

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

Διδακτορικό Δίπλωμα Ειδίκευσης

**Προσδιορισμός Βασικής Σύστασης, Μεταλλικών Στοιχείων και
Ταυτοποίηση Πτητικών Ενώσεων με SPME-GC/MS σε Καρποσώματα
Αυτοφυών Ελληνικών Εδώδιμων Μακρομυκήτων**

Παρασκευή Ουζούνη

Πτυχιούχος Εφαρμοσμένης Αγροοικολογίας

Μ.Δ.Ε. Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής

Ιωάννινα, 2009



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000321951



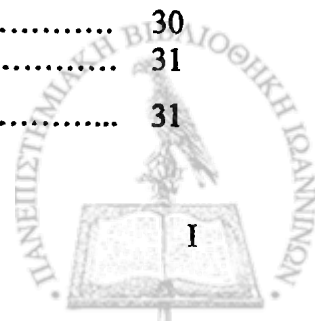
Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

(Ν.5343/1932, άρθρο 202)



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
1.	Εισαγωγή.....	2
2.	Συστηματική κατάταξη των μυκήτων – Ταξινομικές κατηγορίες.....	6
2.1.	Βασιδιομύκητες.....	6
2.2.	Ασκομύκητες.....	7
3.	Μορφολογία μυκήτων και καρποσωμάτων.....	9
4.	Πλεονεκτήματα μυκήτων σε σχέση με τα ανώτερα φυτά ως προς την επιβίωση.....	12
5.	Ανάπτυξη μυκήτων.....	13
A.	Θρέψη.....	13
B.	Υγρασία.....	14
Γ.	Θερμοκρασία.....	15
Δ.	Φως.....	15
E.	pH.....	16
6.	Βιοποικιλότητα των μακρομυκήτων στην Ελλάδα.....	17
7.	Είδη καρποσωμάτων.....	17
7.1.	<i>Amanita caesaria</i> (Scop.) Pers.....	18
7.2.	<i>Amanita ceciliae</i> (Berk. & Broome) Bas.....	18
7.3.	<i>Amanita rubescens</i> var. <i>rubescens</i> Pers.....	19
7.4.	<i>Armillaria mellea</i> (Vahl-) P. Kumm.....	19
7.5.	<i>Armillaria tabescens</i> (Scop.) Emel	20
7.6.	<i>Boletus aureus</i> (Bull).....	20
7.7.	<i>Boletus edulis</i> (Bull).....	21
7.8.	<i>Boletus luridiformis</i> var. <i>luridiformis</i> Rostk.....	21
7.9.	<i>Cantharellus cibarius</i> Fr.....	21
7.10.	<i>Clitocybe odora</i> Bull. (P.) Kumm.....	22
7.11.	<i>Fistulina hepatica</i> (Schaeff.) Fr.....	23
7.12.	<i>Hydnum repandum</i> L.....	23
7.13.	<i>Hygrophorus chrysodon</i> (Batsch) Fr.....	24
7.14.	<i>Hygrophorus eburneus</i> (Bull.) Fr.....	24
7.15.	<i>Hygrophorus russocoreacius</i> Berk & Miller.....	25
7.16.	<i>Hygrophorus russula</i> (Schaeff.) Kauffman.....	25
7.17.	<i>Lactarius salmonicolor</i> R. Heim & Leclair.....	26
7.18.	<i>Lepista nuda</i> (Bull.) Cooke.....	26
7.19.	<i>Macrolepiota procera</i> var. <i>procera</i> (Scop.) Singer.....	27
7.20.	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm.....	27
7.21.	<i>Ramaria largentii</i> Marr & D.E. Stuntz.....	28
7.22.	<i>Russula delica</i> Fr.....	28
7.23.	<i>Suillus granulatus</i> (L.) Roussel.....	29
8.	Χαρακτηριστικά περιοχής μελέτης.....	30
A.	Γεωλογικά στοιχεία.....	30
B.	Ειδικά γεωμορφολογικά χαρακτηριστικά.....	31
1.	Γεωτεκτονική τοποθέτηση.....	31



2.	Τεκτονική εξέλιξη.....	32
3.	Γεωλογικοί σχηματισμοί.....	32
4.	Στοιχεία εδαφολογίας.....	33
Γ.	Περιβαλλοντικές συνθήκες.....	36
1.	Κλιματολογικές συνθήκες.....	36
2.	Χλωρίδα.....	42
9.	Σπουδαιότητα παραγωγής φυτικών αρωματικών συστατικών από καρποσώματα εδώδιμων μακρομυκήτων.....	43
10.	Τεχνικές ταυτοποίησης αρωματικών συστατικών.....	46
10.1.	Μικροεκχύλιση στερεής φάσης (SPME).....	46
10.2.	Αέρια Χρωματογραφία.....	52
10.3.	Αρχές χρωματογραφίας.....	61
10.4.	Φασματομετρία μαζών	63
10.4.1.	Φασματογράφος μαζών.....	63
10.5.	Συνδυασμός αέριας χρωματογραφίας και φασματομετρίας μαζών.....	67
10.6.	Δείκτης Kovats	69
11.	Αντικείμενο της έρευνας.....	72
	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	73
1.	Δειγματοληψία	74
2.	Προκατεργασία δειγμάτων πριν την ανάλυση.....	74
3.	Μέθοδοι.....	76
3.1.	Προσδιορισμός Υγρασίας.....	76
3.2.	Προσδιορισμός Τέφρας.....	76
3.3.	Προσδιορισμός Λίπους.....	77
3.4.	Προσδιορισμός Πρωτεϊνών.....	78
3.5.	Προσδιορισμός Υδατανθράκων.....	80
3.6.	Προσδιορισμός Μετάλλων με ΦΑΑ.....	80
3.7.	Στατιστική ανάλυση	82
3.8.	Ταυτοποίηση πτητικών συστατικών.....	83
3.8.1.	Προκατεργασία δειγμάτων.....	83
3.8.2.	Συνθήκες αέριας χρωματογραφίας –φασματοσκοπίας μαζών.....	83
3.9.	Γραμμικός Δείκτης Συσχέτισης (LRI).....	84
	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ	86
1.	Χημική σύσταση καρποσωμάτων.....	87
2.	Ταυτοποίηση πτητικών συστατικών καρποσωμάτων.....	114
2.1.	Αρωματική σύσταση καρποσωμάτων.....	114
2.2.	Αποτελέσματα στατιστικής επεξεργασίας.....	192
	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	200
	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	203
	SUMMARY	206
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	209



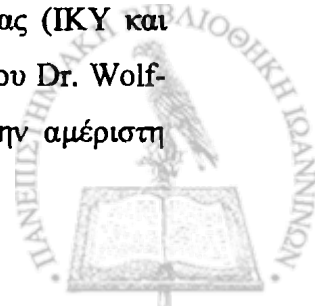
Πρόλογος

Η παρούσα διατριβή για την απόκτηση Διδακτορικού διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, διεξήχθη στο ερευνητικό Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Τμήματος Χημείας, υπό την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή του Τομέα Βιομηχανικής Χημείας και Χημείας Τροφίμων κ. Κυριάκου. Α. Ρηγανάκου, προς τον οποίο εκφράζω τις άπειρες ευχαριστίες μου για την διαρκή παρακολούθηση, τη σωστή και υπεύθυνη καθοδήγηση, την αδιάκοπη και φιλική συνεργασία και ενθάρρυνση καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής της διδακτορικής αυτής διατριβής.

Συνάμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα άλλα 2 μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής: τον κ. Μιχαήλ Κοντομηνά, Καθηγητή του Τομέα Βιομηχανικής Χημείας και Χημείας Τροφίμων και τον κ. Γεώργιο Ζερβάκη, Τακτικό Ερευνητή στο Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε)- Ινστιτούτο Καλαμάτας, για τις πολύτιμες και εύστοχες υποδείξεις και συμβουλές τους, καθώς και για το αμέριστο ενδιαφέρον τους κατά τις επικοινωνητικές συναντήσεις μας. Παράλληλα, ευχαριστίες πρέπει να διατυπωθούν και στα υπόλοιπα μέλη της 7μελούς εξεταστικής επιτροπής για τις χρήσιμες υποδείξεις τους επί του κειμένου πριν την επίσημη παρουσίασή του.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την Λέκτορα κ. Αναστασία Μπαδέκα για την σημαντική συμβολή της στην διεξαγωγή του πειράματος προσδιορισμού των πτητικών συστατικών και τις χρήσιμες συμβουλές της στα θέματα της Αέριας Χρωματογραφίας. Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρα κ. Ευάγγελο Παλαιολόγο για την βοήθειά του στα πειράματα της Ατομικής Απορρόφησης και τον κ. Δημήτριο Πετρίδη, Καθηγητή στο ΤΕΙ Θεσσαλονίκης, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής για την συμμετοχή του στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας.

Ένα μέρος της πειραματικής εργασίας διεξήχθη στο Ομοσπονδιακό Ερευνητικό Κέντρο Τροφίμων και Διατροφής (Federal Research Centre for Nutrition and Food) Καρλσρούη, Γερμανία στα πλαίσια του διακρατικού προγράμματος Ελλάδας-Γερμανίας (IKYDA). Για το λόγο αυτό κρίνεται σκόπιμη η έκφραση θερμών ευχαριστιών στα Ιδρύματα Υποτροφιών Ελλάδας και Γερμανίας (IKY και DAAD αντίστοιχα) για την δυνατότητα αυτή, καθώς και στο πρόσωπο του Dr. Wolf-Dietrich Koller, ερευνητή του παραπάνω Ερευνητικού Κέντρου για την αμέριστη



αρωγή του στην διεξαγωγή μέρους της πειραματικής διαδικασίας στο εργαστήριο που προΐσταται και τις πολύτιμες γνώσεις που μου μετέδωσε με την εμπειρία του στη χρήση του αέριου χρωματογράφου/φασματογράφου μάζας (GC/MS).

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Κονταξή Δημήτρη, γεωλόγο για την πολύτιμη βοήθεια του στην περιγραφή των εδαφικών χαρακτηριστικών της περιοχής μελέτης και τους κ. Κωνσταντινίδη Γιώργο (μανιταροσυλλέκτη συγγραφέα) και Βασίλη Παπαρούνα, ιδιοκτήτη της εταιρείας «ΣΥΜΠΟΣΙΟ Α.Ε.» για τα δείγματα μανιταριών και τις γνώσεις συλλογής που μου προσέφεραν.



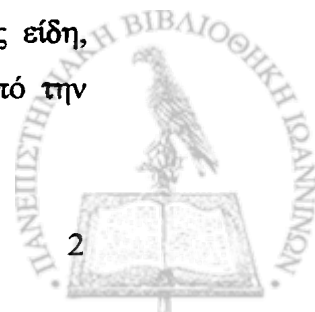
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



1. Εισαγωγή

Ο όρος μανιτάρια περιγράφει τις μακροσκοπικές καρποφορίες εγγενούς αναπαραγωγής μυκήτων που κατατάσσονται στα φύλα (φύλο-phylum) των Βασιδιομυκήτων ή των Ασκομυκήτων. Οι μύκητες (Fungi), αποτελούν ένα από τα 7 Βασίλεια (Προκαρυωτικά: Αρχαία και Βακτήρια, και Ευκαρυωτικά: Πρωτόζωα, Χρώμιστα, Φυτά, Ζώα και Μύκητες) στα οποία κατατάσσονται τα έμβια όντα με κυτταρική δομή και είναι το δεύτερο σε πλήθος ειδών άθροισμα μετά τα έντομα στον πλανήτη. Τα καταγεγραμμένα σήμερα είδη μυκήτων είναι περίπου 80.000-90.000 αλλά αυτό εκτιμάται ότι δεν αντιπροσωπεύει παρά το 5% περίπου των υπαρχόντων ειδών, καθώς ετησίως ανακαλύπτονται δεκάδες έως εκατοντάδες νέα είδη (Hawksworth, 1991; Hawksworth et al., 1995, Hawksworth 2001).

Το σώμα των μυκήτων είναι θαλλός αποτελούμενος από μεμονωμένα κύτταρα ή νηματοειδής, με γνήσιους πυρήνες και κυτταρικό τοίχωμα, τυπικά συνιστάμενο από χιτίνη. Η έλλειψη φωτοσυνθετικών χρωστικών χαρακτηρίζει τους μύκητες ως ετερότροφους οργανισμούς, που διαβιούν βιοτροφικά, σαπροτροφικά ή συμβιωτικά με άλλους οργανισμούς. Χαρακτηριστικά παραδείγματα της τελευταίας περίπτωσης αποτελούν οι λειχήνες (δηλ. οργανισμοί που αναπτύσσονται από τη συμβιωτική σχέση μυκήτων και φυκών) και οι μυκόρριζες (από τη συμβιωτική σχέση των μυκήτων με το ριζικό σύστημα των φυτών). Αναπτύσσονται σε ποικίλα υποστρώματα και περιβαλλοντικές συνθήκες, ενώ αναπαράγονται αγενώς ή εγγενώς συνήθως με σπόρια (Stamets, 1993). Οι υφές των συμβιωτικών μυκήτων περιβάλλουν τα λεπτά ριζικά τριχίδια των δέντρων, απομυζώντας κυρίως υδατάνθρακες, ενώ τα δέντρα απορροφούν ευκολότερα άλατα, αζωτούχες ενώσεις, ιχνοστοιχεία και νερό, εμφανίζοντας μεγαλύτερη αντοχή, απέναντι σε παρασιτικούς μύκητες που προσβάλλουν το ριζικό τους σύστημα (FAO, 2004). Για παράδειγμα μέσω της μυκορριζικής συμβίωσης αναπτύσσονται τα δέντρα στα φτωχά σε θρεπτικά συστατικά εδάφη των δασών του Miombo στην Κεντρική και Νότια Αφρική (Campbell, 1996), και σχηματίζονται τα διάφορα είδη υπόγειων μανιταριών, από τις καταβολές των καρποφοριών που σχηματίζονται ως διογκώσεις του μυκηλίου γύρω από τα ριζικά τριχίδια των δέντρων. Ωστόσο, σχέσεις συμβίωσης δεν παρατηρούνται μόνο με φυτικά είδη, αλλά και με ζωικούς οργανισμούς. Μανιτάρια του γένους *Termitomyces*, στα οποία περιλαμβάνονται εξαιρετικής γαστρονομικής αξίας είδη, αναπτύσσονται συμβιωτικά με τερμίτες και εξαρτούν την ανάπτυξη τους από την



οργανική ουσία που απομυζούν από τα έντομα. Μέχρι σήμερα έχουν καταγραφεί 25 εδώδιμα είδη σε Ασία και Αφρική (Pegler & Vanhaecke, 1994).

Όμως η πλειονότητα των ειδών μυκήτων που σχηματίζει μανιτάρια ανήκει στα σαπρότροφα που μαζί με τα βακτήρια ευθύνονται για την αποσύνθεση των οργανικών ουσιών, συμβάλλοντας στην χουμοποίηση και διατήρηση της γονιμότητας των εδαφών. Μέσω της διάσπασης των ενώσεων αυτών με τη διαδικασία της αναπνοής, αντλούν ενέργεια απαραίτητη για την επιτέλεση των ζωτικών λειτουργιών τους. Μεταξύ των εδωδιμων σαπροτροφικών μυκήτων κατατάσσονται το είδος *Agaricus arvensis*, τα είδη του γένους *Favolus* (Prance, 1984), το είδος *Lentinula edodes* (Pauli, 1998) και ποικιλία φαρμακευτικών ειδών όπως αυτά του γένους *Ganoderma*. (Reshetnikof, et al., 2001).

Ως παράσιτα ανθρώπων, φυτών και ζώων, προκαλούν ανθρωπονόσους, ζωνονόσους ή φυτοπαθολογικές καταστάσεις με κοινωνικές και οικονομικές προεκτάσεις. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν ο μύκητας *Candida albicans* που ευθύνεται για την προσβολή των βλεννωδών μεμβρανών των πνευμόνων και των γεννητικών οργάνων, καθώς και το είδος *Claviceps purpurea* που προκαλεί εργοτίαση στη σίκαλη ή άλλους καρπούς δημητριακών προσβάλλοντας σταβλισμένα ζώα και ανθρώπους. Υπάρχουν περίπου 50 γνωστά είδη, τα περισσότερα εκ των οποίων προέρχονται από τροπικές περιοχές. Για την οικονομία, σημαντικά είδη είναι το *Claviceps purpurea* (παρασιτικό στις χλόες και τα δημητριακά), το *C. fusiformis* (στο κεχρί, και τη χλόη), το *C. paspalipaspali* (στη χλόη) και το *C. africana*. Το *C. purpurea* προσβάλλει διάφορα δημητριακά συμπεριλαμβανομένης της σίκαλης (ο πιο κοινός ξενιστής του), του σίτου και του κριθαριού. Επίσης, αν και σπάνια προσβάλλει και τη βρώμη (Tudzynski et al., 2001).

Η Ερυσίβη (δηλαδή μύκητας του γένους *Claviceps*) περιέχει σε υψηλή ποσότητα (μέχρι 2% της ξηρής μάζας) την ουσία εργοταμίνη, μια σύνθετη χημική ουσία. (Tudzynski et al., 2001). Η αλκαλοειδής αυτή ουσία αναπτύσσει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών επιδράσεων εκτός των άλλων στο κυκλοφοριακό και νευρικό σύστημα (Eadie, 2003). Το παθολογικό σύνδρομο που παρατηρείται στους ανθρώπους ή τα ζώα που έχουν λάβει ερυσίβη, π.χ. μαζί με μολυσμένο σιτάρι είναι κοινώς γνωστό ως "Φωτιά του αγίου Αντωνίου", και αναφέρεται με συμπτώματα, όπως δυνατές αισθήσεις φλόγωσης στα χέρια και στα πόδια. (Carogael, 1976). Η επίδραση της ερυσίβης περιγράφηκε αρχικά γύρω στο 1800 ως επιδημία ανθρώπων και ζώων, αλλά η σύνδεση της με τον μύκητα δεν ήταν γνωστή. Αντίστοιχα, ο κυκεώνας, το



ποτό που έπιναν οι συμμετέχοντες στα αρχαία ελληνικά Ελευσίνια μυστήρια μπορεί να είχε την παραισθησιογόνα επίδρασή του από τον μύκητα αυτό (Capogael, 1976), αν και από νεώτερους ερευνητές πιστεύεται ότι το κύριο στοιχείο του *κυκεών* ήταν ένα μανιτάρι της οικογένειας *Panaeolus* το οποίο περιέχει ψιλοκυβίνη και άλλες παρεμφερείς ενώσεις (Wasson et al., 1978).

Ωστόσο, σε αρκετές χώρες οι άνθρωποι καταναλώνουν ως τροφή φυτικούς ιστούς, προσβεβλημένους από φυτοπαθογόνους παρασιτικούς μύκητες. Για παράδειγμα, σπόροι καλαμποκιού προσβεβλημένοι από το μύκητα *Ustilago maydis*, καταναλώνονται σε μεγάλες ποσότητες στο Μεξικό, ως εξαιρετικό έδεσμα με την ονομασία 'huitlacoche', νωποί ή κονσερβοποιημένοι (Villanueva, 1997). Φαίνεται ότι η προσβολή του καρπού από τον μύκητα, τον καθιστά γλυκύτερο στη γεύση (Sommer, 1995), γεγονός που επιβεβαιώνεται και μέσω παρόμοιας δράσης του μύκητα *Cronartium conigenum* σε καρπούς ανανά στο Μεξικό, του *Ustilago esculenta* σε άγριο ρύζι της Κίνας (FAO, 2004) και του *Synchytrium psophocarp* σε φασόλια της Ινδονησίας (Rifai, 1989).

Επίσης, μεγάλης οικονομικής σημασίας είναι η χρησιμοποίηση μυκήτων στις χημικές βιομηχανίες, στις βιομηχανίες τροφίμων και φαρμάκων για την παραγωγή μύρας, κρασιού, τυριών ροκφόρ, καμεμπέρ ή στίλτον, σόγια sauce και αντιβιοτικών όπως η πενικιλίνη από είδη *Penicillium*, και η βιφορμίνη από τον *Polyporus biformis*. Πολλοί μύκητες (σακχαρομύκητες) χρησιμοποιούνται επίσης στην ζαχαροπλαστική και αρτοποιία, ενώ άλλα είδη βιομετατρέπουν άχρηστα λιγνοκυτταρινούχα οργανικά υπολείμματα όπως άχυρο, υπολείμματα εκκοκκιστηρίων βάμβακος ή πριονίδια, παράγοντας βιομάζα και τροφή (καλλιεργούμενα μανιτάρια) ιδιαίτερης διαιτητικής αξίας για τον άνθρωπο (Campell, 1996).

Αντίστοιχα σημαντικές είναι και οι φαρμακευτικές ιδιότητες πολλών μυκήτων. Σύγχρονες κλινικές πρακτικές σε χώρες της Ασίας, όπως η Ιαπωνία, η Κίνα και η Κορέα εξακολουθούν να χρησιμοποιούν σκευάσματα που προέρχονται από μανιτάρια, συνεχίζοντας με τον τρόπο αυτό μια παράδοση πολλών χρόνων στο συγκεκριμένο ιατρικό τομέα. Φαρμακευτικές ιδιότητες έχουν προσδιοριστεί σε πολλά είδη μυκήτων που προέρχονται κυρίως από εκχυλίσματα ειδών που ανήκουν στα γένη *Auricularia*, *Flammulina*, *Ganoderma*, *Grifola*, *Hericium*, *Lentinula* (*Lentinus*), *Pleurotus*, *Trametes* (*Coriolus*), *Schizophyllum*, και *Tremella* (Wasser, 2002).

Εξάλλου, τα τελευταία είκοσι με τριάντα χρόνια επιστημονικές μελέτες σε χώρες της Ασίας αλλά και προσφάτως στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, όλο και



περισσότερο καταδεικνύουν τις αποτελεσματικές και μοναδικές ιδιότητες αυτών των εκχυλίσμάτων στην πρόληψη και θεραπεία του καρκίνου. Τα συστατικά αυτά χρησιμοποιούνται συνήθως είτε ως ανοσοτροποποιητές (immunomodulators), είτε ως τροποποιητές βιολογικής αντίδρασης (biological response modifiers: BRM). Η βασική αρχή που συνεπάγεται η ανοσορύθμιση είναι η αναγνώριση τμημάτων του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή που ανταποκρίνονται, και τα οποία ενισχύονται ή καταστέλλονται με τέτοιο τρόπο ώστε να αυξηθεί ή να ολοκληρωθεί η επιθυμητή αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος (Zaidman et al., 2005).

Η αντικαρκινική δράση των ανώτερων Βασιδιομυκήτων προσδιορίστηκε για πρώτη φορά το 1957 από τους Lucas et al., (1957), οι οποίοι παρήγαγαν εκχυλίσματα από τα καρποσώματα του είδους *Boletus edulis* και από άλλους Ομοβασιδιομύκητες σε πειράματα κατά του σαρκώματος 180 σε ποντίκια. Εξάλλου, την δεκαετία του 1960 η καλβασίνη ήταν το πιο κοινό αναφερόμενο φυσικό προϊόν των πειραματικών εργαστηρίων με αντικαρκινική δράση που απομονώθηκε το 1958 από το είδος *Calvatia gigantea* (Lucas et al., 1958). Η ουσία αυτή παρείχε αντικαρκινική δράση εναντίον πολλών ογκολογικών νόσων στο εργαστήριο, όπως του σαρκώματος 180, του αδενοκαρκινώματος 755 του μαστού και της λευχαιμίας L-1210 (Wasser & Weis, 1999). Τέλος, έχουν βρεθεί περίπου 650 είδη ανώτερων Βασιδιομυκήτων τα οποία πιθανόν να διαθέτουν αντικαρκινική δράση (Mizuno, 1995a, 1995b, Wasser, 2002).

2. Συστηματική κατάταξη των μυκήτων – Ταξινομικές κατηγορίες

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει συντελεστεί ραγδαία και πολύ σημαντική πρόοδος στους τομείς της συστηματικής, της φυλογένειας και της εξέλιξης των μυκήτων. Βάσει των τελευταίων φυλογενετικών δεδομένων, οι Μύκητες αποτελούν ξεχωριστό Βασίλειο κι ενώ μέχρι πρόσφατα αποτελείτο από τέσσερα Φύλα, δηλ. τα *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* και *Basidiomycota*, σήμερα θεωρείται ότι απαρτίζεται από έξι Φύλα (δηλ. τα *Basidiomycota*, *Ascomycota*, *Glomeromycota*, *Blastocladiomycota*, *Chytridiomycota*, και *Neocallimastigomycota*), τέσσερα μη ταξινομημένα Υποφύλα (δηλ. τα *Entomophthoromycotina*, *Kickxellomycotina*, *Mucoromycotina*, *Zoopagomycotina* που προέρχονται από το *Zygomycota*), δύο γένη Χυτρίδιων με ασαφή φυλογενετική θέση (δηλ. τα *Olpidium* και *Rozella*), ενώ η σχέση του Φύλου *Microsporidia* με τους Μύκητες δεν είναι ακόμη πλήρως αποσαφηνισμένη (Blackwell et al., 2008).

2.1. Βασιδιομύκητες

Το Φύλο *Basidiomycota* αποτελεί μια μεγάλη και ετερογενή ταξινομική κατηγορία που περιλαμβάνει τα γνωστά μανιτάρια. Οι Βασιδιομύκητες χαρακτηρίζονται κυρίως από την παραγωγή σποριών εγγενούς αναπαραγωγής (= βασιδιοσπόρια) πάνω σε εξειδικευμένα, μικροσκοπικά γαμετάγγεια που ονομάζονται βασίδια. Τα βασιδιοσπόρια είναι απλοειδή και στα περισσότερα είδη αποκαλούνται βαλλιστοσπόρια επειδή εκτινάσσονται βίαια χάρις σ' ένα ειδικό μηχανισμό απελευθέρωσης. Σχηματίζονται συνήθως ανά τέσσερα σε κάθε βασίδιο στην κορυφή αποφύσεων που ονομάζονται στηρίγματα, μετά από μια διαδικασία καρυογαμίας (δηλ. σύντηξης πυρήνων) και μείωσης. Τα κυτταρικά τοιχώματα των Βασιδιομυκήτων αποτελούνται από χιτίνη και γλυκάνες. (Ζερβάκης, 1998).

Η εγγενής αναπαραγωγή στους περισσότερους Βασιδιομύκητες (επειδή είναι ετεροθαλικοί) επιτυγχάνεται μέσω της επιτυχούς σύζευξης δύο μυκηλίων των οποίων οι αλληλόμορφοι διαφέρουν στο ένα (= διπολικός ετεροθαλλισμός) ή στα δύο γονίδια (= τετραπολικός ετεροθαλλισμός) που ελέγχουν τον αντίστοιχο μηχανισμό. Οι υπόλοιποι είναι ομοθαλικοί ή δευτερευόντως ομοθαλικοί, άρα συνήθως δεν απαιτείται σύζευξη με άλλο συμβατό μυκήλιο για να ολοκληρωθεί ο βιολογικός κύκλος του μύκητα (Ζερβάκης, 1998).

Η αγενής αναπαραγωγή στους Βασιδιομύκητες επιτυγχάνεται με εκβλάστηση,



κατάτμηση του μυκηλίου και με παραγωγή κονιδίων, αρθροσπορίων (δηλαδή μονοκύτταρων τμημάτων που προκύπτουν από θραύση των υφών) και ωιδιοσπορίων (δηλαδή σπορίων που παράγονται από μικρές ειδικές εκβλαστήσεις των υφών που ονομάζονται ωιδιοφόροι (Ζερβάκης, 1998).

Σύμφωνα με τα πιο πρόσφατα ερευνητικά ευρήματα, που βασίζονται σε μορφολογικούς χαρακτήρες και στην ανάλυση της αλληλουχίας του DNA, οι Βασιδιομύκητες διαχωρίζονται σε τρία Υποφύλα 1) το *Pucciniomycotina* που περιλαμβάνει τους μύκητες που προκαλούν ασθένειες γνωστές ως σκωριάσεις ('rusts', *Pucciniales*) και άλλες ταξινομικές ομάδες, 2) το *Ustilaginomycotina* που περιλαμβάνει μεταξύ άλλων τους άνθρακες και δαυλίτες ('smuts', *Ustilaginales*) και 3) το *Agaricomycotina* που περιλαμβάνει είδη που σχηματίζουν μανιτάρια (κλάση: *Agaricomycetes*), μύκητες με ζελατινοειδείς καρποφορίες (*Auriculariales*, *Dacrymycetales*, *Tremellales*) και άλλους (Blackwell et al., 2008). Επιπλέον, υπάρχουν δύο ακόμη ταξινομικές ομάδες (*Wallemiomycetes* και *Entorrhizomycetes*) των οποίων η ακριβής θέση εντός του Φύλου *Basidiomycota* παραμένει αδιευκρίνιστη (Blackwell et al., 2008).

2.2. Ασκομύκητες

Οι Ασκομύκητες είναι ανώτεροι μύκητες (ο θαλλός τους συνίσταται από πολυκύτταρο μυκήλιο) και αποτελούν το 75% του συνόλου των μυκήτων που έχουν περιγραφεί. Στους σημαντικότερους ασκομύκητες κατατάσσονται τα είδη *Saccharomyces cerevisiae*, *Penicillium chrysogenum*- από το οποίο παράγεται η πενικιλίνη, *Morchella esculenta*- το γνωστό εδώδιμο μανιτάρι και *Neurospora crassa*. Ωστόσο, υπάρχουν ορισμένοι ασκομύκητες που προκαλούν σημαντικές ασθένειες ή ζημιές σε τρόφιμα, όπως το είδος *Aspergillus flavus*, το οποίο παράγει αφλατοξίνη, μια τοξίνη που μολύνει ξηρούς καρπούς και δημητριακά, ενώ παράλληλα θεωρείται και ως φυσικό καρκινογόνο, το είδος *Candida albicans*, που προκαλεί στοματίτιδες και κολπίτιδες, καθώς και το *Cryphonectria parasitica*, που είναι υπεύθυνο για την νέκρωση 4 δισεκατομμυρίων δέντρων καστανιάς στις Ανατολικές Πολιτείες της Αμερικής (Alexopoulos et al., 1996). Τα είδη των Ασκομυκήτων που δεν διαθέτουν αναπαραγωγικά όργανα όπως τα είδη των γενών *Penicillium* και *Candida* κατατάσσονται ξεχωριστά στο Φύλο *Deuteromycota*, ωστόσο αυτό πλέον δεν αναγνωρίζεται ξεχωριστά στην συστηματική κατάταξη των μυκήτων (Taylor et al., 2008). Κατ' εξαίρεση μερικοί Ασκομύκητες είναι



μονοκύτταροι ή σχηματίζουν ψευδομυκήλιο (*Saccharomycetaceae*). Πολλά είδη δημιουργούν σχηματισμούς από ψευδοϊστό, όπως σκληρώτια, ριζόμορφα ή στρώματα. Κύριο χαρακτηριστικό τους (εκτός του πολυκυττάρου μυκηλίου) είναι ο σχηματισμός ασκοσπορίων κατά την εγγενή αναπαραγωγή. Η αγενής αναπαραγωγή γίνεται με κονίδια, βλαστοσπόρια, γλαμυδοσπόρια και αρθροσπόρια. Αξιοσημείωτο είναι ότι η αγενής φάση του βιολογικού κύκλου ενός Ασκομύκητα, συνιστά την ατελή μορφή του, που παλαιότερα κατατασσόταν στο *Deuteromycota*.

Η βλαστική τους φάση είναι απλοειδής. Οι υφές φέρουν απλά σέπτα (με ένα πόρο). Η εγγενής αναπαραγωγή πραγματοποιείται με ασκοσπόρια σχηματιζόμενα εντός ενός εξειδικευμένου γαμεταγγείου που ονομάζεται ασκός. Οι ασκοί διαφέρουν ως προς το σχήμα και την κατασκευή τους και αποτελούν σημαντικό ταξινομικό γνώρισμα. Διακρίνονται σε ασκούς μονότοιχους που φέρουν απλό τοίχωμα, και σε δίτοιχους που φέρουν δύο επάλληλα τοιχώματα. Όσον αφορά το σχήμα, μπορεί να είναι σφαιρικοί έως κυλινδρικοί, ροπαλοειδείς, γυμνοί ή συνηθέστερα πολλοί μαζί σε διαφοροποιημένες καρποφορίες (=ασκοκάρπια) που μπορεί να είναι αποθήκια, περιθήκια, κλειστοθήκια ή ασκοστρώματα. Η καρυογαμία συντελείται εντός του ασκού ακολουθούμενη από μείωση και (συνήθως) μίτωση με αποτέλεσμα τον σχηματισμό οκτώ ασκοσπορίων. Η αγενής αναπαραγωγή πραγματοποιείται συχνά με κονίδια τα οποία παράγονται κατά διαφόρους τρόπους, όπως με εκβλάστηση (= βλαστοσπόρια), από εξειδικευμένα σποριογόνα κύτταρα καλούμενα φιαλίδια (= φιαλοσπόρια), ή ακόμα με κατάτμηση των υφών (= αρθροσπόρια). Οι κονιδιοφόροι παράγονται μεμονωμένοι ή είναι οργανωμένοι σε διάφορους σχηματισμούς, όπως συννήματα, ακέρβουλα ή πυκνίδια (Ζερβάκης, 1998).

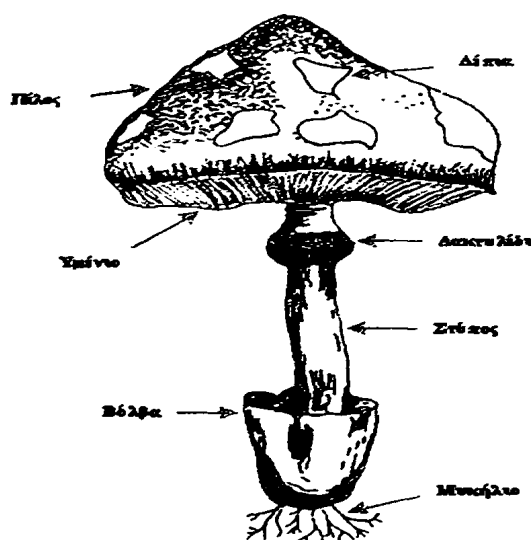
Το Φύλο *Ascomycota* περιλαμβάνει τα Υποφύλα *Pezizomycotina* (με πάνω από το 90% του συνόλου των ασκομυκήτων και είδη που σχηματίζουν ευμεγέθεις καρποφορίες –μανιτάρια), *Saccharomycotina* (είδη ζυμών, με πιο γνωστό είδος το *Saccharomyces cerevisiae*, το οποίο αποτελεί το βασικό μύκητα ζύμωσης στην παρασκευή τροφίμων και ποτών) και *Taphrinomycotina*, το οποίο υποδιαιρείται περαιτέρω στις κλάσεις *Neoelectromycetes*, *Pneumocystidomycetes*, *Schizosaccharomycetes*, και *Taphrinomycetes* (Blackwell et al., 2008).

3. Μορφολογία μυκήτων και καρποσωμάτων

Οι μυκήτες διακρίνονται βάσει της μορφολογίας του σώματος τους σε δύο τύπους. Στον πρώτο τύπο ανήκουν εκείνοι όπου κάθε μεμονωμένο άτομο αποτελείται από ένα και μόνο κύτταρο, σφαιρικού, ωοειδούς, ελλειψοειδούς κλπ. σχήματος. Οι μύκητες αυτοί ονομάζονται μονοκύτταροι και δεν είναι άλλοι από τις γνωστές ζύμες.

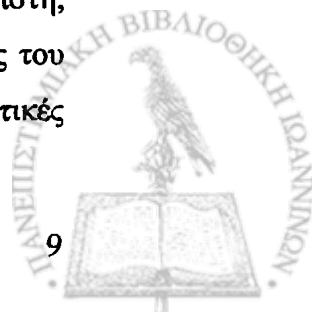
Στο δεύτερο τύπο ανήκουν μύκητες των οποίων το σώμα (=θαλλός) αποτελείται από λεπτότατα διακλαδιζόμενα νημάτια μικροσκοπικής διαμέτρου (συνήθως 2-10 μm) τα οποία ονομάζονται υφές. Το σύνολο των υφών που απαρτίζει το θαλλό του μύκητα ονομάζεται μυκήλιο και μπορεί να πάρει μακροσκοπικές διαστάσεις αν υπάρχουν διαθέσιμη τροφή και ευνοϊκές συνθήκες αύξησης. Οι μύκητες που σχηματίζουν μυκήλιο ονομάζονται μυκηλιακοί.

Η μορφή των καρποσωμάτων των μακρομυκήτων παρουσιάζει πολύ μεγάλη ποικιλομορφία. Η πλέον κοινή είναι αυτή του σαρκώδους καρποσώματος Βασιδιομυκήτων που αποτελείται από τον πύλο και το στύπο (Σχήμα 1).



Σχήμα 1. Σχηματική απεικόνιση μυκηλίου και καρποσώματος (Reygadas et al., 1995)

Ο πύλος ή καπέλο, διαθέτει άνω επιφάνεια που μπορεί να είναι, λεία ή τραχεία, χνουδωτή, με λέπια ή εγκοπές, γυαλιστερή ή ματ και κάτω επιφάνεια που αποτελείται από το γόνιμο στρώμα (σποριοφόρο υμένιο), πάνω στο οποίο παράγονται τα σπόρια. Το σχήμα του είναι επίπεδο, στρογγυλό, καμπανοειδές, κωνικό ή κυρτό με θηλή ή εσοχή στο κέντρο, ενώ η περιφέρεια του είναι ίσια, ανασηκωμένη, κυματιστή, λοβωτή, ραβδωτή ή αυλακωτή. Το μέγεθος του εξαρτάται κυρίως από το είδος του μύκητα και δευτερευόντως από τις περιβαλλοντικές συνθήκες, ενώ οι χρωματικές



τους αποχρώσεις επηρεάζονται από το είδος του μανιταριού, την ηλικία του, τις κλιματολογικές συνθήκες και τη φυσικοχημική σύσταση του εδάφους. Ο στύπος είναι το στέλεχος του καρποσώματος που διατηρεί τον πύλο του μανιταριού σε ικανοποιητική απόσταση από το έδαφος, ώστε να διευκολυνθεί ο διασκορπισμός των σποριών του. Το μήκος του κυμαίνεται από ελάχιστα εκατοστά έως 0,5m, ενώ σε ορισμένα είδη μπορεί και να εκλείπει τελείως (π.χ. μανιτάρια του γένους *Crepidotus*). Το σχήμα του είναι συνήθως κυλινδρικό, ατρακτοειδές, κωνικό ή ροπαλόμορφο, και η υφή του λεία ή ιζώδης, με ραβδώσεις, λέπια ή δίχτυ. (Κελτεμλίδης, 1982).

