιο, το κάδμιο και τον μόλυβδο να είναι τα ιχνοστοιχεία (Kalač, 2013). Είναι ιδιαίτερα σημαντικό, να επισημανθεί η ελάχιστη ποσότητα νατρίου που βρίσκεται στα μανιτάρια, καθιστώντας τα μια βιώσιμη επιλογή για άτομα με καρδιακή ανεπάρκεια και διαβήτη. Ωστόσο, η θρεπτική σύνθεση των βρώσιμων μανιταριών μπορεί να διαφέρει ανάλογα με παράγοντες όπως, το στάδιο ανάπτυξης και συγκομιδής τους, καθώς και τις ειδικές περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες καλλιεργούνται (Bellettini, M. B., et al., 2019). Επιπλέον, εξίσου σημαντική είναι η γνώση των πιθανών κινδύνων από την κατανάλωση μανιταριών που καλλιεργούνται σε υποστρώματα με υψηλά επίπεδα καδμίου και μολύβδου, όπου οι υγειονομικές αρχές έχουν αναγνωρίσει ως επιβλαβή.

Όπως γίνεται αντιληπτό από τα παραπάνω, η επίδραση των μανιταριών στην ανθρώπινη υγεία είναι καθοριστική, με επιστημονικά αποδεδειγμένες φαρμακευτικές ιδιότητες, πράγμα που καθιστά απαραίτητη την ενσωμάτωσή τους στη διατροφή του ανθρώπου (Elkhateeb, 2020).

Πιο συγκεκριμένα, οι βιοδραστικές ενώσεις, οι οποίες μπορεί να είναι πολυσακχαρίτες, τερπενοειδή, πρωτεΐνες, πολυφαινόλες, ένζυμα κ.α., βρίσκονται στα τρόφιμα και έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν ή να τροποποιούν τις βιολογικές διαδικασίες στον οργανισμό, συμβάλλοντας στην πρόληψη ή/και στη θεραπεία ασθενειών. Γι' αυτό, έχουν διεξαχθεί εκτενείς έρευνες από επιστήμονες για τον εντοπισμό, την απομόνωση και την παραγωγή αυτών των ευεργετικών ουσιών από φυτά και υποπροϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων. Βέβαια, για την πλήρη αξιοποίησή τους, είναι σημαντικό να προσδιοριστεί η πιο αποτελεσματική μέθοδος εκχύλισης .



Εικόνα 4: Κύριες βιοδραστικές ενώσεις μανιταριών και μέθοδοι εκχύλισης (Antunes et al., 2020).

Ωστόσο, η συγκέντρωση και η αποτελεσματικότητα των βιοδραστικών ενώσεων στα μανιτάρια ποικίλλει ανάλογα με παράγοντες όπως ο τύπος μανιταριού, το υπόστρωμα, οι συνθήκες καρποφορίας, το στάδιο ανάπτυξης, οι συνθήκες αποθήκευσης και οι μέθοδοι μαγειρέματος. Επί του παρόντος, υπολογίζεται ότι το 80-85% των φαρμακευτικών προϊόντων μανιταριών προέρχεται από καρποφόρα σώματα, που είτε καλλιεργούνται εμπορικά είτε συλλέγονται από τη φύση, ενώ το 15% βασίζεται σε εκχυλίσματα μυκηλίων. Ως εκ τούτου, οι μακρομύκητες χρησιμεύουν ως πολύτιμη πηγή βιοδραστικών ενώσεων που διαθέτουν σημαντικές θεραπευτικές δυνατότητες για την πρόληψη και τη διαχείριση διαφόρων ασθενειών.



Εικόνα 5: Ορισμένα φαρμακευτικά μανιτάρια

Αναλυτικότερα, τα φυσικά βιοδραστικά συστατικά αποτελούν τα τελευταία χρόνια τη σημαντικότερη πρώτη ύλη έως και του 70 % των νέων αντικαρκινικών φαρμάκων. Για παράδειγμα, έρευνα που διεξήχθη το 2004 από τους Ahn et al., μέσω χορήγησης ενός εκχυλίσματος *Agaricus blazei Murrill Kyowa* σε ασθενείς που έπασχαν από διάφορους γυναικολογικούς καρκίνους, είχε ως αποτέλεσμα μια σαφή μείωση των παρενεργειών που σχετίζονται με τη χημειοθεραπεία καθώς και αξιοσημείωτη βελτίωση των παραμέτρων που σχετίζονται με τη διάθεση των πασχόντων. Στη Βραζιλία, ο ίδιος μύκητας έχει χρησιμοποιηθεί ιστορικά για την καταπολέμηση του σωματικού και συναισθηματικού στρες, για την τόνωση του ανοσοποιητικού συστήματος και για την πρόληψη ή τη θεραπεία διαφόρων ιατρικών καταστάσεων, όπως ο διαβήτης, η υψηλή χοληστερόλη και η οστεοπόρωση. Αντίστοιχα, ένας άλλος μακρομύκητας, ο *Hericium erinaceus* μπορεί να δράσει αποτελεσματικά κατά της κατάθλιψης, του άγχους, των διαταραχών ύπνου αλλά και της υπερφαγίας (Firenzuoli et al., 2008, Vigna et al., 2019). Επιπλέον, οι πιθανές αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις του *G. lucidum* έχουν αποτελέσει αντικείμενο διαφόρων δοκιμών μικρής κλίμακας. Σε μια τέτοια δοκιμή συμμετείχαν 45 ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου και οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (STEMI). Σε διάρκεια 90 ημερών, χορηγήθηκαν, σε αυτούς τους ασθενείς, πολυσακχαρίτες του στελέχους διαιρεμένοι σε τρεις δόσεις (750 mg/ημέρα). Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση των επιπέδων IL-1, TNF-α και MDA (Sargowo et al., 2019). Μια άλλη πρόσφατη μελέτη επικεντρώθηκε σε 38 ασθενείς με κοιλιακή μαρμαρυγή. Αυτοί οι ασθενείς ακολούθησαν την ίδια πορεία αγωγής και παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της συστολικής και διαστολικής αρτηριακής πίεσης σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου (Rizal et al., 2020). Ακόμα, σε έρευνα των Duvnjak et al., (2016), αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα του *Trametes versicolor* στην καταπολέμηση παθογόνων μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένου του *Escherichia coli*. Ομοίως, οι Knezevic et al., (2018), μελέτησαν την μυκητοκτόνο δράση των εκχυλισμάτων τόσο από το βασιδιόκαρπο όσο και από το μυκήλιο του ίδιου στελέχους. Αυτά τα εκχυλίσματα δοκιμάστηκαν έναντι έξι διαφορετικών στελεχών ανθρώπινων μυκητιακών παθογόνων. Τα εκχυλίσματα μυκηλίου εμφάνισαν μεγαλύτερη μυκητοκτόνο δράση σε σύγκριση με τα εκχυλίσματα βασιδιοκαρπίου, με το γένος *Candida* να αποδεικνύεται πιο ευαίσθητο από το *Aspergillus*.

Παρακάτω παρουσιάζονται μερικά παραδείγματα φαρμακευτικών ιδιοτήτων ορισμένων μανιταριών.

Πίνακας 1: Φαρμακευτικές ιδιότητες μακρομυκήτων (Miles & Chang, 1997)

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΕΙΔΟΣ ΜΑΝΙΤΑΡΙΟΥ
Αντιβακτηριακή δράση	Hirsutic acid	Πολλά είδη
Αντιβιοτική δράση	E-beta-methoxyacrylate	<i>Oudemansiella radicata</i>
Αντιική δράση	Πρωτεΐνη, Πολυσακχαρίτης	Lentinula edodes and Polyporaceae
Καρδιακό τονωτικό	Βολβατοξίνη (volvatoxin), Φλαμμουτοξίνη (flammutoxin)	<i>volvariella</i>
Μείωση της χοληστερόλης	Εριταδεΐνη (eritadenine)	<i>Collybia lucidum</i>
Μείωση του σακχάρου στο αίμα	Πεπτίδιο γλυκογόνου (peptide glycogen) Ganoderan	<i>Ganoderma lucidum</i>
Μείωση της αρτηριακής πίεσης	Τριτερπένιο	<i>Ganoderma lucidum</i>
Αντιδρομωτική δράση	5'-AMP, 5'-GMP	<i>Psalliota hortensis</i>
Αναστολή της PHA	r-GHP	<i>Psalliota hortensis</i> and <i>Lentinula edodes</i>
Αντικαρκινική δράση	Beta-glucan RNA-complex	Πολλά είδη <i>Hypsizygus marmoreus</i> (<i>lyophyllum shimeji</i>)
Αύξηση της έκκρισης χολής	Αρμιλλαρίσια Α (<i>Armillarisia A</i>)	<i>Armillariella tabescens</i>
Αναλγητική, ηρεμιστική δράση	Μαρασμικό οξύ (Marasmic acid)	<i>Marasmius androsaceus</i>

1.7. Οι μακρομύκητες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία

1.7.1. *Ganoderma lucidum*

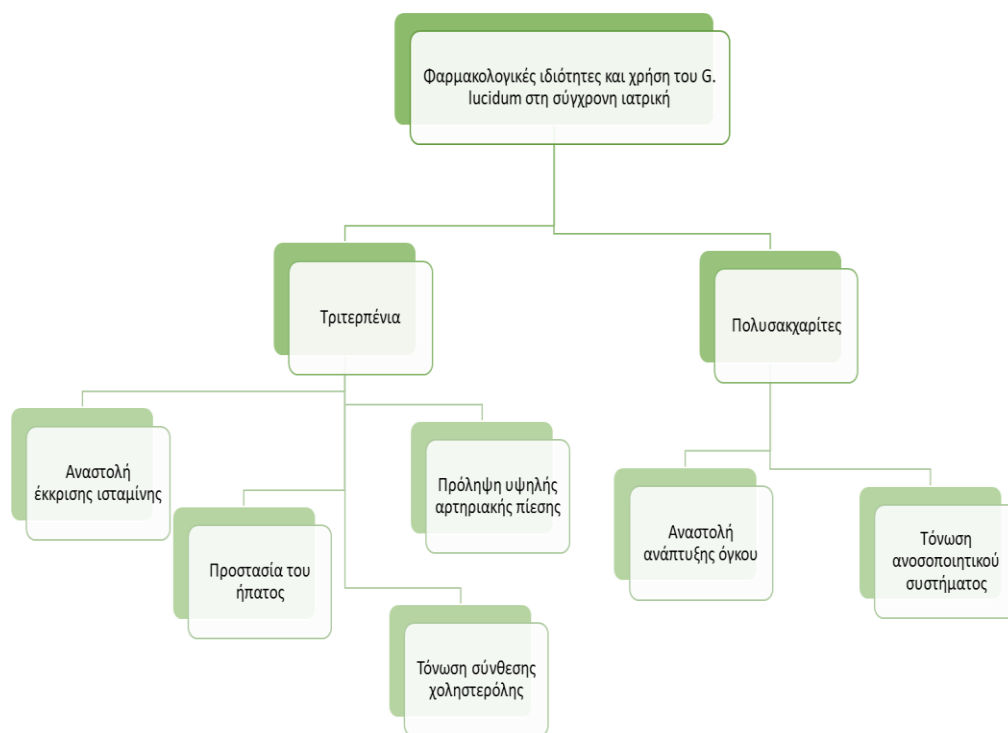
Το στέλεχος *Ganoderma lucidum* είναι μέλος της μεγάλης οικογένειας μυκήτων *Ganodermataceae* της τάξης *Aphylloporales*. Το όνομα του γένους για το μανιτάρι προέρχεται από την ελληνική λέξη «γάνος», που σημαίνει «λαμπρότητα». Αντίστοιχα, το όνομα του είδους προέρχεται από την λατινική λέξη «lucidus» που σημαίνει «λάμψη». Είναι φανερό λοιπόν, ότι η ονομασία αφορά την γυαλιστερή εμφάνιση της επιφάνειας του συγκεκριμένου μανιταριού.



Εικόνα 6: Μορφολογία του *G. lucidum*

Ο συγκεκριμένος μύκητας είναι πηγή βιοδραστικών ουσιών και εμφανίζει πληθώρα φαρμακευτικών ιδιοτήτων (Εικόνα 7). Πιο συγκεκριμένα, τα πολυάριθμα οφέλη του περιλαμβάνουν αντιβακτηριακές, αντικές και αντικαρκινικές ιδιότητες (Quereshi et al., 2010, Sanodiya et al., 2009, Sone et al., 1985). Αξίζει να σημειωθεί, ότι μείζονος σημασίας είναι οι β-γλυκάνες, που εντάσσονται στους πολυσακχαρίτες, οι οποίες έχουν την ικανότητα να ενεργοποιούν μια σειρά από ανοσολογικές αποκρίσεις υποδεικνύοντας έτσι αντικαρκινική δράση. Ο μύκητας περιέχει επίσης τριτερπένια που καταπολεμούν τα καρκινικά κύτταρα μέσω της κυτταροτοξικής τους δράσης. Συνολικά, οι β-γλυκάνες διεγείρουν την ανοσία του ξενιστή και εκτελούν αντικαρκινικές λειτουργίες ενώ τα τριτερπένια ‘σκοτώνουν’ τα καρκινικά κύτταρα. Εξάλλου, έχει διαπιστωθεί ότι οι χημειοθεραπείες προκαλούν παρενέργειες, και γι’ αυτό σε ορισμένες περιπτώσεις τα φυτικά φάρμακα προτιμώνται ως ασφαλής εναλλακτική λύση (Patel et al. 2012). Σύμφωνα με τον Ahmad, αυτές οι θεραπείες είναι ικανές να αποτρέψουν και να αναστρέψουν τους διηθητικούς καρκίνους (Ahmad 2020). Ακόμη, το μανιτάρι *G. lucidum* εμφανίζει αντιδιαβητικές ιδιότητες καθώς οι πολυσακχαρίτες, οι πρωτεογλυκάνες, οι

πρωτεΐνες και τα τριτερπενοειδή, τα οποία περιέχει, έχουν υπογλυκαιμικά αποτελέσματα (Ma et al, 2015).



Εικόνα 7: Κύριες φαρμακολογικές ουσίες που περιέχονται στο *G. lucidum* και η θεραπευτική τους επίδραση (Zajac et al., 2023)

1.7.2. *Trametes versicolor*

Το στέλεχος *Trametes versicolor* είναι μέλος της οικογένειας Polyporaceae και ταξινομείται στο γένος Polyporus (İnci et al., 2022). Αυτό το μανιτάρι είναι γνωστό και ως ουρά γαλοπούλας εξαιτίας του σχήματός του και αναγνωρίζεται από τους ομόκεντρους δακτυλίους που αναπτύσσονται σε διάφορες αποχρώσεις, με τις καφέ αποχρώσεις να είναι οι πιο κοινές. Στη φύση, το βρίσκουμε σε διάφορα σκληρά δένδρα όπως η βελανιδιά, και μερικά κωνοφόρα όπως το έλατο και το πεύκο. Αναπτύσσεται στους κορμούς των παραπάνω δέντρων καθ' όλη τη διάρκεια του έτους και έχει την ικανότητα να διασπά την λιγνίνη στο ξύλο πιο αποτελεσματικά από τη κυτταρίνη. Αυτή η αποσύνθεση του ξύλου είναι γνωστή ως λευκή σήψη, εξαιτίας του λευκού ινώδη υπολείμματος που μένει στο ξύλο μετά την αποικοδόμηση της λιγνίνης, και από αυτό προέρχεται και το όνομα αυτών των νηματωδών μυκήτων (Tisma et al. 2021) .



Εικόνα 8: Μορφολογία του *T. Versicolor*

Ο εν λόγω μύκητας αποτελεί εξίσου πηγή βιοδραστικών ουσιών όπως και το *G. lucidum* με πολυάριθμες φαρμακευτικές ιδιότητες. Κατά τον κύκλο ζωής του μύκητα, οι κύριες βιοδραστικές ενώσεις που παράγονται είναι οι φαινόλες, τα φλαβονοειδή και τα τερπένια. Επιπλέον, το στέλεχος *T.versicolor* μπορεί να συνθέσει εξίσου ασκορβικό οξύ, β-καροτένιο και λυκοπένιο (Bains et al., 2020).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν δυο ευρέως γνωστοί πολυσακχαρίτες που περιέχει, το πολυσακχαροπεπτίδιο (PSP) και η πολυσακχαροπεπτιδική κρεστίνη (PSK), που έχουν μελετηθεί για τις πιθανές αντικαρκινικές τους επιδράσεις και χρησιμοποιούνται σε ορισμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις για τη θεραπεία του καρκίνου (Habtemariam, 2020). Ωστόσο, το PSP έχει αποδειχθεί ότι προάγει επίσης, τη διατήρηση του υγιούς μικροβιώματος του εντέρου ως πρεβιοτικός παράγοντας. Τα συμβατικά αντιμικροβιακά φάρμακα έχουν συχνά την ακούσια συνέπεια να διαταράσσουν το φυσιολογικό μικροβίωμα του εντέρου, οδηγώντας σε ανεπιθύμητες παρενέργειες κατά τη διάρκεια της θεραπείας συστηματικών λοιμώξεων. Ως εκ τούτου, τα πρεβιοτικά, όπως το PSP, προκαλούν αλλαγές στη σύνθεση και τη δραστηριότητα του γαστρεντερικού μικροβιώματος, παρέχοντας οφέλη στη συνολική υγεία και ευεξία του ξενιστή (Pallav et al, 2014). Επιπλέον, σύμφωνα με μια έρευνα στην οποία απομονώθηκε η πρωτεΐνη TVC αποδείχθηκε ότι δρα ως ανοσοδιεγερτικό, προκαλεί δηλαδή αυξημένη ανοσολογική δραστηριότητα, άρα είναι ικανό να ενισχύσει το ανοσοποιητικό σύστημα (Li et al, 2011). Τέλος, το μανιτάρι *T. versicolor* περιέχει αντιοξειδωτικά όπως φαινόλες και φλαβονοειδή τα οποία μπορούν να καταπολεμήσουν το οξειδωτικό στρες, ενώ μερικές από τις καλύτερα

καθιερωμένες αντιοξειδωτικές και αντιβακτηριακές ενώσεις του είναι τα πολυσακχαροπεπτίδια τα οποία λαμβάνονται από υγρή καλλιέργεια του μύκητα (Kozarski et al. 2012).

1.8. Αγροτο-βιομηχανικά παραπροϊόντα και απόβλητα

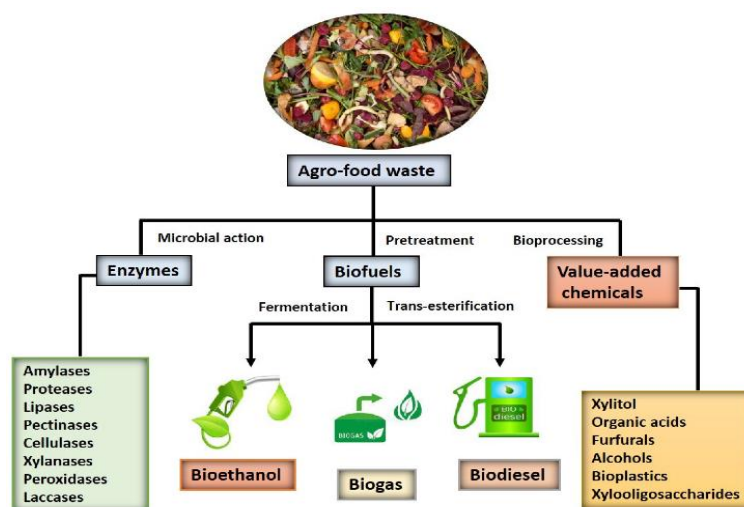
Τα απόβλητα συνιστούν μια από τις πιο επιτακτικές παγκόσμιες προκλήσεις στη σύγχρονη κοινωνία. Ως απόβλητα ορίζονται τα υπολείμματα τροφών αλλά και διάφορα αντικείμενα τα οποία έχουν σταματήσει να εξυπηρετούν τον σκοπό για τον οποίο έχουν κατασκευαστεί και πλέον είναι ανεπιθύμητα. Ιδιαίτερα σημαντικό, είναι ότι εκτιμάται πως προκύπτουν παραπάνω από 2 δισεκατομμύρια τόνοι γεωργικά απόβλητα παγκοσμίως. Μάλιστα, με το πέρασμα του χρόνου η παραγωγή απορριμμάτων αυξάνεται, είτε αυτά είναι αστικά στερεά απόβλητα είτε βιομηχανικά υποπροϊόντα, ο όγκος είναι τεράστιος και οι διαστάσεις μεγάλες (Singh et al., 2021, Awasthi et al., 2022).