Στην κάτω επιφάνεια υπάρχει ο υμενοφόρος, δηλαδή η περιοχή όπου σχηματίζεται το υμένιο. Ο υμενοφόρος μπορεί να έχει τη μορφή ελασμάτων ή οδοντοειδών προεξοχών (των οποίων την επιφάνεια καλύπτει το υμένιο), ή και σωληνίσκων (των οποίων την κοίλη επιφάνεια καλύπτει το υμένιο). Σε κάποια μανιτάρια, το καρπόσωμα στο αρχικό στάδιο (καταβολή) περιβάλλεται από δύο μεμβράνες (από ψευδοϊστό): Η εξωτερική ονομάζεται καθολικός πέπλος και περιβάλλει ολόκληρο το καρπόσωμα, ενώ η εσωτερική περιβάλλει μόνο τον πύλο και ονομάζεται μερικός πέπλος. Χαρακτηριστική τέτοια περίπτωση είναι τα μανιτάρια του γένους *Amanita*. Όταν το μανιτάρι εκπτυχθεί πλήρως αυτές οι δύο μεμβράνες σχίζονται και αφήνουν υπολείμματα. Ο καθολικός πέπλος στη μεν επιφάνεια του πύλου αφήνει τμήματα σαν λέπια ή σκάρες, στην περίμετρο σαν ράκη ή ξέφτια και στη βάση ένα είδος σάκου ή μήτρας (volva) ή απλώς ξέφτια. Ο μερικός πέπλος αφήνει ξέφτια στην περίμετρο του πύλου και ένα δακτύλιο, άλλοτε ανθεκτικό και άλλοτε πρόσκαιρο, γύρω από το στύπο (Δήμου, 2005).

Τα μανιτάρια στα οποία ο υμενοφόρος βρίσκεται κλεισμένος από πέπλο, έστω και σε αρχικό στάδιο ονομάζονται (ψευδο-, ημι-) αγγειοκαρπικά. Στο γένος *Cortinarius* υπάρχει μόνο μερικός πέπλος αλλά πολύ αραιός έτσι ώστε κατά την έκπτυξη του πύλου να σχηματίζεται μία αραχνοϋφαντη κουρτίνα (εξ ου και το όνομα του γένους) που ενώνει την περίμετρο του πύλου με το στύπο. Σε άλλα μανιτάρια δεν υπάρχει ή είναι εντελώς υποτυπώδης κάποιος πέπλος και συνεπώς ο υμενοφόρος είναι εξ αρχής ελεύθερος στον αέρα. Τα μανιτάρια αυτά ονομάζονται γυμνοκαρπικά. Πραγματικά αγγειοκαρπικά είναι εκείνα τα μανιτάρια στα οποία τα βασίδια ή οι ασκοί σχηματίζονται μέσα σε εντελώς κλειστά καρποσώματα. Κατά το σχηματισμό των καρποσωμάτων, σε μερικά μανιτάρια οι υφές που σχηματίζουν τον ψευδοϊστό μπορεί να διαφοροποιούνται ανάλογα με το τμήμα του καρποσώματος. Διακρίνουμε τρεις τύπους υφών στα διάφορα είδη μανιταριών: τις αναπαραγωγικές, τις σκελετικές



και τις συνδετικές υφές. Οι αναπαραγωγικές υφές είναι λεπτότοιχες, διακλαδιζόμενες, συνήθως υαλώδεις, με σέπτα και με ή χωρίς κρίκους (ανάλογα με το είδος του μύκητα) και είναι αυτές που παράγουν βασίδια. Μανιτάρια που ο ψευδοϊστός τους αποτελείται αποκλειστικά από τέτοιες υφές είναι σαρκώδη και λέμε ότι έχουν μονομιτικό σύστημα υφών. Οι σκελετικές υφές είναι μακριές, παχύτοιχες, μη διακλαδιζόμενες, χωρίς σέπτα και κρίκους, συχνά σκουρόχρωμες, άγονες και έχουν ρόλο τη μηχανική στήριξη του καρποσώματος. Μανιτάρια που ο ψευδοϊστός τους αποτελείται από σκελετικές και αναπαραγωγικές υφές έχουν πιο συνεκτική, σκληρή-ελαστική υφή και λέμε ότι έχουν διμιτικό σύστημα υφών. Τέλος οι συνδετικές υφές είναι επίσης παχύτοιχες, διακλαδιζόμενες, σχετικά μικρού μήκους, χωρίς σέπτα και κρίκους. Οι υφές αυτές συνδέουν μεταξύ τους τις σκελετικές υφές και προσδίδουν πολύ σκληρή υφή στο καρπόσωμα (Δήμου, 2005).

4. Πλεονεκτήματα μυκήτων σε σχέση με τα ανώτερα φυτά ως προς την επιβίωση

Τα ανώτερα φυτά ως αυτότροφοι σχηματισμοί που διαθέτουν χλωροφύλλη και μέσω της φωτοσυνθετικής διαδικασίας συνθέτουν οργανικές ενώσεις, απαιτούν για την επιβίωση τους φως, διοξείδιο του άνθρακα (CO_2), νερό και ανόργανα μέταλλα. Είναι δυνατόν να αναπτυχθούν και να ωριμάσουν μόνο σε περιβάλλοντα που διαθέτουν σε ικανοποιητικά ποσοστά όλους αυτούς τους περιοριστικούς αυξητικούς παράγοντες (Lohmeyer & Künkele, 2005).

Αντίθετα, οι μύκητες ως οργανισμοί που δεν φωτοσυνθέτουν, είναι δυνατόν να αναπτυχθούν και σε συνθήκες απόλυτου σκότους. Επίσης, δεν απαιτούν διείσδυση φωτός στα κύτταρα τους ώστε να αυξηθούν και μπορούν να επιβιώσουν μόνο με την ύπαρξη του σκληρού και παχέος κυτταρικού τοιχώματος τους, το οποίο αποτελείται συνήθως από χιτίνη. Η χιτίνη είναι ένα εξαιρετικά αδιάλυτο βιοπολυμερές αποτελούμενο από μη διακλαδιζόμενες αλυσίδες N-ακέτυλ-γλυκοζαμίνης (Glc-NAc) συνδεδεμένες με β -1,4-γλυκοσιδικό δεσμό. Οι αλυσίδες συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου, μεταξύ των ομάδων N-H της μιας αλυσίδας και των ομάδων C=O της γειτονικής αλυσίδας, όπως στην κυτταρίνη. Το σκληρό αυτό κυτταρικό τοίχωμα βοηθά τους μύκητες να αναπτυχθούν σε περιβάλλοντα που δεν είναι δυνατόν να επιβιώσουν τα πράσινα φυτά ή άλλοι ζωικοί οργανισμοί (Fogiel, 1989; Mullins, 1990; Bobek, et al., 1998; Manzi, et al., 1999; Manzi et al., 2001).

Ακόμη, οι μύκητες είναι εξαιρετικά ανθεκτικοί στην πλασμόλυση, δηλαδή στην συρρίκνωση του κυττάρου σε υπερτονικό μέσο, καθώς μπορούν να αναπτυχθούν σε συμπυκνωμένα διαλύματα αλάτων και σακχάρων.

Τέλος, έχουν την ικανότητα να ανθίστανται σε υψηλές συγκεντρώσεις τοξικών συστατικών για τα πράσινα φυτά, όπως τα βαρέα μέταλλα ή η αιθανόλη. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν ο μύκητας *Saccharomyces cerevisiae* που μετατρέπει τις εξόζες (γλυκόζη και φρουκτόζη) των σταφυλιών σε αιθυλική αλκοόλη και διοξείδιο του άνθρακα, καθώς και τα καρποσώματα του γένους *Agaricus* που βιοακινητοποιούν στα στελέχη τους τα στοιχεία αυτά από το οικοσύστημα στο οποίο αναπτύσσονται. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην ικανότητα του πύλου και του στύπου να σχηματίζουν χημικούς δεσμούς με τις σουλφιδρυλικές ομάδες των πρωτεϊνών και ιδιαιτέρως με την μεθειονίνη (Stije & Besson, 1976; Fogiel, 1989).

5. Ανάπτυξη μυκήτων

Η ανάπτυξη των μυκήτων που προσδιορίζεται ή με μέτρηση της διαμέτρου της αποικίας, είτε με υπολογισμό της παραγόμενης μυκηλιακής μάζας και του βάρους του μύκητα, αναφέρεται πάντα σε δεδομένο υπόστρωμα ανάπτυξης και συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες.

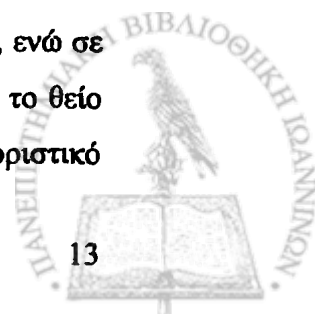
A. Θρέψη

Η απρόσκοπτη λειψάν αύξηση εξασφαλίζεται από την ύπαρξη βιολογικά απαραίτητων χημικών στοιχείων. Αναγκαία μακροστοιχεία είναι ο άνθρακας (C), το υδρογόνο (H), το οξυγόνο (O), το άζωτο (N), ο φωσφόρος (P), το κάλιο (K), το θείο (S), το μαγνήσιο (Mg) και το ασβέστιο (Ca). Από τα αναφερθέντα τα πρώτα έξι ονομάζονται *πλαστικά*, διότι συμμετέχουν ως βασικά στοιχεία για την σύνθεση ενώσεων του κυττάρου, ενώ τα υπόλοιπα τρία K, Mg και Ca, ονομάζονται *καταλυτικά*, διότι παίζουν καταλυτικό, κυρίως, ρόλο στις βιοχημικές αντιδράσεις του κυτταρικού μεταβολισμού, συμμετέχοντας όμως και στην σύνθεση ενώσεων του κυττάρου (FAO, 2004).

Η ιδανικότερη πηγή άνθρακα (C), είναι οι υδατάνθρακες και κυρίως τα απλά σάκχαρα, όπως οι πεντόζες (ξυλόζη) και οι εξόζες (γλυκόζη). Ωστόσο, ως πηγή άνθρακα μπορούν να χρησιμοποιηθούν δισακχαρίτες, δηλαδή σακχαρόζη, μαλτόζη και λακτόζη, με την προϋπόθεση παραγωγής υδρολυτικών ενζύμων από τους μύκητες, αλλά και πολυσακχαρίτες όπως το άμυλο (π.χ. οι μούχλες του ψωμιού), η κυτταρίνη και η λιγνίνη (π.χ. οι μύκητες που προκαλούν σήψη του ξύλου) (FAO, 2004).

Το υδρογόνο (H) λαμβάνεται από το νερό του υποστρώματος και το οξυγόνο (O) από την ατμόσφαιρα μέσω της διαδικασίας της αναπνοής. Οι περισσότεροι μύκητες προσλαμβάνουν άζωτο (N) κυρίως με την μορφή νιτρικών αλάτων και δευτερευόντως αμμωνιακών. Στην περίπτωση αυτή επειδή συσσωρεύονται στο υπόστρωμα ανιόντα SO_4^{2-} , Cl^- και PO_4^{3-} , το pH του υποστρώματος καθίσταται όξινο, γεγονός που επιβραδύνει την ανάπτυξη του μυκηλίου. Οι σαπροτροφικοί μύκητες χρησιμοποιούν το οργανικό άζωτο των πρωτεϊνών, πεπτιδίων και αμινοξέων, ενώ αυτοί που σχηματίζουν μυκόρριζες έχουν την δυνατότητα αφομοίωσης και ατμοσφαιρικού αζώτου (Campbell, 1996, FAO, 2004).

Ο φωσφόρος (P) προσλαμβάνεται από φωσφορικά άλατα και εστέρες, ενώ σε *in vitro* καλλιέργειες δίνεται με τη μορφή ορθοφωσφορικού καλίου. Ακόμη, το θείο (S) που προσλαμβάνεται ως θειικό μαγνήσιο ή θειοθειικό νάτριο, παίζει καθοριστικό



ρόλο στην ανάπτυξη των μυκήτων, ως απαραίτητο συστατικό των αμινοξέων κυστίνη, κυστεΐνη και μεθειονίνη. Το κάλιο (K) τέλος απορροφάται ως νιτρικό ή φωσφορικό κάλιο, επιδρώντας στον μεταβολισμό των υδατανθράκων και το μαγνήσιο υπό μορφή θειικού μαγνησίου. Η πρόσληψη του διευκολύνεται σε όξινο περιβάλλον και παρεμποδίζεται με την ύπαρξη μεταλλικών ιόντων χαλκού (Cu), υδραργύρου (Hg) και αργιλίου (Al) (Campbell, 1996; FAO, 2004).

Εκτός των μακροστοιχείων όμως, χρήσιμα για την ανάπτυξη των μυκήτων είναι και τα ιχνοστοιχεία του σιδήρου (Fe), του ψευδαργύρου (Zn), του χαλκού (Cu), του μαγγανίου (Mn), του μολυβδαινίου (Mo), του γαλλίου (Ga), του βαναδίου (V), και του σκανδίου (Sc) (Campbell, 1996).

B. Υγρασία

Η υγρασία είναι βασικός παράγοντας για την ανάπτυξη των μυκήτων, καθώς είναι απαραίτητη για την διευκόλυνση της απορρόφησης των θρεπτικών στοιχείων που ενυπάρχουν στο υπόστρωμα. Ωστόσο, η γεωγραφική διανομή της σχετικής υγρασίας δεν φαίνεται να διέπεται από ορισμένους φυσικούς κανόνες, αλλά κύριος ρυθμιστής της είναι το ανάγλυφο του εδάφους, η παρουσία υδάτινων μαζών και πηγών, καθώς και η υγρότητα ή η ξηρότητα των επικρατούντων ανέμων.

Τα περισσότερα είδη δε καρποσωμάτων για να αναπτυχθούν απαιτούν υψηλή σχετική υγρασία που προσεγγίζει ή υπερβαίνει το 85%. Επίσης, η απορρόφηση του νερού είναι οσμωτικό φαινόμενο, άρα η οσμωτική πίεση του κυτταρικού χυμού των μυκήτων πρέπει να είναι μεγαλύτερη της οσμωτικής πίεσης του υποστρώματος. Η υγρασία του περιβάλλοντος προκαλεί ενυδάτωση του εδάφους και πτώση της οσμωτικής του πίεσης, με συνέπεια κίνηση νερού από το έδαφος προς τον πυκνότερο κυτταρικό χυμό του μύκητα. Μάλιστα, ο κυτταρικός χυμός ορισμένων μυκήτων μπορεί να εμφανίσει πολύ υψηλές τιμές οσμωτικής πίεσης, της τάξεως των 250 Atm (Lohmeyer & Künkele, 2005).

Μείωση της υγρασίας, προκαλεί αναστολή της ανάπτυξης του μύκητα εξαιτίας αδυναμίας απορρόφησης θρεπτικών συστατικών. Για παράδειγμα, όταν η υγρασία του ξύλου είναι μικρότερη από 12%, αυτό δεν προσβάλλεται από μύκητες. Πολλές φορές το υδατικό δυναμικό επηρεάζει με διαφορετικό τρόπο τις φάσεις ανάπτυξης και τις μυκηλιακές κατασκευές, με αποτέλεσμα οι απαιτήσεις σε υγρασία να είναι αυξημένες για την βλαστική ανάπτυξη του μύκητα και το σχηματισμό των



καρποσωμάτων του και μειωμένες κατά τη δημιουργία μυκηλιακών κατασκευών διαιωνίσης, όπως τα σκληρώτια (Lohmeyer & Künkele, 2005).

Γ.Θερμοκρασία

Κάθε είδος μύκητα, όπως και όλοι οι οργανισμοί, αναπτύσσεται μέσα σε ένα δεδομένο εύρος θερμοκρασιών, εκτός των ορίων του οποίου αποβιώνει. Το θερμοκρασιακό αυτό εύρος καλείται θερμική περιοχή επιβίωσης.

Μερικά είδη μυκήτων στους οποίους κατατάσσονται είδη των γενών *Cladosporium* ή *Gloeosporium* και προκαλούν αλλοιώσεις σε διατηρούμενα εντός ψυγείου προϊόντα, μπορούν να αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες κάτω των 10 °C. Για το λόγο αυτό, καλούνται ψυχρόφιλα. Άλλα είδη πάλι, αναπτύσσονται σε υψηλές θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 30 °C έως 45 °C (ή και παραπάνω) και ονομάζονται θερμόφιλα. Σ' αυτήν την κατηγορία υπάγονται είδη που ζουν σε κοπροσωρούς, οι οποίοι βρίσκονται σε κατάσταση ζύμωσης (Lohmeyer & Künkele, 2005).

Οι περισσότεροι μύκητες όμως, μεταξύ των οποίων και οι βασιδιομύκητες και ασκομύκητες που παράγουν μανιτάρια, έχουν optimum θερμοκρασίας στην περιοχή μεταξύ 15 °C και 30 °C. Οι μύκητες αυτοί ονομάζονται μεσόφιλοι ή μεσοθερμόφιλοι. Η θερμοκρασία του εδάφους στο οποίο αναπτύσσονται εξαρτάται από την ηλιακή ακτινοβολία που δέχεται και από εκείνη που εκπέμπεται. Παράγοντες που επιδρούν στη διαμόρφωση της θερμοκρασίας του, είναι η διάρκεια της ημέρας, το γεωγραφικό πλάτος, ο προσανατολισμός του εδάφους, η σύστασή του, η θερμοχωρητικότητα, που σχετίζεται με την υγρασία και τον αέρα αυτού, η φυτοκάλυψη, η χιονοκάλυψη, η εξάτμιση κ.α. Παράλληλα, και η θερμοκρασία αέρα-νερού θεωρείται από το βασικότερα κλιματικά στοιχεία, τα οποία συντελούν στη διαμόρφωση του κλίματος μιας περιοχής. Εξαρτάται γενικά από τη θέση, τον προσανατολισμό, τον οριζόντιο και κατακόρυφο διαμελισμό, τη γειτνίαση με τη θάλασσα και άλλους δευτερεύοντες παράγοντες.

Δ. Φως

Η ηλιοφάνεια πρακτικά είναι το χρονικό διάστημα, στη διάρκεια της ημέρας κατά το οποίο η ηλιακή ακτινοβολία φτάνει ελεύθερα στην επιφάνεια του εδάφους χωρίς να εμποδίζεται από νέφη ή άλλα αντικείμενα. Αντίστοιχα η νέφωση εμποδίζει



μέρος της ηλιακής ακτινοβολίας να φτάσει στη γη και τη γήινη θερμότητα να διαφύγει προς το ψυχρό διάστημα. Αυξάνει επίσης τη λευκαύγεια και μειώνει την ηλιοφάνεια που έχει άμεση σχέση με τη θερμοκρασία του αέρα. Υπολογίζεται πως αν δεν υπήρχε η νέφωση, η οποία σε όλο τον πλανήτη έχει μέση τιμή τα 4/8 περίπου, η θερμοκρασία της γης θα ήταν κατά 6°C μεγαλύτερη σε γήινη κλίμακα.

Αν και το προσπίπτον ηλιακό φως αναστέλλει την ανάπτυξη του μυκηλίου ή καταστρέφει τη βλαστική ικανότητα των σπορίων, λόγω της δράσης των υπεριωδών ακτίνων, εν γένει η παρουσία φωτός επηρεάζει θετικά την εμφάνιση των καρποφοριών και την εκτίναξη των σπορίων. Παράδειγμα αποτελεί το φουζικλάδιο της μηλιάς που προκαλείται από το είδος *Venturia inequalis* και χρειάζεται τη παρουσία φωτός για το σχηματισμό των περιθηκίων του (Lohmeyer & Künkele, 2005).

E. pH

Οι μύκητες θεωρούνται γενικά οξεόφιλοι οργανισμοί που αναπτύσσονται σε περιβάλλον με pH που κυμαίνεται από 4,5 έως 6,5. Άρα, το εδαφικό pH που συνήθως βρίσκεται στα ίδια επίπεδα τιμών, αποτελεί ιδανικό περιβάλλον για την ανάπτυξη τους. Ωστόσο, υπάρχουν είδη που απαιτούν ουδέτερο ή αλκαλικό περιβάλλον. Επίσης, η μετατόπιση της τιμής του pH είναι δυνατόν να προκαλέσει αναστολή της ανάπτυξης σε κάποια είδη, ενώ σε άλλα δεν είναι περιοριστικός παράγοντας αύξησης τους.

6. Βιοποικιλότητα των μακρομυκήτων στην Ελλάδα

Η Ελληνική επικράτεια σχεδόν καθολικά διακρίνεται για την ποικιλομορφία των εδαφοκλιματικών περιβαλλόντων και των οικολογικών συνθηκών, οι οποίες δημιουργούν ένα πλήθος διαφορετικών βιοτόπων ιδανικών για την ανάπτυξη μεγάλου αριθμού μυκήτων. Επίσης με την ιδιαίτερα πλούσια χλωρίδα της, είναι πολύ πιθανόν να διαθέτει πλούσια μυκοχλωρίδα, διότι τόσο τα φυτά ξενιστές που συναντώνται, όσο και ο αριθμός τους ανά περιοχή, αποτελούν δείκτη εκτίμησης της βιοποικιλότητας των μυκήτων αντίστοιχα. Μέχρι σήμερα έχουν καταγραφεί περίπου 2.100 είδη (Ζερβάκης et al., 2008). Ενδεικτικά αναφέρονται οι μελέτες των Dimou et al., 2002 με 65 είδη και 11 γένη πρωτοαναφερόμενα στη χώρα σε οικοσυστήματα οξιάς στην Κεντρική Ελλάδα, των Zervakis et al., 2002a, και Dimou et al., 2008, με 166 είδη και 15 γένη ως νέες αναφορές σε δάση Κεφαλληνιακής ελάτης και μαύρης πεύκης στην Φθιώτιδα και τη Μεσσηνία, των Zervakis et al., 2002b με 43 είδη και 1 γένος πρωτοαναφερόμενο σε δασικές εκτάσεις φυλλοβόλου δρυός της Πελοποννήσου, αλλά και των Polemis et al., 2002, με 120 είδη και 4 γένη ως πρώτες αναφορές σε νησιά των Κυκλάδων σε συστάδες αείφυλλων πλατύφυλλων και φρυγάνων. Τέλος, είναι αξιοσημείωτη η περιγραφή τεσσάρων νέων Βασιδιομυκήτων από το νησί της Άνδρου, των ειδών *Gymnopus disosmus* sp. nov, *Gymnopus amygdalisporus* sp. nov (Polemis & Noordeloos, 2007), *Entoloma leuconitens* sp. nov και *Entoloma alnicola* sp. nov (Noordeloos & Polemis, 2008).

7. Είδη καρποσωμάτων

Τα είδη μανιταριών που ανιχνεύθηκαν και συλλέχθηκαν προς μελέτη στην παρούσα διδακτορική διατριβή για τον προσδιορισμό της βασικής τους χημικής σύστασης, της περιεκτικότητας τους σε μεταλλικά στοιχεία, καθώς και την ταυτοποίηση των αρωματικών-πτητικών ενώσεων τους, είναι τα ακόλουθα: *Amanita caesaria*, *Amanita rubescens* var. *rubescens*, *Amanita ceciliae*, *Armillaria mellea*, *Armillaria tabescens*, *Boletus aureus*, *Boletus edulis*, *Boletus luridiformis* var. *luridiformis*, *Cantharellus cibarius*, *Clitocybe odora*, *Fistulina hepatica*, *Hydnum repandum*, *Hygrophorus chrysodon*, *Hygrophorus eburneus*, *Hygrocybe russocoriacea*, *Hygrophorus russula*, *Lactarius salmonicolor*, *Lepista nuda*, *Macrolepiota procera* var. *procera*, *Pleurotus ostreatus*, *Ramaria largentii*, *Russula delicata*, και *Suillus granulatus*.

7.1. *Amanita caesaria* (Scop.) Pers.



Αυγόμορφος αρχικά, εσώκλειστος σε λευκό πέπλο, ο Αμανίτης του Καίσαρα, θεωρείται από τα πλέον περιζήτητα φαγώσιμα μανιτάρια και φύεται ομαδικά σε δάση φυλλοβόλων δέντρων (δρυς) την περίοδο της Άνοιξης (Μάιος) και του Φθινοπώρου (Οκτώβριος). Το πορτοκαλοκόκκινο σφαιρικό καπέλο με διάμετρο που

μπορεί να προσεγγίσει ακόμη και τα 25cm, σταδιακά με την πάροδο του χρόνου μετατρέπεται σε κιτρινωπό. Η σάρκα του μανιταριού είναι λευκή, ενώ τα ελάσματα στην κάτω υμενοφόρο επιφάνεια του καπέλου κίτρινου χρώματος. Τα είδη του γένους *Amanita* διαθέτουν επίσης δακτυλίδι που στην συγκεκριμένη περίπτωση είναι κίτρινο, πλατύ και μεμβρανώδες, αλλά και βόλβα μεμβρανώδη, λοβωτή και λευκή. Ο στύπος, έχει διαστάσεις 8-15 x 2-3cm., είναι συμπαγής και εμφανίζει χρωματισμούς στις αποχρώσεις του κίτρινου, ενώ το αποτύπωμα των σπορίων είναι λευκό έως κιτρινωπό (Breitenbach & Kränzlin, 1991; Carluccio, 2003).

7.2. *Amanita ceciliae* (Berk. & Broome) Bas



Ο Αμανίτης του Κεκιλίου όπως είναι γνωστό το είδος αυτό στην Ελληνική επικράτεια, αν και ασυνήθιστο εμφανίζεται είτε ομαδικά, είτε μεμονωμένα σε λιβάδια, ασβεστώδη εδάφη, καθώς και σε δάση πλατυφύλλων και κωνοφόρων από το Μάιο έως τον Οκτώβριο. Διαθέτει πύλο χρυσοκαφετί ή κοκκινοκαφετί με σκουρότερο κέντρο αρχικά αυγόμορφο και αργότερα

καμπανόμορφο ή επίπεδο στην ωριμότητα, διαμέτρου 5-12 cm, που καλύπτεται κατά περιοχές από παχιές γριζοκαφετιές νιφάδες. Ο στύπος είναι κυλινδρικός, με ακανόνιστες ανάγλυφες ζώνες και υποτυπώδη θήκη, διαστάσεων 50-160 x 7-15mm, συμπαγής αρχικά και κούφιος κατά την ωρίμανση, λευκωπός ή γκριζοκαφετί χρώματος πάνω από τις ζώνες. Δεν διαθέτει δακτυλίδι, ενώ τα λευκωπά, κρεμ ή κιτρινωπά σφαιροειδή σπόρια με το λευκό αποτύπωμα έχουν μέγεθος 10.2-11.7x 10.2-11.7μm.(Bas, 1984; Yang & Doi, 1999).



7.3. *Amanita rubescens* var. *rubescens* Pers.



Κοκκινοπόδαρος είναι η λαϊκή ονομασία του είδους, το οποίο από το Μάιο έως τον Νοέμβριο μπορεί να απαντηθεί σε δάση με έλατα (*Abies alba*), πεύκα (*Pinus sylvestris*), δρυς (*Quercum ilex*, *Q. pubescens*, *Q. suber*), οξιές (*Fagus spp.*) και καστανιές (*Castanea sativa*).

Κλειδί στην αναγνώριση του από τους συλλέκτες αποτελεί η εμφάνιση ερυθρού χρώματος στη

σάρκα του, όταν αυτή φαγωθεί ή πληγωθεί από έντομα, ζώα ή αιχμηρά αντικείμενα.

Διαθέτει στο καφεκοκινωπό, κυρτό καπέλο του γκριζορόδινες νιφάδες. Η σάρκα του

πίλου που η διάμετρος του κυμαίνεται από 5-12cm, είναι κοκκινωπή έως καφέ χρώματος, ενώ τα ελάσματα είναι λευκά. Στο στύπο χνουδωτής υφής, παρατηρείται

- βολβώδης βάση με ομόκεντρες ανάγλυφες ζώνες, αλλά και κρεμαστό δακτυλίδι, πλατύ, λευκού χρώματος που είναι εξαιρετικά εύθραυστο. Τα σπόρια διαστάσεων 8-10 x 5,5-7μm είναι ελλειπτικά έως επιμήκη και αμυλοειδή (Neville & Poumarat, 2004).

7.4. *Armillaria mellea* (Vahl.) P. Kumm.



Το είδος αυτό απαντάται στο φυσικό περιβάλλον με τη μορφή συμφύων καρποσωμάτων σε πρέμνα ή κορμούς πλατύφυλλων, κωνοφόρων ή οπωροφόρων δέντρων από το Μάιο έως τον Νοέμβριο. Συνήθως όμως εμφανίζεται μετά τις πρώτες φθινοπωρινές βροχές με συνεχείς

καρποφορίες έως τα μέσα του χειμώνα. Η σάρκα του καρποσώματος είναι λευκή με ρόδινες αποχρώσεις. Ο πίκος αντίστοιχα στα πρώιμα στάδια ωριμότητας είναι κωνικός, λαδοκαφετί με διάσπαρτα κίτρινα λείπια που εξαφανίζονται σταδιακά με την ωρίμανση του μανιταριού. Το τελικό χρώμα είναι μελένιο καφέ με σκουρότερο κέντρο και κρέμ κυματιστή περίμετρο. Ο στύπος είναι κυλινδρικός, σκληρός με καφετί ανταύγειες και λευκοκιτρινωπά ινώδη λείπια. Διαθέτει επίσης, δακτυλίδι μεμβρανώδες και λευκό με κίτρινου χρώματος περίμετρο στην κάτω επιφάνεια. Τα σπόρια 7-9,5 x 5-7μm, είναι λεία και ελλειπτικά με λευκό αποτύπωμα. (Williams et al., 1986; Volk & Burdsall, 1995).



7.5. *Armillaria tabescens* (Scop.) Emel



Ίδιο είδος με τα *Clitocybe monadelphpha* (Morgan) Sacc. και *Clitocybe tabescens* (Scop.) Bres. (συνώνυμα), που εμφανίζονται και αυτά όπως και η *Armillaria mellea* σε συμφυή καρποσώματα, κυρίως όμως πάνω σε αποσυντιθέμενα πρέμνα βελανιδιάς ή νεκρούς κορμούς δέντρων που βρίσκονται μέσα στο έδαφος. Ο

στύπος με διαστάσεις 5-10 x 0,5-1,2cm, είναι συμπαγής αρχικά, κυλινδρικός, λευκωπός με καφετιές αποχρώσεις στο κατώτερο τμήμα, γραμμωτός κατά μήκος και ελαφρώς ινώδης. Το καπέλο που μπορεί να φτάσει σε διάμετρο τα 8cm, είναι καμπανόμορφο με αμβλύ ύβο στο κέντρο, ωχροκαφετί με περίμετρο γυριστή προς τα ελάσματα, τα οποία είναι αρχικά λευκά, αλλά αποκτούν καφεκοκκινωπές αποχρώσεις στην ωριμότητα. Το είδος σε αντίθεση με την Αρμιλλάρια τη μελένια δεν διαθέτει δακτυλίδι και τα λευκά, λεία και ελλειπτικά σπόρια του έχουν διαστάσεις που κυμαίνονται μεταξύ 8-10 x 5-7 μm. (Watling et al., 1982, Schnabel et al., 2006).

7.6. *Boletus aureus* (Bull).



Βασιλικό, Καλογερούδι ή Καλογεράκι είναι η λαϊκή ονομασία του Βωλίτη του χαλκόχρωμου στην Ελλάδα ή Porcini (όπως για τους θιασώτες της Ιταλικής γαστρονομικής κουλτούρας καλούνται τα εδώδιμα είδη *Boletus*). Στα πρώιμα στάδια της ανάπτυξης του στα δάση

των πλατύφυλλων μοιάζει με τον φελλό της σαμπάνιας, αλλά καθώς αναπτύσσεται αποκτά καπέλο διαμέτρου 30cm περίπου, ημισφαιρικό αρχικά και κυρτό αργότερα, ελαφρώς χνουδωτό με ωχροκάστανες ή καστανοκοκκινωπές αποχρώσεις, λιπαρό ή γλοιώδες σε υγρό καιρό. Το υμένιο φέρει σωληνίσκους μήκους 1,5cm, λαδοπράσινου χρώματος. Ο στύπος είναι ογκώδης διαστάσεων 6-8 x 3-5cm, καφέ χρώματος με λευκωπή βάση και ατελές λευκό δίχτυ από την κορυφή ως τη μέση, ενώ τα λαδί έως καφέ σπόρια έχουν μέγεθος 11,5-13,5 x 3,5-4,5 μm. (Agora, 1986; Carluccio, 2003).

7.7. *Boletus edulis* (Bull).



Φύεται ομαδικά το Καλοκαίρι και το Φθινόπωρο σε δάση πλατύφυλλων και κωνοφόρων. Η σάρκα του είναι λευκή, με ευχάριστη γεύση και ελκυστικό άρωμα.. Ο πύλος είναι κυρτός, αργιλόχρωος με καστανοκαφετιές αποχρώσεις. Έχει διάμετρο 5-20 cm, ενώ ο στύπος διαστάσεων 4-15 x 3-7cm, είναι ροπαλόμορφος με εξογκωμένη βάση, αργιλοκαφετί χρώματος με λευκό δίχτυ. Και στον Βωλίτη τον φαγώσιμο οι πόροι στην κάτω επιφάνεια του πύλου είναι στενοί και στρογγυλοί, μήκους έως 4 εκατοστά, με το χρώμα τους να μεταβάλλεται από λευκό σε λαδοπράσινο στην πλήρη ανάπτυξη του καρποσώματος αλλά και τα σπόρια είναι λεία, διαστάσεων 12-17 x 4-6 μm και καφέ χρώματος. (Hall et al., 1998).

7.8. *Boletus luridiformis* var. *luridiformis* Rostk.



Ο Μελανίτης αν και ωμός προκαλεί εμετό, όταν μαγειρευτεί είναι ακίνδυνος και ιδιαίτερα γευστικός. Συναντάται από τα μέσα Απριλίου έως το Νοέμβριο. Αν κοπεί μεταχρωματίζεται άμεσα, αποκτώντας κυανό χρώμα. Ο πύλος έχει διάμετρο που κυμαίνεται από 5-15 cm, είναι ημισφαιρικός αρχικά και επίπεδος στην ωριμότητα, ενώ το χρώμα του είναι καστανό με λαδιές αποχρώσεις. Οι πόροι με μήκος που φτάνει τα 3 cm, είναι στενοί, στρογγυλοί και πορτοκαλοκαφετιοί. Ο ροπαλόμορφος στύπος είναι κίτρινος με κόκκινες ίνες και διαθέτει κιτρινωπό μυκήλιο στην εξογκωμένη βάση του. οι διαστάσεις του είναι 5-12 x 2-5 cm. (Phillips, 1985; Arora, 1986).



7.9. *Cantharellus cibarius* Fr.

Ο Κανθαρίσκος ο φαγώσιμος που θυμίζει σχηματικά τον αρχαιοελληνικό «Κάνθαρο», δηλαδή το αγγείο που χρησιμοποιούσαν οι αρχαίοι Έλληνες

στις τελετές οινοποσίας των συμποσίων, από το οποίο πήρε και το όνομα του, συναντάται κυρίως σε φυλλοβόλα δάση δρυός, καστανιάς ή φουντουκιάς αν και μπορεί να ευδοκιμήσει και στη βάση κωνοφόρων δέντρων ή περιστασιακά στο πλάι των δρόμων κάτω από φυλλοβόλους θάμνους.

Είναι είδος πλούσιο σε εργοκαλσιφερόλη αποτελώντας ικανοποιητική εναλλακτική πηγή βιταμίνης D σε άτομα αλλεργικά στο ψάρι ή αποκλειστικά χορτοφάγους. Ο χωνιόμορφος πύλος του διακρίνεται για το κυματοειδές και ακανόνιστο σχήμα της περιφέρειας του, ενώ η διάμετρος του κυμαίνεται μεταξύ 5-15 εκατοστών. Το χρώμα του είναι κίτρινο έως πορτοκαλί, και η υφή του ελαφρώς χνουδωτή. Ο στύπος διαστάσεων 2-8 X 0,5-3 cm, είναι σχεδόν κυλινδρικός με στενότερη συνήθως βάση, κίτρινου χρώματος, κοντός και συνήθως συνενωμένος με τον πύλο. Υπάρχουν επίσης, ψευδοελάσματα φλεβόμορφα, κίτρινου χρώματος που κατέρχονται αρκετά χαμηλά στον στύπο και σχηματίζουν ευθεία γραμμή στην περιοχή του. Τέλος, τα σπόρια είναι ελαφρώς ρόδινου χρώματος, ελλειψοειδή, διαστάσεων 8-11 X 4-5,5μm. (Metzler,1992; Pegler et al., 1997).

7.10. *Clitocybe odora* Bull. (P.) Kumm.



Η Κλιτοκύβη η ευώδης είναι σαπροτροφικό είδος που αναπτύσσεται πάνω σε νεκρά φύλλα και βελόνες κωνοφόρων δέντρων το Καλοκαίρι και το Φθινόπωρο, τις οποίες και μετατρέπει σε πλούσιο φυτόχωμα. Ο πύλος είναι μέσης διαμέτρου 5,5 cm, αρχικά κυρτό που με την ωρίμανση μεταπίπτει σε επίπεδο. Λείο στην υφή με περίμετρο αρχικά γυριστή και οξύληκτη, κυανοπράσινου χρώματος. Η σάρκα του είναι λευκή με πράσινες ανταύγειες, ενώ παράλληλα διαθέτει έντονη οσμή γλυκάνισου και απαλή γεύση. Ο στύπος είναι κυανοπράσινος, κυλινδρικός, συμπαγής, με λευκή σάρκα, λείος και ινώδης κατά μήκος, διαστάσεων 3-5 X 0,4-0,6 cm τα ελάσματα είναι πλατιά και πυκνά με κυματοειδείς ακμές, μπεζ χρώματος στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης και κυανοπράσινου κατά την ωρίμανση. Τέλος, τα σπόρια είναι ελλειψοειδή, διαστάσεων 7-9 X 4-5μm και λευκού χρώματος. (Agora, 1986).

7.11. *Fistulina hepatica* (Schaeff.) Fr.



Συνηθισμένο Φθινοπωρινό είδος που αναπτύσσεται είτε μοναχικά, είτε κατά ομάδες σε βάσεις, πρέμνα και ρίζες καστανιάς και δρυός. Η μορφή του δεν συνάδει με την τυπική μορφή ενός μανιταριού που διαθέτει ευδιάκριτο πύλο, στύπο και ελάσματα, αλλά έχει ημισφαιρικό πεπλατυσμένο σχήμα. Οι διαστάσεις του είναι της τάξης των 7-

20 x 5-15 x 2-6 cm, με την επάνω επιφάνεια να είναι πορτοκαλοκόκκινη με μικρές κουκίδες που της προσδίδουν όψη γλώσσας και την κάτω επιφάνεια λευκοκιτρινωπή. Αναπτύσσεται στο υπόστρωμα απευθείας ή με πλευρικό πόδι διαστάσεων 3-4,5 x 3-4,5 cm Η σάρκα του είναι τρυφερή και χυμώδης, που αν πληγωθεί εκκρίνει κόκκινες διαφανείς σταγόνες. Στην κάτω υμενοφόρα επιφάνεια αναπτύσσονται πόροι κυκλικοί, που το μήκος τους δεν ξεπερνά το 1 εκατοστό (Arlott et al., 1995).

7.12. *Hydnum repandum* L.



Το αργιλόχρωο ύδνο με τις αγκαθωτές προεξοχές στην κάτω υμενοφόρα επιφάνεια του καπέλου που στερείται των τυπικών ελασμάτων, το συναντά κανείς είτε μεμονωμένα, είτε κατά ομάδες τόσο σε δάση ελάτης όσο και σε δάση δρυός. Συνήθως όμως φύεται σε υψόμετρο άνω

των 800 μέτρων, από τις αρχές του καλοκαιριού (Ιούνιος) έως τις αρχές του χειμώνα (Δεκέμβριος). Ο πύλος του είναι διαμέτρου 4-15 εκατοστών, κυρτός, ακανόνιστα κυκλικός με κυματιστή, λοβωτή ή οδοντωτή περίμετρο. Βελούδινος στην υφή, συνήθως κρεμ χρώματος με αργιλόχρωμες αποχρώσεις κατά περιοχές. Η σάρκα του είναι λευκή, με ελαφρώς καντερή γεύση. Αντίστοιχα, ο στύπος είναι κυλινδρικός, συμπαγής και λείος, όμοιου χρώματος με τον πύλο και διαστάσεων 2-6 X 1,5-3 cm Τέλος, τα σπόρια είναι λευκού χρώματος, ελλειψοειδή, με διαστάσεις που κυμαίνονται από 6-8 X 5-6,5 μm (Pegler et al., 1997).

7.13. *Hygrophorus chrysodon* (Batsch) Fr.



Εδώδιμο, συνηθισμένο είδος σε δάση πλατύφυλλων και κωνοφόρων κυρίως τους φθινοπωρινούς μήνες. Διαθέτει πύλο λευκωπό, αρχικά κυρτό που καθώς αναπτύσσεται σχηματίζει αμβλύ ύβο και έντονα γλοιώδες όταν είναι υγρό. Η διάμετρος του προσεγγίζει τα 6 cm, περίπου

και η σάρκα του είναι λευκή. Τα ελάσματα έχουν κηρώδη υφή και μπεζ χρώμα, ενώ ο στύπος είναι κυλινδρικός, συμπαγής, κίτρινου χρώματος με διαστάσεις 3-8 x 0,5-1 cm. Τα σπόρια τέλος, είναι μικρού μεγέθους 8-10 x 4-5 μm, λεία, με ελλειπτικό σχήμα και λευκού χρώματος (Largent, 1985; Bas et al., 1990).

7.14. *Hygrophorus eburneus* (Bull.) Fr.



Ο Υγροφόρος ο ελαφαντοστέινος φύεται συνήθως εκτεταμένα σε δρυοδάση και βιότοπους σκληρόξυλων και κωνοφόρων δέντρων, καρποφορώντας από το Σεπτέμβριο μέχρι τα μέσα Δεκεμβρίου. Ο πύλος διαμέτρου 2,5-7 cm, είναι αρχικά κυρτός με ακανόνιστη περιφέρεια που εν

συνεχεία μετατρέπεται σε επίπεδο. Η επιφάνεια του είναι λεία και στιλπνή, γλοιώδης και κολλώδης, λευκού χρώματος που μεταχρωματίζεται σε αμυδρά κίτρινη κατά την ωρίμανση. Η σάρκα του είναι λευκή και πλαδαρή. Τα ελάσματα διαθέτουν χρώμα όμοιο με αυτό του πύλου, ενώ είναι παράλληλα σχετικά αραιές. Ο στύπος με διαστάσεις 4-12 x 0,5-1,5 cm, διαθέτει λεπτή βάση, είναι κυλινδρικός, συχνά κυρτός και συμπαγής στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης αλλά κούφιος στην ωριμότητα, κολλώδης και λευκού χρώματος. Τα σπόρια είναι ελλειπτικά και λεία, λευκά επίσης με διαστάσεις που κυμαίνονται μεταξύ 6,5-8 x 3,5-5 μm (Bas et al., 1990).

7.15. *Hygrophorus russocoreacius* Berk & Miller



Το είδος *Camarophyllus russocoraiceus* ή *Hygrocybe russocoriacea* όπως διαφορετικά αποκαλείται ο Υγροφόρος ο Ρωσικός, συναντάται είτε μεμονωμένα, είτε ομαδικά σε δάση σκληρόξυλων και κωνοφόρων δέντρων το Φθινόπωρο και την Άνοιξη. Το καπέλο είναι διαμέτρου 1,5-3,5

cm, κυρτό, με αμυδρές ραβδώσεις και περιφέρεια ελαφρώς κυματιστή κατά την ωρίμανση. Η επιφάνεια του είναι υγρή ή υγροφανής, λεία, μπεζ-ωχρού χρώματος, το οποίο φθίνει χρωματικά από την κορυφή του πύλου προς την περιφέρεια του, ενώ αποκτά σκουρότερη απόχρωση με την ωρίμανση. Τα ελάσματα είναι πλατιά και πυκνά, όμοιου χρώματος με τον πύλο. Ο στύπος έχει μήκος 4-7,5 cm, και πάχος 0,4-0,6 cm. Είναι λεπτός, με χόνδρους και εσοχές κατά την ωρίμανση, περιστρεφόμενος, με υγρή και λεία επιφάνεια, χωρίς την παρουσία πέπλου. Τα σπόρια είναι διαστάσεων 7,5-9,5 X 4,5-5 μm, ελλειπτικού σχήματος, λεία στη υφή και λευκού χρώματος (Largent, 1985; Bas et al., 1990).

7.16. *Hygrophorus russula* (Schaeff.) Kauffman



Ο βιότοπος ανάπτυξης του Υγροφόρου του κοκκινωπού είναι συνήθως τα δάση βελανιδιάς τους Φθινοπωρινούς μήνες. Διαθέτει πύλο χωνιόμορφο διαμέτρου 5-10 cm, αρχικά λείο και ημισφαιρικό που μεταπίπτει σταδιακά σε κυρτό και ελαφρώς ινώδες. Εμφανίζει λευκορόδινο χρώμα με πορφυρές κηλίδες καθώς ωριμάζει και περίμετρο λευκή και γυριστή προς τα ελάσματα. Η σάρκα του είναι λευκή, όπως λευκά με πορφυρές κηλίδες είναι και τα πυκνά ελάσματα στην κάτω επιφάνεια του καπέλου. Ο στύπος έχει παρόμοιο χρωματισμό με τον πύλο είναι συμπαγής και ινώδης κατά μήκος, ενώ οι διαστάσεις του κυμαίνονται μεταξύ 4-8 x 1,5-2,5 cm. Τα σπόρια είναι επίσης λεία, ελλειπτικά με λευκό αποτύπωμα, όπως και στα υπόλοιπα είδη του γένους, ενώ το μέγεθος τους ποικίλλει από 6-8 x 3-4,5 μm (Largent, 1985).

7.17. *Latarius salmonicolor* R. Heim & Leclair



Είδος που φύεται ομαδικά σε ελατοδάση το Καλοκαίρι και το Φθινόπωρο και αν κοπεί εκκρίνει γαλακτώδες υγρό πορτοκαλί χρώματος, το οποίο μεταχρωματίζεται μετά την πάροδο του χρόνου σε ρόδινο. Ο πύλος του έχει διάμετρο 8-12 cm, είναι κοίλος με κυρτή αρχικά περίμετρο που στην ωριμότητα μεταπίπτει σε κυματιστή. Τα ελάσματα είναι λεπτά και πυκνά, χρώματος όμοιου με τον πύλο και ακουμπούν στην επιφάνεια του στύπου. Ο στύπος διαστάσεων 5-9 x 2-3 cm, έχει χρώμα ροδινοπορτοκαλί, σχήμα κυλινδρικό ή κωνικό, συμπαγές στα πρώιμα στάδια ωριμότητας με ωχροπορτοκαλί μυκήλιο στη βάση του και διάσπαρτες βαθύχρωμες οπές κατά μήκος (Verbeke, 2001).

7.18. *Lepista nuda* (Bull.) Cooke



Ο πύλος του καρποσώματος είναι διαμέτρου 4-14 εκατοστών, πλατύς, κυρτός, που με την ωρίμανση μετατρέπεται σε σχετικά επίπεδο. Η περιφέρεια πύλου αντίστοιχα είναι ελαφρώς κυρτή και ομαλή αρχικά, οξύληκτη, κυματιστή ή σε σχήμα λοβού στην ωριμότητα και η επιφάνεια της λεία και υγρή, σε αποχρώσεις του μοβ. Ο στύπος έχει μήκος 3-6,5 cm και πάχος 1-2,5 cm, είναι κυλινδρικός ή ροπαλόμορφος, συμπαγής, ινώδης κατά μήκος και διαθέτει χρωματικούς τόνους παρόμοιους με αυτούς του πύλου. Τα ελάσματα είναι πλατιά και πυκνά, κλειστά, χρώματος μοβ που μεταχρωματίζονται σε καφέ με την ωρίμανση. Τα σπόρια τέλος, είναι χρώματος ανοιχτού ροζ- κίτρινου, διαστάσεων 6-8 X 4-5 μm, με τραχεία επιφάνεια. Η Λεπίστα η γυμνή είναι γνωστή στους ερασιτέχνες συλλέκτες ως Γερανομανίτης, Μπλαβαμνίτης, Πρινίτης ή Δαφνίτης. Φύεται από τον Απρίλιο έως τον Δεκέμβριο μεμονωμένα ή σε συστάδες κυκλικού σχήματος, κάτω από μια πλειάδα σκληρόξυλων και κωνοφόρων δέντρων. Μεμονωμένα καρποσώματα μπορεί να συναντήσει κανείς και σε όχθες χειμάρρων ή ποταμών, συνήθως κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού (Agora, 1986; Carluccio, 2003).

7.19. *Macrolepiota procera* var. *procera* (Scop.) Singer



Είναι το πιο διαδεδομένο εδώδιμο μανιτάρι στην Δυτική Μακεδονία, γνωστό και ως Ζαρκαδίσιο, Ελαφίνα ή Αδραχίτης. Απαντάται σε ξέφωτα και ηλιόλουστες θέσεις δασών, βοσκότοπων και θαμνότοπων από το Μάιο έως το Νοέμβριο.

Ο αρχικά βολβώδης πύλος μετατρέπεται σταδιακά σε καμπανόμορφο με πλατιά θηλή

στο κέντρο. Η περίμετρος του είναι οδοντωτή αρχικά και λεία στην ωριμότητα, ενώ το χρώμα του λευκό με ομόκεντρα κοκκινοκαφετιά λεία μεγαλύτερης πυκνότητας κεντρικά. Τα ελάσματα στην κάτω επιφάνεια του καπέλου είναι λευκού χρώματος και η διάμετρος του κυμαίνεται μεταξύ 10-30 cm. Ο στύπος διαθέτει βολβώδη βάση και μεμβρανώδες δακτυλίδι καφέ απόχρωσης. Το χρώμα του είναι λευκωπό με παράλληλες τεθλασμένες καφέ ζώνες και η συνήθης διάσταση του είναι 15-35 x 1-2 cm. Τα σπόρια είναι λευκά, ενώ το μέγεθος τους κυμαίνεται από 12,5-18 x 8,5-11 μm (Agora, 1986).

7.20. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.



Η λέξη *Pleurotus* προέρχεται από την εκλατινισμένη αρχαία ελληνική λέξη «πλευρικός ούς» που σημαίνει πλευρικό αυτί. Ο όρος περιγράφει το πώς φύεται το συγκεκριμένο είδος στο φυσικό του περιβάλλον. Στη φύση, το μανιτάρι *Pleurotus ostreatus* φύεται πάνω σε νεκρούς

κορμούς πλατύφυλλων δέντρων και ελάτου πλαγίως, χωρίς να σχηματίζει στύπο. Στα μανιτάρια του γένους *Pleurotus* περιλαμβάνονται περίπου 15-20 είδη μανιταριών με ενδεικτικά τα: *P. ostreatus*, *P. cornucopiae*, *P. dryinus*, *P. pulmonarius*, *P. eryngii*, *P. cystidiosus*, *P. abalonus*, *P. tuber-regium*, *P. calyptratus* (Zervakis & Balis, 1996). Ο Πλευρωτός ο οστρεώδης χαρακτηρίζεται από ποικίλα χρώματα πύλου (καπέλο) όπως το λευκό, γκρι, καφετί, μαύρο, ωχρό, κίτρινο και μπλε. Το χρώμα καθορίζεται από τον γενότυπο με την παραγωγή συγκεκριμένων χρωστικών κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες φωτισμού, υγρασίας και θερμοκρασίας όπως συμβαίνει σε πολλά λαχανικά

και φρούτα . Το μέγεθος του πύλου είναι συνήθως μεσαίο έως μεγάλο (5-15 εκατ.), ημισφαιρικό με μορφή όστρακου και περίμετρο κυματιστή και γραμμωτή στην ωριμότητα. Ο στύπος είναι μικρός και έκκεντρος, πολλές φορές ανύπαρκτος ενώ το χρώμα των ελασμάτων του είναι λευκό ή υπόλευκο και τα σπόρια $7.5-9 \times 3.5-4.5 \mu\text{m}$, λεία με λευκό αποτύπωμα (Bas et al., 1990).

7.21. *Ramaria largentii* Marr & D.E. Stuntz



Η Ραμάρια του Largent, γνωστή και ως Κοράλλι ή Περδικοκλώνανο απαντάται σε κυκλικούς σχηματισμούς σε δάση κωνοφόρων και ιδιαίτερα σε δάση ελάτης. Διαθέτει βολβώδη χρυσοκίτρινο κορμό με λευκή βάση, διαστάσεων $2-4 \times 2-5 \text{ cm}$, από τον οποίο ξεκινούν διακλαδιζόμενοι κυλινδρικού σχήματος κλώνοι πάχους 1 εκατοστού, οι οποίοι αμφότεροι διακλαδίζονται στην κορυφή τους σε κοντύτερους κλώνους με δύο άκρα. Η σάρκα της είναι λευκή, ινώδης και συνεκτική, ενώ τα σπόρια της εμφανίζουν τραχιά εξογκώματα και το μέγεθος τους ποικίλλει από $12-15 \times 4-5 \mu\text{m}$ (Exeter, 2006).

7.22. *Russula delica* Fr.



Το καρπόσωμα του είδους είναι ευρέως διαδεδομένο στα Ελληνικά δασικά οικοσυστήματα από το Μάιο έως τον Νοέμβριο. Διαθέτει πύλο αρχικά κυρτό που μετασχηματίζεται αργότερα σε κοίλο ή χωνιόμορφο, λευκωπό, ελαφρώς χνουδωτό με αδιαφανή κυματιστή ή λοβωτή περίμετρο και διάμετρο της τάξης των 5-15cm. Τα ελάσματα στην κάτω επιφάνεια του καπέλου είναι σχετικά αραιά, αρχικά λευκά με καφέ τόνους στην ωριμότητα, σκληρά, και κατερχόμενα στον στύπο μερικώς. Αντίστοιχα, ο στύπος είναι σκληρός, κυλινδρικός, βραχύς και παχύς με λευκό ή ωχρο χρώμα αρχικά έως καφέ σε πλήρη ανάπτυξη και διαστάσεις που κυμαίνονται από $4-8 \times 3-5 \text{ cm}$. Τα σπόρια είναι λευκά ή κρεμ, κονδυλώδη, ελλειπτικά ή ημισφαιρικά, διαστάσεων $8-11 \times 7-8 \mu\text{m}$ (Arora, 1986; Phillips, 2006).

7.23. *Suillus granulatus* (L.) Roussel



Σχεδόν αποκλειστικός ξενιστής του Σουίλλου του κοκκώδη είναι το πεύκο, γι' αυτό και η συνήθης λαϊκή του ονομασία εκτός από σφουγγάρι είναι Πευκίσιο. Είναι εδώδιμο είδος εφόσον αφαιρεθεί από την γλοιώδη επιφάνεια του πύλου του η επιδερμίδα. Ο πύλος του έχει διάμετρο 4-10 cm, κυρτό αρχικά σχήμα που μεταπίπτει σε

επίπεδο με την ωριμότητα και ωχροκίτρινο έως ωχροκοκκινωπό χρώμα.

Όταν η σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας είναι υψηλή, η υφή του καρποσώματος είναι γλοιώδης. Διαθέτει επίσης στην κάτω επιφάνεια του πύλου, κιτρινωπούς σωληνίσκους, μήκους 0,5-1 cm, με σύνθετους πολυγωνικούς - λαδοκίτρινους πόρους. Ο στύπος είναι κυλινδρικός, διαστάσεων 4-10 x 0,7-2 cm, με λευκό ή λευκοκιτρινωπό μυκήλιο, έχοντας λεπτότερη βάση και καστανούς αδένες κατά την ωρίμανση. Τα σπόρια έχουν χρώμα κανελί έως καφέ, είναι λεία και οι διαστάσεις τους κυμαίνονται από 7-9 x 2,5-3,5 μm (Agora, 1986).

8. Χαρακτηριστικά περιοχής μελέτης

A. Γεωλογικά στοιχεία

Τα κυριότερα μορφολογικά χαρακτηριστικά του Νομού Ιωαννίνων και του τμήματος του Νομού Γρεβενών που αποτελούν τις περιοχές μελέτης είναι οι ψηλές επιμήκεις οροσειρές και οι στενές κοιλάδες. Το συγκεκριμένο μορφολογικό ανάγλυφο οφείλεται αφενός στη γεωλογική και τεκτονική δομή της περιοχής και αφετέρου στη λιθολογική αντίθεση που υπάρχει μεταξύ των ασβεστολιθικών και των αργιλοψαμμιτικών πετρωμάτων του φλύσχη. Γεωλογικά, οι οροσειρές είναι κυρίως αντίκλινα, που αποτελούνται από ασβεστόλιθους, ενώ οι κοιλάδες είναι σύγκλινα που αποτελούνται από φλύσχη. Ο ορεινός όγκος συγκροτείται κυρίως από ασβεστόλιθους και φλύσχη, που ευνοούν τη δημιουργία περιεργων γεωλογικών σχηματισμών και σπηλαίων, ενώ μεταξύ των ορεινών όγκων δημιουργούνται μικρές εύφορες πεδιάδες, μακρόστενες κοιλάδες και απότομα φαράγγια, όπως το φαράγγι του Αώου και η χαράδρα του Βίκου που αποτελούν και περιοχές συλλογής δειγμάτων της παρούσας διατριβής. Έτσι η περιοχή μελέτης, αποτελεί τμήμα της βόρειας Πίνδου και οριοθετείται από τους ορεινούς όγκους της Τύμφης στα βόρεια, του Μιτσικελίου στα νότια, της Βασιλίτσας – Μαυροβονίου στα ανατολικά και της λεκάνης του Καλπακίου στα Δυτικά (Κατσικάτσος, 1992).

Η εικόνα του φυσικού ανάγλυφου και λαμβάνοντας υπόψη την εικόνα στο σύνολο της ευρύτερης περιοχής, χαρακτηρίζει περιοχές, οι οποίες από άποψη γεωμορφολογικής εξέλιξης βρίσκονται σε στάδιο “προχωρημένης νεότητας” και δεν έχουν φθάσει ακόμα σε κατάσταση ισορροπίας.

Αυτό είναι απόρροια των έντονων τεκτονικών κινήσεων που έχουν επιδράσει στην περιοχή, της λιθολογικής σύστασης των γεωλογικών σχηματισμών και των υδρογεωλογικών χαρακτηριστικών τους. Οι περιοχές που καλύπτονται από φλυσχικά υλικά παρουσιάζουν ήπιες σχετικά κλίσεις και περιορισμένες υψομετρικές διαφορές. Το υδρογραφικό δίκτυο είναι δενδριτικής μορφής και ιδιαίτερα πυκνό, δεδομένου ότι οι σχηματισμοί αυτοί ευνοούν την επιφανειακή απορροή έναντι της κατεΐσδυσης. Αντίθετα στις περιοχές όπου αναπτύσσονται ασβεστολιθικά υλικά το φυσικά ανάγλυφο γίνεται εντονότερο, η πυκνότητα του υδρογραφικού δικτύου μειώνεται αλλά η διάβρωση συνεχίζεται σε βάθος, και σε συνδυασμό με τεκτονικά αίτια (ρήγματα) σχηματίζονται εντυπωσιακά σχεδόν κατακόρυφα πρηνή μεγάλου ύψους (π.χ. φαράγγι του Βίκου) (Κατσικάτσος, 1992).

B. Ειδικά γεωμορφολογικά χαρακτηριστικά

Στην περιοχή συναντώνται μορφολογικά στοιχεία τα οποία είναι ιδιαίτερα σπάνια για τη χώρα, συνθέτουν ενδιαφέροντα τοπία, και θα πρέπει να προστατευθούν προκειμένου να διατηρηθούν ή/και αναδειχθούν (Κούκης, Γ. Καλλέργης, 1985) .

- Παγετώδεις αποθέσεις λίθων.

Υπάρχουν σε αρκετά σημεία της περιοχής με σημαντικότερες από μορφολογικής και αισθητικής άποψης εμφανίσεις να βρίσκονται στις πλαγιές της Τύμφης. Πρόκειται για μεγάλες εκτάσεις με λίθους συχνά μεγάλου όγκου, που έχουν μεταφερθεί από παγετώνες κατά τις παγετώδεις περιόδους και αποτέθηκαν με το λιώσιμο των παγετώνων, δίνοντας την εικόνα «ποταμών πέτρας».

- Μικρές λίμνες σε μεγάλα υψόμετρα.

Είναι λίμνες παγετώδους προέλευσης όπως η Δρακόλιμνη Γκαμήλας

- Καρστικά έγκοιλα και γλυφές διαφόρων τύπων σε μεγάλη έκταση στο Υψίπεδο της Τύμφης.
- Το Υψίπεδο της Τύμφης με τις ήπιες κλίσεις και τις κατά τόπους επιμήκεις εμφανίσεις των γεωλογικών στρωμάτων.
- Φαράγγι του Βίκου με τα κατακόρυφα τοιχώματα.
- Οι ορθοπλαγιές της Γκαμήλας (Τύμφης) και της Αστράκας.
- Περιοχές με εντυπωσιακές εμφανίσεις πλακώδους ασβεστολίθου όπως στην περιοχή των λουτρών μεταξύ Μικρού και Μεγάλου Πάπιγκου στην περιοχή Τσουκνίδα, και βορείως του Μονοδενδρίου, στην περιοχή των Κήπων κ.α..

1. Γεωτεκτονική τοποθέτηση

Το μεγαλύτερο τμήμα της περιοχής καλύπτεται από σχηματισμούς που ανήκουν στην Ιόνια γεωτεκτονική ζώνη. Στο ανατολικό άκρο της περιοχής αναπτύσσονται εκτεταμένες εκτάσεις με σχηματισμούς της ζώνης Ωλονού - Πίνδου η οποία βρίσκεται επωθημένη πάνω στην Ιόνια ζώνη (Κατσικάτσος, 1992, Rassios, 2008).

Η Ιόνιος ζώνη χαρακτηρίζεται σαν μια ηπειρωτική λεκάνη με ημιπελαγική ως πελαγική ιζηματογένεση. Η ζώνη στο σύνολό της εφωπτεύει δυτικά στη ζώνη των Παξών. Χαρακτηριστικό τεκτονικό της γνώρισμα είναι τα επάλληλα μεγάλα σύγκλινα και αντίκλινα που επωθούνται και εφωπεύουν το ένα πάνω στο άλλο προς



τα δυτικά. Οι άξονές τους παρουσιάζουν γενικά μια διεύθυνση ΒΔ-ΝΑ που νοτιότερα κάμπτονται και γίνονται ΒΒΔ-ΝΝΑ και ΒΒΑ-ΝΝΔ (Rassios, 2007).

Η ζώνη Ωλονού - Πίνδου που χαρακτηρίζεται σαν μια βαθιά αύλακα ανάμεσα στα υβώματα της Πελαγονικής και Γαβρόβου, παρουσιάζει μεγάλες εναλλαγές στην ιζηματογένεση (ανθρακική, πυριτική, κλαστική) (Rassios, 2007).

Στην περιοχή επωθημένοι πάνω στα τεκτονικά καλύμματα της Πίνδου και συνήθως πάνω στον φλύσχη βρίσκονται οι οφειόλιθοι με υπερβασικό χαρακτήρα των πετρωμάτων τους, γνωστό με την ονομασία πελαγονικό κάλυμα (Rassios, 2007).

2. Γεωλογικοί σχηματισμοί

Η περιοχή ανήκει στην ανατολική εσωτερική Ιόνια ζώνη, και βρίσκεται στο μεγάλο σύγκλινο Ηπείρου - Ακαρνανίας που στα ανατολικά του δέχεται την επώθηση της ζώνης της Πίνδου. Η γραμμή της επώθησης αναπτύσσεται στα ανατολικά όρια της υπό μελέτης περιοχής με διεύθυνση σχεδόν βορά – νότου. (Κούκης, Καλλέργης, 1985).

3. Υδρογεωλογία

Υδρολιθολογία

Οι υδρογεωλογικές συνθήκες της περιοχής εξετάζονται ώστε να εκτιμηθεί η απορροή των επιφανειακών νερών, η κατείσδυση και η δυνατότητα ανάπτυξης υπόγειας υδροφορίας στις χαλαρές τεταρτογενείς αποθέσεις. Ο διαχωρισμός των σχηματισμών έγινε με βάση τα υδραυλικά χαρακτηριστικά τους (Κούκης, Καλλέργης, 1985), και διακρίνονται σε:

- Διαπερατούς σχηματισμούς
- Ημιδιαπερατούς σχηματισμούς
- Πρακτικά αδιαπέραστους σχηματισμούς

Τα γενικά υδρολιθολογικά χαρακτηριστικά των γεωλογικών σχηματισμών της περιοχής είναι τα εξής:

- Τα ανθρακικά πετρώματα είναι γενικά υδροπερατοί σχηματισμοί που χαρακτηρίζονται από ένα πορώδες αγωγών και παρουσιάζουν γεωμορφολογικά όλη την ποικιλία των καρστικών μορφών. Εντονότατη είναι η καρστικοποίηση των ασβεστολίθων του Παντοκράτορα και του Άνω Σενωνίου. Εξάιρεση αποτελεί ο σχηματισμός της Βίγλας που τόσο στα ανώτερα τμήματά του όσο και στη βάση του κυριαρχείται από πυριτικά και



αργυλικά υλικά που περιορίζουν αισθητά την υδροπερατότητά του σε βαθμό που όταν αποτελεί τον πυρήνα των αντικλινικών δομών θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι παίζει τον ρόλο αδιαπέρατου ορίου.

- Ο φλύσχος χαρακτηρίζεται σαν αδιαπέρατος σχηματισμός. Παρουσιάζει περιορισμένη υδροφορία με πορώδες κόκκων κύρια στις ψαμμιτικές ενστρώσεις, τα κροκαλοπαγή και τους ασβεστολίθους του.
- Οι σχιστόλιθοι, σχιστοκερατόλιθοι και οφιόλιθοι θεωρούνται γενικώς στεγανοί εκτός από τις ζώνες έντονης διάρρηξής τους. Στις επιφανειακές ζώνες αποσάθρωσης τους, σχηματίζονται ασθενείς τοπικές υδροφορίες που εκφορτίζονται με τη μορφή μικροπηγών.
- Οι αλλουβιακές αποθέσεις είναι γενικά σχηματισμοί με πορώδες κόκκων, και περατότητα κυμαινόμενη από την κοκκομετρική τους σύνθεση.

4. Στοιχεία εδαφολογίας

Το έδαφος προέρχεται από την αποσάθρωση των πετρωμάτων. Το υλικό αυτό αρχικά είναι αδρανές και ασύνδετο. Στη συνέχεια εξελίσσεται με την επίδραση των παραγόντων της εδαφογένεσης, που είναι: το κλίμα, το μητρικό υλικό, οι οργανισμοί (φυτικοί και ζωικοί), το ανάγλυφο του εδάφους και ο χρόνος. Συνεπώς το έδαφος κατά την εξέλιξή του δεν είναι αδρανές πλέον αλλά συμπεριφέρεται σαν ζωντανός οργανισμός που εξελίσσεται συνεχώς για μακρό χρονικό διάστημα μέχρι να φθάσει στην πλήρη ωρίμανσή του. Τότε παύουν σχεδόν να λαμβάνουν χώρα ουσιώδεις μεταβολές ορατές στην κατανομή του (Κατσικάτσος, 1992).

Η υπεροχή ενός ή περισσότερων παραγόντων, έναντι των άλλων της εδαφογένεσης, καθώς και η διαφορετική έντασή τους, έχουν ως αποτέλεσμα να καθορίζουν ορισμένες κατευθύνσεις στην εδαφογένεση. Λόγω της αιτίας αυτής στις διάφορες κλιματικές ζώνες σχηματίζονται διαφορετικοί τύποι εδαφών (Κατσικάτσος, 1992).

Ο βασικότερος από τους παράγοντες της εδαφογένεσης είναι το κλίμα, όπως διαπιστώθηκε από τα τέλη του περασμένου αιώνα. Αλλαγή του μακροκλίματος συνεπάγεται μεταβολή του εδάφους και σε κάθε κλιματική ζώνη αντιστοιχεί και διαφορετικός τύπος εδάφους. Η σχέση του μακροκλίματος και της ζωτικότητας των εδαφών φαίνεται από την απλή σύγκριση των εδαφικών τύπων, που απαντούν σε διάφορες κλιματικές περιοχές (Κατσικάτσος, 1992).

Όλα τα κλιματικά στοιχεία επιδρούν κατά κάποιο τρόπο στην εδαφογένεση, άλλα σε μεγαλύτερο και άλλα σε μικρότερο βαθμό. Εκείνα όμως που έχουν αποφασιστική σημασία σε αυτή είναι το νερό της βροχής και η θερμοκρασία.

Η επίδραση του νερού στο έδαφος είναι φυσική και χημική. Κατά τη ροή του παρασύρει και μεταφέρει υλικά του εδάφους σε μεγάλες αποστάσεις, τα οποία εναποθέτει στις εκβολές των ποταμών ή σε κοιλάματα του εδάφους. Έτσι έχουν σχηματισθεί τα αλλουβιακά εδάφη, τα οποία αποτελούν τις εύφορες πεδιάδες της Άρτας, της Λάμαρης, του Αχέροντα, του Καλαμά, καθώς και τα λεκανοπέδια των Ιωαννίνων, της Κόνιτσας και άλλες καλλιεργήσιμες εκτάσεις (Κατσικάτσος, 1992).

Το εδαφικό υλικό που μεταφέρεται με το νερό στα χαμηλά υψόμετρα προέρχεται από τις επικλινείς πλαγιές των οροσειρών και των λόφων, όπου εκεί παρατηρούνται έντονα τα φαινόμενα της διάβρωσης. Η διάβρωση στην περιοχή μελέτης είναι έντονη, λόγω των άφθονων βροχοπτώσεων και του ανώμαλου ανάγλυφου του εδάφους, με πολύ δυσμενείς επιπτώσεις στην οικονομία. Τεράστιες ποσότητες γόνιμου εδάφους μεταφέρονται στη θάλασσα και δημιουργούνται άγονα σκελετικά εδάφη στα ορεινά, τα οποία δεν προσφέρονται για καμιά εκμετάλλευση (Κατσικάτσος, 1992).

Οι βασικές χημικές διεργασίες του νερού στο έδαφος είναι η υδρόλυση και η ενυδάτωση. Αυτές δρουν στα πρωτογενή και δευτερογενή ορυκτά της αργίλλου, προκαλούν αλλοιώσεις σε αυτά και τελικά δημιουργούνται άλλα ορυκτά με διαφορετικές φυσικές και χημικές ιδιότητες. Το λεπτό εδαφικό υλικό που δημιουργείται από τις διεργασίες αυτές και τα υδατοδιαλυτά άλατα του εδάφους μετακινούνται με τη βοήθεια του νερού σε βαθύτερα στρώματα μέσα στη μάζα του εδάφους και εναποτίθενται σε κάποιο βάθος. Έτσι έχουμε σχηματισμό ιλλουβιακών οριζόντων στο βάθος αυτό του εδάφους και οξίνιση του επιφανειακού στρώματος από την έκπλυση του ασβεστίου (Κούκης, Καλλέργης, 1985).

Οι χημικές διεργασίες εκδηλώνονται σε υγρά και ψυχρά κλίματα. Έτσι, ανάλογα με το βαθμό της υγρότητας και του ψύχους έχουμε εντονότερο ή ασθενέστερο το φαινόμενο της ιλλουβίωσης και της έπλυσης αλάτων. Σε θερμότερα και ξηρότερα κλίματα δεν παρατηρείται έκπλυση κατά βάθος στο έδαφος του λεπτού εδαφικού υλικού και του ασβεστίου, οπότε έχουμε αλκαλικά εδάφη (Κούκης, Καλλέργης, 1985).

Εκτός από τη δράση του νερού στην εδαφογένεση σημαντική είναι και αυτή της θερμοκρασίας. Τα πετρώματα αποτελούνται από κρυστάλλους, οι οποίοι έχουν



διαφορετικό συντελεστή συστολής και διαστολής. Έτσι, με τη μεταβολή της θερμοκρασίας οι κρύσταλλοι συστέλλονται και διαστέλλονται ανομοιόμορφα, οπότε δημιουργούνται ρωγμές στο πέτρωμα. Στις ρωγμές αυτές εισέρχεται το νερό, που και αυτό με τη συστολοδιαστολή του χαλαρώνει ακόμα περισσότερο το υλικό και έτσι η χημική δράση ασκείται σε μεγαλύτερη επιφάνεια. Οι κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας διευκολύνουν την αποσύνθεση της οργανικής ουσίας και δημιουργούνται οξέα, τα οποία συμβάλλουν στην εδαφογένεση (Κούκης, Καλλέργης, 1985)..

Οι διαφορετικές κλιματικές συνθήκες που επικρατούν στο χώρο της περιοχής μελέτης, έδωσαν διαφορετικές κατευθύνσεις στην εδαφογένεση και σχηματίστηκαν διάφοροι εδαφικοί τύποι, από τους οποίους εν συντομία περιγράφονται οι κυριότεροι (Κούκης, Καλλέργης, 1985, Rassios, 2008).

Όρφνά δασικά εδάφη (*Ochrepts*)

Σχηματίζονται πάνω σε ασβεστολιθικό υλικό σε δασώδεις περιοχές, όπου επικρατούν άφθονες βροχές και σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες. Απαντούν στο βόρειο και βορειοανατολικό τμήμα της Ηπείρου, δηλ. στην οροσειρά της Πίνδου. Πρόκειται για εδάφη ελαφρώς όξινα λόγω εκπλύσεως του ασβεστίου.

Όξινα ορφνά δασικά εδάφη (*Dystrochrepts*)

Τα εδάφη αυτά θεωρούνται ως παραλλαγή των προηγούμενων και χαρακτηρίζονται από πλήρη έκπλυση του ασβεστίου λόγω των υψηλών βροχοπτώσεων. Αναπτύσσονται σε υγρές περιοχές μεγάλου υψομέτρου και επί μετρίου όξινου μητρικού υλικού. Τέτοια εδάφη απαντούν σε υψηλές περιοχές της Πίνδου.

Όρφνά ποτισολικά εδάφη (*Typorthods*)

Σχηματίζονται στο φλύσχη κάτω από δάση πεύκης και ελάτης, όπου επικρατούν άφθονες βροχές και χαμηλές σχετικά θερμοκρασίες. Στα εδάφη αυτά εκδηλώνεται ελαφρά διεργασία ποτισολίωσης και απαντούν στη μεσημβρινή και κεντρική Πίνδο.

Εροθρογαίες (*rhodustalfs*)

Τα εδάφη αυτά γνωστά ως terra rossa είναι ευρύτατα διαδομένα στο νότιο τμήμα της περιοχής μελέτης, όπου το κλίμα είναι ζεστότερο και ξηρότερο. Σχηματίζονται πάνω σε ασβεστολιθικό πέτρωμα και προήλθαν ύστερα από



αποσάθρωση του πετρώματος, πλήρη έκπλυση του ασβεστίου και σχετικό εμπλουτισμό σε οξείδια του σιδήρου, που τους προσδίδουν και το ερυθρό χρώμα. Πρόκειται για υλικό παλαιότερων γεωλογικών περιόδων.

Ρεντζίνες (Rendolls)

Σχηματίζονται σε ασβεστολιθικό υλικό κάτω από δάση πλατύφυλλων αειθαλών και φυλλοβόλων δένδρων. Πρόκειται για αλκαλικά εδάφη, τα οποία είναι ευρύτατα διαδεδομένα στην ημιορεινή και ορεινή περιοχή.