Η πρακτική της κυκλικής οικονομίας προάγει την υιοθέτηση αποτελεσματικών στρατηγικών για τη διαχείριση και αξιοποίηση υποπροϊόντων, στοχεύοντας στη μείωση της ρύπανσης και την προώθηση της βιώσιμης ανάπτυξης και οικονομικής ευημερίας μεταξύ των βιομηχανιών. Η έννοιά της έχει εξελιχθεί με την πάροδο των χρόνων, χάρη στις συλλογικές προσπάθειες αφοσιωμένων ατόμων από διάφορους τομείς και οργανισμούς. Παρόλα αυτά ο ορισμός της δεν μπορεί να αποδοθεί σε ένα μόνο άτομο καθώς έχουν συμβάλλει αρκετοί σε αυτό. Μια εκτενής ανάλυση της βιβλιογραφίας των δύο τελευταίων δεκαετιών δείχνει ότι η έννοια αυτή πηγάζει κυρίως από τα οικολογικά και τα περιβαλλοντικά οικονομικά καθώς και από τη βιομηχανική οικολογία (Murray et al., 2017, Preston, 2012). Ο Walter R. Stahel, οικονομολόγος και περιβαλλοντολόγος, είναι μεταξύ των πρωτοπόρων του κινήματος της κυκλικής οικονομίας, ο οποίος έχει αναφέρει, ότι υπάρχουν δύο μοντέλα κυκλικής οικονομίας, όπου μέσω της επεξεργασίας και της κατασκευής, το πρώτο μοντέλο κυκλικής οικονομίας μετατρέπει το αγαθό σε νέα μορφή ενώ το δεύτερο ανακυκλώνει τα υλικά και μετατρέπει τα χρήσιμα μέρη ως νέους πόρους (Stahel, 2016). Παράλληλα, μια ευρέως διαδεδομένη πεποίθηση μεταξύ των μελετητών είναι ότι η έννοια της κυκλικής οικονομίας εισήχθη κυρίως από τους περιβαλλοντικούς οικονομολόγους Pearce και Turner (Pearce & Turner, 1989). Αδιαμφισβήτητα, η χώρα που έχει ενστερνιστεί πλήρως την εφαρμογή και την ανάπτυξη των εννοιών της κυκλικής οικονομίας είναι η Κίνα (Ghisellini et al., 2016).

Εξετάζοντας την έννοια της κυκλικής οικονομίας από οικονομική σκοπιά, προκύπτει ότι υποστηρίζει αποτελεσματικές στρατηγικές στη διαχείριση και χρήση παραπροϊόντων για τη μείωση της ρύπανσης και την προώθηση της βιώσιμης ανάπτυξης στο βιομηχανικό σχεδιασμό και τη δημιουργία εσόδων. Για να επιτευχθεί αυτό, χρειάζεται να ακολουθηθεί μια ολοκληρωμένη προσέγγιση με τα αγροτοβιομηχανικά απόβλητα, τα οποία περιέχουν υψηλή συγκέντρωση βιοδραστικών ενώσεων που μπορούν να εξαχθούν και να χρησιμοποιηθούν ως πρώτη ύλη μέσω βιώσιμων πρακτικών Βιοδιωλιστηρίου (Winans et al., 2017, Kumar et al., 2022a).

Εντούτοις, έχει διαπιστωθεί ότι τα απόβλητα τροφίμων περιέχουν περίπου 74% ευδιάλυτες στο νερό θρεπτικές ουσίες, χωρίς να χρειάζονται περίπλοκες διαδικασίες επεξεργασίας ή/και ανάκτησης. Αναλυτικότερα, οι υδατάνθρακες είναι η κύρια πηγή άνθρακα σε πολλές διαδικασίες ανάκτησης αποβλήτων τροφίμων, παίζοντας κρίσιμο ρόλο στο μεταβολισμό των μικροοργανισμών που παράγουν βιοαιθανόλη, βιοέλαιο και άλλα υποπροϊόντα ζύμωσης (Patel et al., 2019, Maina et al., 2017). Αν και τα τροφικά απόβλητα βιομηχανικής κλίμακας μπορεί να μην περιέχουν επαρκή επίπεδα μονο- και δι-σακχαριτών, οι πολυσακχαρίτες και οι φυτικές ίνες, όπως η ημικυτταρίνη, η κυτταρίνη και η πηκτίνη, υπάρχουν σε υψηλές συγκεντρώσεις, γεγονός που υποδεικνύει τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν σε μεγάλη κλίμακα. Επιπλέον, οι πρωτεΐνες είναι υπεύθυνες για την παροχή αζώτου και βασικών αμινοξέων που απαιτούνται για την ανάπτυξη μικροοργανισμών μέσω της υδρόλυσης ενώ τα λιπίδια μπορούν εξίσου να επηρεάσουν τον λόγο C/N (Gänzle et al., 2007, Barik et al., 2017).

Ένα από τα κρίσιμα ζητήματα που αφορούν στα απόβλητα είναι οι επιπτώσεις τους στο περιβάλλον. Η ακατάλληλη διάθεση των απορριμμάτων οδηγεί σε ρύπανση του αέρα, του νερού και του εδάφους, προκαλώντας σοβαρή βλάβη στο οικοσύστημα αλλά και στην άγρια ζωή. Αυτά τα οργανικά απορρίμματα, τα οποία είναι πλούσια πηγή υδατανθράκων, πρωτεϊνών και λιπιδίων μπορούν να μετατραπούν σε προϊόντα προστιθέμενης αξίας μέσω της διαδικασίας ζύμωσης βοηθώντας για παράδειγμα στην πρόληψη ασθενειών, με τη μορφή διατροφικών και φαρμακευτικών προϊόντων (Kumar et al., 2022b, Sionkowska et al., 2017). Η μετάβαση επομένως, σε μια κουλτούρα κυκλικής οικονομίας μέσω της αξιοποίησης αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων, η οποία έχει ως θεμέλιο την βιωσιμότητα, είναι αναγκαία.

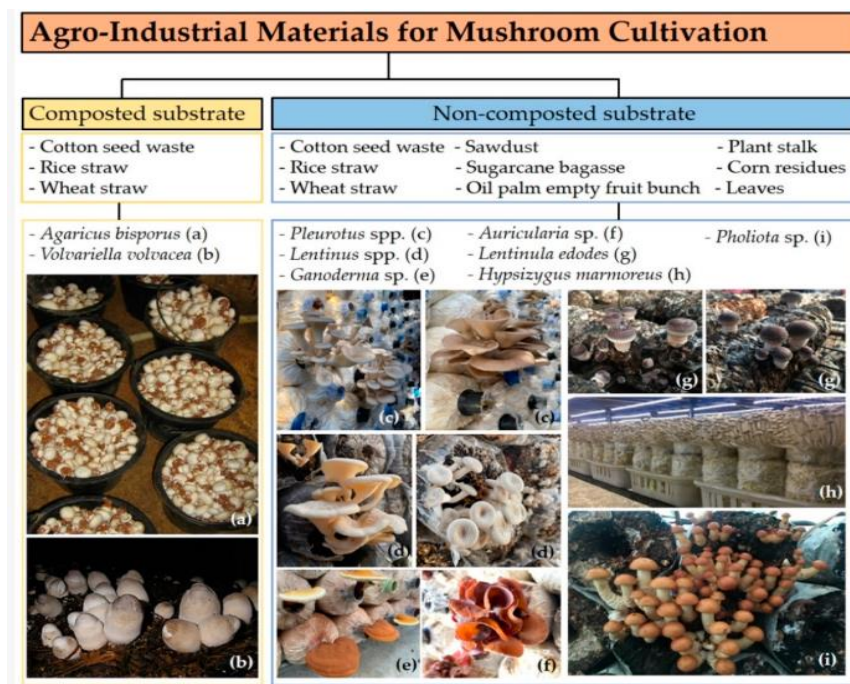


Εικόνα 9: Αγροτοβιομηχανικά απόβλητα τροφίμων ως πρώτη ύλη για την παραγωγή διαφορετικών βιοπροϊόντων (Bilal et al., 2019).

1.8.1 Αξιοποίηση αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων για την ανάπτυξη μυκηλιακής βιομάζας

Η αξιοποίηση αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων για την παραγωγή μυκηλίου μέσω της ελεγχόμενης καλλιέργειας αποτελεί ένα ανερχόμενο πεδίο έρευνας δεδομένων των πολλαπλών πλεονεκτημάτων. Πολλά βρώσιμα στελέχη μανιταριών μπορούν να καλλιεργηθούν σε συνθήκες υγρής και στερεής ζύμωσης, παράγοντας υψηλή περιεκτικότητα σε βιομάζα και μια ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων όπως αναφέρθηκε παραπάνω, με ασφαλή τρόπο για χρήση τους στη βιομηχανία τροφίμων (Bakratsas et al., 2021).

Μερικές προηγούμενες μελέτες της βιβλιογραφίας έχουν αναφερθεί στην καλλιέργεια μυκήτων για την παραγωγή μυκηλιακής βιομάζας χρησιμοποιώντας διάφορους τύπους αποβλήτων. Αυτά περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, υπολείμματα φρούτων, απόβλητα της τυροκομίας, άχυρο σίτου και απόβλητα σπόρων βαμβακιού. Παρακάτω παρουσιάζονται μερικά εν δυνάμει υποστρώματα από αγροτοβιομηχανικά απόβλητα.



Εικόνα 10: Ενδεικτικά υποστρώματα αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καλλιέργεια μανιταριών (Suwannarach et al., 2022).

Ειδικότερα, μια αξιοσημείωτη μελέτη που διεξήχθη από τους Kapri et al., (2020) επικεντρώθηκε στην ανάπτυξη της μυκηλιακής βιομάζας από το στέλεχος *Calocybe indica* υπό συνθήκες υγρής ζύμωσης, χρησιμοποιώντας φλούδες μπανάνας ως υπόστρωμα. Σε διάστημα 10 ημερών, τα αποτελέσματα έδειξαν 5,3 g/L ξηρού μυκηλιακού βάρους, συνοδευόμενο από ένα συνολικό προϊόν ζύμωσης 13,73 g/L. Αυτή η μέθοδος καλλιέργειας οδήγησε επίσης σε σημαντική βελτίωση των διατροφικών χαρακτηριστικών του χρησιμοποιούμενου αποβλήτου. Επιπλέον, οι Ferrero et al., (2024) διεξήγαγαν έρευνα που αφορούσε στην καλλιέργεια πέντε ειδών φαρμακευτικών μανιταριών σε διάφορα αγροτοβιομηχανικά υποπροϊόντα. Μεταξύ των διαφορετικών πειραματικών γραμμών, η υψηλότερη παραγωγή βιομάζας και περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (51%) επιτεύχθηκε στο *Pleurotus eryngii* που αναπτύχθηκε σε *Hermetia illucens* (HiE) και *Tenebrio molitor* (TmE) exuviae, υποπροϊόντα που προέρχονται από την εκτροφή μαύρης μύγας.

Μια ακόμη έρευνα, των Pilafidis et al., (2024), έδειξε ότι η καλλιέργεια του *Pleurotus ostreatus* σε εκχύλισμα υπολειμμάτων από σιτηρά ζυθοποιίας παρουσίασε εξίσου θετικό αντίκτυπο στην περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, φτάνοντας στο 26.5%. Επιπλέον, διερευνήθηκε η ανάπτυξη του μακρομύκητα *Schizophyllum commune* στο ίδιο

θρεπτικό υπόστρωμα, με τα αποτελέσματα να δείχνουν ότι είναι ο πιο αποτελεσματικός μακρομύκητας όσον αφορά τη σύνθεση βιομάζας, με μέγιστη τιμή 27.6 g/L. Τέλος, το μυκήλιο του *Ganoderma lingzhi* ξεχώρισε για την υψηλότερη συνολική περιεκτικότητα σε γλυκάνες, η οποία ανήλθε στο 70,8%, εκ των οποίων το 57,2% αντιστοιχούσε σε β-γλυκάνες και το 13,6% σε α-γλυκάνες.

Πολλές είναι οι έρευνες που έχουν εστιάσει και στην καλλιέργεια μυκήτων σε αγροτοβιομηχανικά απόβλητα για την παραγωγή ενζύμων. Πρόσφατη μελέτη των Ibarra-Islas et al., (2023), αξιολόγησε την ανάπτυξη τριών στελεχών χρησιμοποιώντας ως θρεπτικό υπόστρωμα κελύφη ξηρών καρπών και πευκοβελόνες σε συνδυασμό με άχυρο κριθαριού σε ζύμωση στερεάς κατάστασης (SSF) προς την παραγωγή λιγνολυτικών ενζύμων. Ουσιαστικά τα δύο υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το άχυρο κριθαριού-κελύφη ξηρών καρπών (BS_NS) και το άχυρο κριθαριού-πευκοβελόνες (BS_PN) ανά στέλεχος (*G. lucidum*, *Pleurotus ostreatus* και *L. edodes*). Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα στελέχη μπορούν να αναπτυχθούν σωστά στο μέσο. Μάλιστα, το *G. Lucidum* απέδωσε την υψηλότερη παραγωγικότητα κυτταρινάσης ($3,03 \pm 0,34$ IU/gdm·d) και ξυλανάσης χρησιμοποιώντας BS_NS ως μέσο ανάπτυξης.

Εξίσου περιορισμένες είναι οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί για την αξιολόγηση των αποβλήτων από επεξεργασία πορτοκαλιών και του τυρόγαλου ως θρεπτικών υποστρωμάτων. Για παράδειγμα σε μια έρευνα των Sepúlveda et al., (2020) εξετάστηκε η ανάπτυξη της μυκηλιακής βιομάζας του στελέχους *Aspergillus fumigatus* σε φλούδες πορτοκαλιού. Οι συγγραφείς αξιολόγησαν ότι τα απόβλητα φλούδας πορτοκαλιού είχαν υψηλή συγκέντρωση πολυφαινόλων. Μάλιστα, κατά τη διαδικασία της υγρής ζύμωσης, βρέθηκε ότι 54 ώρες ήταν ο χρόνος για τη λήψη της μέγιστης συγκέντρωσης ολικών πολυφαινόλων, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ισχυρά αντιοξειδωτικά, αντιβακτηριακά κ.α. Παράλληλα, σε μια ακόμη μελέτη των Kachrimanidou et al., (2023), αξιολογήθηκε η παραγωγή ενδο- και εξω- πολυσακχαριτών από το στέλεχος *G. lucidum* σε υπόστρωμα ορού γάλακτος υπό συνθήκες υγρής κατάστασης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η παραγωγή βιομάζας ενισχύθηκε σε σύγκριση με τα συνθετικά μέσα, τα οποία έχουν ως βάση τη λακτόζη, με αποτέλεσμα 7,01 και 7,52 g/L για στατικές συνθήκες και συνθήκες ανάδευσης, αντίστοιχα, υποδεικνύοντας ότι η προσθήκη οργανικού αζώτου προσέφερε θετικό αντίκτυπο στη διαδικασία της ζύμωσης. Επιπλέον, αποδείχθηκε ότι η προσθήκη του Tween βελτίωσε την αντιοξειδωτική δράση των ακατέργαστων ενδοπολυσακχαριτών, οι οποίοι εκχυλίστηκαν και αναλύθηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση και την

περιεκτικότητα σε πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες. Τέλος, οι αναδεδυόμενες συνθήκες έδειξαν υψηλότερη παραγωγικότητα για τους εξωπολυσακχαρίτες και τους ενδοπολυσακχαρίτες, αντίστοιχα.

Συμπερασματικά, πολλά αγροτοβιομηχανικά απόβλητα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θρεπτικό υπόστρωμα σε ελεγχόμενη ζύμωση για την ανάπτυξη μανιταριών και μυκηλιακής βιομάζας. Ωστόσο, στις επόμενες ενότητες, θα εξεταστεί λεπτομερώς η αξιοποίηση του ορού γάλακτος και των αποβλήτων επεξεργασίας πορτοκαλιού, αναλύοντας τις δυνατότητες και τις εφαρμογές τους καθώς η παρούσα πτυχιακή εστιάζει σε αυτά τα απόβλητα.

1.8.2. Αξιοποίηση τυρογάλακτος για την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας

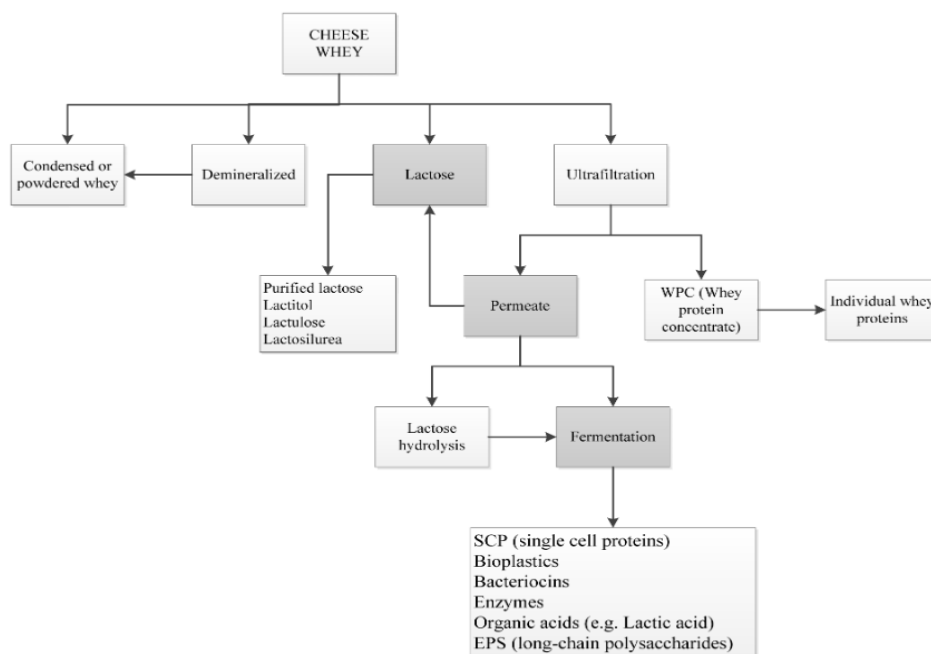
Το τυρόγαλα ή ο ορός γάλακτος (whey) είναι το θολό κίτρινο υγρό που προκύπτει μετά τη χρήση πυτιάς για την παραγωγή τυριού ή καζεΐνης. Ιδιαίτερα σημαντικό είναι ότι περιέχει πολύτιμα θρεπτικά και λειτουργικά συστατικά, τα οποία είναι χρήσιμα στη βιομηχανία τροφίμων.

Το τυρόγαλα προκύπτει από γάλα οποιασδήποτε προέλευσης, με το αγελαδινό να είναι η προτιμώμενη επιλογή στις δυτικές χώρες. Ωστόσο, σε διάφορα μέρη του κόσμου, χρησιμοποιείται επίσης πρόβειο, κατσικίσιο καθώς και γάλα καμήλας (Smithers, 2008). Αξίζει να σημειωθεί ότι περίπου το 70% του γάλακτος που χρησιμοποιείται για την παραγωγή τυριού επεξεργάζεται για την παραγωγή διαφορετικών προϊόντων, ενώ το υπόλοιπο 30% χρησιμεύει ως συστατικό της ζωοτροφής χοίρων, ως λίπασμα ή απορρίπτεται σε υδάτινες οδούς (Božanić et al., 2023). Γενικά, αποτελείται από νερό (90%), πρωτεΐνες, λακτόζη, διαλυμένα άλατα, γαλακτικό οξύ, λιπίδια και βιταμίνες του συμπλέγματος Β. Επιπλέον περιέχει ορισμένα δευτερεύοντα συστατικά όπως, κιτρικό οξύ, ουρία και ουρικό οξύ (Hammam et al., 2017). Το τυρόγαλα είναι λοιπόν, ένα πολύτιμο υποπροϊόν με υψηλή ζήτηση. Αυτό οφείλεται κυρίως στην παρουσία λακτόζης, μεταλλικών αλάτων και πρωτεϊνών, τα οποία παρουσιάζουν εξαιρετική διατροφική αξία.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, είναι ιδιαίτερα πλούσιο σε λακτόζη αλλά και σε συστατικά που είναι δύσκολο να αποικοδομηθούν, γεγονός που το καθιστά παραπροϊόν με υψηλό οργανικό φορτίο (Biological Oxygen Demand, BOD) και υψηλή ζήτηση χημικού οξυγόνου για αποικοδόμηση (Chemical Oxygen Demand, COD) με τις τιμές BOD και

COD να κυμαίνονται περίπου 27-60 g O₂/L και 50-120 g O₂/L, αντίστοιχα και ακόμη μεγαλύτερες τιμές να σημειώνονται για τον όξινο ορό γάλακτος (Yadav et al., 2015). Αυτό σημαίνει, ότι η απόρριψή του σε λιμνάζοντα ύδατα είναι απαγορευτική καθώς οδηγεί σε θάνατο τα έμβια όντα εξαιτίας της ανεπάρκειας οξυγόνου που δημιουργείται (Lappa et al., 2019). Αναλυτικότερα, η παρασκευή 1 Kg τυριού έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή περίπου 9 λίτρων ορού γάλακτος. Σε παγκόσμιο επίπεδο, η εκτιμώμενη ετήσια ποσότητα τυρογάλακτος ανέρχεται σε 180-190 εκατομμύρια τόνους, εκ των οποίων μόνο το μισό αξιοποιείται για τη διατροφή ανθρώπων και ζώων (Çelik, 2020). Ωστόσο, εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης, προκύπτουν 40 εκατομμύρια τόνοι τυρογάλακτος κάθε χρόνο, αξιοποιούνται οι 27 εκατομμύρια από αυτούς με αποτέλεσμα, οι υπόλοιποι 13 εκατομμύρια τόνοι που περιέχουν 619.250 τόνους λακτόζης να απορρίπτονται. Επιπλέον μέχρι το 2029, η παγκόσμια εβδομαδιαία παραγωγή τυριού εκτιμάται να ξεπεράσει τους 26.800.000 τόνους, με προβλεπόμενο ρυθμό ανάπτυξης 14%, οδηγώντας σε αύξηση του όγκου ορού γάλακτος. Γι' αυτό κρίνεται αναγκαία η αξιοποίησή του καθώς προκαλεί σημαντική ρύπανση όταν απορρίπτεται στο περιβάλλον (Mollea et al., 2013a, Koller et al., 2005, Kim et al., 2022).

Ωστόσο, πέρα από την αντιμετώπιση των περιβαλλοντικών ανησυχιών, στόχο αποτελεί η αξιοποίηση των βιοδραστικών ενώσεων που βρίσκονται στο τυρόγαλο χρησιμοποιώντας βιοτεχνολογικές προσεγγίσεις για τη δημιουργία προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας. Ακολουθούν μερικές περιπτώσεις επεξεργασίας του ορού γάλακτος με τη χρήση βιοτεχνολογικών τεχνικών.



Εικόνα 11: Προϊόντα που προέρχονται από τον ορό γάλακτος (Mollea et al., 2013)

1.8.2.1. Μονοκυτταρική πρωτεΐνη (Single Cell Protein, SCP)

Η μονοκυτταρική πρωτεΐνη (Single Cell Protein, SCP), είναι εξίσου γνωστή και ως μικροβιακή πρωτεΐνη ή βιοπρωτεΐνη. Είναι ένας τύπος πρωτεΐνης που παράγεται από κύτταρα εδωδιμων μονοκύτταρων μικροοργανισμών όπως φύκια, βακτήρια, ζύμες ή μύκητες που μπορούν να αναπτυχθούν σε καλλιέργειες μεγάλης κλίμακας, σε διάφορες πηγές άνθρακα, προερχόμενες κυρίως από γεωργικά και βιομηχανικά παραπροϊόντα. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτική πηγή πρωτεΐνης στη διατροφή του ανθρώπου καθώς αποτελεί σημαντική πρόκληση για τη βιομηχανία τροφίμων η αντικατάσταση των ζωικών πρωτεϊνών (Diaz-Bustamante et al., 2023).

Η χρήση του ορού γάλακτος ως μέσο για την παραγωγή μονοκυτταρικής πρωτεΐνης έχει τη δυνατότητα να μειώσει τις ρυπογόνες ιδιότητες του ορού γάλακτος ενώ ταυτόχρονα οδηγεί στην παραγωγή ενός προϊόντος προστιθέμενης αξίας. Είτε στο σύνολό του είτε σε μορφή διαλύματος, ο ορός γάλακτος χρησιμεύει ως κατάλληλο υπόστρωμα για την παραγωγή SCP. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί μέσω της άμεσης κατανάλωσης λακτόζης από μικροοργανισμούς που καταναλώνουν λακτόζη ή, εναλλακτικά, μέσω της ενζυματικής ή χημικής διάσπασης της λακτόζης για μικροοργανισμούς που δεν ευδοκίμουν στο συγκεκριμένο σάκχαρο. Επιπλέον, τα είδη

Kluyveromyces και ιδιαίτερα στελέχη όπως το *K. marxianus* ή το *K. fragilis*, έχουν ερευνηθεί εκτενώς για την ικανότητά τους να παράγουν SCP από ορό γάλακτος (Yadav et al., 2016).

1.8.2.2. Βιοαιθανόλη

Η βιοαιθανόλη αναγνωρίζεται ως μια πολλά υποσχόμενη και φιλική προς το περιβάλλον επιλογή καυσίμου για το μέλλον. Η καύση της δεν απελευθερώνει επιβλαβείς εκπομπές, καθιστώντας τη αποτελεσματικό καύσιμο για την καταπολέμηση της ατμοσφαιρικής ρύπανσης και τον μετριασμό της υπερθέρμανσης του πλανήτη. Μεταξύ των διαφόρων απορριμμάτων, ο ορός γάλακτος έχει αναδειχθεί ως κατάλληλη πηγή για την παραγωγή βιοαιθανόλης λόγω του υψηλού οργανικού φορτίου. Ωστόσο, η απευθείας ζύμωση του ορού γάλακτος ή του διηθήματός του σε αιθανόλη δεν είναι οικονομικά βιώσιμη λόγω της χαμηλής περιεκτικότητάς του σε λακτόζη, με αποτέλεσμα χαμηλή συγκέντρωση αιθανόλης (2-3% v/v) που καθιστά τη διαδικασία απόσταξης δαπανηρή. Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό στην έναρξη της ζύμωσης η συγκέντρωση λακτόζης να είναι υψηλή, η οποία μπορεί να επιτευχθεί με τη συμπύκνωση του ορού γάλακτος μέσω διεργασιών όπως η υπερδιήθηση και η αντίστροφη όσμωση. Αυτό εξασφαλίζει υψηλή συγκέντρωση αιθανόλης στο τέλος της ζύμωσης, βελτιστοποιώντας τη συνολική απόδοση (Das et al., 2016).

Σύμφωνα με τους Gabardo et al., (2014) παρατηρήθηκε αυξημένη παραγωγικότητα και συγκεντρώσεις αιθανόλης, όταν τα κύτταρα του *K. marxianus* ακινητοποιήθηκαν σε αλγινικό ασβέστιο αξιοποιώντας δύο βιοαντιδραστήρες συνεχούς ρευστοποιημένης κλίνης (fluidized bed bioreactor) που λειτουργούσαν διαδοχικά, αποδίδοντας $6,97 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ και $70,4 \text{ g L}^{-1}$, αντίστοιχα. Σε ακόλουθη έρευνα οι Sampaio et al., (2019) μελέτησαν την ικανότητα του *K. lactis* να αξιοποιεί της λακτόζη του ορού γάλακτος και να παράγει αιθανόλη σε αναδεδυόμενες και σε στατικές συνθήκες καλλιέργειας. Στην πρώτη περίπτωση, στο διήθημα ορού γάλακτος τυριού ως έχει, παρατηρήθηκε η υψηλότερη συγκέντρωση αιθανόλης ($15,0 \text{ g /L}$) και η παραγωγικότητα ήταν $0,31 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, που αντιστοιχεί σε 87,4% αποτελεσματικότητα ζύμωσης. Ωστόσο στη στατική ζύμωση χρησιμοποιήθηκε διπλά συμπυκνωμένο διήθημα ορού γάλακτος και παρά τη μείωση της αποτελεσματικότητας, η παραγωγή αιθανόλης αυξήθηκε κατά 48%. Συμπερασματικά, η παραγωγή βιοαιθανόλης είναι ένα από τα βασικά βήματα για την επίλυση του προβλήματος των αυξανόμενων απαιτήσεων για καινοτόμες και εναλλακτικές πηγές καυσίμων.

1.8.2.3. Προβιοτικά

Τα προβιοτικά, όπως ορίζονται από τον FAO/WHO (2001), είναι ζώντες μικροοργανισμοί και όταν καταναλώνονται σε επαρκείς ποσότητες, παρέχουν οφέλη για την υγεία του ξενιστή. Ωστόσο, για να αποκτηθούν τα διάφορα οφέλη είναι απαραίτητη η κατανάλωση περίπου 100 g/ημέρα προβιοτικών προϊόντων ώστε να εξασφαλιστεί η μεταφορά 10^9 βιώσιμων προβιοτικών κυττάρων στο έντερο. Η ζήτηση για προβιοτικά προϊόντα στην σημερινή εποχή ολοένα και αυξάνεται. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, πολλές μελέτες να χρησιμοποιούν τον ορό γάλακτος ως θρεπτικό μέσο και ως θερμοπροστατευτικό. Αυτή η διπλή λειτουργία είναι ευεργετική για την καλλιέργεια και την παραγωγή ξηρών προβιοτικών στελεχών, ιδιαίτερα εκείνων που ανήκουν στο γένος *Lactobacillus*, χρησιμοποιώντας τεχνικές ξήρανσης με ψεκασμό (Hotel et al., 2001, Karimi et al., 2011, Huang et al., 2017).

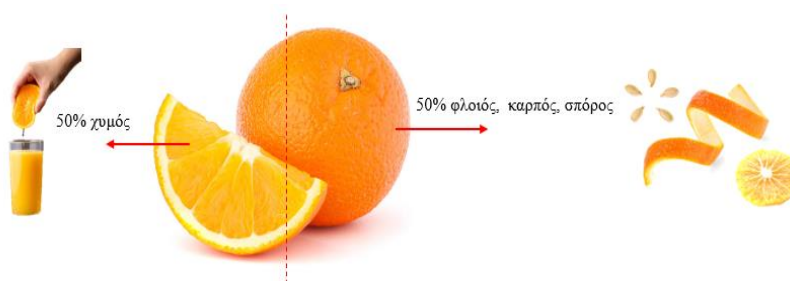
Η ξήρανση με ψεκασμό χρησιμοποιείται στη γαλακτοκομική και τη φαρμακευτική βιομηχανία, προσφέροντας μια οικονομικά αποδοτική εναλλακτική λύση της λυοφιλίωσης. Η ικανότητα του ψεκασμού να παράγει μεγάλες ποσότητες αποξηραμένων προβιοτικών σε μεγάλη κλίμακα το καθιστά ιδανική τεχνική. Εντούτοις, η χρήση του ορού γάλακτος ως πρώτη ύλη όχι μόνο ενισχύει την οικονομική αποδοτικότητα της διαδικασίας αλλά διασφαλίζει επίσης τη μακροπρόθεσμη επιβίωση των στελεχών (Huang et al., 2016, Hugo et al., 2016, Lavari et al., 2014).

1.8.3. Αξιοποίηση αποβλήτων επεξεργασίας πορτοκαλιού για την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας

Το πορτοκάλι είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο εσπεριδοειδές, το οποίο καταναλώνεται παγκοσμίως νωπό ως φρούτο ή χρησιμοποιείται στην παραγωγή χυμών. Ο καρπός και τα υπολείμματά του διαθέτουν πληθώρα ενεργών ενώσεων και έχουν σημαντική αξία λόγω της σύνθεσής τους σε λιμονοειδή, σάκχαρα (πολυσακχαρίτες), πολυφαινόλες (φλαβονοειδή), λιπαρά οξέα, καροτενοειδή, βιταμίνες και οργανικά οξέα. Μεταξύ των διαλυτών σακχάρων που μπορούν να βρεθούν στη φλούδα ενός πορτοκαλιού είναι η σακχαρόζη, η γλυκόζη και η φρουκτόζη. Επιπλέον, οι αδιάλυτοι πολυσακχαρίτες στο κυτταρικό τοίχωμα του φλοιού πορτοκαλιού περιλαμβάνουν ημικυτταρίνη, κυτταρίνη και πηκτίνη. Η ίδια η πηκτίνη είναι άφθονη σε γαλακτόζη, ραμνόζη, αραβινόζη

και γαλακτουρονικό οξύ, ενώ οι ημικυτταρίνες είναι πλούσιες σε γλυκόζη (Sharma et al., 2017, de Souza et al., 2018, Pasarin et al., 2023).

Το πορτοκάλι είναι προϊόν μεγάλης σημασίας στην παγκόσμια γεωργία. Ως το κυριότερο εσπεριδοειδές, συγκαταλέγεται ανάμεσα στα πέντε πιο δημοφιλή προϊόντα στην παγκόσμια αγορά φρούτων. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) αναφέρει ότι η παγκόσμια παραγωγή πορτοκαλιού ανήλθε σε περίπου 76 εκατομμύρια τόνους το 2022. Η Βραζιλία, οι Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, η Ινδία, η Κίνα και το Μεξικό είναι οι μεγαλύτεροι παραγωγοί πορτοκαλιών, με τη Βραζιλία να είναι υπεύθυνη για το 53% περίπου της παγκόσμιας παραγωγής χυμού πορτοκαλιού και το 80% του διεθνούς εμπορίου της (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>). Ωστόσο, περίπου το 50% των συγκομισμένων πορτοκαλιών χρησιμοποιείται για βιομηχανικούς σκοπούς, με το μισό από αυτό να εξάγεται ως χυμός και το υπόλοιπο να καταλήγει ως απόβλητο (Εικόνα 12). Ειδικότερα, τα απόβλητα αυτά περιλαμβάνουν σπόρους, τη φλούδα και τον υπόλοιπο πολτό, με τη φλούδα των εσπεριδοειδών να είναι το κύριο συστατικό, που αντιπροσωπεύει περίπου το 40-50% της μάζας των καρπών (Mamma et al., 2008, Singh et al., 2020).



Εικόνα 12: Κατανομή του Πορτοκαλιού σε Χυμό και Απόβλητα

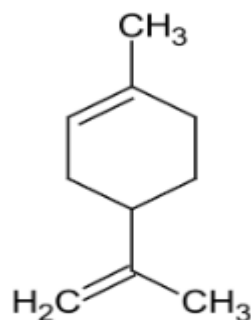
1.9.3.1. Βιομηχανικά ένζυμα

Οι μικροβιακές κοινότητες που ευδοκιμούν σε φλούδες πορτοκαλιού είναι ικανές να παράγουν πηκτικά ένζυμα λόγω της σημαντικής παρουσίας πηκτίνης. Αυτά τα ένζυμα πήξης έχουν διάφορες εφαρμογές στη βιομηχανία χυμών φρούτων, βοηθώντας στην εξαγωγή και διαύγαση των χυμών. Σε εργαστηριακά πειράματα που χρησιμοποιούν απόβλητα επεξεργασίας πορτοκαλιού ως υπόστρωμα, έχει αποδειχθεί ότι η παραγωγή

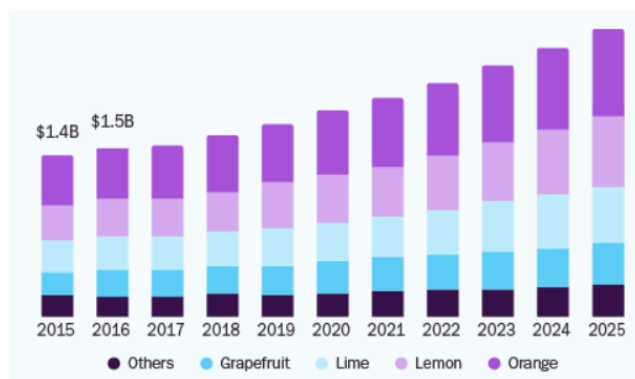
πηκτικών ενζύμων από το *Aspergillus foetidus* είναι εφικτή σε μικρή κλίμακα. Είναι ενδιαφέρον ότι η απόδοση των πηκτινολυτικών που ελήφθησαν από αυτή τη διαδικασία ήταν 25% υψηλότερη από αυτή που επιτεύχθηκε χρησιμοποιώντας τον πυρήνα μήλου ως υπόστρωμα υπό ίδιες συνθήκες καλλιέργειας και με το ίδιο στέλεχος μύκητα. Επιπλέον, διερευνήθηκε η δυνατότητα παραγωγής πολυενζυμικών παρασκευασμάτων, που περιέχουν πηκτινολυτικά, κυτταρινολυτικά και ξυλανολυτικά ένζυμα, μέσω ζύμωσης σε στερεά κατάσταση ξηρού φλοιού πορτοκαλιού από μεσόφιλους μύκητες όπως ο *Aspergillus niger* BTL. Η βελτιστοποίηση του αρχικού pH και των επιπέδων υγρασίας βρέθηκε να είναι πλεονεκτική για την ενίσχυση της παραγωγής ενζύμων (Ángel Siles López et al., 2010).

1.9.3.2. Αιθέρια έλαια

Η φλούδα πορτοκαλιού χρησιμοποιείται επίσης για την εξαγωγή αιθέριων ελαίων. Γνωστό είναι το λιμονένιο, μια υγρή οργανική ένωση που ανήκει στην ομάδα των κυκλικών μονοτερπενίων αποτελώντας κύριο συστατικό των αιθέριων ελαίων. Ειδικότερα, το D-λιμονένιο (Εικόνα 13) είναι υπεύθυνο για το ξεχωριστό άρωμα που προσδίδει στις φλούδες πορτοκαλιού και βρίσκει εφαρμογή σε διάφορες βιομηχανίες όπως τρόφιμα, φαρμακευτικά προϊόντα, καλλυντικά, καθώς και προϊόντα καθαρισμού αλλά και αρώματα. Συγκεκριμένα, διαθέτει αντιβακτηριδιακές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες που το καθιστούν ιδιαίτερα αξιόλογο στον φαρμακευτικό τομέα. Επιπλέον, η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ έχει θεωρήσει το λιμονένιο ως ασφαλές συστατικό, ενώ η Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος αναγνωρίζει την αποτελεσματικότητά του ως φυσικό φυτοφάρμακο και εντομοκτόνο (Gavahian et al., 2019).



Εικόνα 13: Χημική δομή D-Λιμονένιου (Klimek-Szczykutowicz et al., 2020).



Εικόνα 14: Η ανάπτυξη της παγκόσμιας αγοράς αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών, όπως υποδεικνύεται από στοιχεία που εκτείνονται από το 2015 έως το 2025.