Άλλουβιακά εδάφη (Entisols)

Πρόκειται για τα εδάφη των κοιλάδων, τα οποία σχηματίστηκαν από το εδαφικό υλικό που μεταφέρθηκε με τα όμβρια ύδατα και εναποτέθηκε στις περιοχές αυτές. Αποτελούν τις εύφορες περιοχές, όπου αναπτύσσεται εντατική γεωργική εκμετάλλευση. Τα εδάφη αυτά, κατά το πλείστο, είναι πρόσφατα μη εξελιγμένα και στερούνται συνήθως διαγνωστικών οριζόντων εκτός από έναν επιφανειακό, που διακρίνεται από το χρώμα του.

Γ. Περιβαλλοντικές συνθήκες

1. Κλιματολογικές συνθήκες

Η Ελλάδα βρίσκεται μεταξύ των παραλλήλων 34° και 42° του Βορείου ημισφαιρίου και βρέχεται από την Ανατολική Μεσόγειο. Το κλίμα της έχει σε γενικές γραμμές τα χαρακτηριστικά του Μεσογειακού κλίματος, δηλαδή ήπιους και βροχερούς χειμώνες, σχετικά θερμά και ξηρά καλοκαίρια και μεγάλη ηλιοφάνεια όλο σχεδόν το χρόνο. Από κλιματολογικής πλευράς το έτος μπορεί να χωριστεί κυρίως σε δύο εποχές: Την ψυχρή και βροχερή χειμερινή περίοδο που διαρκεί από τα μέσα του Οκτωβρίου και μέχρι το τέλος Μαρτίου και τη θερμή και άνομβρη εποχή που διαρκεί από τον Απρίλιο έως τον Οκτώβριο (Εθνική Μετεωρολογική Υπηρεσία Ελλάδας, www.emy.gr).

Επίσης, η τοπογραφική διαμόρφωση της χώρας με μεγάλες διαφορές υψομέτρου και εναλλαγή ξηράς και θάλασσας προκαλεί κλιματικές κατά τόπους διαφοροποιήσεις, με αποτέλεσμα το κλίμα της Βόρειας και Δυτικής Ελλάδας να χαρακτηρίζεται υγρό μεσογειακό (Ε.Μ.Υ), που θεωρείται ένας κλιματικός τύπος που ευνοεί την ανάπτυξη των καρποφοριών των μυκήτων τις περιόδους της Άνοιξης και του Φθινοπώρου.



Γενικά, οι υψηλές οροσειρές προκαλούν φραγμό στους ανέμους και διαφοροποιούν το κλίμα. Η Πίνδος με το μεγάλο ύψος των οροσειρών της φράζει τους Ν – ΝΔ θερμούς και υγρούς ανέμους κατά την ψυχρή περίοδο, οι οποίοι τελικά ανεβαίνουν τις δυτικές πλαγιές της όπου και ψύχονται, έτσι το υψόμετρο της Πίνδου συντελεί στις άφθονες βροχές της Ηπείρου, στην αύξηση της υγρασίας και της νέφωσης και στην ελάττωση της ηλιακής ακτινοβολίας. Επίσης, η οροσειρά της Πίνδου εμποδίζει και τους Β – ΒΑ ανέμους κατά τον χειμώνα οι οποίοι κατεβάζουν αισθητά την θερμοκρασία.

Υγρασία

Η μέση τιμή της μηνιαίας σχετικής υγρασίας καθ' όλη τη διάρκεια του έτους καθώς και του επίπεδου των βροχοπτώσεων στους μετεωρολογικούς σταθμούς Ιωαννίνων και Κοζάνης της Εθνικής Μετεωρολογικής Υπηρεσίας για τα έτη 2005-2007 που περικλείουν γεωγραφικά την περιοχή συλλογής των δειγμάτων για την παρούσα διδακτορική διατριβή φαίνονται στα γραφήματα 1 & 2 που ακολουθούν.

Η περιοχή της μελέτης, χαρακτηρίζεται από σχετικά υψηλή υγρασία, που οφείλεται στις πολλές βροχές, στα επιφανειακά νερά, στους Ν και ΝΔ υγρούς ανέμους και γενικότερα στη γεωγραφική τους θέση και την τοπογραφική διαμόρφωση της περιοχής. Έτσι στις κοιλάδες και τα οροπέδια που υπάρχουν επιφανειακά νερά η σχετική υγρασία είναι αυξημένη, ενώ αντίθετα, στις ορεινές περιοχές και τους επικλινείς τόπους είναι αισθητά μειωμένη. Οι επικρατούντες άνεμοι συντελούν σε μεγάλο βαθμό στο κλιματικό αυτό στοιχείο. Στους ορεινούς τόπους η υγρασία έχει μικρότερες τιμές, λόγω της ελάττωσης που παρουσιάζει με την αύξηση του υψομέτρου. Η ετήσια πορεία στους σχετικής υγρασίας παρουσιάζει απλή κύμανση. Στην απλή κύμανση το μέγιστο σημειώνεται συνήθως το Νοέμβριο και τον Δεκέμβριο, που επικρατούν υψηλές βροχοπτώσεις και νότιοι υγροί άνεμοι, ενώ το ελάχιστο σημειώνεται τον Ιούλιο και τον Αύγουστο ακόμη και στις ορεινές περιοχές.

Στην αύξηση των αποθεμάτων νερού στην περιοχή συντελούν καταλυτικά και οι χιονοπτώσεις που επηρεάζονται καταλυτικά από την ορογραφία. Έτσι, οι χιονοπτώσεις είναι έντονες στο εσωτερικό της Ηπείρου και αυξάνονται προς τα ΒΑ που αναπτύσσεται η οροσειρά της Πίνδου. Η περιοχή μελέτης, ως ορεινή περιοχή και με υψηλές οροσειρές, δέχεται πολλά χιόνια κατά τη χειμερινή περίοδο στην ορεινή κυρίως ζώνη. Τα πρώτα χιόνια εμφανίζονται συνήθως κατά το δεύτερο δεκαπενθήμερο του Οκτωβρίου στις κορυφές της Πίνδου, ενώ στους χαμηλότερους



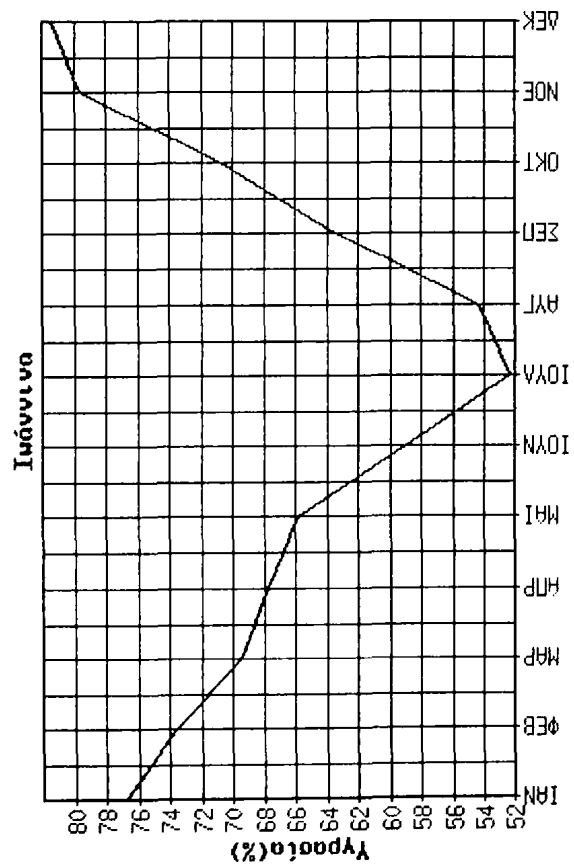
και ημιορεινούς τόπους μετά τα μέσα Νοεμβρίου. Χιονοπτώσεις σημειώνονται μέχρι τέλη Απριλίου σχεδόν στα μεγάλα υψόμετρα, ενώ σε σπάνιες περιπτώσεις και στις αρχές Μαΐου. Στα μέσα υψόμετρα διακόπτονται γύρω στα τέλη Μαρτίου. Η πορεία των ημερών χιονιού είναι απλή στη διάρκεια του έτους με μέγιστο το Φεβρουάριο και ακολουθεί ο Ιανουάριος και ο Μάρτιος.

Θερμοκρασία

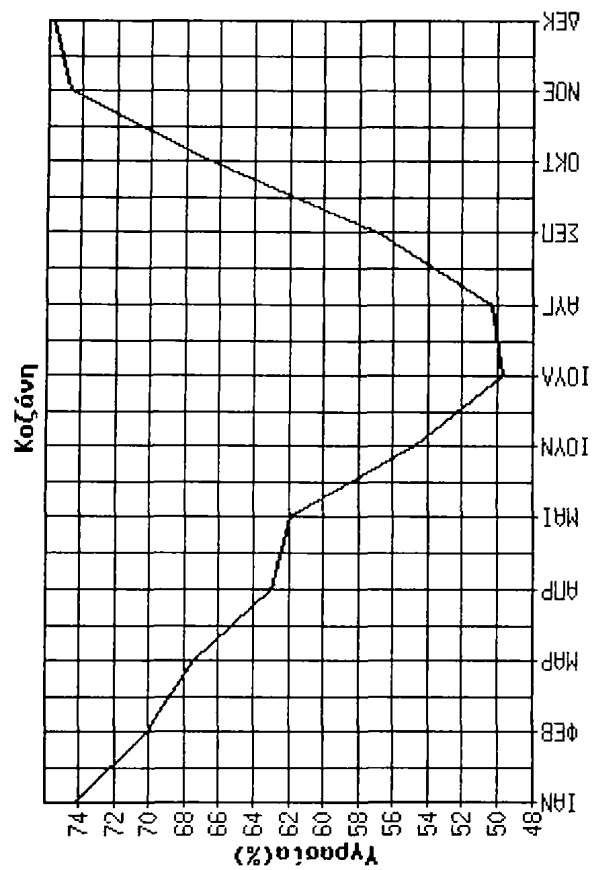
Στην περιοχή μελέτης, η οποία χαρακτηρίζεται από έντονα ακανόνιστο ανάγλυφο, συναντά κανείς μεγάλη ποικιλία στη θερμοκρασία του αέρα, με συνέπεια τη διαμόρφωση διαφορετικών κλιματικών συνθηκών και μεταξύ γειτονικών ακόμη περιοχών. Έτσι η ορεινή διαμόρφωση της περιοχής με τους μεγάλους ορεινούς όγκους και το έντονο υδρογραφικό σύστημα με κορυφές, κορυφογραμμές και βαθιές χαραδρώσεις, έχει σαν αποτέλεσμα την αισθητή μεταβολή του κλιματοεδαφικού περιβάλλοντος από θέση σε θέση. Η θερμοκρασία του αέρα αλλά και του εδάφους μεταβάλλεται προς την αντίθετη φορά. Η γεωγραφική διανομή της θερμοκρασίας του αέρα στην περιοχή καθορίζεται κυρίως από το υψόμετρο του εδάφους και την ηπειρωτικότητα αυτής. Οι θερμοκρασιακές αντιθέσεις του αέρα που επικρατούν στην περιοχή μελέτης, είναι έντονες, όπου ο γεωγραφικός παράγοντας και κυρίως η διάταξη των οροσειρών παίζουν βασικό ρόλο στη θερμοκρασιακή κατάσταση, που επικρατεί στο χώρο αυτό.

Στο γράφημα 3 που ακολουθεί δίνονται ενδεικτικά οι μέσες μηνιαίες τιμές θερμοκρασίας περιβάλλοντος των σταθμών Ιωαννίνων και Κοζάνης της Ε.Μ.Υ., που πιστοποιούν ότι οι ιδανικότεροι μήνες καρποφορίας από άποψη θερμοκρασίας σε συνδυασμό με την σχετική υγρασία (Γράφημα 1) είναι ο Απρίλιος, ο Μάιος και ο Ιούνιος την Άνοιξη-Καλοκαίρι, καθώς και ο Σεπτέμβριος, ο Οκτώβριος και ο Νοέμβριος το Φθινόπωρο-Χειμώνα. Ανάλογα με τα είδη, οι μεσόφιλοι μύκητες έχουν *minimum* θερμοκρασίας αναπτύξεως που κυμαίνεται μεταξύ 0 °C και 5 °C και *maximum*, μεταξύ 27 °C και 45 °C.



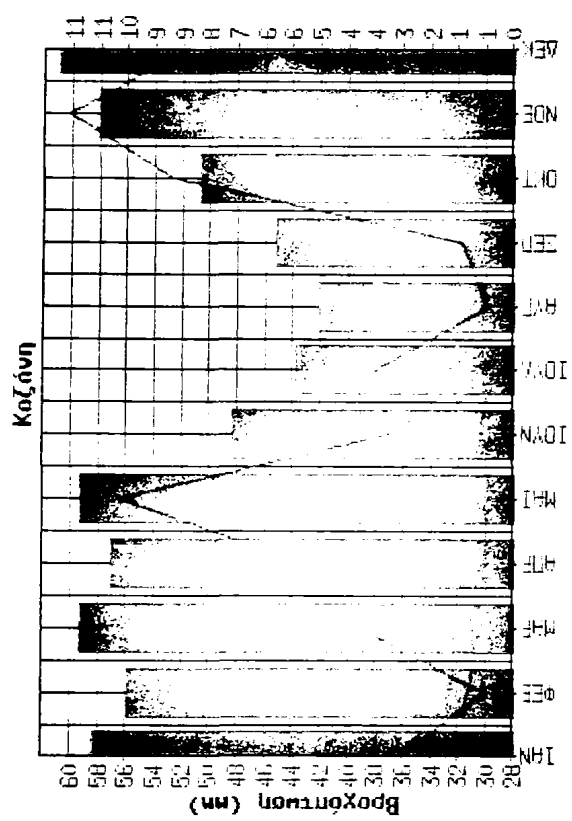
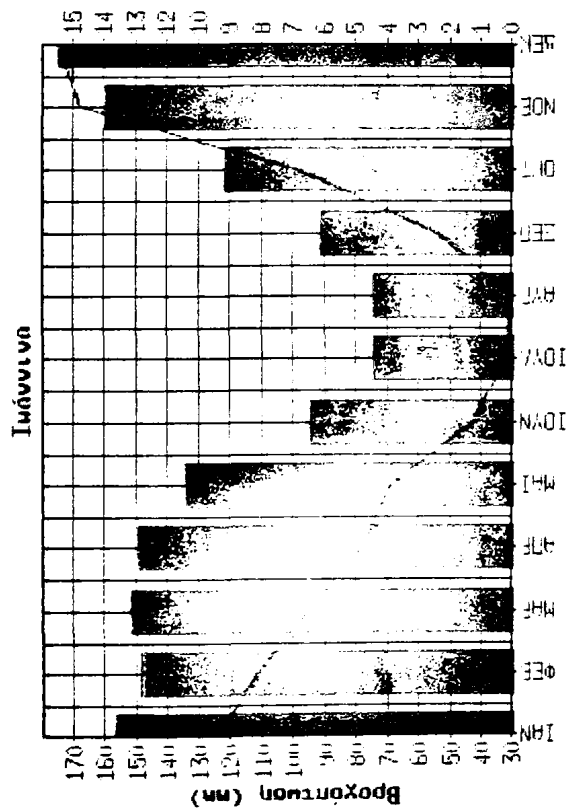


1° Εξάμηνο		ΙΑΝ	ΦΕΒ	ΜΑΡ	ΑΠΡ	ΜΑΙ	ΙΟΥΝ
Μέση Μηνιαία Υγρασία		76.9	73.7	69.5	67.9	65.9	59.1
2° Εξάμηνο		ΙΟΥΛ	ΑΥΓ	ΣΕΠ	ΟΚΤ	ΝΟΕ	ΔΕΚ
Μέση Μηνιαία Υγρασία		52.4	54.4	63.6	70.8	79.8	81.5



1° Εξάμηνο		ΙΑΝ	ΦΕΒ	ΜΑΡ	ΑΠΡ	ΜΑΙ	ΙΟΥΝ
Μέση Μηνιαία Υγρασία		74.2	70.1	67.5	63.0	62.0	54.8
2° Εξάμηνο		ΙΟΥΛ	ΑΥΓ	ΣΕΠ	ΟΚΤ	ΝΟΕ	ΔΕΚ
Μέση Μηνιαία Υγρασία		49.8	50.4	57.0	66.7	74.7	75.7

Γράφημα 1. Μέση τιμή μηνιαίας σχετικής υγρασίας Μετεωρολογικών σταθμών Ιωαννίνων και Κοζάνης (Ε.Μ.Υ.)

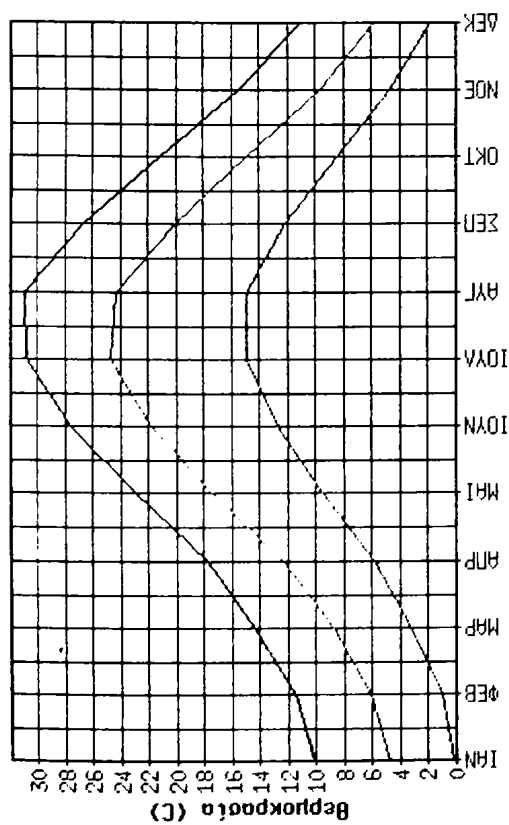


1 ^ο Εξάμηνο	ΙΑΝ	ΦΕΒ	ΜΑΡ	ΑΠΡ	ΜΙΑ	ΙΟΥΝ
Μέση Μηνιαία Βροχόπτωση	124.2	111.6	95.4	78.0	69.3	43.5
Συνολικός Μέσος Βροχίς	13.3	12.4	12.8	12.6	11.0	6.9
2 ^ο Εξάμηνο	ΙΟΥΛ	ΑΥΓ	ΣΕΠ	ΟΚΤ	ΝΟΕ	ΔΕΚ
Μέση Μηνιαία Βροχόπτωση	32.0	31.2	54.0	99.5	167.9	174.9
Συνολικός Μέσος Βροχίς	4.8	4.8	6.5	9.7	13.7	15.2

1 ^ο Εξάμηνο	ΙΑΝ	ΦΕΒ	ΜΑΡ	ΑΠΡ	ΜΑΙ	ΙΟΥΝ
Μέση Μηνιαία Βροχόπτωση	36.2	30.2	39.2	43.3	56.7	37.1
Συνολικός Μέσος Βροχίς	10.8	10.0	11.2	10.4	11.2	7.3
2 ^ο Εξάμηνο	ΙΟΥΛ	ΑΥΓ	ΣΕΠ	ΟΚΤ	ΝΟΕ	ΔΕΚ
Μέση Μηνιαία Βροχόπτωση	38.1	30.0	31.7	52.8	60.3	52.0
Συνολικός Μέσος Βροχίς	5.6	5.1	6.2	8.1	10.7	11.7

Γράφημα 2. Μέση τιμή μηνιαίου επιπέδου βροχοπτώσεων Μετεωρολογικών σταθμών Ιωαννίνων και Κοζάνης (Ε.Μ.Υ.)

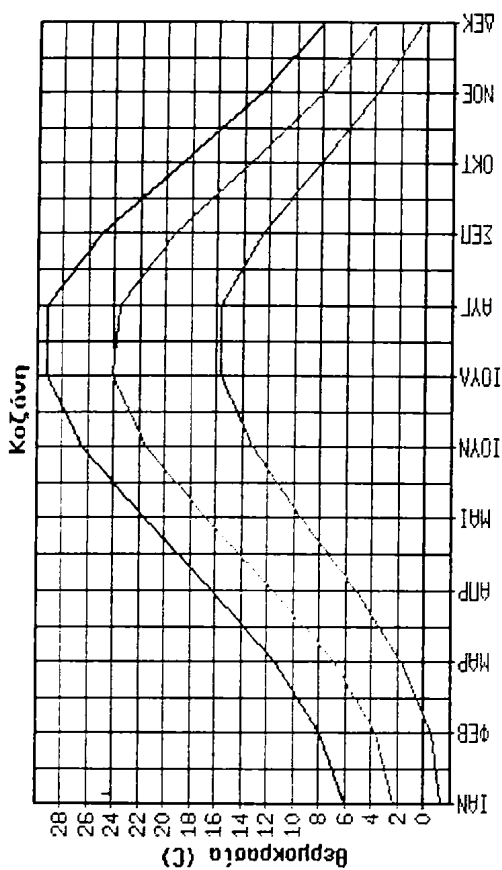




1° Εξάμηνο	ΙΑΝ	ΦΕΒ	ΜΑΡ	ΑΠΡ	ΜΙΑ	ΙΟΥΝ
Ελάχιστη Μηνιαία Θερμοκρασία	0.2	1.0	3.2	5.9	9.6	12.8
Μέση Μηνιαία Θερμοκρασία	4.7	6.1	8.8	12.4	17.4	21.9
Μέγιστη Μηνιαία Θερμοκρασία	10.1	11.5	14.4	17.7	23.0	27.6
2° Εξάμηνο	ΙΟΥΛ	ΑΥΓ	ΣΕΠ	ΟΚΤ	ΝΟΕ	ΔΕΚ
Ελάχιστη Μηνιαία Θερμοκρασία	14.9	15.0	12.2	8.5	4.7	1.8
Μέση Μηνιαία Θερμοκρασία	24.8	24.3	20.1	14.9	9.7	5.9
Μέγιστη Μηνιαία Θερμοκρασία	30.8	30.9	26.7	21.2	15.5	11.1

Γράφημα 3. Μέση τιμή μηνιαίας θερμοκρασίας περιβάλλοντος Ιωαννίνων και Κοζάνης (Ε.Μ.Υ.)

- Ελάχιστη θερμοκρασία – Μέση θερμοκρασία – Μέγιστη θερμοκρασία



1° Εξάμηνο	ΙΑΝ	ΦΕΒ	ΜΑΡ	ΑΠΡ	ΜΑΙ	ΙΟΥΝ
Ελάχιστη Μηνιαία Θερμοκρασία	-1.2	-0.5	1.8	5.2	9.5	13.2
Μέση Μηνιαία Θερμοκρασία	2.3	3.7	6.9	11.6	16.8	21.5
Μέγιστη Μηνιαία Θερμοκρασία	6.1	8.0	11.4	16.3	21.7	26.5
2° Εξάμηνο	ΙΟΥΛ	ΑΥΓ	ΣΕΠ	ΟΚΤ	ΝΟΕ	ΔΕΚ
Ελάχιστη Μηνιαία Θερμοκρασία	15.7	15.7	12.5	8.1	3.9	0.4
Μέση Μηνιαία Θερμοκρασία	24.1	23.6	19.3	13.5	8.0	3.9
Μέγιστη Μηνιαία Θερμοκρασία	29.3	29.2	25.0	18.8	12.7	8.0

2. Χλωρίδα

Στις περιοχές των Εθνικών δρυμών Πίνδου (Βάλια Κάλντα), Βίκου-Αώου, καθώς και στο κεντρικό Τμήμα Ζαγορίου που αποτελούν περιοχές μελέτης της παρούσας διατριβής, περιλαμβάνονται ορεινά και μεσογειακά χέρσα εδάφη με ακανθώδεις θάμνους, σταθερές διαπλάσεις με *Buxus sempervirens* των ασβεστολιθικών βραχωδών κοιτών, υψηλοί θαμνώνες με *Juniperus oxycedrus* και *Juniperus communis*, φρύγανα *Sarcopoterium spinosum*, καθώς και δάση φυλλοβόλων πλατύφυλλων και ορεινών κωνοφόρων δέντρων (Dimopoulos et al. 2005; Bergmeier, 2005; Tsigiridis et al., 2007; Δημόπουλος, 2007).

Στα εκτεταμένα δάση πλατύφυλλων κυρίαρχο είδος είναι η πλατύφυλλη δρυς (*Quercus frainetto*) που σχηματίζει ή αμιγείς ή μικτές συστάδες με άλλα είδη του γένους *Quercus* (*Q. cerris*, *Q. pubescens*) ή με *Carpinus orientalis*, *Ostrya carpinifolia*, *Fraxinus ornus*, *Castanea sativa*, *Acer* sp. Στην περιοχή του δάσους υπάρχουν μερικώς δασωμένες εκτάσεις με πουρνάρι (*Quercus coccifera*) ή ακόμα και γυμνό έδαφος. Το είδος *Juniperus communis* συμμετέχει στους σχηματισμούς των ξηρών ασβεστολιθικών λιβαδιών. Στα ανώτερα υψόμετρα η υβριδογενής ελάτη (*Abies borisii-regis*) σχηματίζει αμιγείς συστάδες ή μικτές συστάδες με μαυρόπευκο (*Pinus nigra*), οξιές (*Fagus sylvatica*) και διάφορα είδη φυλλοβόλων δρυών. Συναντώνται όμως και εκτεταμένα παρόχθια δάση με είδη ιτιάς (*Salix* sp.), λεύκας (*Populus* sp.) και πλατάνου (*Platanus orientalis*), αλλά και Μεσογειακά πευκοδάση με δασική πεύκη (*Pinus sylvestris*) και μεμονωμένα διάσπαρτα άτομα ίταμου (*Taxus baccata*) στις υγρές τοποθεσίες του κοινοτικού δάσους του Τσεπελόβου (Dimopoulos et al. 2005; Bergmeier, 2005; Δημόπουλος, 2007).



9. Σπουδαιότητα παραγωγής φυτικών αρωματικών συστατικών από καρποσώματα εδώδιμων μακρομυκήτων

Τόσο η νομοθεσία της Ε.Ε (C.E.C, 1991), όσο και αυτή των Η.Π.Α. (CRC,1993), αποσαφηνίζουν πλήρως ότι τα «φυσικά αρωματικά συστατικά» μπορούν να παραχθούν είτε μέσω φυσικών διαδικασιών, π.χ. με εκχύλιση φυσικών προϊόντων, είτε μέσω ενζυμικών ή μικροβιακών μεθόδων, στις οποίες εμπλέκονται πρόδρομες ενώσεις που απομονώνονται από το φυσικό περιβάλλον (Berger et al., 2002; Serra et al., 2005).

Εξάλλου, η προτίμηση των καταναλωτών για τα φυσικά προϊόντα, κατευθύνει την αγορά στην χρήση και αξιοποίηση φυσικών αρωματικών. Ένα πρόσθετο αρωματικό στην βιομηχανία τροφίμων που προέρχεται από φυσικές πηγές, πωλείται σε σημαντικά υψηλότερη τιμή σε σχέση με ένα που παρασκευάζεται χημικά. Για παράδειγμα, η τιμή της φυσικής βανιλίνης, είναι 80 έως 266 φορές ακριβότερη της συνθετικής (Walton et al., 2003). Περαιτέρω, οι εναντιοστερεοϊσομερείς αρωματικές ενώσεις συνήθως απαντώνται στη φύση ως μοναδικά εναντιομερή, με αποτέλεσμα να μην είναι ευκόλως παραγόμενες μέσω των λιγότερο επιλεκτικών κλασικών συνθετικών μεθόδων (Brenna et al., 2003).

Εν τω μεταξύ, η συνεχώς αυξανόμενη ευαισθησία των φυσικών οικοσυστημάτων υποστηρίζει την επιλογή φιλικών προς το περιβάλλον διαδικασιών για την παραγωγή των ανωτέρων συστατικών. Συνέπεια όλων όσων προαναφέρθηκαν είναι η ταχεία ανάπτυξη της ακαδημαϊκής έρευνας και της βιομηχανικής εκμετάλλευσης στον τομέα της βιοσύνθεσης αρωματικών συστατικών που παράγονται από πλήθος μικροοργανισμών. Στους μικροοργανισμούς αυτούς συγκαταλλέγονται και οι ανώτεροι μύκητες που παράγουν καρποσώματα, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως φυσικά αρωματικά.

Η πρώτη ακαδημαϊκή απόπειρα παραγωγής αρωματικών ενώσεων από βακτήρια έγινε το 1923 από τον ερευνητή Omelianski. Ωστόσο, η σπουδαιότητα της παραγωγής αρωμάτων που παράγονται από μικροοργανισμούς έγινε αντιληπτή ακαδημαϊκά, 30 χρόνια αργότερα, ενώ η βιομηχανική έρευνα για την βιοτεχνολογική σύνθεση φυσικών αρωμάτων δεν ξεκίνησε πριν τις αρχές της δεκαετίας του 80' (Gatfield, 1999). Από τα μέσα της ίδιας δεκαετίας, ένας αξιοσημείωτος αριθμός επιστημονικών δημοσιεύσεων σε τεχνικά περιοδικά και συνέδρια εστίασε στην παραγωγή αρωματικών συστατικών τόσο

από βακτήρια, όσο και από μύκητες (Schrader & Berger, 2001; Vandamme, 2003; Agrawal, 2004; Berger & Zorn, 2004).

Μεταξύ όλων των κατηγοριών μυκήτων, οι Βασιδιομύκητες είναι οι πλέον υποσχόμενοι υποψήφιοι οργανισμοί για την παραγωγή επιθυμητών αρωμάτων. Ξεκινώντας από τις αρχές της δεκαετίας του 50', οι ερευνητές επιχείρησαν να χρησιμοποιήσουν τα μανιτάρια ως φυσικούς αρωματικούς παράγοντες, εξαιτίας του μεγάλου βιοχημικού δυναμικού τους (Sugihara & Humfeld, 1954).

Οι Βασιδιομύκητες εμφανίζουν τη χαρακτηριστική ικανότητα αερόβιας αποσύνθεσης κυτταρίνης και λιγνίνης. Έτσι, αρωματικά συστατικά όλων των χημικών ομάδων έχουν ανευρεθεί στα καρποσώματα αλλά και στις καθαρές κυτταρικές καλλιέργειες των Βασιδιομυκήτων (Berger et al., 2002), κάνοντας τις μελέτες αυτές να αποκτούν εκτός από θεωρητικό ενδιαφέρον και εμπορική σπουδαιότητα. Βασιζόμενοι λοιπόν στις πρόσφατες έρευνες μπορούμε να συνοψίσουμε σε 5 κυρίαρχες τάσεις:

- Μολονότι τα αρώματα συντίθενται *de novo* στα καρποσώματα, η ποσότητα που παράγεται είναι μικρή. Άρα, μια ενδελεχής έρευνα των πτητικών συστατικών από συγκεκριμένα είδη αποτελεί βασική και κυρίαρχη ανάγκη για την αποκάλυψη του μηχανισμού σχηματισμού των αρωμάτων στα καρποσώματα. Οι εμπειρισταωμένες έρευνες μπορούν να ανοίξουν νέους ορίζοντες στην ανακάλυψη σχετικών ενζύμων και γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη του αρώματος. Το γεγονός αυτό, θα επιταχύνει τη διαδικασία βιοσύνθεσης των φυσικών αρωμάτων μηχανικά.
- Ακόμη είναι δυνατόν να απομονωθούν από τα καρποσώματα νέα στελέχη ειδικού ενδιαφέροντος (Trinci, 1995). Η βέλτιστη κατανόηση της μεταβολικής δραστηριότητας των μυκήτων στις φυσικές τους οικοθέσεις, μπορεί να διευκολύνει την έρευνα και την διάκριση των επιθυμητών αρωμάτων. Η βελτιστοποίηση της επιλογής των απομονωθέντων ειδών από διαφορετικά υποστρώματα και περιβάλλοντα θα αυξήσει την πιθανότητα ανεύρεσης νέων αρωματικών μεταβολιτών (Wildman, 1995). Η απόδοση της βιομετατροπής των χαμηλού κόστους συστατικών σε υψηλής αξίας πτητικές ενώσεις μπορεί να βελτιωθεί με προσεκτική επιλογή των στελεχών ή των ειδών των Βασιδιομυκήτων (Kaspera et al., 2005).



- Είναι ευρέως γνωστό ότι οι συνεχώς αυξανόμενες ποσότητες λιγνοκυτταρινούχων υπολειμμάτων, όπως ρύζι, άχυρο σιτηρών, κόνιοι καλαμποκιού, στελέχη-μίσχοι βαμβακιού και φλούδες δημητριακών, που προέρχονται από γεωργικές δραστηριότητες, δασώδεις περιοχές, φάρμες ζώων ή εργοστάσια παραγωγής ξυλείας, συχνά καίγονται ή καλύπτονται υπεδάφια, προκαλώντας μεγάλο περιβαλλοντικό κόστος (Anoliefo et al., 1999; Rinker, 2002). Βιομετατροπή αυτών των λιγνοκυτταρινούχων υλικών γεωργικής προέλευσης μέσω παραγωγής υποστρωμάτων ανάπτυξης σε είδη όπως τα *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus pulmonarius*, *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* και *Lentinula edodes* είναι δυνατόν να αποτελέσει ικανοποιητική διεργασία παραγωγής εδώδιμων προϊόντων υψηλής διατροφικής αξίας (Philippoussis et al., 2001; Zervakis et al., 2001; Philippoussis et al., 2003). Ωστόσο, πολλά αρωματικά συστατικά που σχηματίζουν δεσμούς με τα μακρομόρια της λιγνίνης, μπορούν επιλεκτικά να αποδεσμευθούν από τα καρποσώματα των μακρομυκήτων.
- Η αποσαφήνιση του αρωματικού προφίλ των μανιταριών μπορεί ακόμη να συμβάλει στην ανακάλυψη νέων δευτερογενών μεταβολιτών από το βασίλειο των μυκήτων και μπορεί να προωθήσει μια νέα μέθοδο χημικής ταξινόμησης των ειδών (Brondz et al., 2004). Νέα φυσικά συστατικά με καθοριστικό άρωμα μπορούν να ελκύσουν το ενδιαφέρον βιομηχανιών αρωμάτων και καλλυντικών, οι οποίες ψάχνουν νέα και ασυνήθιστα πτητικά συστατικά και αρώματα.
- Τέλος, η μελέτη των πτητικών δευτερογενών μεταβολιτών από άγρια μανιτάρια, μπορεί να αποβεί ωφέλιμη για την παρακολούθηση των περιβαλλοντικών αλλαγών, καθώς οι Βασιδιομύκητες ως ζώντες οργανισμοί εμπλέκονται στις διαφοροποιήσεις του φυσικού περιβάλλοντος (Hawksworth, 2004).

10. Τεχνικές ταυτοποίησης αρωματικών συστατικών

Η ποιοτική ανάλυση καθώς και ο ποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών συστατικών στα μανιτάρια είναι δυνατόν να επιτευχθεί μέσω της αέριας χρωματογραφίας, αφού προηγουμένως με διάφορες μεθόδους προκατεργασίας (Πίνακας 1), το δείγμα μετατραπεί σε πτητικά προϊόντα.