Διαθέσιμο στο <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/citrus-oil-market#>, ημερομηνία πρόσβασης Σεπτέμβριος 2024

1.9.3.3. Πηκτίνη

Η πηκτίνη, ένας δομικός ετεροπολυσακχαρίτης του φυτικού κυτταρικού τοιχώματος, παίζει καθοριστικό ρόλο στην παροχή ευελιξίας και μηχανικής αντοχής στα φυτά μέσω της αλληλεπίδρασής της με άλλα στοιχεία του κυτταρικού τοιχώματος. Οι πολύτιμες ιδιότητες του συστατικού αυτού, το έχουν καταστήσει ως ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο πρόσθετο στη βιομηχανία τροφίμων, το οποίο χρησιμεύει ως πηκτικός παράγοντας, γαλακτωματοποιητής και σταθεροποιητικό μέσο, ιδιαίτερα στην παραγωγή γιαουρτιών και χυμών φρούτων. Οι φλούδες πορτοκαλιού, οι οποίες είναι πλούσιες σε πηκτίνη (Εικόνα 15), χρησιμεύουν ως σημαντική πηγή για την εμπορευματοποίησή της. Έχουν αναπτυχθεί αρκετές μέθοδοι εκχύλισης για τη ανάκτηση πηκτίνης από φλούδες πορτοκαλιού, με τη χρήση οργανικών οξέων να είναι η περιβαλλοντικά προτιμότερη προσέγγιση. Μάλιστα, ένα πείραμα που διεξήχθη από τον Babar, (2021) έδειξε την επιτυχή εκχύλιση πηκτίνης σε επαρκείς ποσότητες χρησιμοποιώντας κόκκινο, μαύρο και λευκό οργανικό άργιλο, με την επίδραση του pH να αποτελεί σημαντική παράμετρο στην απόδοση της εκχυλισμένης πηκτίνης (Rosenbohm et al., 2003, Güzel et al., 2019, Kamal et al., 2021).

compound	%
soluble sugars	16.9
starch	3.75
fiber	
cellulose	9.21
hemicelluloses	10.5
lignin	0.84
pectins	42.5
ashes	3.50
fats	1.95
protein	6.50
other compounds	4.35

Εικόνα 15: Σύνθεση φλοιού πορτοκαλιού (Ποσοστό σε ξηρή βάση) (Rivas et al., 2008)

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σύμφωνα με την παραπάνω βιβλιογραφική ανασκόπηση, παρατηρείται έλλειψη έρευνας σχετικά με τη αξιοποίηση των αποβλήτων επεξεργασίας πορτοκαλιών και του τυρογάλακτος για την ανάπτυξη των μυκήτων *G. lucidum* και *T. versicolor* σε υγρές καλλιέργειες ζύμωσης προς την παραγωγή μυκηλιακής βιομάζας και πολυσακχαριτών. Τα εν λόγω στελέχη είναι ιδιαίτερα αξιοσημείωτα λόγω της ποικιλίας βιοδραστικών ενώσεων που περιέχουν, οι οποίες τους προσδίδουν σημαντικές φαρμακευτικές ιδιότητες. Κατά συνέπεια, σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να εξετάσει τη χρήση των προαναφερθέντων αποβλήτων στο πλαίσιο μιας κυκλικής οικονομίας, αξιολογώντας παράλληλα την επίδραση ορισμένων παραμέτρων, όπως η ανάδευση και η αρχική συγκέντρωση λακτόζης.

Η ανάπτυξη των μυκήτων προσδιορίστηκε μέσω της μέτρησης του συνολικού ξηρού βάρους (βιομάζα) και της κατανάλωσης σακχάρων. Οι ζυμώσεις πραγματοποιήθηκαν τόσο σε στατικές όσο και σε αναδευόμενες συνθήκες. Παράλληλα, εξετάστηκε η παραγωγή ενδο-πολυσακχαριτών, αναφορικά με τη σύστασή τους ως προς το ποσοστό των συνολικών υδατανθράκων, πρωτεϊνών καθώς και η πιθανή αντιοξειδωτική τους ικανότητα, η οποία συνδέεται με τη βιολειτουργική τους δράση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ II

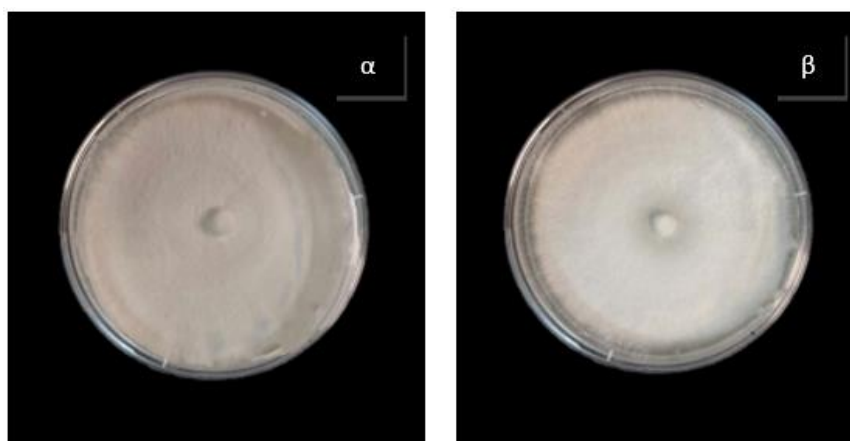
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1. Βιολογικό υλικό

Τα πειράματα που διεξήχθησαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων και Βιομηχανικών Ζυμώσεων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων. Δύο στελέχη διατροφο-φαρμακευτικών μανιταριών από την κατηγορία των Βασιδιομυκήτων ήταν το επίκεντρο των εργαστηριακών πειραμάτων, το *Ganoderma lucidum* και το *Trametes versicolor*. Τα στελέχη διατηρούνται στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων και Βιομηχανικών Ζυμώσεων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων. Η συντήρησή τους εξασφαλίζεται μέσω της παραμονής τους στη θερμοκρασία των 4 °C σε αποστειρωμένο νερό και ανανεώνονται ανά τακτά χρονικά διαστήματα σε τρυβλία Petri ώστε να διατηρείται η ζωτικότητα τους. Η ανάπτυξή τους γίνεται σε στερεό θρεπτικό υλικό potato dextrose agar (PDA) και η επώαση πραγματοποιείται σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 1 εβδομάδα.

2.2. Ανανέωση και συντήρηση στελεχών

Οι μελετώμενοι μύκητες διατηρούνται υπό μορφή εμβολίου διαμέτρου 6 mm σε φιαλίδια με αποστειρωμένο απιονισμένο νερό στους 4 °C. Κατά την έναρξη κάθε πειράματος γινόταν ανανέωση των μυκήτων σε τρυβλίο με θρεπτικό υπόστρωμα PDA, το οποίο είχε αποστειρωθεί για 20 λεπτά στους 121°C. Μετά την πάροδο συγκεκριμένων ημερών (περίπου 8-10 ημερών) και ανάλογα με το μύκητα, εμφανίστηκε η πλήρη αποίκηση του τρυβλίου (Εικόνα 16). Τέλος, κόπηκαν ασηπτικά δίσκοι διαμέτρου 6 mm και χρησιμοποιήθηκαν για τον εμβολιασμό της προκαλλιέργειας.



Εικόνα 16: Ανάπτυξη μυκηλίου σε τρυβλία με PDA. α) *G. lucidum* β) *T. versicolor*

2.3. Προετοιμασία θρεπτικού υλικού προκαλλιέργειας

Η προκαλλιέργεια προετοιμάστηκε πριν την έναρξη των ζυμώσεων με θρεπτικό υπόστρωμα για τον εμβολιασμό της κάθε κωνικής φιάλης. Έτσι, η προκαλλιέργεια παρασκευάστηκε σε κωνικές φιάλες Erlenmeyer των 500 mL, που περιείχε 150 mL θρεπτικό μέσο με βάση τη γλυκόζη. Η σύνθεση του υποστρώματος ανάπτυξης, καθώς και του μίγματος αλάτων για την ανάπτυξη των δύο μακρομύκητων, περιγράφεται λεπτομερώς στον Πίνακα 1. Το pH ρυθμίστηκε στη τιμή 6,2 και στη συνέχεια οι φιάλες αποστειρώθηκαν σε αυτόκαυστο για 20 λεπτά σε θερμοκρασία $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Αφού αποστειρώθηκε, κάθε κωνική φιάλη εμβολιάστηκε ασηπτικά με δύο δίσκους διαμέτρου 6 mm και τοποθετήθηκε σε αναδευόμενο κλίβανο στους $25,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ και 150 rpm για επώαση.

Πίνακας 2: Συγκεντρώσεις συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν για την σύνθεση της προκαλλιέργειας.

Συστατικά	Συγκέντρωση (g/L)
Γλυκόζη	10
Εκχύλισμα ζύμης	1,5
Πεπτόνη	1,5
KH_2PO_4	10
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	50
CaCl_2	2.3
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.4
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.2
$\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0.8

2.4. Θρεπτικό υλικό υγρής ζύμωσης - Προετοιμασία υποστρώματος

2.4.1. Αξιοποίηση αποβλήτων εσπεριδοειδών ως υπόστρωμα για την ανάπτυξη των μακρομυκήτων

Στην περίπτωση των αποβλήτων επεξεργασίας πορτοκαλιών, το υπόστρωμα για τη ζύμωση παρασκευάστηκε με βάση προηγούμενη μέθοδο της βιβλιογραφίας (Kantifedaki et al., 2018).

Το ξηρό πορτοκάλι χρησιμοποιήθηκε σε αναλογία 1/6, δηλαδή 100g επεξεργάστηκαν θερμικά σε 600 mL απιονισμένο νερό στους 100 °C για 1 h (Εικόνα 17). Έπειτα, το εκχύλισμα που προέκυψε οδηγήθηκε σε διήθηση υπό κενό. Το διήθημα συλλέχθηκε και φυγοκεντρήθηκε στα 5000 rpm, σε θερμοκρασία 4 °C για 15 λεπτά ώστε να διαχωριστούν τυχόν υπολειπόμενα στερεά. Μετά τη φυγοκέντρωση, παραλήφθηκε το υπερκείμενο και πραγματοποιήθηκε επανάληψη της διήθησης. Έπειτα, μεταφέρθηκε σε ένα ποτήρι ζέσεως όγκου 1000 mL και ρυθμίστηκε η τιμή του pH περίπου στο 6,2 διότι εκεί παρατηρείται η βέλτιστη ανάπτυξη των συγκεκριμένων μυκήτων. Στην περίπτωση που η προκύπτουσα τιμή είναι ανώτερη της ζητούμενης γίνεται χρήση HCl, ενώ αν είναι κατώτερη, NaOH. Στη συνέχεια, διαμοιράστηκε σε κωνικές φιάλες Erlenmeyer όγκου 100 mL. Η συνολική ποσότητα της κύριας καλλιέργειας, δηλαδή το εμβόλιο και το απόβλητο ήταν 30 ± 1 mL. Για αυτόν το λόγο, προστέθηκαν 27 mL εκχυλίσματος πορτοκαλιού, πωματίστηκαν και τοποθετήθηκαν προς αποστείρωση σε αυτόκαυστο ($121 \pm 1^\circ\text{C}$, 20 min) ώστε εν συνεχεία να εμβολιαστούν με την προκαλλιέργεια (10%, v/v) και μεταφέρθηκαν προς επώαση ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).



Εικόνα 17: Θερμική επεξεργασία φλουδών πορτοκαλιού

2.4.2. Αξιοποίηση τυρογάλακτος ως υπόστρωμα για την για την ανάπτυξη των μακρομυκήτων

Αντίστοιχα, στην περίπτωση του τυρόγαλου, το υπόστρωμα παρασκευάστηκε εφαρμόζοντας προηγούμενη μέθοδο της βιβλιογραφίας, όπως περιγράφεται στη συνέχεια (Kachrimanidou et al., 2022, MURPHY and MULVIHILL, 1988).

Το τυρόγαλα προήλθε από τοπικό τυροκομείο (Γαλιατσάτος, Κεφαλονιά), έπειτα από την παραγωγή μυζήθρας. Αρχικά εφαρμόστηκε ένα στάδιο για την απομάκρυνση των πρωτεϊνών, δηλαδή αποπρωτεΐνωση. Ειδικότερα, το υγρό απόβλητο υποβλήθηκε αρχικά σε θέρμανση στους 55-60°C, και η τιμή pH ρυθμίστηκε στο 4,7 με την προσθήκη NaOH 5 M, που αντιστοιχεί στο ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών του τυρογάλακτος. Το τυρόγαλα στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε φιάλες Duran, οι οποίες αποστειρώθηκαν σε αυτόκαυστο στους 121°C για 20 λεπτά ώστε να πραγματοποιηθεί η κατακρήμνιση των πρωτεϊνών (Εικόνα 18). Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε διήθηση με κοινό υπό κενό για βέλτιστη διάλυση. Μετά και το στάδιο της διήθησης, το τυρόγαλο (cheese whey permeate, CWP) αραιώθηκε με απιονισμένο νερό ώστε η αρχική συγκέντρωση λακτόζης να είναι ~20 g/L. Η τιμή pH ρυθμίστηκε στο 6,2 και σε κάθε κωνική φιάλη Erlenmeyer (100 mL) τοποθετήθηκαν 27 mL. Οι κωνικές πωματίστηκαν και τοποθετήθηκαν προς αποστείρωση ώστε εν συνεχεία να εμβολιάζονται με φρέσκια προκαλλιέργεια (10%, v/v).



Εικόνα 18: Ορός γάλατος πριν και μετά τη διαδικασία της αποπρωτεΐνωσης (Αλιμπούμπα, 2022)

2.5.Παραλαβή βιομάζας και ανάλυση

2.5.1. Δειγματοληψία και μέτρηση pH

Η βιομάζα ή ολικό ξηρό βάρος (Total dry weight, TDW) προσδιορίστηκε βαρυμετρικά. Αρχικά, διαχωρίστηκε η βιομάζα του εκάστοτε μύκητα από το υπερκείμενο υγρό της ζύμωσης, από κάθε κωνική φιάλη, με διήθηση υπό κενό, σε χοάνη Buhner, με χρήση φίλτρου (Whatman No 1, England). Έπειτα, το σύνολο μυκηλιακή μάζα-φίλτρο, μεταφέρθηκε σε τρυβλίο petri 90 mm (Εικόνα 18) και τοποθετήθηκε σε φούρνο ξήρανσης στους $60 \pm 1^\circ\text{C}$ έως την απόκτηση σταθερού βάρους. Το υπερκείμενο υγρό διατηρήθηκε σε θερμοκρασία $-20 \pm 1^\circ\text{C}$ έως να χρησιμοποιηθεί για περαιτέρω ανάλυση των σακχάρων (Papadaki et al., 2019). Στη διάρκεια του κάθε πειράματος οι δειγματοληψίες έγιναν σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα κατά τα οποία παραλαμβάνονταν 2 κωνικές από το κάθε είδος του μύκητα και την κάθε συνθήκη ανάπτυξης. Ως αποτέλεσμα, οι τιμές που παρουσιάζονται να αντιστοιχούν στο μέσο όρο δύο μετρήσεων.

Η τιμή pH μετρήθηκε με φορητό πεχάμετρο (Hanna Instruments) σε κάθε δειγματοληψία, αμέσως μετά την παραλαβή της μυκηλιακής βιομάζας, με εμβάπτιση του ηλεκτροδίου στο υγρό της ζύμωσης.



Εικόνα 19: Απεικόνιση παραλαβής βιομάζας (Shaker)

2.5.2. Υδατική εκχύλιση ενδοπολυσακχαριτών (IPS) από την βιομάζα

Για τη λήψη των ενδοκυτταρικών πολυσακχαριτών (IPS), χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της υδατικής εκχύλισης, βασισμένη σε προηγούμενη μέθοδο της βιβλιογραφίας (Yang et al., 2022). Η διαδικασία περιλάμβανε ζύγιση 1 g ξηρής βιομάζας με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων και προσθήκη κατάλληλου όγκου απιονισμένου νερού για να επιτευχθεί αναλογία 1:10 (w/v). Η βιομάζα στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε ανάδευση στους 100°C για μία ώρα ώστε να εξαχθούν οι ενδοπολυσακχαρίτες. Μόλις ολοκληρώθηκε η εκχύλιση, τα δείγματα διηθήθηκαν σε ένα προζυγισμένο falcon και εν συνεχεία ξηράθηκαν μέσω λυοφιλίωσης. Οι ενδοπολυσακχαρίτες προσδιορίστηκαν βαρυμετρικά ως το στερεό υπόλειμμα και εκφράστηκαν σε g/L. Επιπρόσθετα, προσδιορίστηκε η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης ενδοπολυσακχαριτών μέσω του υπολογισμού της απόδοσης.

2.6. Αναλυτικές μέθοδοι

2.6.1. Προσδιορισμός σακχάρων του υποστρώματος

Ο προσδιορισμός της αρχικής και της καταναλισκόμενης συγκέντρωσης σακχάρων κατά τη διάρκεια της ζύμωσης προσδιορίστηκε με τη χρήση Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης (High Performance Liquid Chromatography) με σύστημα HPLC, Agilent. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε στήλη ROA-organic acid H⁺ (300 μήκος x 7.8 mm εσωτερική διάμετρο, Phenomenex), η οποία είναι συνδεδεμένη με ανιχνευτή δείκτη διάθλασης (differential refractometer) και ροή 0,6 mL/min υπό συγκεκριμένη πίεση. Στην κινητή φάση προστέθηκε διάλυμα H₂SO₄ 10 mM και η θερμοκρασία φούρνου ορίστηκε στους 65°C για την ανάλυση της λακτόζης, και στους 35°C για την ανάλυση της σουκρόζης, γλυκόζης και της φρουκτόζης. Πριν την εισαγωγή των δειγμάτων στη στήλη εξασφαλίστηκε πως δεν περιέχουν ίχνη στερεών που θα δυσκολέψουν ή ενδεχομένως να εμποδίσουν τη ροή της κινητής φάσης. Επομένως, με μία πιπέτα μεταφέρθηκε συγκεκριμένος όγκος από κάθε δείγμα σε φιαλίδια Eppendorf και φυγοκεντρήθηκε στα 4.000 rpm για 8 λεπτά. Μετά την ολοκλήρωση της φυγοκέντρωσης, παραλήφθηκε το υπερκείμενο υγρό, το οποίο αραιώθηκε κατάλληλα, μικροδιήθησε με φίλτρο Whatman®, 0.2 μm πριν την ανάλυση.

2.6.2. Προσδιορισμός αζώτου των ελεύθερων αμινομάδων των αμινοξέων και πεπτιδίων και ολικών φαινολικών συστατικών

Για να προσδιοριστούν τα επίπεδα αζώτου των ελεύθερων αμινομάδων που βρίσκονται τόσο στο εκχύλισμα από τα πορτοκάλια όσο και στο τυρόγαλο, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Free Amino Nitrogen (FAN) όπως περιγράφεται σε προηγούμενη βιβλιογραφική μελέτη (Kachrimanidou et al., 2023a). Πιο συγκεκριμένα, 1 mL δείγματος αραιωμένο κατάλληλα τοποθετήθηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα. Στη συνέχεια, 0,5 mL ενός αντιδραστηρίου χρώσης (color reagent) (Πίνακας 2) προστέθηκε στους δοκιμαστικούς σωλήνες και έπειτα το σύνολο των δειγμάτων πωματίστηκε, αναδεύτηκε και τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο στους 100 °C για 16 λεπτά. Μόλις ολοκληρώθηκε η διαδικασία, τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε παγωμένο νερό όπου και παρέμειναν για 20 λεπτά. Μετά την παρέλευση του χρονικού αυτού διαστήματος, 2,5 mL αντιδραστηρίου αραιώσης (dilution reagent) (Πίνακας 2) προστέθηκαν σε κάθε δείγμα και αναδεύτηκαν για 20 δευτερόλεπτα. Η απορρόφηση κάθε δείγματος μετρήθηκε στα 570 nm σε φασματοφωτόμετρο Helios Omega UV/Vis, ThermoScientific, USA έναντι ενός μάρτυρα που περιείχε 1 mL απιονισμένου νερού στη θέση του δείγματος και τα αντίστοιχα αντιδραστήρια. Τα ληφθέντα αποτελέσματα στη συνέχεια βοήθησαν για τον προσδιορισμό της άγνωστης συγκέντρωσης των εκάστοτε δειγμάτων μέσω της πρότυπης καμπύλης διαλύματος γλυκίνης σε συγκεντρώσεις 0,5-2 mg/L.

Πίνακας 3: Ποσότητες συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν για την σύνθεση των αντιδραστηρίων για FAN.