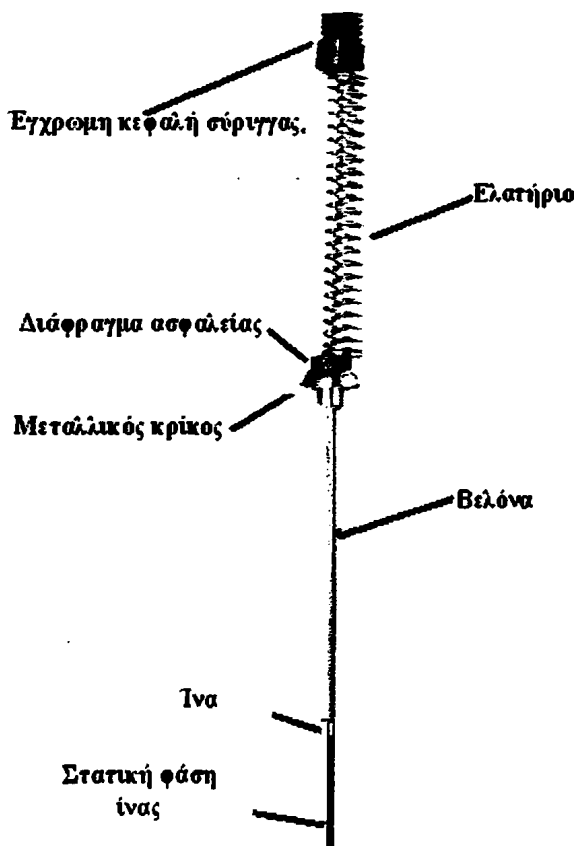
Πίνακας 1. Μέθοδοι προκατεργασίας δείγματος πριν την αεριοχρωματογραφική ανάλυση

Μέθοδος	Θεμελιώδης αρχή ανάλυσης	Πηγή αναφοράς
Συνεχής υγρή-υγρή εκχύλιση	Κατανομή	Wu et al., 2005
Απευθείας εκχύλιση με διαλύτη	Κατανομή	Raprior et al., 2000
Δυναμική	Πτητικότητα	Kabbaj et al., 2002
Ταυτόχρονη απόσταξη-Εκχύλιση με διαλύτη	Κατανομή - Πτητικότητα	Cho et al., 2003
Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης	Κατανομή	Zeppa et al., 2004
Απόσταξη με ατμό	Πτητικότητα	Eri et al., 2004
Εκχύλιση με απορροφητικές ράβδους ανάδευσης	Κατανομή	Eri et al., 2004

10.1. Μικροεκχύλιση στερεής φάσης (SPME)

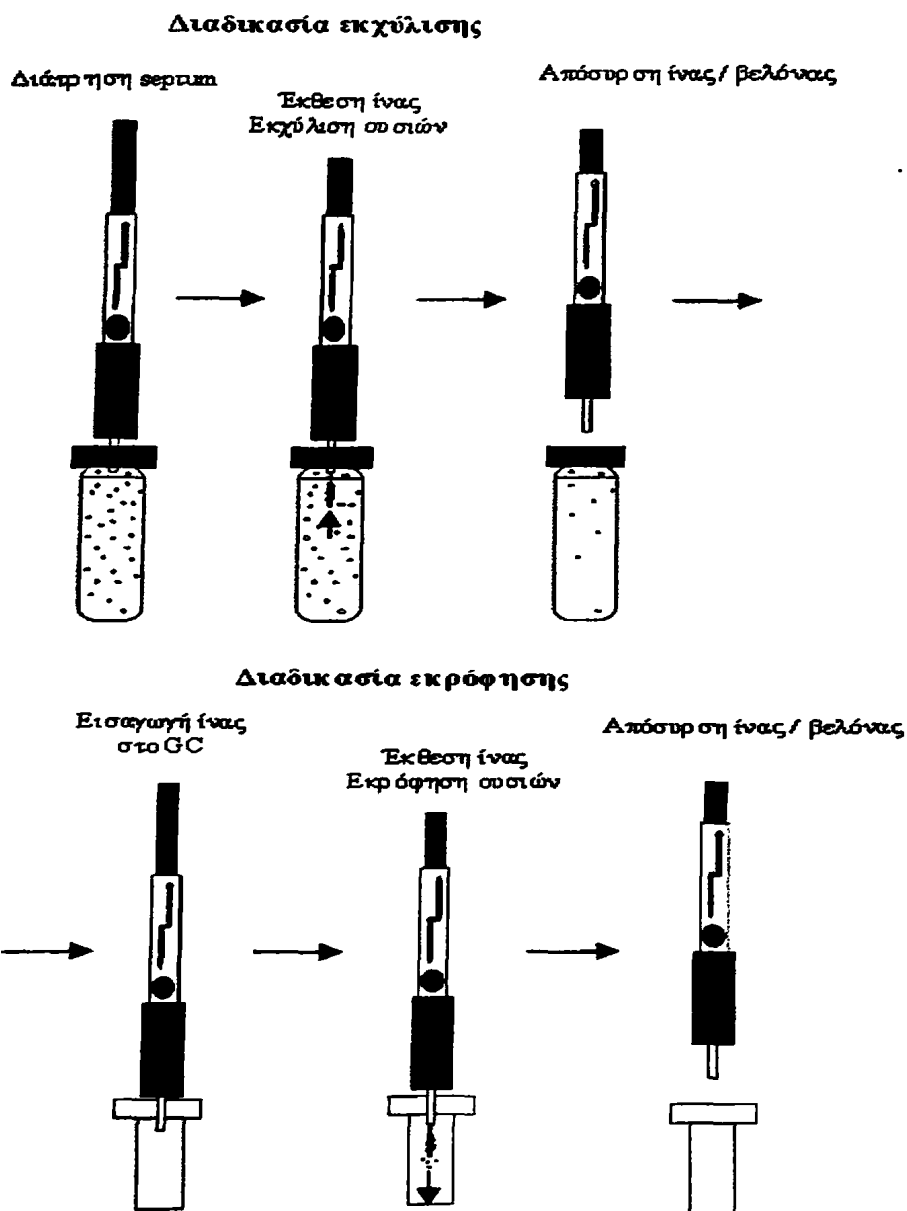
Η μικροεκχύλιση στερεής φάσης (SPME) είναι μια αναλυτική τεχνική που βασίζεται στην προσρόφηση των υπό ανάλυση ενώσεων πάνω ή εντός ενός πολυμερικού υλικού, το οποίο επικαλύπτει μια ίνα πυριτίου. Αυτή λοιπόν η τεχνική προσρόφησης / εκρόφησης που σχεδιάστηκε και αναπτύχθηκε από ερευνητές του Πανεπιστημίου Waterloo (Ontario, Καναδά) και δεν απαιτεί χρήση διαλυτών ή πολύπλοκων συσκευών, είναι ταχεία, μειωμένου κόστους, χρησιμοποιείται για την συλλογή πτητικών ή μη συστατικών από υγρό δείγμα ή υπερκείμενο χώρο υγρού ή στερεού δείγματος, εξασφαλίζει επαναλήψιμα αποτελέσματα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί συνδυαστικά με οποιοδήποτε σύστημα αέριας χρωματογραφία (GC) ή αέριας χρωματογραφίας-φασματοσκοπίας μάζας (GC-MS).

Η συσκευή SPME (Σχήμα 6) που έχει τη μορφή τροποποιημένης σύριγγας αποτελείται από μια ίνα πυριτίου μήκους 1cm, ή οποία είναι επιστρωμένη εξωτερικά από ένα ή συνδυασμό πολυμερικών υλικών και συγκρατείται σε ένα έμβολο από ανοξείδωτο ατσάλι.



Σχήμα 6. Συσκευή SPME (Pawliszyn, 1999).

Το έμβολο αυτό κινεί την ίνα εντός και εκτός της κενής βελόνας. Για τη χρήση της συσκευής, ο ειδικός της ανάλυσης τραβά την ίνα μέσα στην βελόνα, περνά την βελόνα διαμέσου του διαφράγματος (septum) που ασφαλίζει το φιαλίδιο που εμπεριέχει το δείγμα και πιέζει το έμβολο εκθέτοντας την ίνα απευθείας στο δείγμα ή στον υπερκείμενο χώρο αυτού. Οι οργανικές ενώσεις του δείγματος προσροφώνται ή απορροφώνται στην στατική φάση της ίνας. Μετά την αποκατάσταση της ισορροπίας προσρόφησης/απορρόφησης συνήθως σε 2-30 min, η ίνα σύρεται εντός της βελόνας και η βελόνα εξάγεται από το υπό ανάλυση δείγμα. Τέλος, η συσκευή εισάγεται στον εγχυτή-εισαγωγέα του αέριου χρωματογράφου, όπου οι προσροφημένες ουσίες εκροφώνται με θέρμανση και μεταφέρονται στην στήλη του οργάνου (Σχήμα 7).



Σχήμα 7. Απεικόνιση της διαδικασίας εκχύλισης και εκρόφησης (Pawliszyn, 1999).

Ο αριθμός των εμπορικά διαθέσιμων ινών είναι 8 (Πίνακας 2) και διακρίνονται με βάση το υλικό επίστρωσης σε πολικές, ημιπολικές και μη πολικές, ενώ μια ίνα έχει διάρκεια ζωής 100 χρήσεων περίπου. Το κόστος της μεθόδου είναι θεωρητικά μικρό βάσει του αριθμού των χρήσεων αν και μπορεί να αυξηθεί σημαντικά εξαιτίας του αυξημένου πιθανού κινδύνου θραύσης ή βλάβης της ίνας.

Πίνακας 2. Διαθέσιμοι τύποι επίστρωσης ινών

Τύπος ίνας	Πολικότητα
Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (PDMS) 7μm	Μη πολική/ Απορρόφησης
Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (PDMS) 30μm	Μη πολική/ Απορρόφησης
Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (PDMS) 100μm	Μη πολική/ Απορρόφησης
Πολυακρυλικός εστέρας (PA) σε 85μm	Πολική/ Απορρόφησης
Carbowax / DVB (διβινυλοβενζόλιο) σε 65μm	Πολική/ Προσρόφησης
PDMS/DVB σε 65μm	Μέσης πολικότητας/ Προσρόφησης
Carboxen-PDMS σε 85μm	Μέσης πολικότητας/ Προσρόφησης
50μm/30μm DVB/Carboxen –PDMS, Stable Flex	Μέσης πολικότητας/ Προσρόφησης

Η ολοκλήρωση της εκχύλισης κατά τη διεργασία της SPME, πρακτικά ολοκληρώνεται όταν η συγκέντρωση της ουσίας φτάνει σε κατάσταση ισορροπίας μεταξύ της ίνας και του υπερκείμενου χώρου του δείγματος. Κατ' ουσία όμως εκχylίζεται μόνο ένα μικρό κλάσμα από την συνολική ποσότητα της ένωσης που περιέχεται στο δείγμα, ενώ η συγκέντρωση της εκχylιζόμενης ουσίας παραμένει σταθερή στην κατάσταση της ισορροπίας. Ωστόσο, όταν ο όγκος του δείγματος είναι πολύ μικρός και η χημική συγγένεια της ίνας με τις προς ανάλυση ενώσεις πολύ μεγάλη, επιτυγχάνεται σχεδόν πλήρης εκχύλιση (Pawliszyn, 1999).

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση της εκχύλισης είναι το μοριακό βάρος και το μέγεθος των μορίων των ενώσεων, η πολικότητα των ενώσεων και της ίνας, το σημείο ζέσης και η τάση ατμών των ενώσεων, οι δραστικές ομάδες των ενώσεων και της ίνας, αλλά και το εύρος της συγκέντρωσης των ενώσεων.

Αντίστοιχα, οι παράγοντες που επηρεάζουν την κατανομή των ενώσεων του δείγματος στην επιφάνεια της ίνας είναι ο χρόνος εκχύλισης, η θερμοκρασία, το pH, η ιοντική ισχύς του υδατικού μέσου, ο ρυθμός ανάδευσης και η σύσταση του δείγματος.

Ο γενικός κανόνας ότι «όμοια διαλύουν όμοια» ισχύει και στην περίπτωση της τεχνικής μικροεκχύλισης στερεής φάσης (SPME), όπου πολικά συστατικά απορροφώνται σε πολικές ίνες, ενώ μη πολικά σε μη πολικές. Για παράδειγμα, οι ίνες PDMS είναι αρκετά ευαίσθητες σε μη πολικά συστατικά, ενώ οι Car/PDMS είναι ιδανικές για ενώσεις μικρού μοριακού βάρους. Η ίνα 50μm/30μm DVB/Carboxen –PDMS, Stable Flex, τέλος,



έχει αποδειχθεί ότι είναι καταλληλότερη για την εκχύλιση ενώσεων μέσου-μεγάλου μοριακού βάρους (Gianelli et al., 2002).

Συστατικά δειγμάτων με διαφορετική πτητικότητα και πολικότητα είναι δυνατόν να προσδιοριστούν ταυτόχρονα με προσεκτική επιλογή της πολικότητας και του πάχους του υλικού επίστρωσης της ίνας. Ωστόσο, η ευαισθησία της εφαρμοζόμενης αναλυτικής τεχνικής εξαρτάται κυρίως από την τιμή της σταθεράς κατανομής των διαχωριζόμενων ενώσεων ανάμεσα στο δείγμα και τη στατική φάση της ίνας (K_B). Η αποδοτικότητα της προσυγκέντρωσης εξαρτάται όχι μόνο από τον τύπο της ίνας που θα χρησιμοποιηθεί αλλά και από το πάχος της επίστρωσης της.

Ως γενικό συμπέρασμα μπορεί να εξαχθεί ότι οι παχιές επιστρώσεις επιτρέπουν την εκχύλιση μεγαλύτερων ποσοστών από τις αναλυόμενες ενώσεις σε σχέση με τις λεπτές επιστρώσεις. Ίνες με παχιά επίστρωση είναι περισσότερο αποτελεσματικές στην περίπτωση πτητικών συστατικών, κάνοντας δυνατή την καλύτερη μεταφορά στον εγχυτή του αέριου χρωματογράφου (GC), χωρίς απώλειες, όμως ο χρόνος εκρόφησης μπορεί να επιμηκυνθεί και ενώσεις να μεταφερθούν σε επόμενη εκχύλιση (Wardencki et al., 2004). Ακόμη, οι ίνες αυτές αν και προσφέρουν αυξημένη αναλυτική ευαισθησία, απαιτούν μεγαλύτερο χρόνο αποκατάστασης της ισορροπίας μεταξύ της στατικής φάσης και του δείγματος (Stashenko & Martinez, 2007). Αντίθετα, οι ίνες με λεπτή επίστρωση είναι καταλληλότερες για την απομόνωση και προσυγκέντρωση συστατικών με υψηλό σημείο ζέσεως και επιτρέπουν την διεξαγωγή της εκχύλισης και της εκρόφησης σε σχετικά μικρό χρόνο. Επίσης, οι ίνες αυτές ευνοούν την γρήγορη διάχυση και εξασφαλίζουν αποδέσμευση των ενώσεων με μεγάλο σημείο ζέσης κατά τη διάρκεια της θερμικής εκρόφησης (Wardencki et al., 2004).

Στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκε ή ίνα 50/30 μm divinylbenzene/Carboxen on polydimethylsiloxane on a stable-Flex Fiber, (Supelco, Bellefonte, PA, H.P.A.), μια ίνα μέσης πολικότητας ώστε να ελαττωθεί η πιθανότητα διάκρισης μεταξύ πολύ πολικών και μη πολικών συστατικών και να ληφθεί μια γνήσια πτητική σύσταση, καθορισμένη επαρκώς για το σύνολο των αναλυόμενων καρποσωμάτων. Ακόμη, η ίνα πριν από την πρώτη χρήση της τοποθετήθηκε στον εγχυτή του αέριου χρωματογράφου στους 250°C για 2h, ώστε να εγκλιματιστεί.

Ο χρόνος εκχύλισης που απαιτείται για την ανάλυση ενός δείγματος με την τεχνική HP- SPME, εξαρτάται από τον αναγκαίο για την αποκατάσταση ισορροπίας χρόνο μεταξύ του δείγματος και της υπερκείμενης αέριας φάσης. Όταν προσδιορίζεται η ποσότητα της εκχυλιζόμενης ένωσης συναρτήσει του χρόνου, πρέπει όλοι οι παράγοντες που επηρεάζουν την αποκατάσταση της ισορροπίας να παραμένουν σταθεροί. Μικρές αποκλίσεις από το χρόνο εκχύλισης στην κατάσταση ισορροπίας, δεν φαίνεται ότι ασκούν σημαντική επίδραση στην ποσότητα της ένωσης που εκχυλίζεται από την ίνα (Pawliszyn, 1999).

Επίσης, η αύξηση της θερμοκρασίας του προς ανάλυση δείγματος θεωρείται αναγκαία συνθήκη, ιδιαιτέρως όταν επιδιώκεται η ανάλυση ενώσεων μεγάλου μοριακού βάρους ή μικρής πτητικότητας. Η αύξηση της θερμοκρασίας ευνοεί την απελευθέρωση των ενώσεων από το μητρικό δείγμα. Στην περίπτωση των υγρών δειγμάτων η ελάττωση του ιξώδους και η αύξηση της τάσης ατμών των ενώσεων, έχει ως συνέπεια την αύξηση των συντελεστών διάχυσης των προς ανάλυση ενώσεων στην υπερκείμενη αέρια φάση. Συνεπώς, η συγκέντρωση των ενώσεων χαμηλής πτητικότητας στην αέρια φάση είναι μεγαλύτερη, άρα και ο ρυθμός μεταφοράς μάζας αυξάνει σημαντικά, με αποτέλεσμα μικρούς χρόνους εκχύλισης των αναλυόμενων δειγμάτων (Pawliszyn, 1999).

Τα βασικά δομικά συστατικά των τροφίμων ανήκουν σε ποικίλες ομάδες χημικών ενώσεων (νερό, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, λιπίδια, βιταμίνες, ανόργανα συστατικά), οι οποίες επηρεάζουν καθοριστικά την διαδικασία της μικροεκχύλισης δια της στερεής φάσης (SPME).

Οι πρωτεΐνες αλληλεπιδρούν με τις πτητικές ενώσεις, μέσω συγκράτησης τους είτε με αντιστρεπτές υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, είτε με δημιουργία ομοιοπολικών δεσμών. Η έκταση του φαινομένου επηρεάζεται από τη χημική συγγένεια των ενώσεων με τις πρωτεΐνες και είναι πιο έντονο με τις υδρόφοβες ενώσεις (π.χ εστέρες των λιπαρών οξέων, υδρογονάνθρακες). Αντίστοιχα, τα λιπίδια ως υδρόφοβες ενώσεις προκαλούν ελάττωση της συγκέντρωσης των αναλυόμενων ενώσεων που εκχυλίζονται από το υλικό επίστρωσης της ίνας (Καραταπάνης, 2004).

Για την ανάλυση στερεών τροφίμων που έχουν ομογενοποιηθεί, όπως για παράδειγμα τα μανιτάρια της παρούσας διατριβής, η ίνα εκτίθεται στον υπερκείμενο χώρο του δείγματος για να διασφαλιστεί αφενός μεν η προστασία του υλικού επίστρωσης



της ίνας, αφετέρου να αποφευχθεί η επιμόλυνση του εγχυτή του χρωματογράφου από στερεά σωματίδια (Pawliszyn, 1999).

Μετά την εκχύλιση των προς ανάλυση ενώσεων στην ίνα ακολουθεί η ταυτοποίηση και ο ημιποσοτικός προσδιορισμός τους με την μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας- φασματοσκοπίας μαζών (GC-MS).

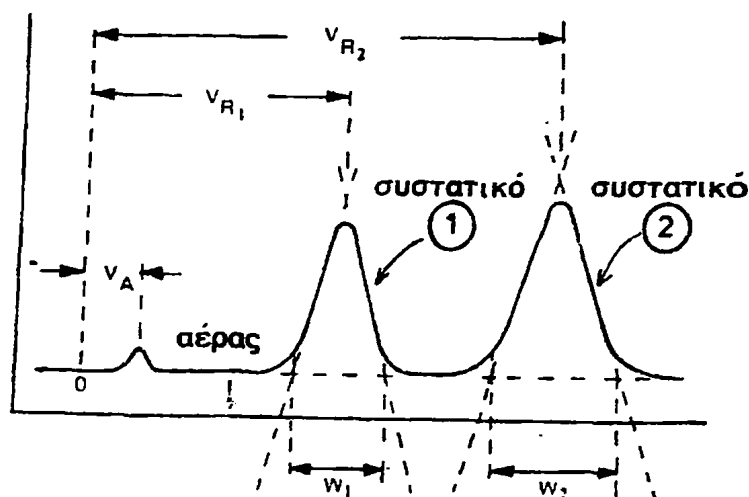
10.2. Αέρια Χρωματογραφία

Η αέρια χρωματογραφία είναι μια μέθοδος διαχωρισμού ενός μίγματος στα συστατικά του που λαμβάνει χώρα μεταξύ μιας υγρής ή στερεάς στατικής φάσης και μιας αέριας κινούμενης φάσης μέσα σε στήλη. Οι πρώτοι ερευνητές που παρατήρησαν ότι για να διαχωρισθεί πλήρως ένα δείγμα στα συστατικά του, άρα πρέπει να διέλθει ταχέως μέσω της στατικής φάσης ώστε να αποφευχθεί όσο αυτό είναι εφικτό η διάχυση του, ήταν οι Martin και Synge το 1941. Οι ερευνητές διαπίστωσαν με τον τρόπο αυτό, ότι λαμβάνονται οξείες κορυφές, η κάθε μια από τις οποίες αντιστοιχεί σε ένα συστατικό του δείγματος.

Με δεδομένες λοιπόν αυστηρά καθορισμένες συνθήκες ροής, θερμοκρασίας και φύσης της στατικής φάσης τα διαχωριζόμενα συστατικά του δείγματος εκλύονται σε καθορισμένα για κάθε συστατικό χρονικά διαστήματα. Ως χρόνος κατακράτησης ενός συστατικού ορίζεται ο χρόνος που μεσολαβεί από την έγχυση του δείγματος στο θάλαμο εξαέρωσης, μέχρι της λήψης του μέγιστου της κορυφής που αντιστοιχεί στο συστατικό αυτό (Σχήμα 8).

Αντίστοιχα ως όγκος κατακράτησης (V_R) του συστατικού ορίζεται το γινόμενο του χρόνου κατακράτησης επί τον όγκο του φέροντος αερίου (V_{CG}) που διήλθε από το σύστημα από τη στιγμή της έγχυσης του δείγματος μέχρι της λήψης του μέγιστου της κορυφής.

$$V_R = t_R \times V_{CG}$$



Σχήμα 8. Τυπικό αεριοχρωματογράφημα (Βουδούρης & Κοντομηνάς, 2004)

Η αεριοχρωματογραφική ανάλυση πραγματοποιείται με τη βοήθεια μιας συσκευής που αποκαλείται αέριος χρωματογράφος και αποτελείται από ένα σύστημα φέροντος αερίου, έναν ρυθμιστή πίεσης, ένα θάλαμο εξαέρωσης, μια στήλη, έναν φούρνο και έναν ανιχνευτή.

Φέρον αέριο (carrier gas)

Το φέρον αέριο αποτελεί το μέσο μεταφοράς των προς διαχωρισμό ουσιών διαμέσου της στήλης. Περιέχεται σε χαλύβδινους κυλίνδρους με μεγάλη πίεση και παρέχεται στην συσκευή με έναν ή περισσότερους ρυθμιστές πίεσης που ρυθμίζουν την ταχύτητα ροής του. Πρέπει να είναι αδρανές και να μην αντιδρά με την στατική φάση ή τις προς ανάλυση ουσίες. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται το άζωτο (N_2), το ήλιο (He) ή και το αργό (Ar). Η επιλογή γίνεται ανάλογα με τον τύπο του ανιχνευτή που χρησιμοποιεί το χρωματογραφικό σύστημα (Βουδούρης & Κοντομηνάς, 2004). Εξάλλου, στον Πίνακα 3 που ακολουθεί καταγράφονται όλα τα πιθανά φέροντα αέρια που χρησιμοποιούνται συνήθως και κατά περίπτωση όταν εφαρμόζεται η μέθοδος της αέριας χρωματογραφίας (White & Wood, 1986).

Πίνακας 3. Συνήθη αέρια που χρησιμοποιούνται στη χρωματογραφία

Συνήθη αέρια που χρησιμοποιούνται στην αέρια χρωματογραφία		
Αέριο	Εφαρμογή	Παρατηρήσεις
Ήλιο	Γενικά ως φέρον ή ως make up (βοηθητικό αέριο)	Ιδανικό αλλά ακριβό. Πρέπει να είναι μίγμα με άλλο αέριο για να χρησιμοποιηθεί ως make up σε ECD
Άζωτο	Γενικά ως make up ή ως φέρον σε γεμισμένες στήλες	Φθηνό. Όχι κατάλληλο ως φέρον σε τριχοειδείς στήλες
Υδρογόνο	Φέρον για τριχοειδείς στήλες. Αέριο καύσης για ανιχνευτές FID, NPD, FPD	Φθηνό. Εκρηκτικό, χρειάζεται καλός εξαερισμός. Κατάλληλο φέρον για τριχοειδείς στήλες.
Αέρας	Αέριο καύσης για FID, NPD, FPD	Φθηνό και άμεσα διαθέσιμο
Οξυγόνο	Αέριο καύσης σε ορισμένους FPD	
Αργό	Φέρον για TCD	
Μίγμα Αργού-μεθανίου	Make up και φέρον για γεμισμένες στήλες με ECD	Καλύτερη γραμμικότητα και εκλεκτικότητα από το άζωτο αλλά μικρότερα όρια ανίχνευσης
Μίγμα Ηλίου-υδρογόνου	Φέρον για TCD	

Ρυθμιστής πίεσης

Παίζει καθοριστικό ρόλο στο αεριοχρωματογραφικό σύστημα, διότι η πίεση στην είσοδο της στήλης είναι συνήθως 2-3Atm, ενώ στην έξοδο ίση με την ατμοσφαιρική. Η τιμή της διαφοράς πίεσης εισόδου- εξόδου (ΔP) επηρεάζει καταλυτικά τον διαχωρισμό, διότι αν είναι πολύ χαμηλή, τα προς διαχωρισμό συστατικά λόγω διάχυσης θα αλληλοεπικαλυφθούν και η διαχωριστική ικανότητα της στήλης θα μειωθεί, ενώ αν είναι πολύ υψηλή, θα αυξηθεί σημαντικά η αντίσταση στην μεταφορά της μάζας των προς διαχωρισμό ουσιών, με συνέπεια και πάλι την πτώση της διαχωριστικής ικανότητας της στήλης (Βουδούρης & Κοντομηνάς, 2004).

Θάλαμος εξαέρωσης

Είναι το σημείο μέσω του οποίου εισάγεται το προς ανάλυση δείγμα στο χρωματογραφικό σύστημα χωρίς να διακόπτεται η ροή του φέροντος αερίου. Ο θάλαμος εξαέρωσης λειτουργεί σε θερμοκρασία κατάλληλη για την άμεση εξαέρωση του δείγματος, εφόσον αυτό είναι υγρό.

Η εισαγωγή του δείγματος γίνεται συνήθως με την βοήθεια αεροστεγούς σύριγγας, όγκου 0,5-2ml προκειμένου για αέρια δείγματα και 1-10μl, για υγρά δείγματα. Άλλοι πιθανοί τρόποι εισαγωγής του δείγματος στην στήλη είναι: α) η βαλβίδα δειγματοληψίας, β) ο αυτόματος δειγματολήπτης και γ) το απ'ευθείας σύστημα εισαγωγής κατόπιν πυρόλυσης. Η βαλβίδα δειγματοληψίας διαθέτει δύο θέσεις: τη θέση πλήρωσης και τη θέση εισαγωγής του δείγματος. Παράλληλα, έχει την δυνατότητα να κινείται περιστροφικά μεταξύ αυτών των δύο θέσεων. Στη θέση πλήρωσης, το φέρον αέριο κυκλοφορεί κανονικά μέσω του θαλάμου εξαέρωσης προς την στήλη, ενώ το δείγμα εισάγεται στην βαλβίδα και παγιδεύεται κανονικά στην περιέλιξη του δείγματος που καλείται τεχνικά ως βρόχος. Στην θέση εισαγωγής που προκύπτει με περιστροφή της βαλβίδας κατά 60°, το φέρον αέριο περνά μέσω της περιέλιξης του δείγματος και το παρασύρει προς το θάλαμο εξαέρωσης. Η περιέλιξη του δείγματος είναι βιδωτή και αντικαθίσταται σχετικά απλά από άλλη επιθυμητού όγκου που κυμαίνεται από 1-50μl (Βουδούρης & Κοντομηνάς, 2004).

Ο αυτόματος δειγματολήπτης αποτελείται από μια φορητή συσκευή που ενσωματώνεται στον θάλαμο εξαέρωσης του αεριοχρωματογραφικού συστήματος και απαρτίζεται από δεδομένο αριθμό μονωμένων θαλάμων έως και 60, στους οποίους τοποθετούνται εκ προοιμίου τα δείγματα που θα αναλυθούν. Η συσκευή προγραμματίζεται αυτόματα μέσω του συστήματος ώστε κατά τακτά χρονικά διαστήματα να εισάγει τα δείγματα στον θάλαμο εξαέρωσης. Τέλος, το σύστημα εισαγωγής κατόπιν πυρόλυσης χρησιμοποιείται για υγρά και στερεά δείγματα πολύ υψηλού σημείου ζέσεως. Το δείγμα εντός του θαλάμου πυρόλυσης καίγεται και τα προϊόντα πυρόλυσης που είναι πτητικά και χαρακτηριστικά της πρώτης ύλης από την οποία προήλθαν, εισάγονται απευθείας στον θάλαμο εξαέρωσης (Βουδούρης & Κοντομηνάς, 2004).

Στήλη- Φούρνος (Column-Oven)

Η στήλη του αέριου χρωματογράφου βρίσκεται μέσα σε θερμικά μονωμένο θάλαμο, η θερμοκρασία του οποίου ρυθμίζεται αυστηρά μεταξύ 25-400°C. Οι στήλες κατασκευάζονται συνήθως από αλουμίνιο, ανοξείδωτο χάλυβα ή και γυαλί με διάμετρο 0,64 ή 0,32cm και μήκος από 1m έως 3m. Ωστόσο, υπάρχουν και τριχοειδείς στήλες που το μήκος τους αγγίζει τα 30m, ενώ η διάμετρος τους δεν ξεπερνά τα 0,16cm. Για να εξοικονομηθεί χώρος στην συσκευή εξαιτίας του μεγάλου μήκους της στήλης, η τελευταία περιελίσσεται υπό μορφή πηνίου και συνδέεται στο άκρο της εισόδου της με το θάλαμο εξαέρωσης, ενώ στο άκρο της εξόδου της με τον ανιχνευτή. Όσον αφορά τον τρόπο πλήρωσης των στηλών αυτές διακρίνονται σε α) packed, δηλαδή με πλήρωση και β) σε coated, δηλαδή με επικάλυψη. Στην πρώτη κατηγορία η στατική φάση διαλύεται στον κατάλληλο διαλύτη, αναμειγνύεται με το αδρανές υλικό και ακολούθως ο διαλύτης εξατμίζεται συνήθως υπό κενό και η στήλη πληρώνεται με το προκύπτων προϊόν. Στις δεύτερες που είναι τριχοειδείς, προστίθεται διάλυμα 1-15% της στατικής φάσης στην είσοδο της στήλης και προωθείται στο εσωτερικό της, αφού προηγουμένως έχει συνδεθεί η είσοδος της με το φέρον αέριο παροχής 2-5ml/min. Ακολούθως, υλικό πάχους 0,3-2μm καλύπτει τα τοιχώματα της στήλης και συνεχίζεται η διαβίβαση του φέροντος αερίου με μεγαλύτερη ταχύτητα ώστε να απομακρυνθεί τελείως ο διαλύτης (Βουδούρης & Κοντομηνάς, 2004).

Το αδρανές υλικό στοχεύει στην συγκράτηση της στατικής φάσης μέσα στην στήλη. Τα πιο συνηθισμένα αδρανή υλικά που χρησιμοποιούνται είναι:

- Chromosorb P. Είναι γη διατόμων που έχει κοσκινιστεί σε αυστηρά καθορισμένο μέγεθος κόκκων. Διαθέτει επιφάνεια 4-6m²/g.
- Chromosorb W. Είναι επίσης γη διατόμων κατεργασμένη με 3% Na₂CO₃. Έχει επιφάνεια 1-3,5m²/g. Το υλικό αυτό είναι πιο αδρανές από το P, αλλά παρέχει μικρότερη διαχωριστική ικανότητα από το πρώτο.
- Chromosorb G. Συγκεντρώνει τα πλεονεκτήματα του P με ελαττωμένο ποσοστό επιφανειακής προσρόφησης και χαμηλότερο ποσοστό αποικοδόμησης με τη χρήση.
- Σιλιανοποιημένα υποστρώματα. Είναι υλικά με βάση το Chromosorb που έχουν επικαλυφθεί με διμεθυλοδιχλωροσιλάνιο (DMCS) για την ελάττωση της



επιφανειακής ενεργότητας του υλικού. Το τροποποιημένο με DMCS Chromosorb παρέχει οξύτερες κορυφές στο χρωματογράφημα.

- Fluoropak 80 και Chromosorb T. Αποτελούνται από πολυμερές με βάση τους φθοριομένους υδρογονάνθρακες και χρησιμοποιούνται για διαχωρισμούς πολικών ενώσεων όπως NH_3 , CH_3COOH , RNH_2 κ.α.
- Γυάλινα σφαιρίδια. Χρησιμοποιούνται ως αδρανές υλικό με στατική φάση που δεν υπερβαίνει το 0,25% κ.β. Η χρήση τους ενδείκνυται για το διαχωρισμό πολικών μορίων υψηλού μοριακού βάρους.

Οι στατικές φάσεις αντίστοιχα, ανάλογα με την πολικότητα τους διακρίνονται σε 3 κατηγορίες:

- Μη πολικές. Είναι οι περισσότερες υγρές, αποτελούμενες από υδρογονάνθρακες. Έχουν ως βάση τη σιλικόνη π.χ. SE-30, σκουαλένιο, OV-17, OV-101. Δεν περιέχουν αρωματικές ενώσεις και χρησιμοποιούνται για τον διαχωρισμό μη πολικών ενώσεων.
- Πολικές. Είναι συνήθως υγρές φάσεις με μεγάλο ποσοστό πολικών ομάδων π.χ. Carbowax 20M, Porapak Q, N κ.α. Χρησιμοποιούνται για το διαχωρισμό πολικών μορίων.
- Σχετικά πολικές. Αποτελούνται από μακρές αλυσίδες μη πολικών ενώσεων που φέρουν πλευρικές πολικές ομάδες ή ομάδες που μπορούν να καταστούν πολικές π.χ. SE-52, διϊσοδεκυλ-φθαλικός εστέρας.

Οι στήλες πριν χρησιμοποιηθούν για συγκεκριμένο διαχωρισμό τίθενται σε λειτουργία υπό συνθήκες που προσομοιάζουν με αυτές της ανάλυσης. Η διαδικασία αποκαλείται εγκλιματισμός της στήλης και αποσκοπεί στην απομάκρυνση καταλοίπων διαλυτών, πτητικών και λοιπών προϊόντων που είναι πιθανόν να προκαλέσουν παρεμποδίσεις κατά το διαχωρισμό των συστατικών του υπό μελέτη δείγματος. Κατά τη διαδικασία αυτή το φέρον αέριο διέρχεται με χαμηλή ροή της τάξης των 5-10ml/min από τη στήλη, η έξοδος της οποίας δεν έχει συνδεθεί με τον ανιχνευτή με σκοπό την αποφυγή μόλυνσης του τελευταίου. Η διάρκεια του κοντισιοναρίσματος είναι συνήθως 10-20h και σε θερμοκρασία 10-20°C μεγαλύτερη από την θερμοκρασία διεξαγωγής του πειράματος. Αφού ολοκληρωθεί το κοντισιονάρισμα της στήλης αυτή συνδέεται κανονικά στον



ανιχνευτή και ρυθμίζεται με ακρίβεια η ροή του φέροντος αερίου (Βουδούρης & Κοντομηνάς, 2004).

Ο φούρνος του αερίου χρωματογράφου μπορεί να λειτουργεί είτε ισόθερμα, είτε με αυξομειούμενη θερμοκρασία κατά την διάρκεια της ανάλυσης. Η αυξομείωση της θερμοκρασίας του φούρνου κατά την ανάλυση είναι μια μέθοδος που ενδείκνυται όταν το μείγμα συστατικών που μελετάται αποτελείται από ενώσεις χαμηλού και υψηλού σημείου ζέσεως. Αρχικά, η θερμοκρασία της στήλης ρυθμίζεται σε χαμηλά επίπεδα, οπότε εκλύονται οι ενώσεις με χαμηλό σημείο ζέσεως, ενώ ακολούθως η θερμοκρασία της στήλης αυξάνεται σταδιακά βάσει κάποιου προγράμματος, ώστε να καταστεί δυνατή σε λογικό χρόνο η έκλυση των ενώσεων με υψηλό σημείο ζέσεως, που διαφορετικά θα απαιτούσε πολύ μεγάλο χρόνο. Εντούτοις, αύξηση της θερμοκρασίας μπορεί να προκαλέσει διάχυση του δείγματος μέσα στην στήλη και να ελατωθεί η αποτελεσματικότητα του διαχωρισμού (Βουδούρης & Κοντομηνάς, 2004).

Ανιχνευτές

Ο ανιχνευτής είναι το όργανο εκείνο που μετρά διαφορές στην σύσταση του υλικού το οποίο εκλύεται από την στήλη. Υπάρχουν αρκετοί τύποι ανιχνευτών, οι σημαντικότεροι από τους οποίους είναι ο ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας (Thermal Conductivity Detector – TCD), ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (Flame Ionization Detector – FID), ο ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (Electron Capture Detector – ECD) και ο ανιχνευτής αζώτου-φωσφόρου (Nitrogen Phosphorus Detector – NPD). Η επιλογή του ιδανικότερου ανιχνευτή για κάθε διαχωρισμό εξαρτάται από τη φύση του προς διαχωρισμό μείγματος, καθώς και από το επιθυμητό όριο ευαισθησίας. Στον πίνακα 4 που ακολουθεί καταγράφονται οι κυριότεροι τύποι ανιχνευτών που χρησιμοποιούνται στην αέρια χρωματογραφία, με τα βοηθητικά αέρια που χρησιμοποιούν, την εκλεκτικότητα τους και τα όρια ανιχνευσιμότητας στα οποία ανταποκρίνονται (Βουδούρης & Κοντομηνάς, 2004)..

Καταγραφέας

Η συνδεσμολογία ενός αερίου χρωματογράφου ολοκληρώνεται με τον καταγραφέα που είναι το όργανο το οποίο μετατρέπει το ηλεκτρικό σήμα που φτάνει από



τον ανιχνευτή, σε μηχανική κίνηση. Κατάλληλα προσαρμοσμένη γραφίδα καταγράφει τις κορυφές που αντιστοιχούν στα εκλούόμενα συστατικά από τη στήλη του προς ανάλυση δείγματος και με τον τρόπο αυτό καταγράφεται πλήρως η σύσταση του (Βουδούρης & Κοντομηνάς, 2004).

Πίνακας 4. Τύποι ανιχνευτών που χρησιμοποιούνται στην χρωματογραφία (Rose & Johnstone, 1982).

Τύποι ανιχνευτών αερίας χρωματογραφίας					
Ανιχνευτής	Τύπος ^α	Βοηθητικά Αέρια	Εκλεκτικότητα	Ανιχνευ- σιμότητα ^β	Δυναμικό Εύρος ^β
Ιονισμού φλόγας (FID)	MF	H ₂ & Αέρας	Περισσότερες οργανικές ενώσεις	1 ng	10 ⁷
Θερμικής Αγωγιμότητας (TCD)	C	Συμπληρωματικό Αναφοράς ^γ	Για ουσίες που δεν καίγονται	0.1 μg-1 μg	10 ⁷
Σύλληψης Ηλεκτρονίων (ECD)	C	Συμπληρωματικό Αναφοράς ^δ	Αλογονομένα, Αμινο-ενώσεις, Νιτρίλια, Υπεροξειδία, Ανυδρίτες, Οργανομεταλλικές ενώσεις	50 fg	10 ⁵
Αζώτου-Φωσφόρου (NPD)	MF	H ₂ & Αέρας + δυνατότητα O ₂	Αζωτο - Φωσφόρος	10 pg	10 ⁶
Φωτομετρικός φλόγας (FPD)	MF	H ₂ & Αέρας	Θείο, Φωσφόρος, Κασσίτερος, Βόριο, Αρσενικό, Γερμάνιο, Σελήνιο, Χρώμιο	100 pg	10 ³
Φώτο-ιονισμού (PID)	C	Συμπληρωματικό Αναφοράς ^γ	Αλειφατικές - Αρωματικές ενώσεις, Κετόνες, Αλδεΐδες, Αμίνες, Ετεροκυκλικές ενώσεις, Οργανοθειικά, Μερικές οργανομεταλλικές, O ₂ , NH ₃ , H ₂ S, HI, ICl, Cl ₂ , I ₂ , PH ₃	2pg	10 ⁷
Ηλεκτρολυτικής Αγωγιμότητας (HECD)	MF	H ₂ , O ₂	Χλωριομένα, Αζωτο, Θείο, Νιτροζαμίνες		

^αΑποκρίνεται σε, ροή μάζας (MF), συγκέντρωση (C), ^βΤυπικό όριο για ενώσεις με μεγάλη απόκριση, ^γΣε τριχοειδείς στήλες, ^δΠρέπει να είναι άζωτο ή μεθάνιο (από 5 μέχρι 10%) σε αργό ή ήλιο.