Αντιδραστήρια	Σύσταση
Color reagent	49,71 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (ή 39,63g Na_2HPO_4)
	5 g Νινυδρίνη
	3 g φρουκτόζη
	~40 g KH_2PO_4
	(συνήθως χρειάζονται 32-34 g ώστε pH 6.6 – 6.8, διαλυμένα σε 1 L απεσταγμένου νερού)

Dilution reagent	2 g KIO ₃
	616 mL απεσταγμένο νερό
	384 mL καθαρή αιθανόλη

Για τον προσδιορισμό των συνολικών φαινολικών συστατικών (Total Phenolic Content, TPC), πραγματοποιήθηκε ανάλυση με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Η μέθοδος αυτή βασίστηκε σε μελέτη που διεξήχθη παλαιότερα (Aikaterini Papadaki et al., 2022).

2.6.3. Προσδιορισμός σακχάρων στο υγρό ζύμωσης με τη μέθοδο Dubois

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό της συνολικής συγκέντρωσης των ολικών σακχάρων σε ένα διάλυμα. Έχει παρατηρηθεί, πως τα σάκχαρα δίνουν πορτοκαλοκίτρινο χρώμα όταν έρχονται σε επαφή με τη φαινόλη και το πυκνό θειικό οξύ. Επίσης, η προκύπτουσα αντίδραση είναι αρκετά ευαίσθητη και το χρώμα σταθερό (Dubois et al., 1956).

Αναλυτικότερα, σε 1 mL δείγματος για το κάθε θρεπτικό μέσο ξεχωριστά, τυρόγαλο ή απόβλητα επεξεργασίας πορτοκαλιού, μετά από κατάλληλη αραιώση, έγινε προσθήκη 1mL διαλύματος φαινόλης 5% w/v. Το δείγμα αναδεύτηκε στη συσκευή Vortex και στη συνέχεια προστέθηκαν γρήγορα 5mL πυκνού θειικού οξέος. Πραγματοποιήθηκε ξανά ανάδευση και αφέθηκε σε ηρεμία για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας των 30 λεπτών, ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης κάθε δείγματος στα 490nm στο φασματοφωτόμετρο Helios Omega UV/Vis, ThermoScientific, USA ως προς το μάρτυρα που περιείχε 1 mL απιονισμένο νερό στη θέση του δείγματος και τα αντίστοιχα αντιδραστήρια. Τα ληφθέντα αποτελέσματα στη συνέχεια συγκρίθηκαν με μια πρότυπη καμπύλη διαλύματος γλυκόζης.

2.6.4. Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών με τη μέθοδο Lowry

Μια από τις ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές μέτρησης πρωτεϊνών σε βιολογικά δείγματα είναι η μέθοδος Lowry και πραγματοποιείται φασματομετρικά (Lowry, 1951). Σύμφωνα με βιβλιογραφικές μελέτες, οι πρωτεΐνες αλληλεπιδρούν με τα

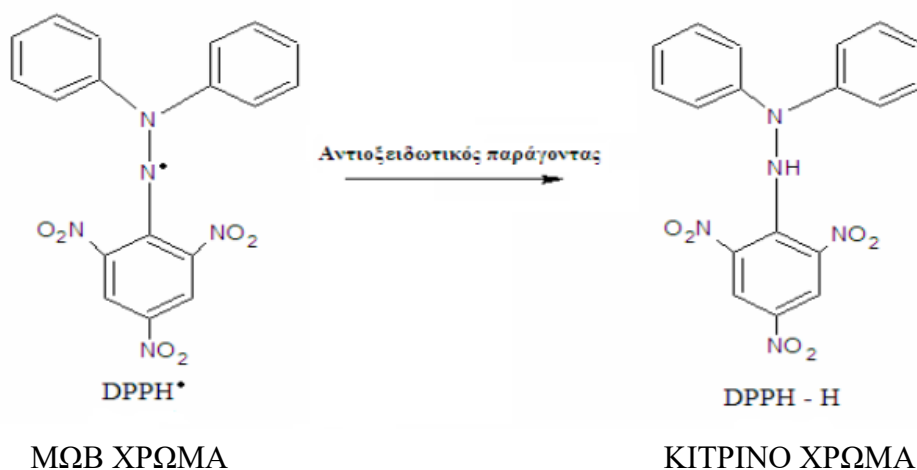
ιόντα Cu^{2+} όταν βρίσκονται σε αλκαλικό περιβάλλον. Επομένως, τοποθετήθηκε σε δοκιμαστικούς σωλήνες 1 mL κατάλληλα αραιωμένο δείγμα και 1 mL σύνθετο αντιδραστήριο (πίνακας 3) (Hartree, 1972). Έπειτα, ακολούθησε ανάδευση σε Vortex και το μίγμα αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι για 10 λεπτά. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 0,1 mL φωσφομολυβδαινικού-φωσφοβολφραμικού αντιδραστηρίου, φαινολικό αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu 1 N. Πραγματοποιήθηκε ξανά ανάδευση και αφέθηκε εξίσου στο σκοτάδι για άλλα 30 λεπτά. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην αναγωγή του συγκεκριμένου αντιδραστηρίου, καθώς αντιδρά με το σύμπλοκο πρωτεΐνη- Cu^{2+} έχοντας ως αποτέλεσμα την δημιουργία κυανού χρώματος. Μετά το πέρας των 40 min της μεθόδου, μετρήθηκε η απορρόφηση στα 540nm στο φασματοφωτόμετρο Helios Omega UV/Vis, ThermoScientific, USA έναντι προς το μάρτυρα που περιείχε 1 ml απιονισμένο νερό. Η πρότυπη καμπύλη παρασκευάστηκε χρησιμοποιώντας διάλυμα Bovine Serum Albumin (BSA) σε συγκεντρώσεις 20-100 mg/L.

Πίνακας 4: Συγκεντρώσεις συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν για την σύνθεση του αντιδραστηρίου για LOWRY.

Σύσταση σύνθετου αντιδραστηρίου
2% w/v NaCO_3 (2g NaCO_3 διαλυμένα σε 0,1 M NaOH)
1% w/v CuSO_4 (1g CuSO_4 διαλυμένα σε 1 L dH_2O)
2% w/v $\text{KNaC}_4\text{H}_2\text{O}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (2g $\text{KNaC}_4\text{H}_2\text{O}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ σε 1L dH_2O)

2.6.5. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο DPPH

Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), η οποία βασίζεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ των υπό διερεύνηση μορίων και της σταθερής ρίζας οργανικού αζώτου. Η συγκεκριμένη ρίζα εμφανίζει μια ξεχωριστή μωβ απόχρωση και απορροφά στα 517 nm. Όταν μια ουσία με αντιοξειδωτικές ιδιότητες εισάγεται στο διάλυμα, το 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH•) μειώνεται, μετατρέποντάς το σε 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη (DPPH-H), η οποία εμφανίζεται κίτρινη στο χρώμα. Κατά συνέπεια, αυτή η μείωση οδηγεί σε ελάττωση της οπτικής απορρόφησης (Villaño et al., 2007, Hidayat et al., 2018).



Εικόνα 20: Χημική δομή της ένωσης 1,1 διφαινυλ-2-πικρυλδραζύλιο ($\text{DPPH}^\bullet$) και της ανηγμένης της μορφής 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλδραζίνη (DPPH-H).

Ειδικότερα, 0,1 mL μη αραιωμένου δείγματος και 3,9 mL πρόσφατα παρασκευασμένου διαλύματος $\text{DPPH}^\bullet$ τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Τα δείγματα αναδεύτηκαν έντονα και στη συνέχεια αφέθηκαν στο σκοτάδι για διάρκεια 90 λεπτών. Στη συνέχεια, η απορρόφηση τόσο του διαλύματος $\text{DPPH}^\bullet$ όσο και των δειγμάτων μετρήθηκε στα 517 nm χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο (Helios Omega UV/Vis, ThermoScientific, ΗΠΑ) έναντι προς το μάρτυρα που περιείχε μόνο μεθανόλη. Τα ληφθέντα αποτελέσματα προέκυψαν από τη μέση απορρόφηση των δύο δειγμάτων και τη μείωση της τιμής απορρόφησης σε σχέση με το $\text{DPPH}^\bullet$.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα κάθε εξεταζόμενης ουσίας υπολογίστηκε ως το ποσοστό αναστολής (%) της δράσης της ρίζας DPPH , δηλαδή της εξουδετέρωσής της, η οποία υπολογίζεται από τον εξής τύπο:

$$\% \text{ αναστολή} = (\text{ABS}_{\text{DPPH}^\bullet} - \text{ABS}_{\text{SAMPLE}}) / \text{ABS}_{\text{DPPH}^\bullet} \times 100$$

Όπου:

$\text{ABS}_{\text{DPPH}^\bullet}$: Οπτική απορρόφηση του μάρτυρα στα 517 nm

$\text{ABS}_{\text{SAMPLE}}$: Οπτική απορρόφηση του δείγματος στα 517 nm

Τέλος, η καμπύλη βαθμονόμησης κατασκευάστηκε χρησιμοποιώντας διάλυμα Trolox και η αντιοξειδωτική ικανότητα εκφράστηκε ως ισοδύναμα μg Trolox (equivalents) ανά mg ξηρού εκχυλίσματος μυκηλιακής βιομάζας.

2.7. Υπολογισμός παραγωγικότητας βιομάζας

Η παραγωγικότητα της βιομάζας είναι ένας δείκτης για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της διαδικασίας ζύμωσης. Δείχνει το ρυθμό παραγωγής της βιομάζας μέσα σε μια δεδομένη χρονική περίοδο και εκφράζεται σε g/L/d. Ο υπολογισμός της γίνεται μέσω της παρακάτω εξίσωσης:

$$Qp = (Xt - X_0) / Tf$$

Όπου:

Qp: Παραγωγικότητα της ζύμωσης,

Xt: Συγκέντρωση της βιομάζας σε μια συγκεκριμένη στιγμή της ζύμωσης,

X₀: Αρχική συγκέντρωση της βιομάζας, και

Tf: Συνολική διάρκεια της ζύμωσης.

Αυτή η εξίσωση επιτρέπει την εκτίμηση του ρυθμού με τον οποίο αυξάνεται η βιομάζα κατά τη διάρκεια της ζύμωσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ

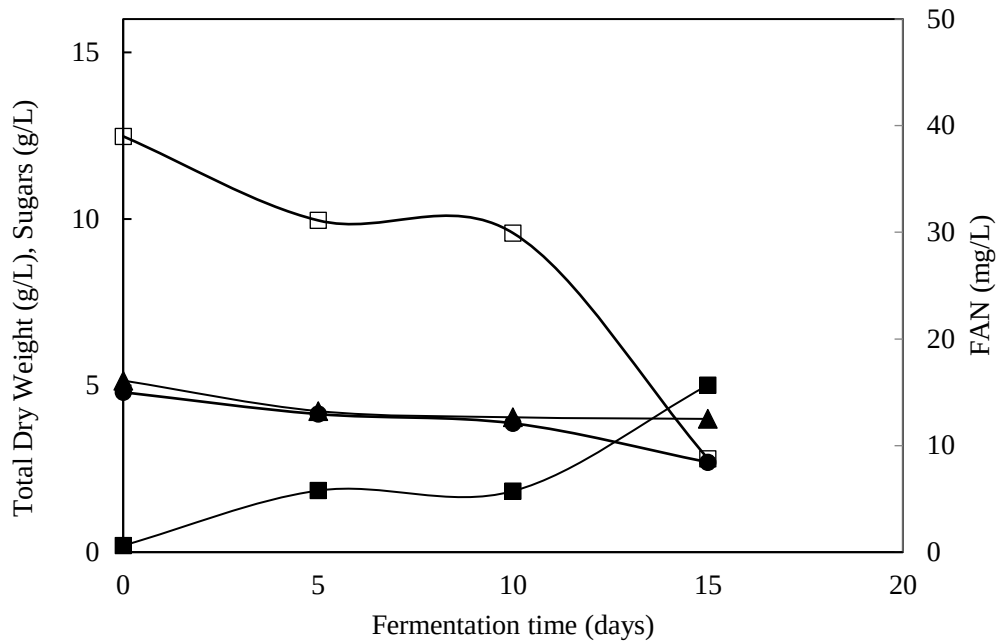
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1. Αξιολόγηση του εκχυλίσματος από τους φλοιούς πορτοκαλιού (Waste orange peels, WOP) ως υπόστρωμα υγρής καλλιέργειας

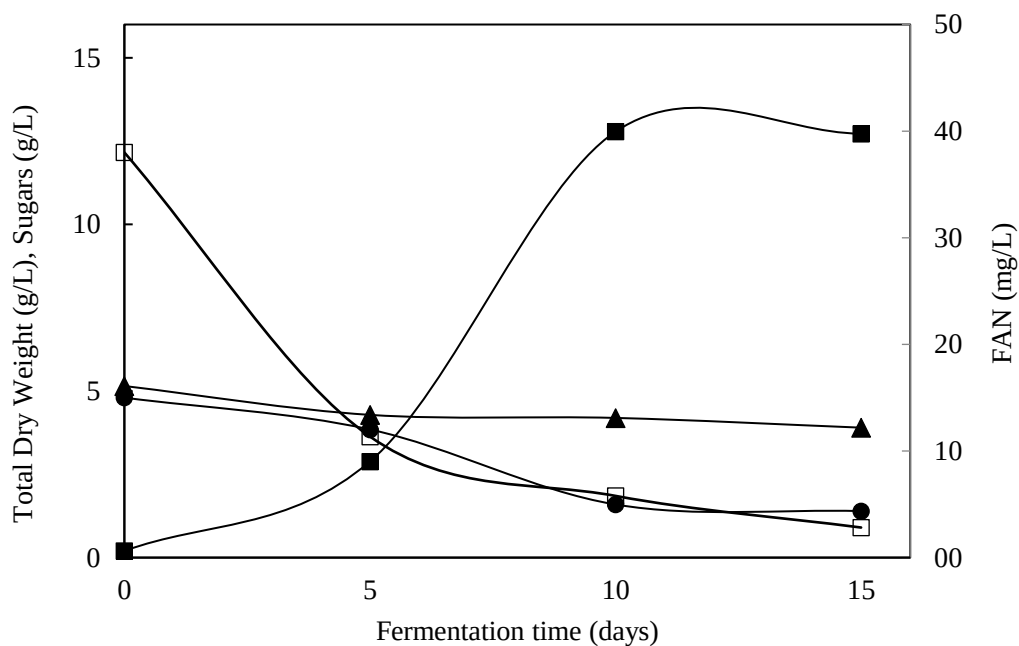
3.1.1. Ανάπτυξη του στελέχους *T.versicolor* με WOP ως θρεπτικό υπόστρωμα σε στατικές και αναδευόμενες συνθήκες

Η ανάπτυξη του *T.versicolor* αξιολογήθηκε στην αρχική φάση των πειραμάτων χρησιμοποιώντας εκχύλισμα από τους φλοιούς πορτοκαλιού. Γενικότερα, σκοπός είναι η αντικατάσταση του τυπικά χρησιμοποιούμενου συνθετικού θρεπτικού υποστρώματος με εκείνα που προέρχονται από ανανεώσιμες πηγές, προκειμένου να επιτευχθεί τελικά μείωση του κόστους διεργασίας. Τα εσπεριδοειδή έχουν επιλεγθεί και στο παρελθόν καθώς περιέχουν αξιόλογα σάκχαρα, συγκεκριμένα γλυκόζη και φρουκτόζη.

Στην τρέχουσα μελέτη, οι ζυμώσεις πραγματοποιήθηκαν τόσο σε στατικές όσο και σε αναδευόμενες συνθήκες, με τακτική παρακολούθηση βασικών παραμέτρων όπως η παραγωγή μυκηλιακής βιομάζας και η κατανάλωση σακχάρων. Τα επόμενα γραφήματα απεικονίζουν τα αποτελέσματα που σχετίζονται με την κατανάλωση σακχάρων, τα επίπεδα Free Amino Nitrogen (FAN), μαζί με την παραγωγή Ολικού Ξηρού Βάρους (TDW) υπό στατικές (Γράφημα 3.1) και αναδευόμενες (Γράφημα 3.2) συνθήκες αντίστοιχα.

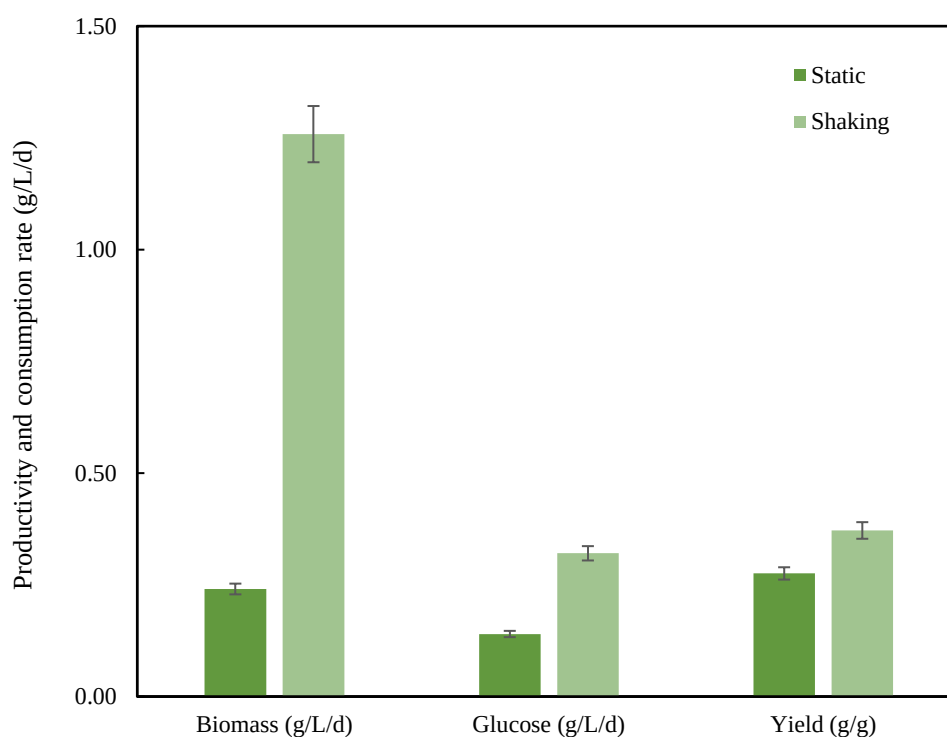


Γράφημα 3.1: Κινητική παραγωγής βιομάζας (■),κατανάλωση γλυκόζης (●) και φρουκτόζης (▲), και FAN (□) του μύκητα *T. versicolor* σε στατικές συνθήκες με εκχύλισμα από απόβλητα πορτοκαλιών ως υπόστρωμα (WOP).



Γράφημα 3.2: Κινητική παραγωγής βιομάζας (■),κατανάλωση γλυκόζης (●) και φρουκτόζης (▲) και FAN (□) του μύκητα *T. versicolor* σε αναδευόμενες συνθήκες με εκχύλισμα από απόβλητα πορτοκαλιών ως υπόστρωμα (WOP).

Στις στατικές συνθήκες, ο μύκητας παρουσίασε περιορισμένη ανάπτυξη, η οποία χαρακτηρίζεται από ελάχιστη κατανάλωση σακχάρων και μικρή αύξηση της βιομάζας ($\max=5,0$ g/L). Αυτό είναι πιθανόν αποτέλεσμα της ανεπαρκούς οξυγόνωσης στο μέσο, το οποίο είναι απαραίτητο για την προώθηση των μεταβολικών δραστηριοτήτων του μακρομύκητα. Αντίθετα, κατά την αναδεδυόμενη ζύμωση, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη κατανάλωση σακχάρων, ιδιαίτερα της γλυκόζης και της φρουκτόζης, συνοδευόμενη από αύξηση της παραγωγής βιομάζας ($\max=10,2$ g/L). Αυτό αποδεικνύεται αρχικά από το ρυθμό παραγωγής βιομάζας, ο οποίος είναι αισθητά διαφορετικός μεταξύ των δύο συνθηκών, όπως φαίνεται και στο Γράφημα 3.3, αλλά και από την παραγωγικότητα της καλλιέργειας, η οποία υπολογίστηκε σε $Q_p = 0.835$ g/L/d.



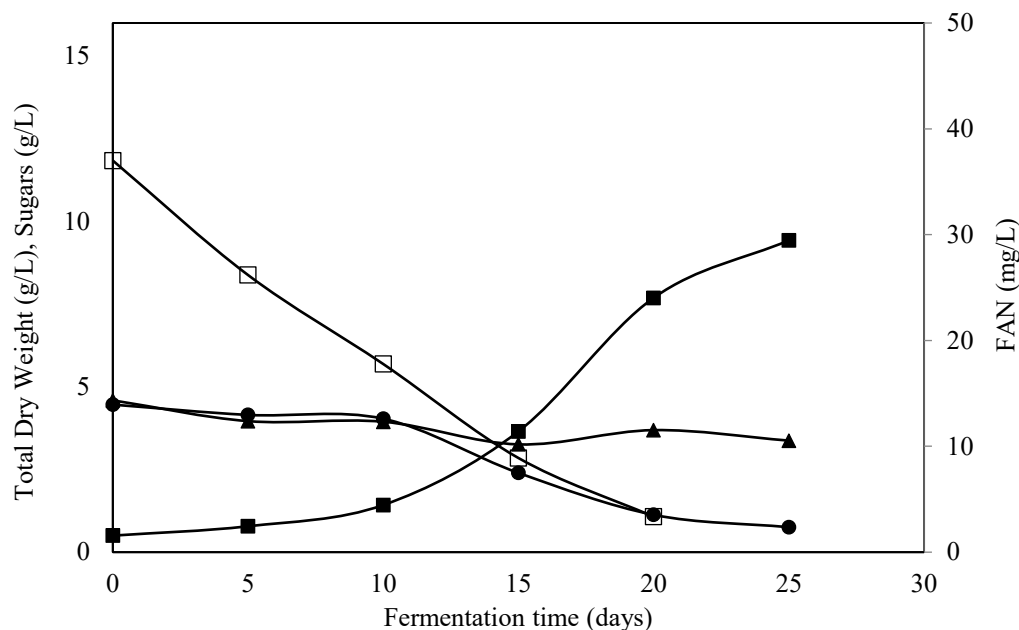
Γράφημα 3.3: Ρυθμός παραγωγής βιομάζας (productivity, g/L/d), ρυθμός κατανάλωσης γλυκόζης (consumption rate, g/L/d) και συντελεστής απόδοσης (Yield, g/g) του μύκητα *T. versicolor* σε στατικές και αναδεδυόμενες συνθήκες χρησιμοποιώντας εκχύλισμα από απόβλητα πορτοκαλιού (WOP).

Ωστόσο, το γεγονός ότι τα σάκχαρα δεν καταναλώνονται πλήρως, ακόμη και σε αναδεδυόμενες συνθήκες, υποδηλώνει ότι υπάρχει έλλειψη σε θρεπτικές ουσίες που είναι απαραίτητες για την ολοκληρωμένη ανάπτυξη και τον μεταβολισμό του μύκητα. Αυτό ίσως

οφείλεται σε χαμηλή συγκέντρωση αζώτου, κάτι που επιβεβαιώνεται από τα επίπεδα του FAN, τα οποία μειώνονται σημαντικά κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, γεγονός που ενδέχεται να σημαίνει ότι το άζωτο εξαντλείται πολύ γρήγορα. Χωρίς επαρκές άζωτο, ο μύκητας δεν μπορεί να αναπτύξει βιομάζα, ακόμα κι αν υπάρχουν διαθέσιμα σάκχαρα. Η απόδοση ήταν 0.372 g/g, γεγονός που επιβεβαιώνει ότι πιθανόν λείπουν συστατικά για την πλήρη αξιοποίηση του υποστρώματος.

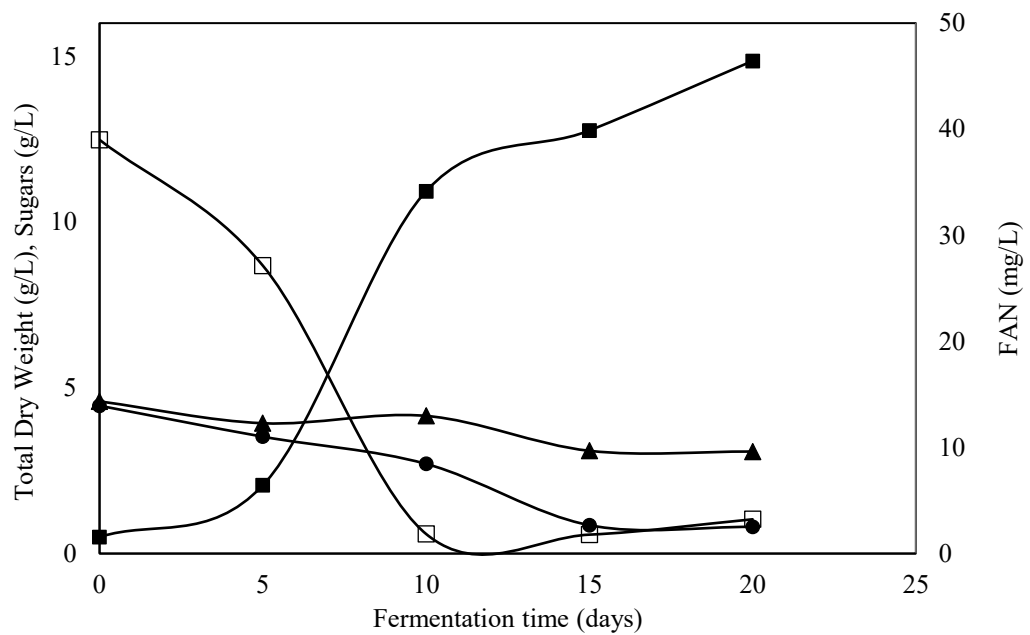
3.1.2. Ανάπτυξη του στελέχους *G. lucidum* με WOP ως θρεπτικό υπόστρωμα σε στατικές και αναδευόμενες συνθήκες.

Εν συνεχεία, μελετήθηκε το στέλεχος *G. lucidum* αναφορικά με την ανάπτυξή του χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα το εκχύλισμα από τους φλοιούς πορτοκαλιού (WOP) σε στατικές και σε αναδευόμενες συνθήκες. Τα αποτελέσματα αυτού του πειράματος παρουσιάζονται στα επόμενα γραφήματα. Ο μακρομύκητας αναπτύχθηκε επιτυχώς και σε αυτό το υπόστρωμα, με τη μέγιστη παραγωγή βιομάζας να φτάνει τα 9.4 g/L σε στατικές συνθήκες μετά από 25 ημέρες ζύμωσης. Είναι αξιοσημείωτο, ότι η τιμή της βιομάζας σε αυτή την περίπτωση σημείωσε σχεδόν διπλάσια αύξηση σε σύγκριση με το προηγούμενο στέλεχος. Το συγκεκριμένο υπόστρωμα περιείχε ίση συγκέντρωση γλυκόζης και φρουκτόζης, καθώς και ελάχιστη ποσότητα σουκρόζης. Η κατανάλωση της γλυκόζης ξεκίνησε εντός των πρώτων πέντε ημερών και φάνηκε να πραγματοποιείται πιο εύκολα συγκριτικά με το στέλεχος *T. versicolor*, ενώ η κατανάλωση της φρουκτόζης παρέμεινε σε χαμηλό ρυθμό.

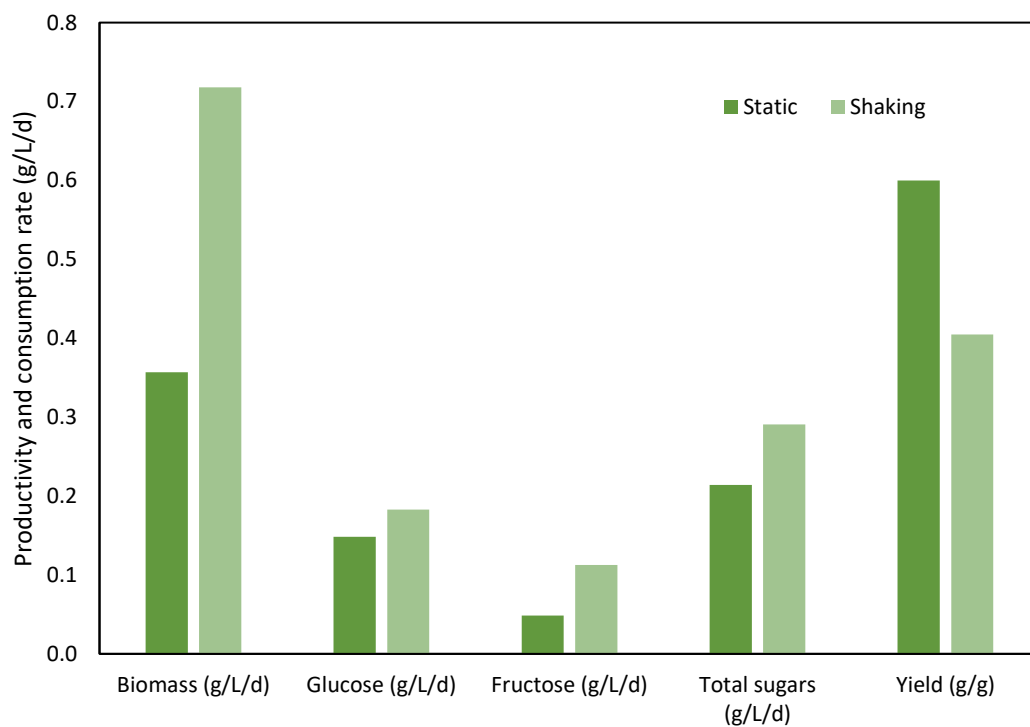


Γράφημα 3.4: Κινητική παραγωγής βιομάζας (■),κατανάλωση γλυκόζης (●) και φρουκτόζης (▲) και FAN (□) του μύκητα *G. lucidum* σε στατικές συνθήκες με εκχύλισμα από απόβλητα πορτοκαλιών ως υπόστρωμα (WOP).

Στην περίπτωση που εφαρμόστηκε ανάδευση, η μέγιστη παραγωγή βιομάζας αυξήθηκε στα 15.4 g/L, γεγονός που αποδεικνύει την θετική επίδραση της ανάδευσης, όπως φαίνεται συγκριτικά και στο Γράφημα 3.6. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται σαφής αύξηση στη συνολική κατανάλωση σακχάρων υπό αναδευόμενες συνθήκες, γεγονός που ενίσχυσε την παραγωγικότητα της καλλιέργειας. Η γλυκόζη ήταν το πρώτο σάκχαρο που καταναλώθηκε και σημειώθηκε αύξηση στο ρυθμό κατανάλωσης της φρουκτόζης. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι, αν και οι καλλιέργειες υπό ανάδευση συνεχίστηκαν για 25 ημέρες, η παραγωγή βιομάζας παρέμεινε σταθερή μετά από ένα σημείο. Παρόλο που καταναλώθηκαν επιπλέον σάκχαρα, φαίνεται πως αυτά χρησιμοποιήθηκαν κυρίως για τη συντήρηση του μύκητα και όχι για περαιτέρω ανάπτυξη.



Γράφημα 3.5: Κινητική παραγωγής βιομάζας (■),κατανάλωση γλυκόζης (●) και φρουκτόζης (▲) και FAN (□) του μύκητα *G. lucidum* σε αναδευόμενες συνθήκες με εκχύλισμα από απόβλητα πορτοκαλιών ως υπόστρωμα (WOP).



Γράφημα 3.6: Ρυθμός παραγωγής βιομάζας (productivity, g/L/d) και ρυθμός κατανάλωσης σακχάρων (consumption rate, g/L/d) του μύκητα *G. lucidum* σε στατικές (static) και αναδευόμενες (shaking) συνθήκες χρησιμοποιώντας το WOP ως υπόστρωμα.

Είναι προφανές ότι στο υπόστρωμα WOP, μεταξύ των δύο στελεχών, το *G. lucidum* απέδωσε τα βέλτιστα αποτελέσματα και ειδικότερα υπό συνθήκες ανάδευσης. Οι απόβλητες φλούδες πορτοκαλιού έχουν μελετηθεί εκτενώς στην υπάρχουσα βιβλιογραφία όσον αφορά τη βιοτεχνολογική αξιοποίηση για την παραγωγή προϊόντων προστιθέμενης αξίας. Μάλιστα, μια προηγούμενη έρευνα αξιολόγησε το εκχύλισμα WOP σε υγρές καλλιέργειες για την ανάπτυξη μυκήτων όπως το *Monascus purpureus* και το *Penicillium purpurogenum* για παραγωγή βιοχρωστικών (Kantifedaki et al., 2018). Ωστόσο, καμία μελέτη μέχρι σήμερα δεν έχει εξετάσει τη χρήση αυτού του αποβλήτου για την καλλιέργεια αυτού του στελέχους σε υγρή, αναδευόμενη καλλιέργεια, με σκοπό τη δημιουργία μυκηλιακής βιομάζας και την πιθανή εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων. Αυτά τα ευρήματα ανοίγουν μια νέα προοπτική για μελλοντική έρευνα, πέρα από το πλαίσιο της παρούσας εργασίας, με στόχο τη βελτιστοποίηση του υποστρώματος.

3.1.3. Παραγωγή και αξιολόγηση της σύνθεσης ακατέργαστων ενδοπολυσακχαριτών (IPS) από τα στελέχη *T. versicolor* και *G. lucidum* με WOP ως θρεπτικό υπόστρωμα

Οι πολυσακχαρίτες που περιέχονται στα φαρμακευτικά μανιτάρια έχουν γίνει αντικείμενο έντονου επιστημονικού ενδιαφέροντος, χάρη στις ποικίλες βιοδραστικές τους ιδιότητες, με ιδιαίτερη έμφαση την αντιοξειδωτική τους δράση (Janjušević et al., 2017). Στην συγκεκριμένη περίπτωση εκχυλίστηκε το ακατέργαστο κλάσμα IPS από τη μυκηλιακή βιομάζα του εκάστοτε στελέχους χρησιμοποιώντας υδατική εκχύλιση. Τα αποτελέσματα αναφορικά με τον χαρακτηρισμό των ακατέργαστων IPS παρουσιάζονται στον Πίνακα 5 και Πίνακα 6. Όταν εφαρμόστηκαν αναδευόμενες συνθήκες, η απόδοση IPS ήταν υψηλότερη σε σύγκριση με τις στατικές συνθήκες. Ωστόσο, στις ίδιες συνθήκες, δηλαδή στις αναδευόμενες καλλιέργειες, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες παρουσίασε χαμηλότερες τιμές. Αυτό υποδηλώνει ότι οι μακρομύκητες πιθανώς ευνοούνται από το σταθερότερο περιβάλλον χωρίς μηχανικές αναταράξεις, το οποίο μπορεί να επιτρέπει τη συνεχή και πιο στοχευμένη σύνθεση πρωτεϊνών. Παράλληλα, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στο εκχύλισμα του *T. versicolor* ήταν αισθητά πιο χαμηλή σε σύγκριση με του στελέχους *G. lucidum*. Επιπλέον, η περιεκτικότητα σε πολυσακχαρίτες για το στέλεχος *T. versicolor* εκτιμήθηκε σε εύρος 41 έως 53% για τις δύο συνθήκες καλλιέργειας ενώ για το στέλεχος *G. lucidum* 51 έως 54%. Ιδιαίτερη παρατήρηση αποτελεί, ότι στην περίπτωση του

πρώτου μύκητα αυξημένο ποσοστό πολυσακχαριτών εμφάνισαν οι συνθήκες υπό ανάδευση σε αντίθεση με τον δεύτερο μύκητα όπου υπερτέρησαν ελάχιστα οι στατικές.

Αφού πραγματοποιήθηκε η εκχύλιση, τα δείγματα ξηράθηκαν μέσω λυοφιλίωσης και επαναδιαλύθηκαν σε τελική συγκέντρωση 20 mg/mL. Η αντιοξειδωτική δράση αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Η συγκεκριμένη παράμετρος είναι σημαντική καθώς οι βιολειτουργικές ιδιότητες που ενδέχεται να περιέχουν, είναι χρήσιμες για τη Βιομηχανία Τροφίμων, γιατί μπορούν να αξιοποιηθούν στην παραγωγή λειτουργικών τροφίμων. Παρατηρήθηκε ότι τα εκχυλίσματα έδειξαν αντιοξειδωτική ικανότητα, καθώς το υδατικό εκχύλισμα του *T.versicolor* παρουσίασε όμοια αντιοξειδωτική δράση και στις 2 συνθήκες καλλιέργειας (I%=42) ενώ του *G.lucidum* η τιμή κυμάνθηκε από 42 έως 50% . Η αντιοξειδωτική δράση εκφράστηκε επίσης ως 8,64 και 10,22 μg Trolox/mg εκχυλίσματος αντίστοιχα, χρησιμοποιώντας πρότυπη καμπύλη.

Πίνακας 5: Παραγωγή ενδοπολυσακχαριτών (IPS), μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, καθώς και αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες και ολικούς υδατάνθρακες κατά τη στατική και αναδευόμενη καλλιέργεια του *T. versicolor* σε WOP.

<i>T. versicolor</i>	Extraction yield (%)	DPPH% inhibition	μg Trolox/mg extract	Protein content (%)	Polysaccharides content (%)
<i>Static</i>	29,95	42,33	8,52	2,82	41,40
<i>Shaker</i>	34,64	42,17	8,49	1,28	53,75

Πίνακας 6: Παραγωγή ενδοπολυσακχαριτών (IPS), μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, καθώς και αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες και ολικούς υδατάνθρακες κατά τη στατική και αναδευόμενη καλλιέργεια του *G.lucidum* σε WOP.

<i>G. lucidum</i>	Extraction yield %	DPPH% inhibition	μg Trolox/mg extract	Protein content (%)	Polysaccharides content (%)
<i>Static</i>	28,15	42,25	8,64	12,17	54,79
<i>Shaker</i>	36,70	50,53	10,22	6,09	51,61

Με βάση και τα αποτελέσματα, γίνεται αντιληπτό ότι το ακατέργαστο κλάσμα των ενδοπολυσακχαριτών παρουσιάζει βιοδραστικές ιδιότητες, ήτοι αντιοξειδωτική ικανότητα, υψηλό ποσοστό σε πολυσακχαρίτες και σημαντική ποσότητα πρωτεΐνης. Σε μία αντίστοιχη μελέτη, η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων IPS από τα διατροφo-φαρμακευτικά στελέχη *Phellinus* sp. και *Sepedonium* sp. μετά από ανάπτυξη σε υγρές καλλιέργειες και αγροτοβιομηχανικά απόβλητα ως θρεπτικό υπόστρωμα εκτιμήθηκε ~75% και 78% αντίστοιχα (Kachrimanidou et al., 2023a). Αντίστοιχα, το στέλεχος *T. versicolor* όταν αναπτύχθηκε σε εκχύλισμα από απόβλητα οινοποιείου, παρουσίασε αρκετά χαμηλότερο ποσοστό σε υδατάνθρακες (16-19%) σε σύγκριση με την παρούσα μελέτη (Kachrimanidou et al. 2023b). Συνεπώς, η φύση του υποστρώματος διαδραματίζει μείζονος σημασίας ρόλο όσον αφορά στις ιδιότητες του εκχυλίσματος των ενδοπολυσακχαριτών αλλά και την περαιτέρω βελτιστοποίηση της διεργασίας της ζύμωσης.