10.3. Αρχές χρωματογραφίας

Όπως έχει ήδη αναφερθεί το προς διαχωρισμό μείγμα εισάγεται με τη βοήθεια μιας ρευστής (κινητή) φάσης σε μια προσροφητική (στατική) φάση με μεγάλη ειδική επιφάνεια, και τα συστατικά του διαπερνούν με διαφορετική ταχύτητα την προσροφητική φάση λόγω της διαφορετικής κατανομής τους μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσης, ενώ το σήμα καταγράφεται ως συνάρτηση του χρόνου από την έναρξη της ροής του δείγματος στη χρωματογραφική στήλη. Οι διάφορες χρωματογραφικές μέθοδοι διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη φύση της κινητής φάσης (υγρή ή αέρια) ή της στατικής (στερεό ή υγρό πάνω σε στερεό υπόστρωμα), ως προς το μηχανισμό στον οποίο οφείλεται ο διαχωρισμός (προσρόφηση, ιοντοανταλλαγή, κατανομή, μέγεθος μορίων) και ως προς το μέσο στο οποίο έχει τοποθετηθεί η στατική φάση (στήλη, λεπτή στοιβάδα πάνω σε γυάλινη πλάκα, χαρτί) (Rose & Johnstone, 1982, Βουδούρης & Κοντομηνάς, 2004)..

Τα σήματα των συστατικών που ανιχνεύονται από τους ανιχνευτές απεικονίζονται στα χρωματογραφήματα με τη μορφή κορυφών έκλουσης (*peaks*). Οι ζώνες των συστατικών, που στην είσοδο της στήλης είναι οξείες, διευρύνονται καθώς διέρχονται μέσα από τη στήλη και κατά συνέπεια γειτονικές κορυφές έκλουσης δεν διαχωρίζονται τέλεια γιατί αλληλεπικαλύπτονται.

Η ανάπτυξη και βελτίωση μιας χρωματογραφικής μεθόδου έχει τους ακόλουθους αντικειμενικούς σκοπούς.

- Μεγάλη διαχωριστική ικανότητα: για πολύπλοκα μείγματα.
- Μικρός χρόνος ανάλυσης: για κινητικές μελέτες ή διεργασίες ελέγχου.
- Μεγάλη ποσότητα δείγματος: για παρασκευαστική εργασία ή για τη συμπύκνωση συστατικών σε ίχνη (Rose & Johnstone, 1982).

Η Θεωρία των Πλακών

Θεωρείται ότι μια χρωματογραφική στήλη αποτελείται από ένα μεγάλο αριθμό παρόμοιων τμημάτων ή *θεωρητικών πλακών*, σε καθένα από τα οποία αποκαθίσταται ισορροπία στην κατανομή μιας ουσίας μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης. Η κίνηση δηλαδή της ουσίας στη στήλη μπορεί να θεωρηθεί ως ένα σύνολο διαδοχικών κινήσεων δια μέσου *n* ζωνών ισορροπίας συνδεδεμένων σε σειρά.



Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός n τόσο στενότερες είναι οι κορυφές και τόσο αποτελεσματικότερη είναι η στήλη για το διαχωρισμό μιγμάτων ουσιών με παραπλήσιους όγκους συγκράτησης. Το μήκος της στήλης το οποίο αντιστοιχεί σε μια θεωρητική πλάκα καλείται *ισοδύναμο ύψος προς θεωρητική πλάκα* και δίνεται από το λόγο του μήκους της στήλης προς τον αριθμό των θεωρητικών πλακών (Rose & Johnstone, 1982). Επίσης, με σκοπό να εξηγηθεί η επίδραση της ταχύτητας ροής του φέροντος συστατικού καθώς και των διαφόρων χαρακτηριστικών της στήλης στο εύρος της κορυφής μιας ουσίας, αναπτύχθηκε η θεωρία της ταχύτητας.

Η Θεωρία της Ταχύτητας

Το ισοδύναμο ύψος προς τη θεωρητική πλάκα H και η ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου (κινούμενη φάση) σχετίζονται σύμφωνα με την παρακάτω μαθηματική σχέση που είναι γνωστή σαν Εξίσωση Van Deemter:

$$H=A+B/u+Cu$$

Οι τρεις όροι του δεξιού μέλους είναι περισσότερο περίπλοκοι από ό,τι εκτιμάται αρχικά. Τα A , B και C μπορούν να θεωρηθούν ως σταθερές για μια ορισμένη στήλη, αλλά κάθε σταθερά περιέχει διάφορες πειραματικές παραμέτρους, οι οποίες είναι εξειδικευμένες για κάθε τύπο χρωματογραφίας.

Ο όρος A είναι συνάρτηση του μεγέθους και της ομοιομορφίας των σωματιδίων πλήρωσης της στήλης. Οι “σφιχτά” γεμισμένες στήλες με μικρά σωματίδια δίνουν μικρές τιμές του A , ενώ σε πολύ καλά πληρωμένες στήλες (πχ. τριχοειδείς) οι τιμές του A τείνουν προς το μηδέν και μπορούν να παραλειφθούν.

Ο όρος B σχετίζεται με τη διάχυση κατά μήκος της στήλης. Ο όρος B είναι αντιστρόφως ανάλογος προς την ταχύτητα ροής του φέροντος συστατικού.

Ο όρος C σχετίζεται πρώτον με την αντίσταση μεταφοράς μάζας εντός της στήλης που εμποδίζει την ακαριαία αποκατάσταση της ισορροπίας μεταξύ των δύο φάσεων και δεύτερον με την διάχυση μέσα στην κινητή φάση.

Το σπουδαιότερο χαρακτηριστικό μιας χρωματογραφικής στήλης είναι η ικανότητά της να διαχωρίζει τα συστατικά ενός μείγματος με παρόμοια



φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Μέτρο του διαχωρισμού δύο κορυφών A και B αποτελεί η διαχωριστικότητα ή αλλιώς διαχωριστική ικανότητα (*resolution*).

Αν η διαχωριστική ικανότητα, $R > 1,5$, έχουμε τη διαχωριστικότητα γραμμής βάσης (*baseline resolution*), που αντιστοιχεί στον τέλει διαχωρισμό δύο κορυφών ίδιου μεγέθους. Αν $R = 1,0$, οι κορυφές αλληλεπικαλύπτονται σε ποσοστό 2% και ο διαχωρισμός θεωρείται επαρκής για αναλυτικούς σκοπούς. Για να βελτιωθεί η διαχωριστική ικανότητα είναι δυνατόν:

- Να μεταβληθεί η θερμοκρασία ή η φύση των φάσεων ώστε να έχουμε μεγαλύτερη απόσταση μεταξύ των δύο κορυφών.
- Να ελαττωθεί το πλάτος των κορυφών βελτιώνοντας την απόδοση της στήλης (αύξηση του n , ελάττωση του H , π.χ με ρύθμιση της ταχύτητας ροής του φέροντος συστατικού, με ελάττωση του μεγέθους του δείγματος, της διαμέτρου της στήλης κλπ.),
- Να συνδυαστούν οι περιπτώσεις (α) και (β), οπότε ο διαχωρισμός γίνεται περισσότερο ικανοποιητικός (Rose & Johnstone, 1982)..

10.4. Φασματομετρία μαζών

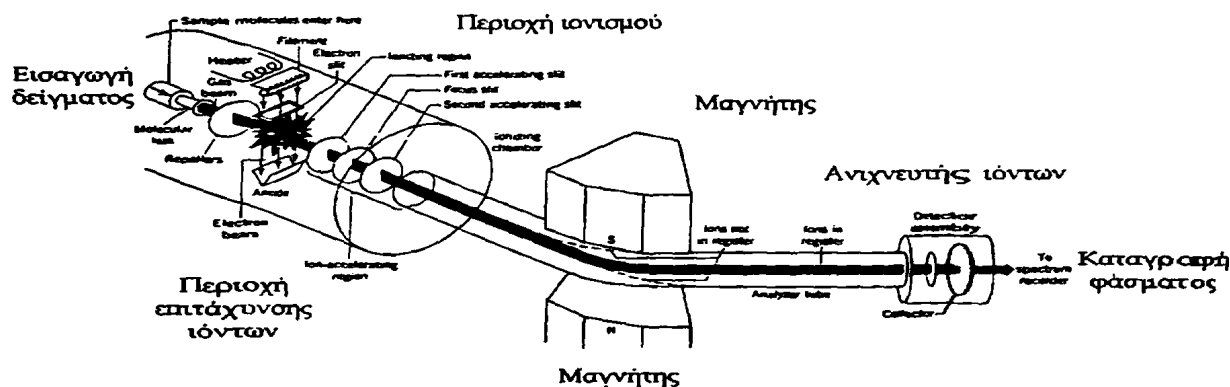
Η φασματομετρία μαζών (*mass spectrometry*) είναι μια από τις σημαντικότερες μεθόδους ταυτοποίησης των οργανικών ενώσεων. Οι σύγχρονες συσκευές φασματομετρίας μαζών διαθέτουν νέα συστήματα κενού, ποικίλες τεχνικές ιονισμού, μεγάλη διαχωριστική χρωματογραφική ικανότητα, αναλυτές απλής και διπλής εστίασης, θραυσματοποίηση και υψηλής ποιότητας διαχωρισμό μοριακών θραυσμάτων και ποικιλία ανιχνευτών (διαφορικός, υπεριώδους-ορατού, φθορισμού, ηλεκτροχημικός, κλπ). Η καταγραφή του φάσματος γίνεται με εξαιρετική ακρίβεια, επιδέχεται διορθώσεις και με τεράστιες βάσεις δεδομένων μπορεί κανείς να έχει τη σύγκριση της αναζητούμενης ταυτότητας των οργανικών ενώσεων που αναλύει. Βασική αναλυτική συσκευή της παραπάνω τεχνικής είναι ο φασματογράφος μαζών.

10.4.1. Φασματογράφος μαζών

Ο Φασματογράφος μαζών (ΦΜ) είναι μια συσκευή η οποία με τη βοήθεια ηλεκτρονικού βομβαρδισμού, παράγει θραύσματα της ουσίας που μελετάται παράγοντας ιόντα. Τα ιόντα αυτά επιταχύνονται με τη βοήθεια ισχυρού μαγνητικού πεδίου και συλλέγονται από τον ανιχνευτή σε διαστήματα ανάλογα με το μοριακό

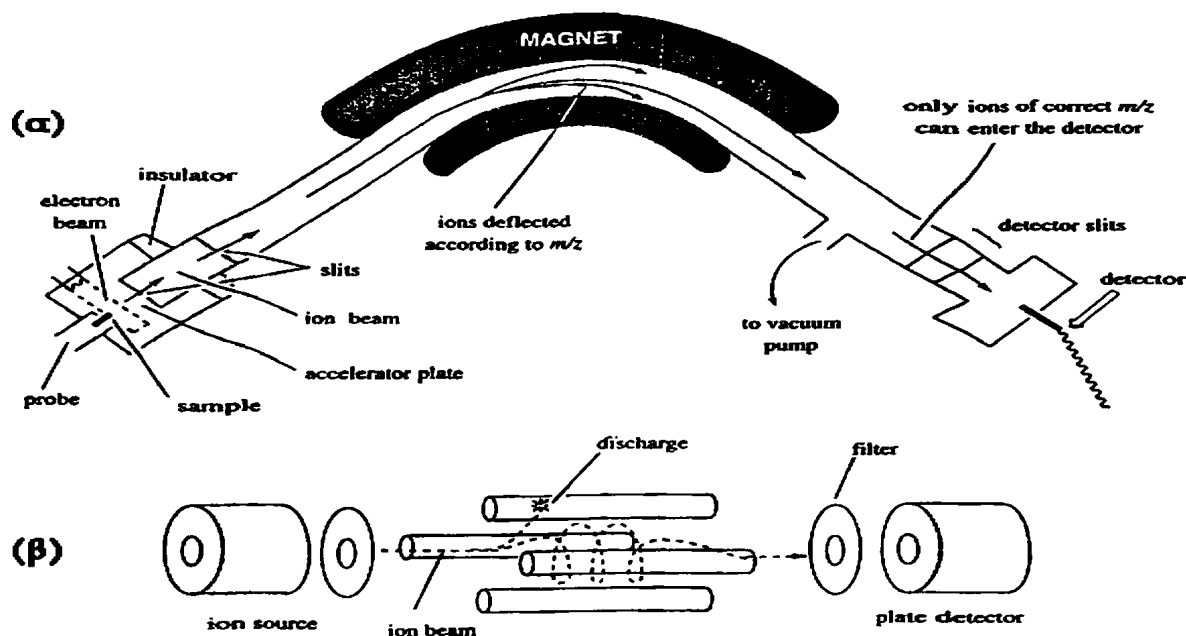


τους βάρους. Ο Φασματογράφος μαζών απεικονίζεται στα Σχήματα 9, 10 και 11 που ακολουθούν:



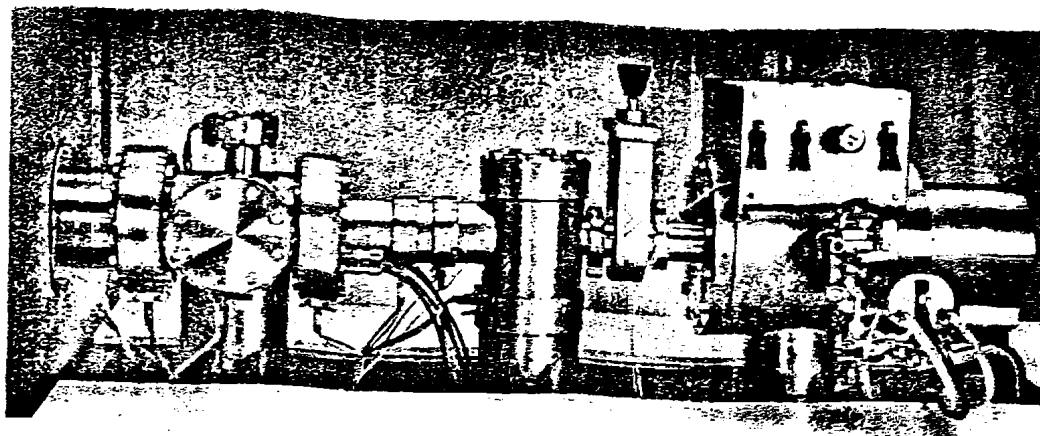
Σχήμα 9. Φασματογράφος μαζών. Σχηματική αναπαράσταση της εισαγωγής του δείγματος, της περιοχής ιονισμού, επιτάχυνση και διαχωρισμό των θραυσμάτων-ιόντων με την επίδραση μαγνητικού πεδίου (McMaster, 2005).

Η παραγωγή ιόντων στο φασματογράφο μαζών γίνεται με βομβαρδισμό του ατμού της ουσίας (που προηγούμενα έχει εξεαρωθεί σε υψηλή θερμοκρασία) με ηλεκτρόνια. Ο ατμός που παράγεται με εξάτμιση περνάει στο θάλαμο παραγωγής ιόντων σε χαμηλή πίεση των 10^{-5} – 10^{-7} mm Hg και βομβαρδίζεται με ηλεκτρόνια ενέργειας 10-100 eV (που παράγονται από ένα ηλεκτρικό νήμα). Ενέργεια της τάξης των 10-15 eV ανταποκρίνεται στο δυναμικό ιονισμού (ionization-potential) των περισσότερων οργανικών ενώσεων και έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία θετικών ιόντων με την αφαίρεση ενός τουλάχιστον ηλεκτρονίου από το οργανικό μόριο, δηλαδή $M + e^- \rightarrow M^+ + e^-$. Τα ιόντα που παράγονται καλούνται μοριακά ιόντα (molecular ions). Καθώς η ενέργεια των ηλεκτρονίων με τα οποία βομβαρδίζεται το δείγμα αυξάνεται και πέρα των 15 eV, τα μοριακά ιόντα υπόκεινται σε νέα διάσπαση παράγοντας θραύσματα ιόντα (fragment ions) που είναι χαρακτηριστικά της μοριακής δομής της οργανικής ένωσης. Έχει βρεθεί ότι με ενέργεια ηλεκτρονίων περίπου 70 eV πραγματοποιείται συστηματική θραυσματοποίηση δεσμών του μορίου, που μπορεί να αναπαραχθεί σε σημαντικό βαθμό. Με ενέργειες ηλεκτρονίων άνω των 70 eV παρατηρείται σχηματισμός ολοένα και αυξανόμενου αριθμού διπλά φορτισμένων ιόντων, που οφείλεται στην αφαίρεση δύο ηλεκτρονίων από το μόριο ή το μοριακό ιόν του δείγματος (Niess, 2001).

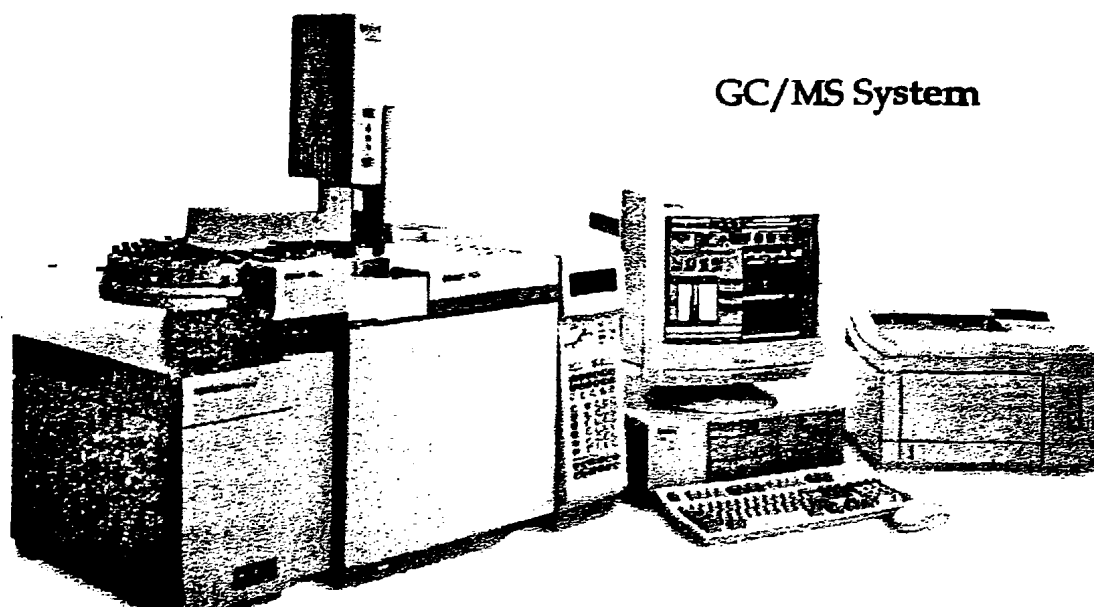


Σχήμα 10. Σχηματική εικόνα του φασματογράφου μαζών με απλό μαγνητικό αναλυτή των θραυσμάτων – ιόντων (α). Σχηματικό διάγραμμα τετραπολικού μαγνητικού αναλυτή (β) (McMaster, 2005).

Τα θετικά ιόντα που σχηματίζονται με αυτό τον τρόπο αποβάλλονται από το χώρο ιονισμού εφαρμόζοντας ηλεκτρικό πεδίο με ειδικούς δίσκους που επιταχύνουν τα ιόντα μέσα από τις κεντρικές οπές προς τη σχισμή Α (Σχήμα 9). Τα επιταχυνθέντα ιόντα εισέρχονται στο χώρο του μαγνητικού αναλυτή (πόλοι ενός ισχυρού μαγνήτη) για τον τελικό διαχωρισμό τους ανάλογα με το μοριακό τους βάρος. Ο μαγνητικός αναλυτής είναι ένα σύστημα ισχυρών μαγνητών που το μαγνητικό του πεδίο διαπερνά το διάδρομο της πορείας των μοριακών και άλλων ιόντων προς μαγνητικό διαχωρισμό. Συνήθως ο μαγνήτης σχηματίζει τοπικό μαγνητικό πεδίο σε σχήμα ανοιχτής βεντάλιας με γωνία 60 ή 90°, που έχει την ικανότητα να εκτρέπει τα θετικά ιόντα προς τον συλλέκτη (McMaster, 2005).



GC/MS System



Σχήμα 11. Φασματογράφος Μαζών. Το σύστημα ανάλυσης ιόντων. Φασματοσκοπία μαζών με αέριο χρωματογράφο (GC-MS) και αυτόματη δειγματολψία πολλών δειγμάτων (McMaster, 2005).

Η επιτάχυνση ενός ιόντος με φορτίο e^- σε ένα ηλεκτρικό πεδίο με δυναμικό V του δίνει κινητική ενέργεια $1/2mv^2$ (όπου m είναι η μάζα και v η τελική ταχύτητα). Η δυναμική του ενέργεια λοιπόν, δίνεται από την εξίσωση 1 ως ακολούθως:

$$eV(\text{δυναμική}) = 1/2mv^2(\text{κινητική})$$

Όταν το ιόν μπαίνει μέσα στο μαγνητικό πεδίο υπόκειται την επίδραση μιας κεντρομόλου δύναμης, H_{ev} , που εξισορροπείται από μια φυγόκεντρο, mv^2/r σύμφωνα με την εξίσωση 2:

$$H_{ev} = mv^2 / r$$

Οι εξισώσεις 1 και 2 συνδυάζονται στην εξίσωση 3, από την οποία προκύπτει ότι ο



$$m/e = H^2 r^2 / 2v$$

φασματογράφος μαζών μπορεί να διαχωρίσει ιόντα σύμφωνα με το πηλίκο της μάζας/φορτίο και όχι μόνο ως προς τη μάζα τους. Έτσι δύο ιόντα με μάζες $(m)^+$ και $(2m)^{2+}$ θα διασχίσουν την ίδια τροχιά για το αυτό μαγνητικό πεδίο H και δυναμικό επιτάχυνσης V .

Το φάσμα μαζών συνήθως καταγράφεται σε σταθερό μαγνητικό πεδίο και μεταβαλλόμενο δυναμικό επιτάχυνσης, που καλείται σάρωση τάσης ή ηλεκτρική σάρωση (voltage or electric scan) και μπορεί να πραγματοποιηθεί σε δευτερόλεπτα. Αντίθετα, σταθερή V και μεταβαλλόμενο H , που καλείται μαγνητική σάρωση (magnetic scan), είναι δύσκολο να πραγματοποιηθεί σε μικρό χρονικό διάστημα, λόγω της επαγωγικής αντίστασης του μαγνήτη που δε μπορεί να μεταβληθεί ταχύτατα. Το φάσμα λοιπόν του δείγματος, όπου τα διάφορα ιόντα διαγράφουν διαφορετικές τροχιές ανάλογα με το πηλίκο m/z , παράγεται μεταβάλλοντας την ηλεκτρική τάση μεταξύ 4000 και 400 Volts. Για να επιτευχθεί μεγάλης ακρίβειας διαχωριστική ικανότητα στον φασματογράφο μαζών, τα ιόντα κινούνται μέσα στο σωλήνα του φασματομέτρου κάτω από υψηλό κενό, της τάξης των 10^{-7} mm Hg (Niess, 2001).

Η διαχωριστική ικανότητα ενός φασματογράφου μαζών εξαρτάται από τρεις παράγοντες: (α) την ακτίνα που διαγράφουν οι τροχιές των ιόντων, (β) το εύρος των σχισμών στους επιταχυντές και το συλλέκτη και (γ) την ομοιομορφία της κινητικής ενέργειας των ιόντων με το ίδιο m/e^* , καθώς εισέρχονται στο χώρο του διαχωριστή. *Σε παλαιότερη βιβλιογραφία οι μονάδες για τα ιόντα ήταν m/e . Στη σύγχρονη ωστόσο βιβλιογραφία τα ιόντα αναφέρονται ως mass-to-charge ratio δηλαδή κλάσμα μάζας/φορτίο (m/z) (Niess, 2001).

10.5. Συνδυασμός αέριας χρωματογραφίας και φασματομετρίας μαζών

Η αέρια χρωματογραφία – φασματομετρία μάζας (GC-MS) είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη τεχνική για ανάλυση με υψηλή ευαισθησία των πολύπλοκων μειγμάτων πτητικών και ημιπτητικών ενώσεων, με την οποία τα συστατικά ενός μείγματος διαχωρίζονται και ταυτοποιούνται με συνδυασμό τριών διεργασιών: κατανομή, προσρόφηση και διαφορά στο σημείο ζέσεως των συστατικών στην αέρια φάση.



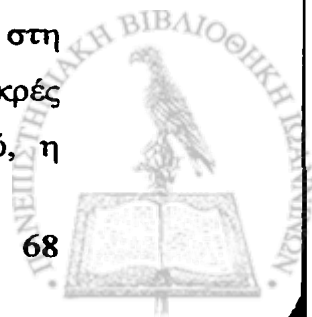
Στην αέρια χρωματογραφία το δείγμα θερμαίνεται ταχέως και εξατμίζεται στην είσοδο του συστήματος εισαγωγής. Κατόπιν ένα ρεύμα αδρανούς αερίου, όπως άζωτο, ήλιο ή αργό, μεταφέρει το δείγμα κατά μήκος της στήλης, η οποία περιέχει την στατική φάση. Τα συστατικά του μείγματος κατανέμονται μεταξύ της κινούμενης αέριας φάσης και της στατικής (στερεή ή υγρή) φάσης. Τα συστατικά του μείγματος έχουν χαρακτηριστικό μέγεθος, συγγένεια με την στατική φάση και συγκεκριμένο σημείο ζέσεως, και έτσι μεταφέρονται μέσω της στήλης με διαφορετικούς χρόνους. Κατά την έξοδό τους οι ουσίες ανιχνεύονται και εμφανίζονται ως κορυφές στον καταγράφεα (χρωματογράφημα).

Ο χρόνος κατακράτησης μιας ουσίας (t_R) εκφράζει τη συγγένειά της ως προς την στατική φάση. Όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος κατακράτησης, τόσο μεγαλύτερη είναι η συγγένεια της ουσίας προς την στατική φάση. Η επιφάνεια της κορυφής του χρωματογραφήματος είναι ανάλογη προς το ποσό της ένωσης που εκκλύεται.

Μια δέσμη ηλεκτρονίων με μεγάλη κινητική ενέργεια προσπίπτει πάνω στα μόρια της ουσίας που βρίσκονται με μορφή ατμού. Τα μόρια αποβάλλοντας ένα ηλεκτρόνιο μετατρέπονται αρχικά στην αντίστοιχη κατιονική ρίζα που ονομάζεται μοριακό ιόν. Το μοριακό ιόν διασπάται στη συνέχεια σε διάφορα θραύσματα που είναι κυρίως κατιόντα και ελεύθερες ρίζες. Αυτά τα πρωτογενή θραύσματα είναι ασταθή και δίνουν νέα θραύσματα. Στη συνέχεια, με την εφαρμογή κατάλληλων ηλεκτρικών πεδίων στο χώρο των θραυσμάτων, τα μοριακά ιόντα και κατιόντα ευθυγραμμίζονται σε λεπτή δέσμη και επιταχύνονται. Τα επιταχυνόμενα ιόντα διέρχονται από ένα ισχυρό μαγνητικό πεδίο, οπότε με την επίδραση δυνάμεων κινούνται σε κυκλική τροχιά με ακτίνα που καθορίζεται από το λόγο m/z . Το ηλεκτρικό ρεύμα που παράγεται στον ανιχνευτή με διαφορετικό λόγο m/z ενισχύεται και καταγράφεται.

Η τεχνική περιλαμβάνει το χρωματογραφικό διαχωρισμό των συστατικών του μείγματος και τη λήψη ενός φάσματος μαζών για κάθε συστατικό. Το φάσμα μαζών είναι το δακτυλικό αποτύπωμα κάθε ένωσης, το οποίο καθιστά δυνατή την ταυτοποίηση κάθε συστατικού ενός μίγματος. (Μπαδέκα. Α, 2003).

Παρά τους περιορισμούς και τα μειονεκτήματα που παρουσιάζει ο συνδυασμός GC-MS, διότι α) απαιτείται ταχύτατη καταγραφή του φάσματος, β) παρατηρούνται ορισμένες αντιδράσεις ισομερισμού μέσα στη στήλη και γ) μέσα στη στήλη διαχωρισμού του αερίου χρωματογράφου περνούν απαρατήρητες μικρές ποσότητες του φέροντος αερίου που διαφεύγουν από το θάλαμο ιονισμού, η



αναλυτική αυτή μέθοδος εφαρμόζεται με ικανοποιητικά αποτελέσματα στην ανάλυση φαρμάκων, φυτοφαρμάκων, στεροειδών και μεταβολιτών στο αίμα, τοξικών αλλά και αρωματικών συστατικών στα τρόφιμα καθώς και τοξικών ουσιών στο πόσιμο νερό. Εξάλλου, η ανάγνωση του φάσματος και η σύγκριση του με φάσματα από μια συλλογή 30.000–40.000 φασμάτων που περιέχονται σε ηλεκτρονική τράπεζα πληροφοριών, καθιστά δυνατή την ταυτοποίηση των συστατικών των προς ανάλυση δειγμάτων.

10.6. Δείκτης Kovats

Ο δείκτης Kovats είναι μια χρήσιμη μέθοδος για την σύγκριση των δεδομένων χρόνων κατακράτησης που λαμβάνονται από πλήθος ερευνητών σε διαφορετικές συνθήκες, καθώς αυτοί είναι σχεδόν ανεξάρτητοι πολλών παραμέτρων και συνθηκών της αεριοχρωματογραφικής ανάλυσης. Ο συνολικός χρόνος κατακράτησης μιας ουσίας t_R , εξαρτάται από τη σύσταση της στατικής φάσης, από το μήκος και τη διάμετρο της στήλης και από τη θερμοκρασία και την ταχύτητα του φέροντος αερίου. Αντίστοιχα, ο διορθωμένος χρόνος κατακράτησης t_R' , που λαμβάνεται με αφαίρεση από το συνολικό χρόνο κατακράτησης του χρόνου καθυστέρησης του φέροντος αερίου, συσχετίζεται καλύτερα με την αλληλεπίδραση διαλύτη /διαλυμένης ουσίας καθώς και με το συντελεστή διάχυσης, αλλά ακόμη εξαρτάται από τις χρησιμοποιούμενες παραμέτρους της αναλυτικής διαδικασίας (Castello, 1999).

Η χρήση δεδομένων χρόνων κατακράτησης που σχετίζονται με μια ουσία αναφοράς, t , επιτρέπει τη σύγκριση χρωματογραφημάτων τα οποία λαμβάνονται από στήλες με διαφορετικό μήκος και με χρησιμοποίηση φέροντος αερίου διαφορετικής ταχύτητας ροής. Ωστόσο, η επιλογή του συστατικού αναφοράς δεν εκπληρώνει πλήρως όλες τις απαιτήσεις της ανάλυσης. Για παράδειγμα, όταν αναλύονται μείγματα με ευρύ φάσμα τιμών κατακράτησης, οι τιμές t είναι ακριβείς και επαναλήψιμες, μόνο για τα συστατικά εκείνα που εμφανίζουν χρόνο κατακράτησης πολύ κοντινό με τον αντίστοιχο χρόνο κατακράτησης της πρότυπης ουσίας. Όμως στερούνται αξιοπιστίας, όταν πολλές διαφορετικές τιμές κατακράτησης προκαλούν σημαντικό σφάλμα στον υπολογισμό της αναλογίας τους. Επιπρόσθετα, οι σχετικοί χρόνοι κατακράτησης δεν μπορούν να εφαρμοστούν όταν συγκρίνονται οι προγραμματισμένες θερμοκρασίες ανάλυσης (Castello, 1999).

Ακόμη, η χρήση των όγκων κατακράτησης V_R και V_R' καθώς και η αναλογία τους, δεν επιλύουν το πρόβλημα που περιγράφηκε παραπάνω. Μπορεί δηλαδή η



επίδραση της διακύμανσης της ταχύτητας ροής του φέροντος αερίου να περιορίζεται, ωστόσο οι άλλες παράμετροι της ανάλυσης επηρεάζουν το αποτέλεσμα. Ο ειδικός όγκος κατακράτησης V_g , δηλαδή ο όγκος του φέροντος αερίου, ο οποίος εξάγει ένα δεδομένο συστατικό από μια ιδανική στήλη που περιέχει 1g κινούμενης φάσης, είναι μεταβλητή, ανεξάρτητη της πλειοψηφίας των παραμέτρων της ανάλυσης, με εξαίρεση τη θερμοκρασία, γι' αυτό και είναι κατάλληλη για την ταυτοποίηση των συστατικών. Ωστόσο, ο υπολογισμός του είναι μάλλον πολύπλοκος, διότι η πλήρης ποσότητα της κινούμενης φάσης της στήλης πρέπει να είναι με ακρίβεια γνωστή, γεγονός που είναι σχεδόν αδύνατο, καθώς οι πληρωμένες στήλες δεν κατασκευάζονται στο εργαστήριο ξεχωριστά για κάθε ανάλυση. Επίσης, μόνο ισόθερμη ανάλυση μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πηγή δεδομένων (Castello, 1999).

Η χρήση ομόλογων σειρών n-αλκανίων που προτάθηκε από τον Kovats το 1958, βασίζεται στην χρήση ευρέως γνωστών ενώσεων ομόλογων σειρών, οι οποίες εξάγονται κάτω από ισόθερμες συνθήκες με χρόνους κατακράτησης, που αυξάνονται εκθετικά. Αποτέλεσμα αυτού, είναι το διάγραμμα των λογαρίθμων των τιμών κατακράτησης να ακολουθεί ευθεία γραμμή ως συνέπεια του αριθμού των ατόμων άνθρακα z . Περαιτέρω ακριβείς μετρήσεις όμως, έχουν δείξει ότι αυτή γραμμικότητα δεν ακολουθείται αυστηρά ενώ παρατηρείται μια μικρή καμπύλωση. Έτσι, όταν η διακύμανση των τιμών z , δεν είναι μεγάλη, η ευθεία γραμμική συσχέτιση μπορεί να γίνει αποδεκτή. Η θεμελιώδης εξίσωση για τον δείκτη Kovats είναι η ακόλουθη:

$$I_s^{st.ph}(T) = 100 \frac{\log X_s - \log X_z}{\log X_{z+1} - \log X_z} + 100z$$

όπου I είναι ο ισόθερμος δείκτης κατακράτησης σε θερμοκρασία T . S είναι το συστατικό ενδιαφέροντος, st.ph η στατική φάση, z και $z+1$ τα n-αλκάνια με z και $z+1$ άτομα άνθρακα αντιστοίχως, ενώ x είναι η τιμή κατακράτησης που χρησιμοποιείται στον υπολογισμό.

Ένα μειονέκτημα του δείκτη Kovats είναι ότι σχετίζεται άμεσα με την θερμοκρασία της στήλης. Οι τιμές I αλλάζουν καθώς η θερμοκρασία διαφοροποιείται. Επιπλέον η παραπάνω εξίσωση δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μη ισόθερμα αεριοχρωματογραφικά προγράμματα ανάλυσης. Για το λόγο αυτό οι Van den Dool και Kratz πρότειναν την αντίστοιχη εξίσωση:

$$I_{TPGC,i}^{st.ph} = 100n \frac{I_R(S) - I_R(z)}{I_R(z+n) - I_R(z)} + 100z$$

όπου n είναι η διαφορά των ατόμων άνθρακα των 2 n -αλκανίων που χρησιμοποιούνται ως πρότυπα αναφοράς, I ο γραμμικός δείκτης κατακράτησης σε θερμοκρασία T , S το συστατικό ενδιαφέροντος, $st.ph$ η στατική φάση και z και $z+1$ τα n -αλκάνια με z και $z+1$ άτομα άνθρακα αντιστοίχως. Η παραπάνω εξίσωση χρησιμοποιείται μόνο όταν εφαρμόζονται προγράμματα γραμμικής αύξησης της θερμοκρασίας. Θεωρητικά, η εξίσωση αυτή είναι απόλυτα έγκυρη, όταν επιλέγεται ένα «ιδανικό» θερμοκρασιακό πρόγραμμα, όταν οι χρόνοι κατακράτησης των n -αλκανίων και όχι οι λογάριθμοι τους συμπεριφέρονται γραμμικά ως αποτέλεσμα των ατόμων άνθρακα z , καθώς και όταν η διαφορά των χρόνων κατακράτησης μεταξύ δύο παρακείμενων ομόλογων ενώσεων είναι ίδια καθ' όλη τη διάρκεια της ανάλυσης. Ο γραμμικός δείκτης συσχέτισης (LRI), εφαρμόζεται σε κάθε μη ισόθερμη ανάλυση και πλεονεκτεί διότι στην εξίσωση λαμβάνεται υπόψη ο συνολικός χρόνος κατακράτησης, διότι ο υπολογισμός ή η μέτρηση του νεκρού χρόνου δεν είναι αναγκαία (Castello, 1999).



11. Αντικείμενο της έρευνας

Οι σύγχρονες διατροφικές τάσεις στα πλαίσια της παγκοσμιοποιημένης μαγειρικής κουλτούρας οδηγούν στην κατανάλωση προϊόντων υψηλής διατροφικής αλλά και γαστρονομικής αξίας. Μεταξύ των τροφίμων αυτών συγκαταλέγονται οι εδώδιμοι μακρομύκητες (αυτοφυείς ή καλλιεργούμενοι), των οποίων η κατανάλωση την τελευταία δεκαετία αυξάνεται ραγδαία, όχι μόνο για γαστρονομικούς αλλά και για θεραπευτικούς λόγους. Τα μανιτάρια περιέχουν ουσίες που επιδρούν σε βασικές λειτουργίες του ανθρώπινου οργανισμού, θωρακίζοντας το ανοσοποιητικό του σύστημα, μέσω της δράσης των λευκοκυττάρων και των μακροφάγων.