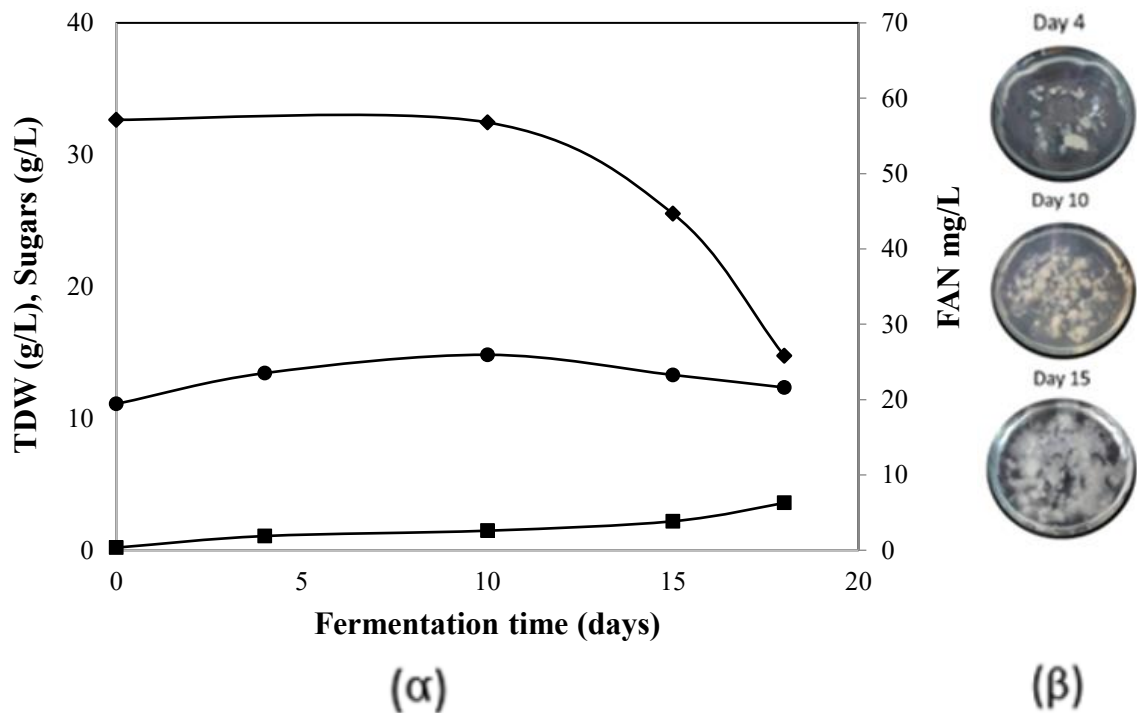
3.2. Αξιολόγηση του ορού γάλακτος (Cheese Whey, CW) ως υπόστρωμα υγρής καλλιέργειας για την ανάπτυξη του στελέχους *G. lucidum*.

Επόμενο βήμα της παρούσας εργασίας αποτέλεσε η περαιτέρω μελέτη του στελέχους *G. lucidum* χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα διήθημα πλούσιο σε λακτόζη που ελήφθη μετά από το διαχωρισμό της πρωτεΐνης του ορού γάλακτος. Ο ορός γάλακτος έχει επιλεχθεί και στο παρελθόν καθώς περιέχει σημαντική συγκέντρωση σε σάκχαρα και συγκεκριμένα λακτόζη.

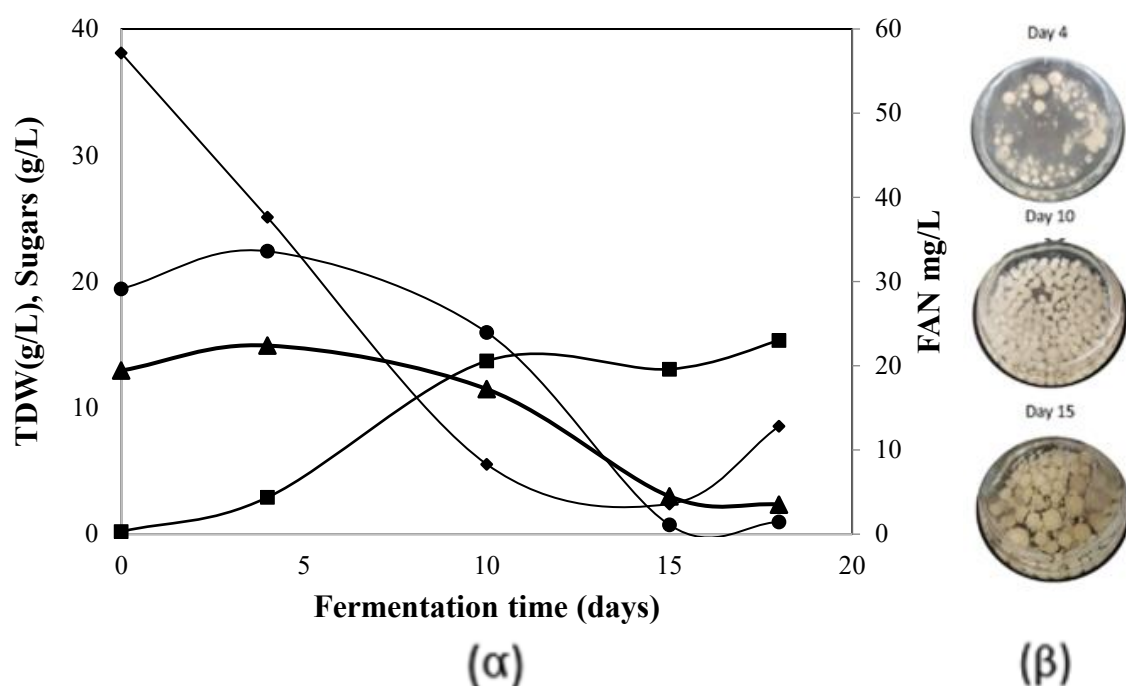
Πρότερες μελέτες της ερευνητικής ομάδας του εργαστηρίου, ασχολήθηκαν με την ανάπτυξη του συγκεκριμένου στελέχους σε CWP τόσο σε στατικές όσο και σε αναδευόμενες συνθήκες. Η αντικατάσταση του συνθετικού υποστρώματος από το τυρόγαλο είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση στην παραγωγή βιομάζας άρα και της παραγωγικότητας (3,9-4,9 g/L). Η προσθήκη οργανικού αζώτου με τη μορφή πεπτόνης και εκχυλίσματος ζύμης (yeast extract) βελτίωσε σημαντικά τη ζύμωση, καθώς επιτεύχθηκε παραγωγή βιομάζας 7,01 και 7,52 g/L σε στατικές και αναδευόμενες συνθήκες αντίστοιχα, βελτιώνοντας σημαντικά και την παραγωγικότητα (Qp) της διεργασίας.

Με στόχο την περαιτέρω βελτιστοποίηση της διεργασίας, στην παρούσα μελέτη, αξιολογήθηκε η προσθήκη 0,25% Tween 80, ως βιοδιεγέρτη με βάση προηγούμενες μελέτες της βιβλιογραφίας (Yang et al., 2021). Οι ζυμώσεις πραγματοποιήθηκαν τόσο σε στατικές όσο και σε αναδευόμενες συνθήκες, με τακτική παρακολούθηση των ίδιων

παραμέτρων με τις προηγούμενες ενότητες. Τα επόμενα γραφήματα απεικονίζουν τα αποτελέσματα που σχετίζονται με την κατανάλωση λακτόζης, τα επίπεδα Free Amino Nitrogen (FAN), μαζί με την παραγωγή Ολικού Ξηρού Βάρους (TDW) υπό στατικές (Γράφημα 3.1) και αναδευόμενες (Γράφημα 3.2) συνθήκες αντίστοιχα.



Γράφημα 3.7: (α) Κινητική παραγωγή βιομάζας (■) Κατανάλωση λακτόζης (●) και FAN (◆) κατά τη διάρκεια στατικής ζύμωσης του *G. lucidum* σε CW συμπληρωμένο με Tween 80 (β) Μακροσκοπική παρατήρηση του *G. lucidum*.



Γράφημα 3.8 (α) Κινητική παραγωγή βιομάζας (■), Κατανάλωση λακτόζης (●), συνολικών σακχάρων (▲) και FAN (◆) κατά τη διάρκεια αναδεδυόμενης ζύμωσης του *G. lucidum* σε CW συμπληρωμένο με Tween (β) Μακροσκοπική παρατήρηση του *G. lucidum*.

Είναι εμφανές ότι στις στατικές συνθήκες η λακτόζη έμεινε σχεδόν σταθερή καθ' όλη την διάρκεια της ζύμωσης. Ωστόσο, στις αναδεδυόμενες συνθήκες, η κατανάλωση της λακτόζης ξεκίνησε εντός των πρώτων πέντε ημερών και ως το τέλος της ζύμωσης είχε καταναλωθεί πλήρως. Επιπλέον, στις ίδιες συνθήκες παρατηρήθηκε κατανάλωση και άλλου σακχάρου, της γαλακτόζης, φαινόμενο που δεν καταγράφηκε στις στατικές συνθήκες. Επιπλέον, παρόλο που στις στατικές συνθήκες η βιομάζα παρουσιάζει μια ήπια αύξηση, παραμένει σε χαμηλά επίπεδα με μέγιστη παραγωγή την 18^η ημέρα με 3,59 g/L. Αντίθετα, στις συνθήκες ανάδευσης, αυξάνεται σημαντικά, με μέγιστη τιμή 15,35 g/L την ίδια ημέρα. Στις στατικές συνθήκες, η συγκέντρωση FAN μειώνεται σταθερά, φτάνοντας περίπου τα 30 mg/L. Στις αναδεδυόμενες συνθήκες, η μείωση είναι πιο έντονη, με τη FAN να φτάνει σχεδόν τα μηδενικά επίπεδα τη 15^η ημέρα. Γενικότερα, είναι σημαντικό να σημειωθεί το γεγονός ότι ελάχιστες μελέτες της βιβλιογραφίας έχουν ασχοληθεί με τη χρησιμοποίηση λακτόζης ή/και του τυρογάλακτος για την ανάπτυξη του στελέχους *G. lucidum* σε υγρές καλλιέργειες για την παραγωγή βιομάζας. Για παράδειγμα, στη μελέτη των Tang και Zhong (2002) χρησιμοποιήθηκε εμπορική λακτόζη σε αρχική συγκέντρωση 35 g/L και οργανικές πηγές αζώτου και παρήχθησαν 18,4 g/L βιομάζας σε συνθήκες

διαλείποντος έργου. Αντίστοιχα, στη μελέτη των Lee et al. (2003) εφαρμόστηκε τυρόγαλο σε αρχική συγκέντρωση λακτόζης 57 g/L για την ανάπτυξη του στελέχους *G. lucidum*, παράγοντας ~17g/L ξηρής βιομάζας με 10% πολυσακχαρίτες. Ωστόσο, στην παρούσα μελέτη, παρά το γεγονός ότι η προσθήκη του Tween 80 βελτίωσε την διαδικασία ζύμωσης της λακτόζης και την παραγωγή της βιομάζας, έδρασε αρνητικά στη σύνθεση των ενδοπολυσακχαριτών (~22%).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η αξιοποίηση των αποβλήτων της βιομηχανίας τροφίμων για την καλλιέργεια μακρομυκήτων προάγει σημαντικά την βιώσιμη ανάπτυξη ενώ ταυτόχρονα συμβάλλει στην παραγωγή προϊόντων προστιθέμενης αξίας.

Η παρούσα εργασία μελέτησε τη χρήση των φλουδών πορτοκαλιού και του ορού γάλακτος ως υποστρώματα για την καλλιέργεια των μακρομυκήτων *G. lucidum* και *T. versicolor*, υπό ελεγχόμενες συνθήκες ζύμωσης.

Με βάση τα αποτελέσματα τεκμαίρονται τα εξής:

- Τα απόβλητα επεξεργασίας πορτοκαλιού και ο ορός γάλακτος μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θρεπτικά μέσα μέσω της ελεγχόμενης ζύμωσης για την παραγωγή μυκηλιακής βιομάζας και ενδοπολυσακχαριτών.
- Οι αναδευόμενες συνθήκες ευνόησαν την μυκηλιακή ανάπτυξη σε όλα τα πειράματα, με μέγιστη παραγωγή βιομάζας 15,4 g/L και 10,2 g/L για το στέλεχος *G. lucidum* και *T. versicolor* αντίστοιχα.
- Οι στατικές συνθήκες παρουσίασαν υψηλότερο ποσοστό πρωτεϊνών στους ενδοπολυσακχαρίτες, με ποσοστό 12,17% για το στέλεχος *G. lucidum*.
- Η μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα για το *T. versicolor* ήταν υπό στατικές συνθήκες, με ποσοστό $I = 42,33\%$ ενώ για το *G. lucidum* υπό συνθήκες ανάδευσης με ποσοστό $I = 50,53\%$.
- Είναι πιθανή η ανάπτυξη προϊόντων προστιθέμενης αξίας στα πλαίσια της κυκλικής βιο-οικονομίας.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahn, W. S., Kim, D. J., Chae, G. T., Lee, J. M., Bae, S. M., Sin, J. I., ... & Lee, I. P. (2004). Natural killer cell activity and quality of life were improved by consumption of a mushroom extract, *Agaricus blazei* Murill Kyowa, in gynecological cancer patients undergoing chemotherapy. *International Journal of Gynecologic Cancer*, 14(4).
- Amend, A., Burgaud, G., Cunliffe, M., Edgcomb, V. P., Ettinger, C. L., Gutiérrez, M. H., ... & Gladfelter, A. S. (2019). Fungi in the marine environment: Open questions and unsolved problems. *MBio*, 10(2), 10-1128.
- Ángel Siles López, J., Li, Q., & Thompson, I. P. (2010). Biorefinery of waste orange peel. *Critical reviews in biotechnology*, 30(1), 63-69.
- Anto, H., Trivedi, U. B., & Patel, K. C. (2006). Glucoamylase production by solid-state fermentation using rice flake manufacturing waste products as substrate. *Bioresource Technology*, 97(10), 1161-1166.
- Antunes, F., Marçal, S., Taofiq, O., MMB Morais, A., Freitas, A. C., CFR Ferreira, I., & Pintado, M. (2020). Valorization of mushroom by-products as a source of value-added compounds and potential applications. *Molecules*, 25(11), 2672.
- Assemie, A., & Abaya, G. (2022). The effect of edible mushroom on health and their biochemistry. *International journal of microbiology*, 2022.
- Atila, F., Owaid, M. N., & Shariati, M. A. (2017). The nutritional and medical benefits of *Agaricus bisporus*: a review.
- Awasthi, M. K., Paul, A., Kumar, V., Sar, T., Kumar, D., Sarsaiya, S., ... & Taherzadeh, M. J. (2022). Recent trends and developments on integrated biochemical conversion process for valorization of dairy waste to value added bioproducts: A review. *Bioresource Technology*, 344, 126193.
- Babar, S. P. (2021). Pectin Extraction from Orange peels by using organic clay. *International Journal of Scientific Research & Engineering Trends*, 7(1), 171-173.
- Bains, A., & Chawla, P. (2020). In vitro bioactivity, antimicrobial and anti-inflammatory efficacy of modified solvent evaporation assisted *Trametes versicolor* extract. *3 Biotech*, 10(9), 404.

Bakratsas, G., Polydera, A., Katapodis, P., & Stamatis, H. (2021). Recent trends in submerged cultivation of mushrooms and their application as a source of nutraceuticals and food additives. *Future Foods*, 4, 100086.

Barik, S., & Paul, K. K. (2017). Potential reuse of kitchen food waste. *Journal of environmental chemical engineering*, 5(1), 196-204.

Bellettini, M. B., Fiorda, F. A., Maieves, H. A., Teixeira, G. L., Ávila, S., Hornung, P. S., ... & Ribani, R. H. (2019). Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(4), 633-646.

Berbee, M. L., James, T. Y., & Strullu-Derrien, C. (2017). Early diverging fungi: diversity and impact at the dawn of terrestrial life. *Annual Review of Microbiology*, 71, 41-60.

Bilal, M., & Iqbal, H. M. (2019). Sustainable bioconversion of food waste into high-value products by immobilized enzymes to meet bio-economy challenges and opportunities—A review. *Food Research International*, 123, 226-240.

Božanić, R., Barulčić, I., Lisak Jakopović, K., & Tratnik, L. (2023). Possibilities of whey utilisation. *Godišnjak Akademije tehničkih znanosti Hrvatske*, 2023(1), 281-287.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Brundrett, M. C., & Tedersoo, L. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220(4), 1108-1115.

Carlile, M. J. (1995). The success of the hypha and mycelium. *The growing fungus*, 3-19.

Çelik, K. (Ed.). (2020). *Whey every aspect*. *Tudás Alapítvány*.

<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/citrus-oil-market#>

Citrus Oil Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Orange Oil, Lemon Oil), By Application (Personal Care, Food & Beverages, Aromatherapy), By Region, And Segment Forecasts, 2019 - 2025.

Daranagama, D. A. (2023). “From Decomposers to Superheroes”: Unleashing the Hidden Powers of Fungi to Save Our Planet. *Journal of Desk Research Review and Analysis*, 1(1).

Das, M., Raychaudhuri, A., & Ghosh, S. K. (2016). Supply chain of bioethanol production from whey: A review. *Procedia Environmental Sciences*, 35, 833-846.

- de Souza, C. B., Jonathan, M., Saad, S. M. I., Schols, H. A., & Venema, K. (2018). Characterization and in vitro digestibility of by-products from Brazilian food industry: Cassava bagasse, orange bagasse and passion fruit peel. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 16, 90-99.
- Diamantopoulou, P., Melanouri, E. M., & Papanikolaou, S. (2019). Screening strains of genus *Pleurotus* for biomass production in solid state fermentation of agricultural residues.
- Diaz-Bustamante, M. L., Keppler, J. K., Reyes, L. H., & Solano, O. A. A. (2023). Trends and prospects in dairy protein replacement in yogurt and cheese. *Heliyon*, 9(6).
- Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; Rebers, P.A.; Smith, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 1956, 28, 350–356.
- Duvnjak, D., Pantić, M., Pavlović, V., Nedović, V., Lević, S., Matijašević, D., ... & Nikšić, M. (2016). Advances in batch culture fermented *Coriolus versicolor* medicinal mushroom for the production of antibacterial compounds. *Innovative Food Science & emerging technologies*, 34, 1-8.
- Elkhateeb, W. A. (2020). What medicinal mushroom can do. *Chem Res J*, 5(1), 106-118.
- Elkhateeb, W. A., Daba, G. M., Thomas, P. W., & Wen, T. C. (2019). Medicinal mushrooms as a new source of natural therapeutic bioactive compounds. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18(2), 88-101.
- Ferrero, D., Moscato, E., Spina, F., Cavalluzzi, M. M., Rotondo, N., Oddon, S. B., ... & Varese, G. C. (2024). The fungal alternative: Insights on medicinal mushrooms-based protein-rich biomasses by submerged fermentation of agro-industrial by-products. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 103721.
- Firenzuoli, F., Gori, L., & Lombardo, G. (2008). The medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murrill: review of literature and pharmaco-toxicological problems. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 5(1), 3-15.
- Gabardo, S., Rech, R., Rosa, C. A., & Ayub, M. A. Z. (2014). Dynamics of ethanol production from whey and whey permeate by immobilized strains of *Kluyveromyces marxianus* in batch and continuous bioreactors. *Renewable Energy*, 69, 89-96.

- Gavahian, M., Chu, Y. H., & Mousavi Khaneghah, A. (2019). Recent advances in orange oil extraction: An opportunity for the valorisation of orange peel waste a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 925-932.
- Ghisellini, P., Cialani, C., & Ulgiati, S. (2016). A review on circular economy: the expected transition to a balanced interplay of environmental and economic systems. *Journal of Cleaner production*, 114, 11-32.
- González, A., Cruz, M., Losoya, C., Nobre, C., Loredó, A., Rodríguez, R., ... & Belmares, R. (2020). Edible mushrooms as a novel protein source for functional foods. *Food & function*, 11(9), 7400-7414.
- Guarro, J., Gené, J., & Stchigel, A. M. (1999). Developments in fungal taxonomy. *Clinical microbiology reviews*, 12(3), 454-500.
- Guarro, J., Gené, J., & Stchigel, A. M. (1999). Developments in fungal taxonomy. *Clinical microbiology reviews*, 12(3), 454-500.
- Gänzle, M. G., Vermeulen, N., & Vogel, R. F. (2007). Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough. *Food microbiology*, 24(2), 128-138.
- Güzel, M., & Akpınar, Ö. (2019). Valorisation of fruit by-products: Production characterization of pectins from fruit peels. *Food and Bioproducts Processing*, 115, 126-133.
- Habtemariam, S. (2020). *Trametes versicolor* (Synn. *Coriolus versicolor*) polysaccharides in cancer therapy: Targets and efficacy. *Biomedicines*, 8(5), 135.
- Hamam, A. R. A., Tammam, A. A., Elderwy, Y. M. A., & Hassan, A. I. (2017). Functional peptides in milk whey: An overview. *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, 48(4), 77-91.
- Hartree, E. F. (1972). Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Analytical biochemistry*, 48(2), 422-427.
- Hess, J. M., Wang, Q., Kraft, C., & Slavin, J. L. (2017). Impact of *Agaricus bisporus* mushroom consumption on satiety and food intake. *Appetite*, 117, 179-185.
- Hidayat, M. A., Sari, P., & Kuswandi, B. (2018). Simple scanometric assay based on DPPH immobilized on pharmaceutical blister for determination of antioxidant capacity in the herbal extracts. *Marmara Pharm. J*, 22, 450-459.

- Hotel, A. C. P., & Cordoba, A. (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. *Prevention*, 5(1), 1-10.
- Huang, S., Cauty, C., Dolivet, A., Le Loir, Y., Chen, X. D., Schuck, P., ... & Jeantet, R. (2016). Double use of highly concentrated sweet whey to improve the biomass production and viability of spray-dried probiotic bacteria. *Journal of functional foods*, 23, 453-463.
- Huang, S., Méjean, S., Rabah, H., Dolivet, A., Le Loir, Y., Chen, X. D., ... & Schuck, P. (2017). Double use of concentrated sweet whey for growth and spray drying of probiotics: Towards maximal viability in pilot scale spray dryer. *Journal of Food Engineering*, 196, 11-17.
- Hugo, A. A., Bruno, F., & Golowczyc, M. A. (2016). Whey permeate containing galacto-oligosaccharides as a medium for biomass production and spray drying of *Lactobacillus plantarum* CIDCA 83114. *LWT-food Science and Technology*, 69, 185-190.
- Ibarra-Islas, A., Hernández, J. E. M., Armenta, S., López, J. E., López, P. M. G., León, S. H., & Arce-Cervantes, O. (2023). Use of nutshells wastes in the production of lignocellulolytic enzymes by white-rot fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 66, e23210654.
- İnci, Ş., Akyüz, M., & Kırbağ, S. (2022). Antioxidant and Antimicrobial Effects of *Trametes versicolor* (L.) Lloyd Extracts in Different Solvents. *Turkish Journal of Science and Technology*, 17(2), 261-265.
- Janjušević, L., Karaman, M., Šibul, F., Tommonaro, G., Iodice, C., Jakovljević, D., & Pejin, B. (2017). The lignicolous fungus *Trametes versicolor* (L.) Lloyd (1920): a promising natural source of antiradical and AChE inhibitory agents. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 32(1), 355-362.
- Jin, B., Yin, P., Ma, Y., & Zhao, L. (2005). Production of lactic acid and fungal biomass by *Rhizopus* fungi from food processing waste streams. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32(11-12), 678-686.
- Kachrimanidou, V., Alexandri, M., Papapostolou, H., Papadaki, A., & Kopsahelis, N. (2023). Valorization of Grape Pomace for *Trametes versicolor* Mycelial Mass and Polysaccharides Production. *Sustainability*, 15(20), 15080.

Kachrimanidou, V., Papadaki, A., Alexandri, M., Poullos, V., Gonou-Zagou, Z., & Kopsahelis, N. (2023). *Sepedonium* sp. and *Phellinus* sp. Novel Isolates: Growth Pattern and Production of Polysaccharide-Protein Complexes on Conventional and Grape Pomace Substrates. *Waste and Biomass Valorization*, 14(10), 3315-3326.

Kachrimanidou, V., Papadaki, A., Papapostolou, H., Alexandri, M., Gonou-Zagou, Z., & Kopsahelis, N. (2023). *Ganoderma lucidum* Mycelia Mass and Bioactive Compounds Production through Grape Pomace and Cheese Whey Valorization. *Molecules*, 28(17), 6331.

Kalač, P. (2013). A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 209-218.

Kamal, M. M., Kumar, J., Mamun, M. A. H., Ahmed, M. N. U., Shishir, M. R. I., & Mondal, S. C. (2021). Extraction and characterization of pectin from *Citrus sinensis* peel. *Journal of Biosystems Engineering*, 46, 16-25.

Kantifedaki, A., Kachrimanidou, V., Mallouchos, A., Papanikolaou, S., & Koutinas, A. A. (2018). Orange processing waste valorisation for the production of bio-based pigments using the fungal strains *Monascus purpureus* and *Penicillium purpurogenum*. *Journal of Cleaner Production*, 185, 882-890.

Kapri, M., Singh, U., Behera, S. M., Srivastav, P. P., & Sharma, S. (2020). Nutraceutical augmentation of agro-industrial waste through submerged fermentation using *Calocybe indica*. *LWT*, 134, 110156.

Karaman, M., Novakovic, M., & Matavuly, M. (2012). Fundamental fungal strategies in restoration of natural environment. *Fungi: Types, environmental impact and role in disease*. New York: Nova Science Publishers Inc.

Karimi, R., Mortazavian, A. M., & Da Cruz, A. G. (2011). Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. *Dairy science & technology*, 91, 283-308.

Kavishree, S., Hemavathy, J., Lokesh, B. R., Shashirekha, M. N., & Rajarathnam, S. (2008). Fat and fatty acids of Indian edible mushrooms. *Food Chemistry*, 106(2), 597-602.

- Kim, N., Jeon, J., Elbert, J., Kim, C., & Su, X. (2022). Redox-mediated electrochemical desalination for waste valorization in dairy production. *Chemical Engineering Journal*, 428, 131082.
- Klimek-Szczykutowicz, M., Szopa, A., & Ekiert, H. (2020). Citrus limon (Lemon) phenomenon—a review of the chemistry, pharmacological properties, applications in the modern pharmaceutical, food, and cosmetics industries, and biotechnological studies. *Plants*, 9(1), 119.
- Knežević, A., Stajić, M., Sofrenić, I., Stanojković, T., Milovanović, I., Tešević, V., & Vukojević, J. (2018). Antioxidative, antifungal, cytotoxic and antineurodegenerative activity of selected *Trametes* species from Serbia. *PloS one*, 13(8), e0203064.
- Koller, M., Bona, R., Braunegg, G., Hermann, C., Horvat, P., Kroutil, M., ... & Varila, P. (2005). Production of polyhydroxyalkanoates from agricultural waste and surplus materials. *Biomacromolecules*, 6(2), 561-565.
- Kumar, V., Sharma, N., Umesh, M., Selvaraj, M., Al-Shehri, B. M., Chakraborty, P., ... & Maitra, S. S. (2022). Emerging challenges for the agro-industrial food waste utilization: A review on food waste biorefinery. *Bioresource Technology*, 127790.
- Lappa, I. K., Papadaki, A., Kachrimanidou, V., Terpou, A., Koulougliotis, D., Eriotou, E., & Kopsahelis, N. (2019). Cheese whey processing: integrated biorefinery concepts and emerging food applications. *Foods*, 8(8), 347.
- Lee, H., Song, M., & Hwang, S. (2003). Optimizing bioconversion of deproteinated cheese whey to mycelia of *Ganoderma lucidum*. *Process Biochemistry*, 38(12), 1685-1693.
- Li, F., Wen, H., Zhang, Y., Aa, M., & Liu, X. (2011). Purification and characterization of a novel immunomodulatory protein from the medicinal mushroom *Trametes versicolor*. *Science China Life Sciences*, 54, 379-385.
- Liu, D. (2024). Classification of medically important fungi. In *Molecular Medical Microbiology* (pp. 2763-2777). Academic Press.
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. L., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193(1), 265-275.

- Lutzoni, F., Kauff, F., Cox, C. J., McLaughlin, D., Celio, G., Dentinger, B., ... & Vilgalys, R. (2004). Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits. *American journal of botany*, 91(10), 1446-1480.
- Ma, H. T., Hsieh, J. F., & Chen, S. T. (2015). Anti-diabetic effects of *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, 114, 109-113.
- Ma, H. T., Hsieh, J. F., & Chen, S. T. (2015). Anti-diabetic effects of *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, 114, 109-113.
- Ma, J. F., Yang, H. Y., Kun, W., & Liu, X. E. (2016). Structural modification of hemicelluloses and lignin based on the biorefinery process with white-rot fungal. *Carbohydrate polymers*, 153, 7-13.
- MacArthur, E. (2013). Towards the circular economy. *Journal of Industrial Ecology*, 2(1), 23-44.
- Maina, S., Pateraki, C., Kopsahelis, N., Paramithiotis, S., Drosinos, E. H., Papanikolaou, S., & Koutinas, A. (2017). Microbial oil production from various carbon sources by newly isolated oleaginous yeasts. *Engineering in Life Sciences*, 17(3), 333-344.
- Mamma, D., Kourtoglou, E., Christakopoulos, P., 2008. Fungal multienzyme production on industrial by-products of the citrus-processing industry. *Bioresour. Technol.* 99, 2373–2383.
- Martinez-Medina, G. A., Chávez-González, M. L., Verma, D. K., Prado-Barragán, L. A., Martínez-Hernández, J. L., Flores-Gallegos, A. C., ... & Aguilar, C. N. (2021). Bio-functional components in mushrooms, a health opportunity: Ergothionine and huitlacoche as recent trends. *Journal of Functional Foods*, 77, 104326.
- Meini, M. R., Cabezudo, I., Galetto, C. S., & Romanini, D. (2021). Production of grape pomace extracts with enhanced antioxidant and prebiotic activities through solid-state fermentation by *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae*. *Food Bioscience*, 42, 101168.
- Miles, P. G., & Chang, S. T. (1997). *Mushroom biology: concise basics and current developments*. World Scientific.
- Mollea, C., Marmo, L., & Bosco, F. (2013). Valorisation of cheese whey, a by-product from the dairy industry. In *Food industry*. IntechOpen.

Money, N. P. (2023). Goldilocks mushrooms: How ballistospory has shaped basidiomycete evolution. *Fungal Biology*, 127(4), 975-984.

Money, N. P. (2023). The fastest short jump in nature: Progress in understanding the mechanism of ballistospore discharge. *Fungal Biology*, 127(1-2), 835-844.

Murray, A., Skene, K. & Haynes, K., (2017). The Circular Economy: An Interdisciplinary Exploration of the Concept and Application on a Global Context. *Journal of Business Ethics*, pp. 369-380.

Pallav, K., Dowd, S. E., Villafuerte, J., Yang, X., Kabbani, T., Hansen, J., ... & Kelly, C. P. (2014). Effects of polysaccharopeptide from *Trametes versicolor* and amoxicillin on the gut microbiome of healthy volunteers: a randomized clinical trial. *Gut microbes*, 5(4), 458-467.

Papadaki, A., Kachrimanidou, V., Papanikolaou, S., Philippoussis, A., & Diamantopoulou, P. (2019). Upgrading grape pomace through *Pleurotus* spp. cultivation for the production of enzymes and fruiting bodies. *Microorganisms*, 7(7), 207.

Pasarin, D., Ghizdareanu, A. I., Teodorescu, F., Rovinaru, C., & Banu, A. (2023). Characterization of Pectin Oligosaccharides Obtained from Citrus Peel Pectin. *Fermentation*, 9(3), 312.

Patel, A., Hružová, K., Rova, U., Christakopoulos, P., & Matsakas, L. (2019). Sustainable biorefinery concept for biofuel production through holistic valorization of food waste. *Bioresource technology*, 294, 122247.

Pearce, D. W., & Turner, R. K. (1989). *Economics of natural resources and the environment*. Johns Hopkins University Press.

Pilafidis, S., Tsouko, E., Sougleri, G., Diamantopoulou, P., Gkatzionis, K., Ioannou, Z., & Sarris, D. (2024). Submerged cultivation of selected macro-fungi to produce mycelia rich in β -glucans and other bioactive compounds, valorizing side streams of the food industry. *Carbon Resources Conversion*, 7(2), 100198.

Preston, F. (2012). A global redesign? Shaping the circular economy.

Pöggeler, S., Nowrousian, M., & Kück, U. (2006). Fruiting-body development in ascomycetes. In *Growth, Differentiation and sexuality* (pp. 325-355). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

- Quereshi, S., Pandey, A. K., & Sandhu, S. S. (2010). Evaluation of antibacterial activity of different *Ganoderma lucidum* extracts. *J Sci Res*, 3, 9-13.
- Rahman, M. A., Masud, A. A., Lira, N. Y., & Shakil, S. (2020). Proximate analysis, phytochemical screening and antioxidant activity of different strains of *Auricularia auricula-judae* (ear mushroom). *Int J Tradit Complement Med*, 5, 29.
- Rivas, B., Torrado, A., Torre, P., Converti, A., & Domínguez, J. M. (2008). Submerged citric acid fermentation on orange peel autohydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7), 2380-2387.
- Rizal, A., Sandra, F., Fadlan, M. R., & Sargowo, D. (2020). *Ganoderma lucidum* polysaccharide peptide reduce inflammation and oxidative stress in patient with atrial fibrillation. *The Indonesian Biomedical Journal*, 12(4), 384-9.
- Rosenbohm, C., Lundt, I., Christensen, T. I., & Young, N. G. (2003). Chemically methylated and reduced pectins: preparation, characterisation by ¹H NMR spectroscopy, enzymatic degradation, and gelling properties. *Carbohydrate Research*, 338(7), 637-649.
- Ryan, M. P., & Walsh, G. (2016). The biotechnological potential of whey. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15, 479-498.
- Samorini, G. (2019). The oldest archeological data evidencing the relationship of *Homo sapiens* with psychoactive plants: A worldwide overview. *Journal of Psychedelic Studies*, 3(2), 63-80.
- Sampaio, F. C., de Faria, J. T., da Silva, M. F., de Souza Oliveira, R. P., & Converti, A. (2019). Cheese whey permeate fermentation by *Kluyveromyces lactis*: a combined approach to wastewater treatment and bioethanol production. *Environmental technology*.
- Sande, D., de Oliveira, G. P., e Moura, M. A. F., de Almeida Martins, B., Lima, M. T. N. S., & Takahashi, J. A. (2019). Edible mushrooms as a ubiquitous source of essential fatty acids. *Food Research International*, 125, 108524.
- Sanodiya, B. S., Thakur, G. S., Baghel, R. K., Prasad, G. B. K. S., & Bisen, P. S. (2009). *Ganoderma lucidum*: a potent pharmacological macrofungus. *Current pharmaceutical biotechnology*, 10(8), 717-742.
- Sargowo, D., Aissy, C. R., Kalsum, U., Nugroho, F. W., Kamila, P. A., Irawan, D., ... & Fahmiy, R. (2019, June). The role of polysaccharide peptide of *Ganoderma lucidum* as a

potent protective vascular endothelial cell, anti-inflammation, and antioxidant in STEMI and NSTEMI patients. In AIP Conference Proceedings (Vol. 2108, No. 1). AIP Publishing.

Sepúlveda, L., Laredo-Alcalá, E., Buenrostro-Figueroa, J. J., Ascacio-Valdés, J. A., Genisheva, Z., Aguilar, C., & Teixeira, J. (2020). Ellagic acid production using polyphenols from orange peel waste by submerged fermentation. *Electronic Journal of Biotechnology*, 43, 1-7.

Sharma, K., Mahato, N., Cho, M. H., & Lee, Y. R. (2017). Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmentally friendly approaches. *Nutrition*, 34, 29-46.

Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2020). Phenolic composition, antioxidant potential and health benefits of citrus peel. *Food Research International*, 132, 109114.

Singh, R., Das, R., Sangwan, S., Rohatgi, B., Khanam, R., Peera, S. P. G., ... & Misra, S. (2021). Utilisation of agro-industrial waste for sustainable green production: a review. *Environmental Sustainability*, 4(4), 619-636.

Sionkowska, A., Skrzyński, S., Śmiechowski, K., & Kołodziejczak, A. (2017). The review of versatile application of collagen. *Polymers for Advanced Technologies*, 28(1), 4-9.

Smithers, G. W. (2008). Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’. *International dairy journal*, 18(7), 695-704.

Sone, Y., Okuda, R., Wada, N., Kishida, E., & Misaki, A. (1985). Structures and antitumor activities of the polysaccharides isolated from fruiting body and the growing culture of mycelium of *Ganoderma lucidum*. *Agricultural and biological chemistry*, 49(9), 2641-2653.

Stahel, W. R. (2016). The circular economy. *Nature*, 531(7595), 435-438.

Suwannarach, N., Kumla, J., Zhao, Y., & Kakumyan, P. (2022). Impact of cultivation substrate and microbial community on improving mushroom productivity: A review. *Biology*, 11(4), 569.

Sánchez, C. (2017). Bioactives from mushroom and their application. *Food bioactives: Extraction and biotechnology applications*, 23-57.

- Sławińska, A., Jabłońska-Ryś, E., & Stachniuk, A. (2021). High-performance liquid chromatography determination of free sugars and mannitol in mushrooms using corona charged aerosol detection. *Food Analytical Methods*, 14, 209-216.
- Tang, Y. J., & Zhong, J. J. (2002). Exopolysaccharide biosynthesis and related enzyme activities of the medicinal fungus, *Ganoderma lucidum*, grown on lactose in a bioreactor. *Biotechnology letters*, 24, 1023-1026.
- Tišma, M., Žnidaršič-Plazl, P., Šelo, G., Tolj, I., Šperanda, M., Bucić-Kojić, A., & Planinić, M. (2021). *Trametes versicolor* in lignocellulose-based bioeconomy: State of the art, challenges and opportunities. *Bioresource technology*, 330, 124997.
- Vigna, L., Morelli, F., Agnelli, G. M., Napolitano, F., Ratto, D., Occhinegro, A., ... & Rossi, P. (2019). *Herichium erinaceus* improves mood and sleep disorders in patients affected by overweight or obesity: could circulating pro-BDNF and BDNF be potential biomarkers?. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019.
- Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71(1), 230-235.
- Winans, K., Kendall, A., & Deng, H. (2017). The history and current applications of the circular economy concept. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 68, 825-833.
- Wu, F., Zhou, L. W., Yang, Z. L., Bau, T., Li, T. H., & Dai, Y. C. (2019). Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98, 1-76.
- Yadav, J. S. S., Yan, S., Ajila, C. M., Bezawada, J., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2016). Food-grade single-cell protein production, characterization and ultrafiltration recovery of residual fermented whey proteins from whey. *Food and Bioproducts Processing*, 99, 156-165.
- Yadav, J. S. S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2015). Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology advances*, 33(6), 756-774.

Yang, L., Kang, X., Dong, W., Wang, L., Liu, S., Zhong, X., & Liu, D. (2022). Prebiotic properties of *Ganoderma lucidum* polysaccharides with special enrichment of *Bacteroides ovatus* and *B. uniformis* in vitro. *Journal of Functional Foods*, 92, 105069.

Yang, X., Yang, Y., Zhang, Y., He, J., & Xie, Y. (2021). Enhanced exopolysaccharide production in submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* by Tween 80 supplementation. *Bioprocess and biosystems engineering*, 44, 47-56.

Zajac, S., Krzysko-Lupicka, T., Walosik, A., Chmielewski, J., Wójtowicz, B., & Nowak-Starz, G. (2023). Pharmacological properties and use of *Ganoderma lucidum* in modern medicine. *Journal of Elementology*, 28(1).

Zajac, S., Krzysko-Lupicka, T., Walosik, A., Chmielewski, J., Wójtowicz, B., & Nowak-Starz, G. (2023). Pharmacological properties and use of *Ganoderma lucidum* in modern medicine. *Journal of Elementology*, 28(1).

Αλιμπούμπα, Δ. Β. (2022). Παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών από γαλακτικά βακτήρια μέσω της αξιοποίησης παραπροϊόντων της βιομηχανίας τροφίμων.