Ως αντικείμενο της παρούσας διατριβής επιλέχθηκε ο προσδιορισμός της βασικής σύστασης, των περιεχομένων μεταλλικών στοιχείων και του αρωματικού προφίλ εικοσιτριών ειδών αυτοφύων εδώδιμων μακρομυκήτων (*Amanita caesaria*, *Amanita rubescens* var. *rubescens*, *Amanita ceciliae*, *Armillaria mellea*, *Armillaria tabescens*, *Boletus aureus*, *Boletus edulis*, *Boletus luridiformis* var. *luridiformis*, *Cantharellus cibarius*, *Clitocybe odora*, *Fistulina hepatica*, *Hydnum repandum*, *Hygrophorus chrysodon*, *Hygrophorus eburneus*, *Hygrocybe russocoriacea*, *Hygrophorus russula*, *Lactarius salmonicolor*, *Lepista nuda*, *Macrolepiota procera* var. *procera*, *Pleurotus ostreatus*, *Ramaria largentii*, *Russula delica*, και *Suillus granulatus*), από την περιοχή της Ηπείρου (Ζαγοροχώρια) και της Δυτικής Μακεδονίας (Νομός Γρεβενών). Τα είδη αυτά συγκαταλέγονται μεταξύ των πλέον σημαντικών εδώδιμων ειδών που απαντώνται στην Ελληνική μυκοχλωρίδα.

Ο προσδιορισμός της βασικής σύστασης περιέλαβε την μέτρηση της υγρασίας, της τέφρας, του λίπους, των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων, ενώ για την μέτρηση των μετάλλων (Mg, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Al, As και Sn) χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης.

Τέλος, για την ανάλυση των περιεχομένων πτητικών αρωματικών συστατικών χρησιμοποιήθηκαν η τεχνική της μικροεκχύλισης δια της στερεάς φάσης (Solid Phase Microextraction-SPME) και η αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματοσκοπία μαζών (GC-MS).



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



1. Δειγματοληψία

Οι περιοχές μελέτης από τις οποίες συλλέχθηκαν τα δείγματα για την παρούσα διδακτορική διατριβή αποτελούν τμήμα της βόρειας Πίνδου και οριοθετούνται από τους ορεινούς όγκους της Τύμφης στα βόρεια, του Μιτσικελίου στα νότια, της Βασιλίτσας – Μαυροβονίου στα ανατολικά και της λεκάνης του Καλπακίου στα Δυτικά. Παράλληλα, ήταν όσο το δυνατόν αντιπροσωπευτικότερες από άποψη βιοποικιλότητας χλωρίδας, προτιμήθηκαν δηλαδή περιοχές με μεικτές συστάδες δέντρων και όχι με αμιγή βλάστηση, ενώ η δειγματοληψία των ειδών που ήταν τυχαία διεξήχθη από το Φθινόπωρο του 2005 έως το Φθινόπωρο του 2007. Ειδικότερα τα είδη *Boletus aureus*, *Boletus edulis*, *Boletus luridiformis*, *Cantharellus cibarius*, *Hydnum repandum* και *Fistulina hepatica* συλλέχθηκαν από 4 περιοχές (χωρισμένες ανα 3 ζώνες) της Ηπείρου, ενώ τα υπόλοιπα είδη καρποσωμάτων από 3 περιοχές του Νομού Γρεβενών (χωρισμένες ανά 3 ζώνες η καθεμία). Η επιλογή των ειδών έγινε με βάση τα κριτήρια της εδωδιμότητας και της συχνότητας εμφάνισης τους. Η τυχαία δειγματοληψία στηρίζεται στην ιδιότητα ότι ένα οποιοδήποτε δείγμα έχει ίσες πιθανότητες να επιλεγεί μεταξύ των υπολοίπων. Για παράδειγμα, αν ένα σχέδιο περιλαμβάνει τη λήψη 10 δειγμάτων ενός συγκεκριμένου είδους μανιταριού που υπάρχει σε τρεις διαφορετικές ζώνες μιας περιοχής στην οποία ο ερευνητής μπορεί να εντοπίσει 60 δείγματα του ίδιου είδους, τότε η επιλογή των 10 δειγμάτων γίνεται τυχαία με τη χρήση τυχαίων αριθμών. Το πλεονέκτημα της τυχαίας δειγματοληψίας είναι ότι επιτρέπει στον ερευνητή να χρησιμοποιήσει την κρίση του ως τον καλύτερο τρόπο επιλογής και γι' αυτό το επιλεγόμενο τμήμα θεωρείται αμερόληπτο (Πετρίδης, 2000).

2. Προκατεργασία δειγμάτων πριν την ανάλυση

Από τα δάση της Ηπείρου και της Δυτικής Μακεδονίας αφού συλλέχθηκαν από τα προαναφερθέντα είδη, καρποσώματα μέσης ωριμότητας ώστε να είναι όσο το δυνατόν αντιπροσωπευτικότερη η χημική ανάλυση που αφορά τη βασική χημική σύσταση και τον προσδιοριζόμενο αρωματικό χαρακτήρα των ειδών, τα δείγματα ταυτοποιήθηκαν βάσει της μορφολογίας τους με χρήση του εγκεκριμένου μυκητολογικού οδηγού *The Fungi of Switzerland*, (Vols 1-5. Breitenbach J, Kränzlin F. 1984-2000), και του σχήματος των σπορίων με τη χρήση μικροσκοπίου Zeiss AxioStar Plus (Göttingen, Germany), στο Ομοσπονδιακό Ερευνητικό Κέντρο Τροφίμων και Διατροφής (Federal Research Institute of Food and Nutrition) στην



πόλη Καρλσρούη (Karlsruhe) της Γερμανίας. Ακολούθως, καθαρίστηκαν με πινέλο για την απομάκρυνση του πλεοναζουσών ακαθαρσιών, τεμαχίστηκαν και τοποθετήθηκαν απευθείας σε στεγανά γυάλινα φιαλίδια ειδικού πωματισμού-εφοδιασμένα με κατάλληλα septa- στην κατάψυξη (-20°C).

Για τις αναλυτικές μεθόδους που εφαρμόστηκαν χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

Προσδιορισμός πρωτεϊνών

- ✓ Πυκνό θειικό οξύ (H_2SO_4) (95-97%, Fluka, Ελβετία).
- ✓ Ταμπλέτες Kjeldahl (Special Kjeltabs S 3.5 Tecator, Σουηδία).
- ✓ Υδροξείδιο του νατρίου (NaOH) (Merck, Γερμανία).
- ✓ Βορικό οξύ (H_3BO_3) (Merck, Γερμανία).
- ✓ Υδροχλωρικό οξύ (HCl) (Merck, Γερμανία).
- ✓ Δείκτης: ερυθρό του μεθυλίου (Merck, Γερμανία).

Προσδιορισμός λίπους

- ✓ Πετρελαϊκός αιθέρας (Merck, Γερμανία).

Προσδιορισμός μετάλλων

- ✓ Πυκνό θειικό οξύ (H_2SO_4) (95-97%, Fluka, Buchs, Ελβετία).
- ✓ Πυκνό νιτρικό οξύ (HNO_3) (65%, Riedel de Haën, Seelze, Γερμανία).
- ✓ Υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) (30%, POCH S.A., Gliwice, Poland).
- ✓ Πρότυπα διαλύματα Mg, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Al, As και Sn (Merck, Γερμανία).

Προσδιορισμός πτητικών συστατικών

- ✓ Ίνα SPME 50/30 μm divinylbenzene/Carboxen on polydimethylsiloxane on a stable-Flex Fiber, (Supelco, Bellefonte, PA, Η.Π.Α.)
- ✓ Τριχοειδής στήλη DB WAX J&WSCIEEN 123-7032 (30m x 0,32mm x 0,25 μm).

Εξοπλισμός

Εξοπλισμός

- ✓ Πυριατήριο ξήρανσης Memmert (Schwabach, Γερμανία)
- ✓ Φούρνος αποτέφρωσης Ehret (Emmendingen, Γερμανία)
- ✓ Συσκευή Soxhlet
- ✓ Συσκευή προσδιορισμού αζώτου: Tecator (Kjeltec System 1002, Distilling unit, Σουηδία).



- ✓ Φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης (Perkin-Elmer Analyst 700, Waltham, MA, Η.Π.Α)
- ✓ Αέριος χρωματογράφος HP-6890 (Hewlett-Packard, Wilmington, DE, Η.Π.Α).
- ✓ Φασματογράφος μάζων HP-5973 (Hewlett-Packard, Wilmington, DE, Η.Π.Α).

3. Μέθοδοι

3.1. Προσδιορισμός Υγρασίας

Η περιεχόμενη υγρασία των διαφόρων φυτικών ιστών ποικίλει (π.χ: φρούτα: 92-94%, πατάτες: 78%, μανιτάρια: 82-94%, κλπ) και χαρακτηρίζεται ως κεφαλαιώδους σημασίας παράγοντας, ειδικότερα όταν συγκρίνονται αναλυτικά θρεπτικά στοιχεία μεταξύ των τροφίμων. Ταυτόχρονα όμως η περιεχόμενη υγρασία ενός τροφίμου, επηρεάζει άμεσα και το ποσοστό των υπόλοιπων θρεπτικών συστατικών του περιεχομένου του.

Η περιεκτικότητα των μανιταριών σε υγρασία προσδιορίζεται δι' υποβολής ενός δείγματος σε ξήρανση. Σύμφωνα με την εφαρμοζόμενη (έμμεση) μέθοδο (AOAC, 1995), κατάλληλος προζυγισμένος υποδοχέας πληρώνεται με το προς ξήρανση δείγμα ($\leq 10\text{g}$) και ζυγίζεται. Το δείγμα ξηραίνεται μέχρι σταθερού βάρους, (θερμοκρασία λίγο πιο πάνω από το σημείο ζέσεως του νερού: $103-105^{\circ}\text{C}$) σε πυριατήριο σταθερής θερμοκρασίας για 15h περίπου μέχρι σταθερού βάρους. Ακολούθως, ο υποδοχέας του δείγματος ψύχεται σε ξηραντήρα και επαναζυγίζεται σε αναλυτικό ζυγό. Η απώλεια του βάρους του δείγματος που επήλθε κατά την ξήρανση εκφράζει την ποσότητα του νερού που περιέχεται σ' αυτό και η αναγωγή της επί τις εκατό, παρέχει την περιεκτικότητα σε νερό στα διάφορα είδη μανιταριών.

Η % υγρασία του δείγματος Y υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\%Y = [(W_A - W_T) / W_A] \times 100 \quad (1)$$

όπου,

W_A = Βάρος αρχικού δείγματος.

W_T = Βάρος τελικού αποξηραμένου δείγματος.

3.2. Προσδιορισμός Τέφρας

Με ισχυρή θέρμανση στους $500-600^{\circ}\text{C}$ τα τρόφιμα χάνουν όλα τα οργανικά συστατικά που περιέχουν, ενώ η οργανική τους ουσία, καίγεται παρουσία O_2 , με



προϊόντα CO₂, H₂O και NO_x. Τα περιεχόμενα μέταλλα παραμένουν ως οξείδια και το σύνολο αυτό των ανόργανων συστατικών, αποτελεί την τέφρα.

Ο προσδιορισμός της τέφρας των δειγμάτων μανιταριών επιτυγχάνεται με τοποθέτηση 10g δείγματος σε προζυγισμένο χωνευτήριο πορσελάνης, το οποίο καίγεται παρουσία ζωντανής φλόγας στον απαγωγό μέχρι απανθράκωσης του δείγματος και ακολούθως εισάγεται σε φούρνο υψηλής θερμοκρασίας (500-600°C) για 12h, με στόχο την πλήρη χώνευση. Έπειτα, η κάψα ψύχεται τοποθετούμενη σε ξηραντήρα, οπότε και ζυγίζεται το υπόλειμμα (AOAC, 1995).

Η απώλεια βάρους του δείγματος των μανιταριού που επέρχεται κατά την καύση στον κλίβανο, εκφράζει την ποσότητα της οργανικής ουσίας που περιείχετο σ' αυτό, ενώ το βάρος του δείγματος μετά την αποτέφρωση αντιστοιχεί στο ποσό της ανόργανης ουσίας που περιέχεται στην ποσότητα του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε. Το αποτέλεσμα ανάγεται επί τις % και παρέχει την περιεκτικότητα πλέον του μανιταριού σε ανόργανα συστατικά (τέφρα).

Η % τέφρα του δείγματος T υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\%T = [(W_A - W_T) / W_A] \times 100 \quad (2)$$

όπου,

W_A = Βάρος αρχικού δείγματος.

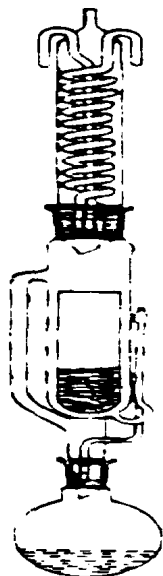
W_T = Βάρος τελικού αποξηραμένου δείγματος.

3.3. Προσδιορισμός Λίπους

Ο προσδιορισμός του ποσοστού λίπους, που περιέχει κάθε είδος μανιταριού, έγινε σταθμικά μετά από εκχύλιση του δείγματος με την μέθοδο Soxhlet (AOAC, 1995, Τζουβάρα-Καραγιάννη, 1996).

Για τη μέτρηση, 5g νωπού δείγματος μεταφέρθηκαν σε φύσιγγα εκχύλισης, η οποία πωματίστηκε με βαμβάκι. Ακολούθως, η φύσιγγα τοποθετήθηκε σε εκχυλιστήρα συσκευής Soxhlet (Σχήμα 1), στον οποίο προστέθηκε τόση ποσότητα πετρελαϊκού αιθέρα, όση απαιτείται για να καλυφθεί πλήρως 1,5 φορά ο όγκος του εκχυλιστήρα. Η διάρκεια εκχύλισης για την πλήρη ποσοτική παραλαβή του λίπους από τα δείγματα μανιταριών ήταν 5h. Όταν η εκχύλιση ολοκληρώθηκε, η ποσότητα του διαλύτη που πιθανά παρέμεινε στον εκχυλιστήρα μεταφέρθηκε προσεχτικά στον υποδοχέα, ενώ το σύνολο του διαλύτη, αποστάχθηκε σε αποστακτική συσκευή κενού. Η φιάλη τοποθετήθηκε σε πυριατήριο στους 105°C για 5-10min, ψύχθηκε σε ξηραντήρα και ζυγίστηκε.





Σχήμα 1. Εκχυλιστική συσκευή Soxhlet

- Η % περιεκτικότητα των μανιταριών σε λίπος Λ υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\% \text{ Λίπος} = (W_3 - W_2) / W_1 \cdot 100 \quad (3)$$

όπου W_1 = Βάρος αρχικού δείγματος (g),

W_2 = Βάρος κενής φιάλης (g),

W_3 = Βάρος δείγματος και φιάλης (g).

3.4. Προσδιορισμός Πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες περιέχουν κατά μέσο όρο 16% άζωτο. Άρα, αν είναι γνωστό το περιεχόμενο άζωτο του δείγματος, μπορεί εύκολα να υπολογιστεί το ποσοστό της πρωτεΐνης του, πολλαπλασιάζοντας το περιεχόμενο άζωτο με τον συντελεστή 6,25 ($100\% \div 16\%$) (FAO/WHO, 2002). Η ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τον προσδιορισμό του αζώτου των τροφίμων είναι η μέθοδος Kjeldahl, που πήρε το όνομα της από τον Δανό χημικό Johan Kjeldahl, ο οποίος και την εφήυρε.

Για τη μέτρηση του αζώτου, η οργανική ύλη εκάστου δείγματος μανιταριών αποσυντίθεται μετά από θέρμανση με θειικό οξύ (H_2SO_4), παρουσία καταλύτη (K_2SO_4 , Se). Κατά τη θέρμανση το υδρογόνο και ο άνθρακας των οργανικών ενώσεων οξειδώνονται προς νερό (H_2O) και διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) αντίστοιχα, ενώ το άζωτο ανάγεται προς αμμωνία (NH_3), η οποία δεσμεύεται από την περίσσεια του H_2SO_4 . Στη συνέχεια ακολουθεί απελευθέρωση της δεσμευμένης αμμωνίας με διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου ($NaOH$). Η απελευθερούμενη στο διάλυμα NH_3 , παραλαμβάνεται ποσοτικά με απόσταξη μέσα σε διάλυμα βορικού οξέος (H_3BO_3)



4%. Έπεται τέλος, ογκομέτρηση με διάλυμα HCl ή H₂SO₄ (πρότυπα διαλύματα 0,1N) και υπολογισμός του επί τις εκατό ολικού αζώτου του δείγματος.

Οι % πρωτεΐνες υπολογίζονται ποσοτικά πολλαπλασιάζοντας το ολικό άζωτό % με τον συντελεστή Kjeldahl (F= 6,25).

$$\text{Πρωτεΐνες \%} = \text{Ολικό άζωτο \%} \times F \quad (4)$$

Αναλυτικά η εφαρμοζόμενη μέθοδος έχει ως ακολούθως:

1. Ζύγιση δείγματος βάρους 1g με ακρίβεια 0,1mg και τοποθέτηση του στη φιάλη πέψης.
2. Προσθήκη στη φιάλη πέψης 2 δισκίων Kjeltabs (3,5 g K₂SO₄, και 0,0035 g Se) και 12 mL πυκνού H₂SO₄.
3. Χώνευση στους 420°C, μέχρις ότου το δείγμα αποκτήσει διαυγές κίτρινο χρώμα.
4. Ψύξη της φιάλης για 10-20min.
5. Προσθήκη 80mL απιονισμένου νερού στους σωλήνες χώνευσης.
6. Προσθήκη 25mL του διαλύματος παραλαβής (H₃BO₃, 4%) σε κωνική φιάλη και τοποθέτηση της στη μονάδα απόσταξης (Tecator, Kjeltac System 1002, Distilling unit, Σουηδία).
7. Προσθήκη 50ml NaOH 40%, στους τοποθετημένους σωλήνες χώνευσης, στη συσκευή απόσταξης.
8. Απόσταξη μέχρις όγκου 200mL.
9. Προσθήκη 2 σταγόνων δείκτη ερυθρού του μεθυλίου και κυανού του μεθυλενίου.
10. Τίτλομέτρηση του αποστάγματος με HCl 0,1N, μέχρις ότου το πράσινο χρώμα του διαλύματος μετατραπεί σε μπλε-μοβ. Συγχρόνως εκτελείται και λευκός προσδιορισμός.

Το αποτέλεσμα εκφράζεται ως % N, μέσω της σχέσης:

$$N\% = \frac{(T-B) \times N \times 14,007 \times 100}{\text{Βάρος δείγματος (mg)}} \quad (5)$$

όπου T= Όγκος HCl που απαιτείται για την τιτλομέτρηση του δείγματος μανιταριού

B= Όγκος HCl που απαιτείται για την τιτλομέτρηση του λευκού δείγματος

N= Κανονικότητα (N=0,1) του διαλύματος τιτλομέτρησης (HCl).



3.5. Προσδιορισμός Υδατανθράκων

Η ξηρή ουσία των μανιταριών όπως προαναφέρθηκε, περιέχει σημαντικά ποσοστά υδατανθράκων, τα οποία και αποτελούν βασικά θρεπτικά συστατικά. Οι υδατάνθρακες των μανιταριών περιλαμβάνουν πολυσακχαρίτες, όπως οι γλυκάνες, μονοσακχαρίτες και δισακχαρίτες, γλυκογόνο και χιτίνη (Kurzman, 1997).

Ο προσδιορισμός του περιεχομένου των δειγμάτων μανιταριών γίνεται βάσει του ακόλουθου τύπου:

Συνολικοί υδατάνθρακες (νωπό προϊόν) = 100 - υγρασία (%) - ποσοστό πρωτεϊνών (% νωπού προϊόντος) - ποσοστό λίπους (% νωπού προϊόντος) - τέφρα (% νωπού προϊόντος). (Matilla et al., 2002).

Σύγκριση πειραματικών δεδομένων με πιστοποιημένο πρότυπο αναφοράς

Για τον έλεγχο της αξιοπιστίας, της ακρίβειας, της ευαισθησίας και της επαναληψιμότητας των μεθόδων που εφαρμόστηκαν, χρησιμοποιήθηκε το πιστοποιημένο πρότυπο υλικό αναφοράς (CRM) BCR-381 (άλευρο σίκαλης), το οποίο προμηθεύθηκε από το Ινστιτούτο Προτύπων Υλικών και Μετρήσεων (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM, Geel, Belgium) του Βελγίου. Το CRM αποθηκεύτηκε κάτω από καθορισμένες ελεγχόμενες συνθήκες ώστε να διασφαλιστεί η σταθερότητα του, ενώ πραγματοποιήθηκαν 10 μετρήσεις με το συγκεκριμένο πρότυπο και τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνεκρίθησαν με τις πιστοποιημένες τιμές αναφοράς. Οι τιμές αναφοράς του ολικού αζώτου, του λίπους και της τέφρας για το πιστοποιημένο πρότυπο αναφοράς BCR-381 ήταν $1,25 \pm 0,02$, $1,1 \pm 0,1$ και $0,86 \pm 0,03$, ενώ οι αντίστοιχες προσδιοριζόμενες τιμές στο ίδιο υλικό για τις εφαρμοζόμενες μεθόδους της παρούσας διατριβής $1,23 \pm 0,03$, $1,2 \pm 0,2$ και $0,84 \pm 0,04$ αντιστοιχώς. Βάσει αυτών των αποτελεσμάτων, τα πειραματικά δεδομένα που προέκυψαν από την ανάλυση ήταν σε πλήρη συμφωνία με τις πιστοποιημένες τιμές.

3.6. Προσδιορισμός Μετάλλων με ΦΑΑ.

Προκατεργασία δειγμάτων

Για τον προσδιορισμό των μετάλλων τα δείγματα των μανιταριών ξηράνθηκαν στους 105°C με στόχο την πλήρη απομάκρυνση της υγρασίας. Εν συνεχεία 2g εκάστου δείγματος χωνεύτηκαν με 12 ml μείγματος $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}_2$ (4:1:1) στους 70°C για 3 h. Ακολούθησε ψύξη του διαλύματος που προέκυψε,



προσθήκη 20 ml δις απεσταγμένου νερού και επαναχώνευση με HNO_3 και H_2SO_4 , μέχρι πλήρους οξείδωσης της οργανικής ύλης. Το τελικό διάλυμα μεταφέρθηκε ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml και τοποθετήθηκε σε πλαστικό φιαλίδιο των 100 ml μέχρι τον τελικό προσδιορισμό των περιεχομένων μετάλλων.

Οργανολογία - Πρότυπες καμπύλες αναφοράς

Ο ποσοτικός προσδιορισμός όλων των μεταλλικών στοιχείων έγινε με φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης (Perkin-Elmer Analyst 700), με χρήση φούρνου γραφίτη (Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Pb, Cd, Al, As, Sn) ή φλόγας αέρα – ακετυλενίου (Mg, Fe, Zn) κάνοντας χρήση προτύπων διαλυμάτων για την κατασκευή των πρότυπων καμπυλών. Τα μήκη κύματος (nm) που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του σιδήρου, του ψευδαργύρου, του μαγνησίου, του καδμίου, του μολύβδου, του χρωμίου, του μαγγανίου, του κοβαλτίου, του νικελίου, του χαλκού, του αρσενικού, του κασσίτερου και του αλουμινίου ήταν: 248,30, 285,20, 213,90, 228,80, 283,30, 357,90, 279,50, 240,70, 232,00, 324,80, 193,70, 224,60 και 309,30 αντιστίχως. Οι συντελεστές συσχέτισης (correlation coefficients) στις πρότυπες καμπύλες έτειναν στην μονάδα ($R^2=0,999-1$). Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε το αδρανές αέριο αργό, ενώ όλες οι αναλύσεις εκτελέστηκαν εις τριπλούν.

Η αξιοπιστία των μετρήσεων έναντι των επιλεγμένων μεταλλικών στοιχείων αποτιμήθηκε με ανάλυση του πιστοποιημένου πρότυπου δείγματος αναφοράς CRM-CE 278 (μύδια), το προμηθεύθηκε από το Ινστιτούτο Προτύπων Υλικών και Μετρήσεων (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM, Geel, Belgium) του Βελγίου. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 1 που ακολουθεί, η ανάκτηση της μεθόδου κυμάνθηκε από 96,2-102%. Επίσης, για τον περαιτέρω έλεγχο της σταθερότητας των μετρήσεων το διάλυμα που ελήφθει μετά την χώνευση του CRM's, τοποθετήθηκε στον αυτόματο δειγματολήπτη και αναλυόταν μετά από κάθε δέκα μετρήσεις. Κάθε φορά που η συγκέντρωση του παρέκλινε άνω του 10% από την πιστοποιημένη τιμή, η καμπύλη αναφοράς επανασχεδιαζόταν.



Πίνακας 1. Τιμές προτύπου δείγματος αναφοράς (CRM's) και προσδιοριζόμενες τιμές για τα αναλυόμενα μεταλλικά στοιχεία.

Μέταλλο	Τιμή αναφοράς (μg/g)	Προσδιοριζόμενη τιμή* (μg/g)	Ανάκτηση (%)
As	6,07±0,13	5,98±0,20	98,5
Cd	0,348 ± 0,007	0,340 ± 0,01	97,7
Cr	0,78 ± 0,06	0,75 ± 0,10	96,2
Cu	9,45 ± 0,13	9,30 ± 0,15	98,4
Mn	7,69 ± 0,23	7,58 ± 0,42	98,6
Pb	2,00 ± 0,04	1,94 ± 0,10	97,0
Se	1,84 ± 0,10	1,80 ± 0,18	97,8
Zn	83,1 ± 1,7	84,8 ± 3,0	102,0
* Μέσος όρος πέντε (5) μετρήσεων εις διπλούν			

3.7. Στατιστική ανάλυση

Για τον προσδιορισμό κάθε δυνατής επίδρασης των ειδών των καρποσωμάτων στην χημική σύσταση χρησιμοποιήθηκε ανάλυση της διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (ANOVA). (Zar, 1984). Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές επεξεργάστηκαν επιπλέον μέσω της σύγκρισης σε ζεύγη των μέσων όρων των τιμών, σύμφωνα με τα 95% όρια εμπιστοσύνης, λαμβάνοντας υπόψη την τυπική απόκλιση της ANOVA, ενώ τέλος, οι ιδιαίτερες επιδράσεις μεταξύ των ειδών μανιταριών και των χημικών μεταβλητών, εξετάστηκαν με χρήση κύριας συνιστώσας ανάλυσης (Sharma, 1996).



3.8. Ταυτοποίηση πτητικών συστατικών

Οι πτητικές ενώσεις των μανιταριών ταυτοποιήθηκαν με τη τεχνική της μικροεκχύλισης δια της στερεάς φάσης (Solid Phase Microextraction, SPME) σε συνδυασμό με αέρια χρωματογραφία/φασματοσκοπία μαζών (GC-MS) με την χρήση της ίνας 50/30 μm divinylbenzene/Carboxen on polydimethylsiloxane on a stable-Flex Fiber, (Supelco, Bellefonte, PA, H.Π.Α.)

3.8.1. Προκατεργασία δειγμάτων

Χρησιμοποιήθηκαν δείγματα μανιταριών των προς μελέτη ειδών τα οποία τεμαχίστηκαν χωρίς διαχωρισμό των επιμέρους τμημάτων του καρποσώματος τους και διατηρήθηκαν στην κατάψυξη (-20°C) μέχρι την πειραματική κατεργασία και μελέτη τους.

1 g δείγματος (τμήματα του καρποσώματος) τοποθετήθηκε σε γυάλινα φιαλίδια όγκου 4 mL, τα οποία και σφραγίστηκαν με πώματα εφοδιασμένα με κατάλληλα septa. Κάθε γυάλινο φιαλίδιο θερμάνθηκε αρχικά σε θερμοκρασία 45°C για 15 min, προκειμένου να επιτευχθεί ισορροπία μεταξύ του δείγματος και της υπερκείμενης φάσης. Η ίνα SPME τοποθετήθηκε τρυπώντας το septum στην υπερκείμενη φάση. Το σύστημα κρατήθηκε στους 50°C για άλλα 15 min ώστε να επέλθει ισορροπία μεταξύ ίνας και υπερκείμενης φάσης. Ακολούθως, η ίνα μεταφέρθηκε στον εγχυτή του αέριου χρωματογράφου όπου παρέμεινε για 10 min ούτως ώστε τα πτητικά συστατικά να εκροφηθούν στη στήλη με τη βοήθεια του φέροντος αερίου.

3.8.2. Συνθήκες αέριας χρωματογραφίας –φασματοσκοπίας μαζών

Τα πτητικά συστατικά των δειγμάτων ταυτοποιήθηκαν με χρήση συστήματος αέριου χρωματογράφου-φασματογράφου μαζών (GC-MS), αποτελούμενου από αέριο χρωματογράφο HP-6890 (Hewlett-Packard, Wilmington, DE, H.Π.Α) και εφοδιασμένου με φασματογράφο μάζας HP- 5973, με τριχοειδή στήλη DB WAX J&WSCIEEN 123-7032 (30m x 0,32mm x 0,25 μm). Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε υψηλής καθαρότητας ήλιο.

Οι συνθήκες λειτουργίας του αέριου χρωματογράφου ήταν οι ακόλουθες:

- Θερμοκρασία εγχυτή: 250°C .



- ✦ Θερμοκρασιακό πρόγραμμα του φούρνου: 5 min στους 40 °C → 8 °C min⁻¹ μέχρι τους 80 °C → 5 °C min⁻¹ μέχρι τους 120 °C → 8 °C min⁻¹ μέχρι τους 250 °C για 5 min.
- ✦ Θερμοκρασία ανιχνευτή MS: 250 °C.
- ✦ Τρόπος έγχυσης: Split με λόγο 2:1.
- ✦ Φέρον αέριο: Ήλιο (ροή ηλίου: 30 cm/sec).

Αντίστοιχα οι συνθήκες για τον φασματογράφο μάζας ήταν οι παρακάτω:

- ✦ Source θερμοκρασία: 230°C;
- ✦ Θερμοκρασία τετράπολου. 150 °C;
- ✦ Θερμοκρασία γραμμής μεταφοράς 280°C;
- ✦ acquisition mode electron impact (EI; 70 eV) and
- ✦ Εύρος μαζών σάρωσης mass range mass/charge (m/z): 30-250.

Τα πτητικά συστατικά ταυτοποιήθηκαν βάσει των χρόνων κατακράτησης και των φασμάτων μαζών με τη χρήση των βιβλιοθηκών WILEY 275 L (J. Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England) και NIST 1998 (MS Library; Rev. D. 01.00, HP, USA).

Όπως είναι γνωστό, ο χρόνος κατακράτησης μιας αναλυόμενης ένωσης σε μια τριχοειδή στήλη αέριας χρωματογραφίας είναι αποτέλεσμα της διαφορετικής κατανομής της διαλυμένης ουσίας μεταξύ της στατικής υγρής και της κινούμενης αέριας φάσης. Άρα, η κατακράτηση της διαλυμένης ύλης στην στήλη όπως και ο διαχωρισμός της, είναι συνέπεια της διαδικασίας διάλυσης των αναλυόμενων μορίων στη στατική υγρή φάση.

3.9. Γραμμικοί Δείκτες Κατακράτησης (LRI)

Για τον προσδιορισμό των δεικτών γραμμικής συσχέτισης (RI) των άγνωστων ενώσεων της παρούσας διατριβής χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα αλκανίων σε εξάνιο από 8 έως 20 άτομα άνθρακα συγκέντρωσης 40 μg/lit, τα οποία εμφάνισαν αντιστοίχως τους παρακάτω χρόνους κατακράτησης.



Πίνακας 2 . Χρόνοι κατακράτησης πρότυπων αλκανίων

Ένωση	Χρόνος κατακράτησης Rt
Octane	1,82
Nonane	2,73
Decane	4,76
Undecane	7,72
Dodecane	10,22
Tridecane	12,6
Tetradecane	15,02
Pentadecane	17,44
Hexadecane	19,69
Heptadecane	21,56
Octadecane	23,2
Nonadecane	24,7
Eicosane	26,08



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ



1. Χημική σύσταση καρποσωμάτων

Τα καρποσώματα των ανώτερων μυκήτων, Βασιδιομυκήτων ή Ασκομυκήτων συνίστανται από νερό και ξηρή ουσία. Η ξηρή ουσία αποτελείται από οργανικές ενώσεις (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπίδια, βιταμίνες) και τέφρα η οποία απαρτίζεται από τα οξείδια ανόργανων μεταλλικών στοιχείων.

Η περιεκτικότητα σε νερό ποικίλλει στα διάφορα τμήματα του καρποσώματος. Έτσι, ο πύλος και ο στύπος περιέχουν υψηλά ποσοστά ύδατος που κυμαίνονται μεταξύ 80-92% του βάρους τους (Πίνακας 1), ενώ στα σπόρια η περιεκτικότητα σε νερό προσεγγίζει το 15-25%. Ωστόσο, σε διάφορα είδη μυκήτων όπως το *Penicillium digitatum* η περιεκτικότητα σε νερό των σπορίων είναι 6%, ενώ στα σπόρια των ωιδίων η τιμή ξεπερνά το 50%, γι' αυτό και βλαστάνουν εύκολα σε περιβάλλον χαμηλής σχετικής υγρασίας (Lohmeyer & Künkele, 2005).

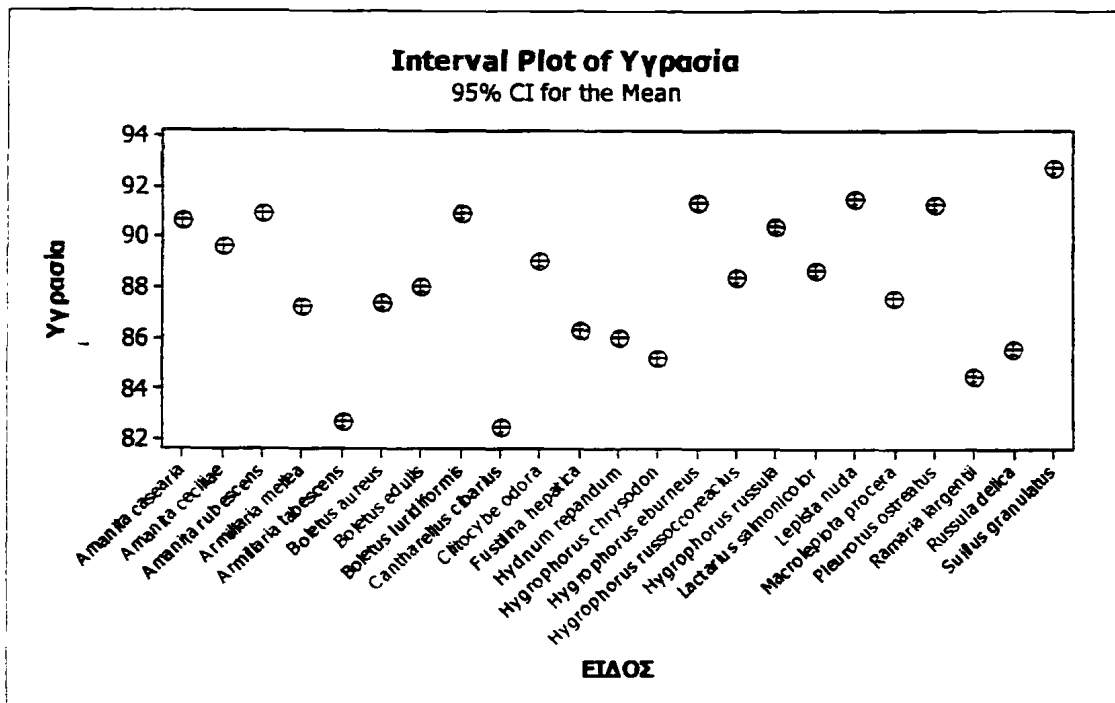
Πίνακας 1. Περιεκτικότητα καρποσωμάτων σε νερό g/100g δείγματος (Ouzouni & Riganakos, 2007; Ouzouni et al., 2007; Ouzouni et al., 2009))

Είδος	Υγρασία	Είδος	Υγρασία
<i>Amanita caesaria</i>	90,60±2,34	<i>Hygrophorus chrysodon</i>	85,10±3,62
<i>Amanita ceciliae</i>	89,80±3,57	<i>Hygrophorus eburneus</i>	91,40±4,98
<i>Amanita rubescens</i>	90,80±4,21	<i>Hygrophorus russocoreaciis</i>	88,30±3,68
<i>Armillaria mellea</i>	87,10±2,17	<i>Hygrophorus russula</i>	90,30±4,12
<i>Armillaria tabescens</i>	82,80±2,33	<i>Lactarius salmonicolor</i>	88,70±4,20
<i>Boletus aureus</i>	87,50±3,89	<i>Lepista nuda</i>	91,60±2,78
<i>Boletus edulis</i>	88,10±3,26	<i>Macrolepiota procera</i>	87,70±2,44
<i>Boletus luridiformis</i>	91,10±4,11	<i>Pleurotus ostreatus</i>	91,50±3,83
<i>Cantharellus cibarius</i>	82,50±3,56	<i>Ramaria larentii</i>	84,50±2,58
<i>Clitocybe odora</i>	89,10±2,86	<i>Russula delica</i>	85,70±3,35
<i>Fistulina hepatica</i>	86,20±2,78	<i>Suillus granulatus</i>	92,80±3,79
<i>Hydnum repandum</i>	86,00±4,08		

Ειδικότερα, το περιεχόμενο ποσοστό νερού κυμαίνεται από 82,5% για το είδος *Cantharellus cibarius* έως 92,8% για το είδος *Suillus granulatus*. Οι διαφορές αυτές στο περιεχόμενο νερό οφείλονται πιθανότατα στις περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία – σχετική υγρασία) στις οποίες αναπτύσσονται τα μανιτάρια, στο είδος του μακρομύκητα, αλλά και στο στάδιο ωριμότητας του (Kurzman 1997; Manzi et al., 2001). Συγκρίνοντας ωστόσο τους μέσους όρους των δειγμάτων σε υγρασία με βάση



τα 95% όρια εμπιστοσύνης (Διάγραμμα 1) παρατηρούμε ότι όπου οπτικά δεν υπάρχει επικάλυψη των μέσων όρων υφίσταται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ειδών. Δηλαδή δεν εμφανίζουν στατικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους τα είδη *Armillaria mellea*, *Boletus aureus* και *Macrolepiota procera*, τα *Armillaria tabescens* και *Cantharellus cibarius*, τα *Amanita rubescens*, *Boletus luridiformis* και *Hygrophorus russula*, τα *Hygrophorus chrysodon* και *Russula delica*, καθώς και τα είδη *Hygrophorus eburneus*, *Lepista nuda* και *Pleurotus ostreatus*.



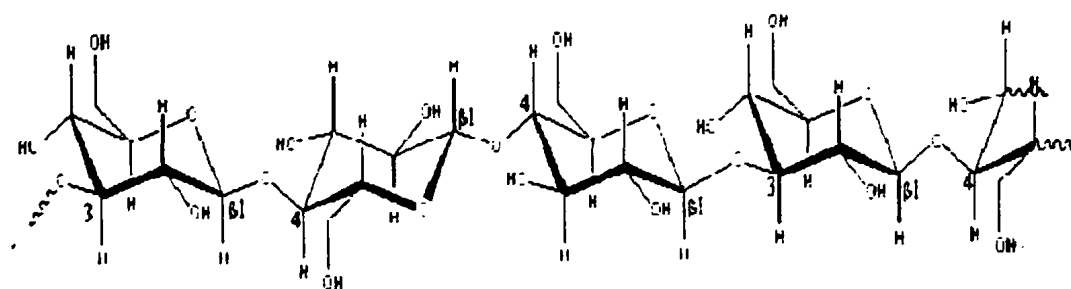
Διάγραμμα 1. Μέσες τιμές υγρασίας συναρτήσει των ειδών των μανιταριών.

(Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης).

Αντίστοιχα οι τιμές των υδατανθράκων, πρωτεϊνών, λιπών και τέφρας επί ξηρού αποτυπώνονται στον πίνακα 2. Στην κατηγορία των υδατανθράκων περιλαμβάνονται ενώσεις όπως η χιτίνη και οι β-γλυκάνες που είναι πολυμερή της γλυκόζης ενωμένα με β-1,3 και β-1,6 γλυκοζιτικούς δεσμούς (Σχήμα 1). Το είδος με τη μικρότερη περιεκτικότητα είναι το *Hygrophorus eburneus* με ποσοστό 40,05% ενώ το είδος με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα η *Fistulina hepatica* (80,90%). Οι ενώσεις αυτές σε in vitro πειράματα εμφάνισαν ευθεία κυτταροτοξική δράση εναντίον καρκινικών κυττάρων, ενώ σε in vivo μελέτες σε ινδικά χοιρίδια αντικαρκινική δράση μέσω αύξησης των παραγόμενων Τ-λευκοκυττάρων ή των μακροφάγων, ώστε να ενισχυθεί σημαντικά το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενούς (Smith et al., 2002; Sadler, 2003).

Πίνακας 2. Βασική σύσταση καρποσωμάτων g/100ξηρής ουσίας
Ouzouni & Riganakos, 2007, Ouzouni et al., 2007; Ouzouni et al., 2009a)

Είδος	Υδατάνθρακες	Πρωτεΐνες	Λίπη	Τέφρα
<i>Amanita casearia</i>	55,71±0,06	34,76±0,06	3,49±0,00	6,04±0,01
<i>Amanita ceciliae</i>	54,32±0,18	36,86±0,29	3,23±0,01	5,59±0,02
<i>Amanita rubescens</i>	62,19±0,33	25,99±0,33	7,22±0,06	4,60±0,12
<i>Armillaria mellea</i>	67,77±0,15	22,32±0,12	2,01±0,02	7,90±0,02
<i>Armillaria tabescens</i>	73,88±0,07	17,77±0,20	1,56±0,03	6,79±0,15
<i>Boletus aureus</i>	54,08±0,10	35,20±0,16	4,48±0,02	6,24±0,02
<i>Boletus edulis</i>	65,45±0,38	26,49±0,16	2,77±0,02	5,29±0,12
<i>Boletus luridiformis</i>	67,69±0,24	22,77±0,17	5,16±0,05	4,38±0,09
<i>Cantharellus cibarius</i>	68,19±0,23	21,48±0,21	1,88±0,02	8,45±0,01
<i>Clitocybe odora</i>	41,72±0,18	43,24±0,10	5,87±0,04	9,17±0,03
<i>Fistulina hepatica</i>	80,90±0,10	11,65±0,20	2,17±0,02	5,28±0,10
<i>Hydnum repandum</i>	67,88±0,16	19,71±0,11	2,28±0,03	10,13±0,04
<i>Hygrophorus chrysodon</i>	71,09±0,23	15,09±0,06	4,69±0,05	9,13±0,05
<i>Hygrophorus eburneus</i>	40,05±0,11	33,46±0,12	9,41±0,04	17,08±0,08
<i>Hygrophorus russocoreacius</i>	52,35±0,13	33,64±0,11	3,50±0,02	10,51±0,11
<i>Hygrophorus russula</i>	44,91±0,06	37,59±0,06	9,88±0,10	7,62±0,03
<i>Lactarius salmonicolor</i>	71,87±0,18	19,11±0,14	5,75±0,03	3,27±0,02
<i>Lepista nuda</i>	70,93±0,17	19,83±0,12	3,23±0,04	6,01±0,07
<i>Macrolepiota procera</i>	68,40±0,20	23,89±0,20	2,27±0,01	5,44±0,13
<i>Pleurotus ostreatus</i>	70,66±0,24	21,44±0,20	3,42±0,03	4,48±0,07
<i>Ramaria largentii</i>	58,60±0,25	28,77±0,46	5,80±0,12	6,83±0,12
<i>Russula delica</i>	63,86±0,31	26,08±0,30	4,47±0,04	5,59±0,03
<i>Suillus granulatus</i>	74,34±0,25	16,47±0,12	4,01±0,05	5,18±0,10



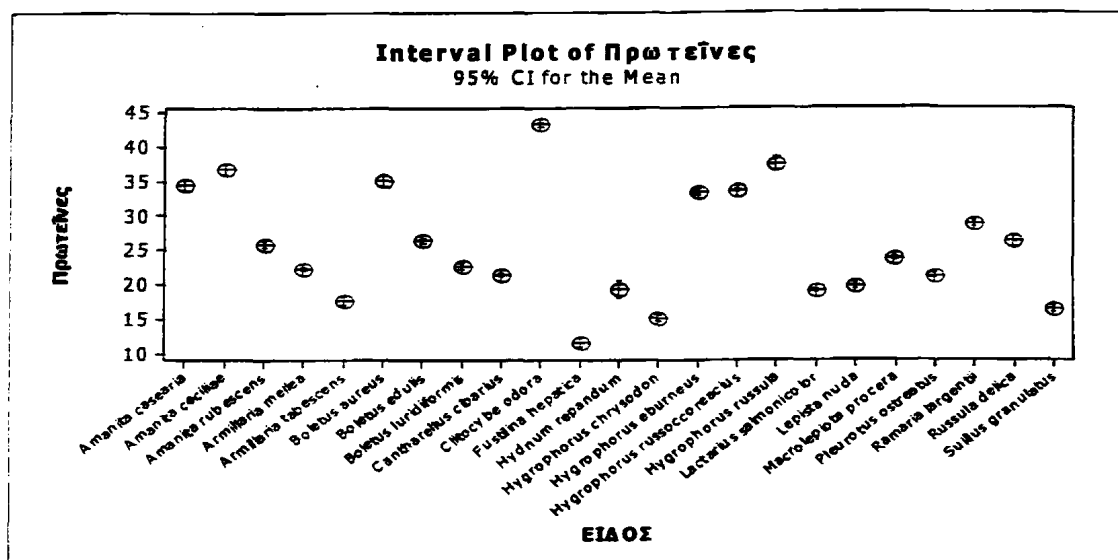
Σχήμα 1. Στερεοχημικός τύπος β- γλυκανών

Η διατροφική αξία των πρωτεϊνών είναι συνήθως πολύ υψηλή στην πλειονότητα των μανιταριών και μάλλον ισοδύναμη ποιοτικά με τις πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης (Ilievska & Petrovska, 2000). Φαίνεται δε σε ορισμένα είδη νωπών καρποσωμάτων όπως τα *Amanita rubescens*, *Ramaria flava*, *Boletus frostii* και *Lactarius indico* το ποσοστό πρωτεϊνών να κυμαίνεται από 190-350g/Kg όταν στο αλεύρι είναι 132 g/Kg και στο γάλα 252 g/Kg (León-Guzman et al., 1997). Θεωρούνται επίσης είδη με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες συγκριτικά με κοινά λαχανικά και φρούτα, ενώ παράλληλα εμφανίζουν υψηλότερα ποσοστά περιεχόμενων βασικών αμινοξέων, όπως θρεονίνη, τυροσίνη και αργινίνη σε σχέση με την πατάτα, το καρότο ή το κουνουπίδι (Mattila et al., 2002).

Το επίπεδο των περιεχόμενων πρωτεϊνών στα είδη της παρούσας διατριβής εμφανίζει σημαντικές διακυμάνσεις, εφόσον κυμαίνεται από 11,65% για το είδος *Fistulina hepatica* έως 43,24% για το είδος *Clitocybe odora*. Αξιοσημείωτη είναι η στατιστικά σημαντική διαφορά που παρατηρείται μεταξύ του είδους *Hygrophorus chrysodon* του γένους *Hygrophorus* (Διάγραμμα 2), σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη της ίδιας οικογένειας, αφού η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες είναι 15,09% για το πρώτο, 33,46% για το *H. eburneus*, 33,64% για το *H. russocoreacius* και 37,59% για το *H. russula*. Διαφορά επίσης παρατηρείται και μεταξύ των ειδών της οικογένειας *Amanitaceae*, καθώς το είδος *Amanita rubescens*, περιέχει πρωτεΐνες σε ποσοστό 25,99%, ενώ τα είδη *A. caesaria* και *A. ceciliae* 34,76% και 36,86% αντιστοίχως. Εντούτοις, παρατηρούνται μεταξύ διαφόρων ειδών μη σημαντικές διαφοροποιήσεις όπως μεταξύ των ειδών *Lactarius salmonicolor*, *Hydnum repandum* και *Lepista nuda* (19,11%, 19,71%, 19,83%), των *Pleurotus ostreatus* και *Cantharellus cibarius* (21,44%, 21,48%), καθώς και των *Russula delica* και *Boletus edulis* (26,08%, 26,49%).

Ωστόσο, ορισμένοι ερευνητές (Danell & Eaker, 1992; Fujihara et al., 1995), υποστηρίζουν ότι το ποσοστό των πρωτεϊνών δεν είναι στην πραγματικότητα τόσο υψηλό, διότι το 60-77% του προσδιοριζόμενου με τις κρατούσες αναλυτικές μεθόδους περιεχόμενου N₂, απαντάται στις πρωτεΐνες, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό ως ελεύθερα αμινοξέα στα νουκλεϊκά οξέα ή στη χιτίνη των κυτταρικών τοιχωμάτων τους.





Διάγραμμα 2. Μέσες τιμές πρωτεϊνών συναρτήσει των ειδών των μανιταριών.

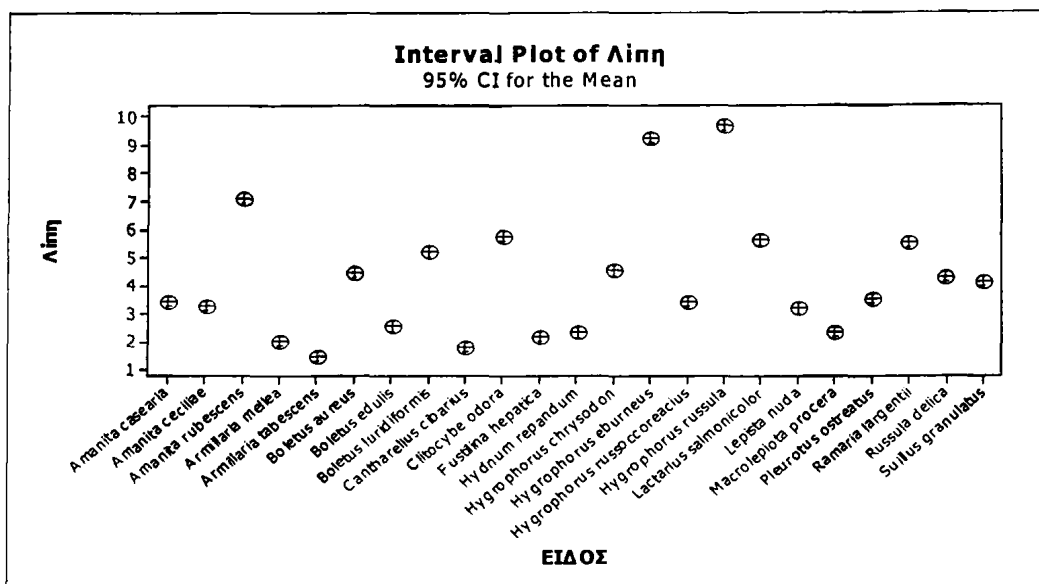
(Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης).

Οι λιπαρές ύλες των μανιταριών περιλαμβάνουν όλες τις αντιπροσωπευτικές ομάδες λιπαρών συστατικών που απαντώνται στα τρόφιμα, όπως ελεύθερα λιπαρά οξέα, μονο-, δι- και τριγλυκερίδια, στερόλες, εστέρες των στερολών και φωσφολιπίδια (Crisan & Sands, 1978). Είναι επίσης, σημαντική πηγή ακόρεστων λιπαρών οξέων όπω- ελαϊκού και λινελαϊκού οξέος. Η μικρή περιεκτικότητα των καρποσωμάτων σε λιπαρά, κατατάσσει τα μανιτάρια αβίαστα, σε εκείνη την κατηγορία τροφίμων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ημερήσια διαιτητικά σχήματα χαμηλών ενεργειακών απαιτήσεων.

Μεταξύ των περισσότερων μελετηθέντων ειδών δεν υπάρχει μεγάλη απόκλιση στο περιεχόμενο λίπος (Διάγραμμα 3). Οι τιμές αυτές που καταγράφονται για τα περισσότερα είδη από 2,01-5,16% βρίσκονται σε απόλυτη συνάφεια με αντίστοιχες τιμές προηγούμενων μελετών (Mattila et al., 2002; Murugkar & Subbulakshmi, 2005). Μόνο τα είδη *Lactarius salmonicolor*, *Ramaria larentii*, *Clitocybe odora*, *Amanita rubescens*, *Hygrophorus eburneus*, και *Hygrophorus russula*, εμφανίζουν τιμές ίσες με 5,75%, 5,80%, 5,87%, 7,22%, 9,41%, 9,83%. Ωστόσο, τα ποσοστά αυτά εξακολουθούν να είναι χαμηλά συγκριτικά με το περιεχόμενο ποσοστό λίπους άλλων τροφίμων, κατατάσσοντας τα μανιτάρια στα τρόφιμα εκείνα που συμβάλλουν στη μείωση του σωματικού βάρους σε μια δίαιτα χαμηλών απαιτήσεων σε λιπαρά. Επίσης, τα είδη *Armillaria tabescens* και *Cantharellus cibarius*, διακρίνονται για το



ιδιαίτερα χαμηλό ποσοστό λίπους τους που ανέρχεται μόνο στο 1,56% και 1,88% αντίστοιχα.



Διάγραμμα 3. Μέσες τιμές υγρασίας συναρτήσει των ειδών των μανιταριών.

(Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης).

Μεταξύ των στερολών, τα βασικότερα είδη, εμφανίζουν υψηλά ποσοστά περιεχόμενης εργοστερόλης, η οποία θεωρείται πρόδρομος της βιταμίνης D₂ (εργοκαλσιφερόλη, Mattila et al., 2002). Επίσης, μελέτη της ίδιας ερευνητικής ομάδας (Mattilla et al., 1994) έχει προσδιορίσει ότι τα είδη *Cantharellus cibarius* και *Cantharellus tubaeformis* για παράδειγμα, περιέχουν υψηλά ποσοστά εργοκαλσιφερόλης (προβιταμίνης D₂) της τάξης των 128 και 298μg/Kg νωπού βάρους αντίστοιχα, διότι πιθανόν στα διάφορα είδη του γένους *Cantharellus* τόσο ο πύλος όσο και τα ελάσματα των μανιταριών εκτίθενται αποτελεσματικότερα στο ηλιακό φως σε σχέση με άλλα είδη μανιταριών. Εξάλλου, το 1999 μελέτη του ερευνητή Outilla και των συνεργατών του, για τη διατροφική αξία του συγκεκριμένου είδους σε ανθρώπους, έδειξε ότι η παραπάνω ουσία απορροφάται αποτελεσματικά από τον ανθρώπινο οργανισμό τόσο σε λυοφιλοποιημένη ή μη μορφή, αποτελώντας ικανοποιητική εναλλακτική πηγή βιταμίνης D σε άτομα αλλεργικά στο ψάρι ή αποκλειστικά χορτοφάγους.

Ακόμη όπως προαναφέρθηκε τα μανιτάρια είναι πλούσια και σε λιποδιαλυτές βιταμίνες D και K, αλλά και στις υδατοδιαλυτές του συμπλέγματος B, νιασίνη, ριβοφλαβίνη και παντοθενικό οξύ (Sadler, 2003; Sanmee et al., 2003). Οι βιταμίνες αυτές ενισχύουν την ομαλή λειτουργία του πεπτικού και νευρικού συστήματος,

προάγουν την υγεία του δέρματος και την καλή όραση και εμπλέκονται στην παραγωγή των ορμονών.

Τα μεταλλικά στοιχεία της παρούσας μελέτης (Mg, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Al, As και Sn), απαντώνται στο φυσικό περιβάλλον είτε ως ιόντα διαλυμένα στο εδαφικό νερό, είτε ως οξείδια στο κρυσταλλικό πλέγμα πρωτογενών και δευτερογενών ορυκτών του εδάφους (Demirbas, 2001).

Το περιεχόμενο τους αντιστοιχα στα διάφορα είδη μακρομυκήτων, εξαρτάται από το γένος και το είδος του καρποσώματος, το στάδιο ανάπτυξης του μυκηλίου, την φυσιολογία του είδους, την περιοχή συλλογής και την απόσταση από πιθανές πηγές ρύπανσης (Kalač, et al., 1991, Turkekul et al., 2004).

Η περιεκτικότητα των αναλυθέντων μεταλλικών στοιχείων εκφράζεται σε μg/g ξηρής ουσίας, ενώ από τα ανωτέρω, ως βαρέα τοξικά μέταλλα θεωρούνται: το κάδμιο, ο μόλυβδος και το αρσενικό. Όσον αφορά τα περιεχόμενα στα καρποσώματα μεταλλικά στοιχεία, έρευνες έχουν αποδείξει ότι είναι πλούσια σε χαλκό (Cu), σίδηρο (Fe), κάλιο (K), σελήνιο (Se), φωσφόρο (P) και ψευδάργυρο (Zn), αλλά και περιορισμένης περιεκτικότητας σε νάτριο (Na) (Roman, et al., 2006).

Οι συγκεντρώσεις των 10 μετάλλων (Mg, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb και Cd) αποτυπώνονται στον Πίνακα 3 που ακολουθεί ενώ η διακύμανση της συγκέντρωσης κάθε μεταλλικού στοιχείου /είδος καρποσώματος στα διαγράμματα 4-13. Ειδικότερα, η συγκέντρωση όλων των ειδών που αναλύθηκαν σε αργίλιο (Al), αρσενικό (As) και κασσίτερο (Sn), ήταν κάτω από τα όρια ανίχνευσης σε όλα τα υπο μελέτη δείγματα.



Πίνακας 3. Περιεκτικότητα μεταλλικών στοιχείων σε καρποσώματα Ελληνικής προέλευσης (μg/g, ξηρής ουσίας)*

Είδος	Mg	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Pb	Cd
καρποσώματος										
<i>A. caesia</i>	830,0±38,9	1,22±0,06	48,4±2,2	355,0±19,1	0,75±0,03	0,77±0,03	19,3±0,9	65,3±3,7	0,10±0,00	1,51±0,03
<i>A. ceciliae</i>	873,0±46,2	5,82±0,32	38,9±1,8	257,0±11,3	1,14±0,04	4,40±0,20	22,0±1,1	96,9±4,5	0,75±0,04	0,34±0,01
<i>A. rubescens</i>	743,0±35,0	11,1±0,53	35,1±1,9	243,0±12,7	0,37±0,02	2,67±0,15	19,9±0,8	76,9±4,5	0,04±0,00	0,15±0,01
<i>A. mellea</i>	1059,0±52,1	4,18±0,26	55,1±2,5	501,0±23,7	0,62±0,03	2,60±0,15	17,2±0,7	53,7±2,4	0,48±0,01	3,50±0,06
<i>A. tabescens</i>	1166,0±58,7	4,36±0,26	11,3±0,6	60,2±2,7	0,14±0,01	4,98±0,27	17,5±0,7	64,2±2,5	0,81±0,01	2,71±0,04
<i>B. aureus</i>	748,0±39,1	0,86±0,04	11,4±0,6	107,0±5,8	0,07±0,00	1,78±0,07	33,8±1,4	102,0±4,1	1,29±0,02	0,29±0,01
<i>B. edulis</i>	782,0±41,6	0,73±0,03	10,6±0,5	92,8±4,9	0,24±0,01	1,64±0,06	31,9±1,3	96,2±3,7	0,63±0,01	0,26±0,01
<i>B. luridiformis</i>	801,0±42,6	0,20±0,01	8,6±0,4	176,0±7,3	0,30±0,01	0,65±0,02	22,1±0,9	94,4±3,6	0,05±0,00	0,08±0,00
<i>C. cibarius</i>	866,0±46,7	1,58±0,07	22,1±1,3	119,0±6,2	0,05±0,00	1,07±0,06	32,6±1,3	54,1±2,6	n.d	0,41±0,01
<i>C. odora</i>	850,0±45,1	3,22±0,16	28,4±1,4	271,0±14,9	0,28±0,01	0,60±0,02	61,3±2,0	159,0±7,1	nd	0,12±0,01
<i>F. hepatica</i>	899,0±47,3	4,81±0,24	7,26±0,40	38,3±2,1	0,18±0,01	1,72±0,07	7,40±0,31	76,8±3,5	0,15±0,01	0,07±0,00
<i>H. repandum</i>	746,0±38,8	2,44±0,12	26,3±1,4	317,0±17,2	n.d	0,28±0,01	24,3±1,1	35,9±1,8	n.d	0,21±0,01
<i>H. chrysodon</i>	983,0±51,6	7,82±0,43	48,7±2,4	180,0±7,5	1,38±0,05	3,41±0,18	4,65±0,25	76,3±3,6	1,08±0,01	0,26±0,01
<i>H. eburneus</i>	1011,0±49,5	8,07±0,41	100,0±0,5	193,0±9,4	3,34±0,15	10,1±0,5	16,0±0,8	82,6±4,4	1,37±0,01	0,31±0,01
<i>H. russococcineus</i>	957,0±48,6	6,92±0,39	44,7±2,1	183,0±7,7	1,27±0,04	4,81±0,22	5,98±0,28	79,5±3,8	1,26±0,01	0,18±0,01
<i>H. russula</i>	758,0±40,8	1,39±0,07	33,8±1,7	300,0±17,8	1,08±0,04	0,87±0,03	9,41±0,33	57,9±2,7	0,09±0,00	1,23±0,02
<i>L. salmonicolor</i>	855,0±41,9	0,41±0,02	20,8±1,1	239,0±12,2	0,20±0,01	1,61±0,08	6,15±0,30	94,5±3,9	n.d	0,09±0,01
<i>L. nuda</i>	948,0±49,6	0,59±0,02	33,5±1,7	74,8±4,2	0,40±0,02	1,41±0,08	33,90±1,32	102,0±3,9	1,29±0,06	0,26±0,01

Είδος καρποσώματος	Mg	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Pb	Cd
<i>M. procera</i>	973,0±47,6	1,44±0,06	11,5±0,6	97,4±4,6	0,77±0,03	1,43±0,08	47,1±2,16	92,1±3,8	0,52±0,01	0,23±0,01
<i>P. ostreatus</i>	943,0±42,2	0,79±0,05	12,1±0,7	126,0±7,1	0,20±0,01	0,74±0,05	4,75±0,23	62,4±2,8	1,59±0,03	1,31±0,02
<i>R. delica</i>	690,0±26,7	n.d	16,8±0,8	81,1±3,2	n.d	1,91±0,08	51,7±3,2	56,7±2,6	n.d	0,23±0,01
<i>R. largentii</i>	837,0±37,4	5,33±0,34	62,8±2,9	303,0±18,1	7,26±0,33	10,1±0,54	17,60±0,63	46,8±1,9	0,14±0,00	0,19±0,01
<i>S. granulatus</i>	794,0±36,1	0,52±0,02	21,9±1,2	135,0±6,8	1,45±0,05	1,63±0,08	16,40±0,52	93,5±4,7	0,03±0,00	0,17±0,01

*(Ouzouni & Riganakos, 2007a, Ouzouni et al., 2007b, Ouzouni et al., 2009a)

Οι τιμές εκφράζονται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση

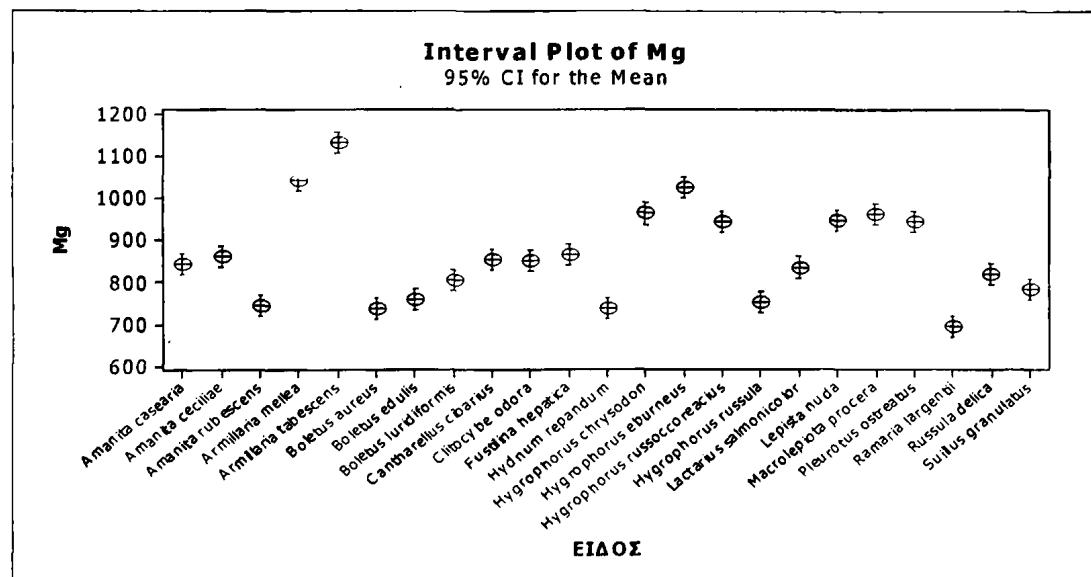
n=15

n.d.= Μη ανιχνεύσιμο

Όρια ανίχνευσης (L.O.Q): Cd: 0,001μg/g, Pb:0,010 μg/g, Zn: 0,001μg/g, Mg: 0,001μg/g, Cr: 0,005μg/g, Mn: 0,005μg/g, Cu: 0,005μg/g, Co:0,005μg/g, Fe: 0,008μg/g, Ni: 0,013μg/g

Τα μανιτάρια είναι πλούσια σε μαγνήσιο, ένα μεταλλικό στοιχείο που παίζει καταλυτικό ρόλο στην πρωτεϊνσύνθεση. Καταρχήν, όπως έχει αποδειχθεί πειραματικά, τα ιόντα του Mg σχηματίζουν γέφυρες μεταξύ ορισμένων επιμέρους τμημάτων των ριβοσωματίων, συμβάλλοντας στη συγκόλληση τους, άρα και στη λειτουργικότητά τους. Είναι γνωστό όμως ότι τα ριβοσώματα είναι οι θέσεις εντός του κυττάρου στις οποίες λαμβάνει χώρα η πρωτεϊνσύνθεση. Επομένως, η παρουσία επαρκών ποσοτήτων Mg μέσα στα κύτταρα είναι προϋπόθεση για την απρόσκοπτη λειτουργία των ριβοσωματίων και επομένως και για την πρωτεϊνσύνθεση.

Η παρουσία Mg ενεργοποιεί τις πολυμεράσες του RNA στους πυρήνες των κυττάρων και συνεπώς συμβάλλει στη βιοσύνθεση του RNA. Είναι όμως γνωστό ότι το RNA παίζει καθοριστικό ρόλο στην πρωτεϊνσύνθεση αφού είναι αυτό που συμβάλλει στη μεταφορά και την αποκωδικοποίηση των γενετικών πληροφοριών που περιέχονται στα χρωματοσώματα. Άρα, η ανεπάρκεια Mg οδηγεί στην μείωση των ρυθμών σύνθεσης RNA, με αποτέλεσμα να αναστέλλεται και η πρωτεϊνσύνθεση (Σάββας, 2000).



Διάγραμμα 4. Μέσες τιμές Mg συναρτήσει των ειδών των μανιταριών.

(Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης).

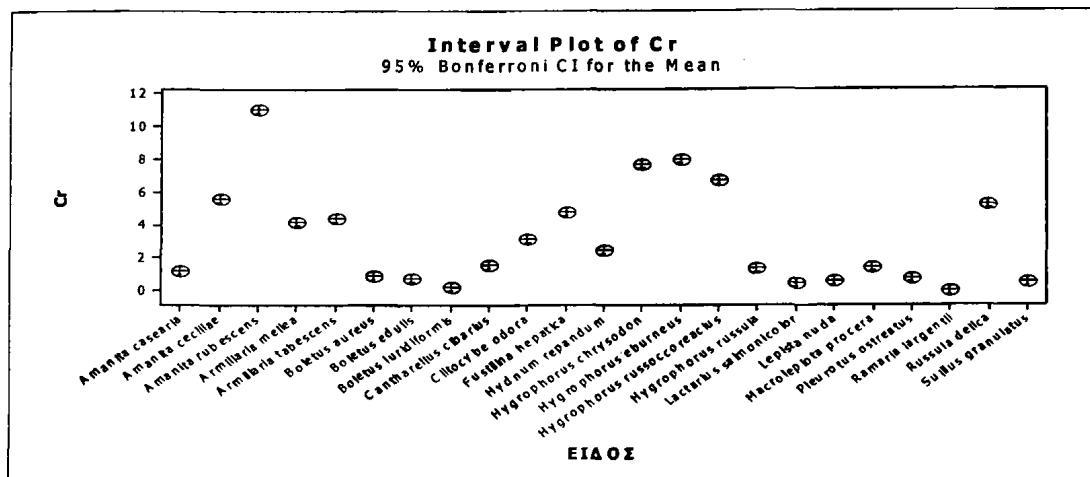
Το μεγαλύτερο ποσοστό μαγνησίου μεταξύ των ειδών περιέχει το είδος *Armillaria tabescens*, με 1166 µg/g, ενώ το μικρότερο το είδος *Russula delica* με 690 µg/g. Το περιεχόμενο μαγνήσιο για τα είδη *Amanita rubescens*, *Pleurotus ostreatus* και *Hydnum repandum* της παρούσας μελέτης (743, 943 και 746 µg/g) είναι σαφώς μικρότερο συγκριτικά

με αυτό που προσδιορίστηκε σε προηγούμενες μελέτες (800-1050 $\mu\text{g/g}$, 1280 $\mu\text{g/g}$, και 1030 $\mu\text{g/g}$, Demirbas, 2001; Rudawska & Leski, 2005). Στατιστικά σημαντική διαφορά εμφανίζουν μεταξύ τους τα είδη της οικογένειας *Amanitaceae* (*Amanita rubescens*- 743 $\mu\text{g/g}$, *Amanita casearea* - 830 $\mu\text{g/g}$ και *Amanita ceciliae* - 873 $\mu\text{g/g}$) και το είδος *Hygrophorus russula* (758 $\mu\text{g/g}$) σε αντιστοιχία με τα υπόλοιπα είδη της οικογένειας (*H.russocoreaci* - 957 $\mu\text{g/g}$, *H.chrysodon* -983 $\mu\text{g/g}$ και *H.eburneus* - 1011 $\mu\text{g/g}$), ενώ δεν παρατηρείται έντονη διακύμανση μεταξύ των ειδών της οικογένειας *Boletaceae* (*Boletus aureus* - 748 $\mu\text{g/g}$, *Boletus edulis*- 782 $\mu\text{g/g}$ *Boletus luridiformis*-801 $\mu\text{g/g}$) και των ειδών του γένους *Armillaria* (*A.mellea*- 1059 $\mu\text{g/g}$ και *A.tabescens* -1166 $\mu\text{g/g}$).

Το μαγνήσιο είναι ένα πολύ σημαντικό μεταλλικό στοιχείο για τα φυτά και τα ζώα. Η χλωροφύλλη, υπεύθυνη χρωστική ουσία για το πράσινο χρώμα των φυτών συνίσταται από άτομα ενωμένα σε πορφυρινικό δακτύλιο με άτομα μαγνησίου. Έτσι ενώ η χλωροφύλλη σχετίζεται με τα φυτά και τα μανιτάρια δεν διαθέτουν την ικανότητα φωτοσύνθεσης, όλο το περιεχόμενο μαγνήσιο στο καρπόσωμα τους προέρχεται από την εδαφική απορρόφηση. Η συνιστώμενη ημερήσια ποσότητα πρόσληψης μαγνησίου για τις ενήλικες γυναίκες ηλικίας 19-65 ετών είναι 220mg/ημέρα, ενώ για τους άνδρες αντίστοιχης ηλικίας 260mg/ημέρα (FAO/WHO, 2002).

Η συγκέντρωση του Cr κυμαίνεται μεταξύ 0,2 – 11,1 $\mu\text{g/g}$ (*B. luridiformis*, *A. rubescens*) (Διάγραμμα 5). Το Cr αποτελεί το 0,004 % των μεταλλικών στοιχείων του στερεού φλοιού της γης (Conor, 1980), ενώ βοηθά στη διατήρηση της μέγιστης φυσιολογικής συγκέντρωσης της γλυκόζης στο σώμα (Strickland et al., 1972). Οι αναφερόμενες τιμές χρωμίου για το είδος *P.ostreatus* στην διεθνή βιβλιογραφία (0,71 $\mu\text{g/g}$ -Dermibas, 2001; 1,30 $\mu\text{g/g}$ -Isildak et al., 2004) είναι σε συμφωνία με την ανευρεθείσα μέση τιμή στην παρούσα διατριβή. Αντιθέτως οι αναφερόμενες τιμές χρωμίου σε προηγούμενες μελέτες για τα είδη *Amanita rubescens*, *Hydnum repandum* και *Lepista nuda* είναι πολύ μικρότερες για τα 2 πρώτα και μεγαλύτερες για το τρίτο είδος (Dermibas, 2001; Isildak et al., 2004) Συγκριτικά βιβλιογραφικά δεδομένα για τα υπόλοιπα υπό μελέτη είδη δεν υπάρχουν στην βιβλιογραφία.

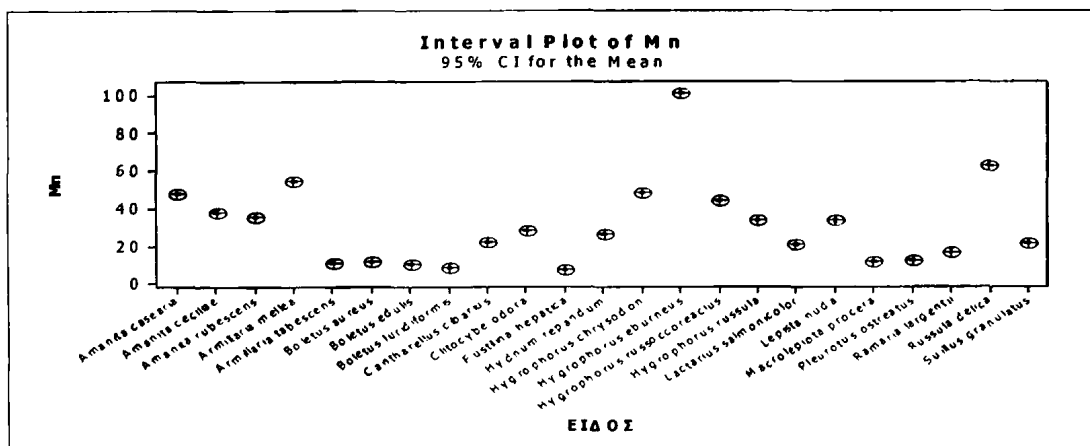




Διάγραμμα 5. Μέσες τιμές Cr συναρτήσει των ειδών των μανιταριών.

(Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης).

Το μαγγάνιο θεωρείται ένα από τα βασικά ιχνοστοιχεία των φυτικών ιστών καθώς ενεργοποιεί τα ένζυμα που εμπλέκονται στη φωσφορυλίωση και τον κύκλο των τρικαρβοξυλικών οξέων και τις αντιδράσεις της φωτόλυσης. Η διαθεσιμότητα του μαγγανίου (Mn) στο έδαφος αυξάνεται δραστικά καθώς μειώνεται το pH και ο αερισμός του εδάφους, ενώ ελαττώνεται με την ύπαρξη έντονης μικροβιακής δραστηριότητας, εξαιτίας της δέσμευσης της διαθέσιμης ποσότητας. (Σάββας, 2000). Η μεγαλύτερη συσγκέντρωση μαγγανίου καταγράφεται στο είδος *Hygrophorus eburneus* (100 µg/g), ενώ η μικρότερη στο είδος *Fistulina hepatica* (7,26 µg/g, Διάγραμμα 6).



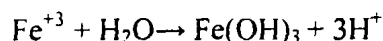
Διάγραμμα 6. Μέσες τιμές Mn συναρτήσει των ειδών των μανιταριών.

(Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης).

Έντονη διακύμανση παρατηρείται μεταξύ των ειδών *Fistulina hepatica* (7,26 µg/g), των ειδών της οικογένειας *Boletaceae* (*B.edulis*- 10,6 µg/g, *B.aureus*-11,4 µg/g και *B.luridiformis*-8,57 µg/g), του είδους *Macrolepiota procera* (11,5 µg/g) και του είδους *Pleurotus ostreatus* (12,1 µg/g) με τα είδη *Amanita casearea* (48,4 µg/g), *Armillaria mellea* (55,1 µg/g) και των ειδών του γένους *Hygrophorus* (*H. russocoreacius* -44,7 µg/g, *H.chrysodon*- 48,7 µg/g, και *H. eburneus*-100 µg/g).

Οι αναφερόμενες στο μαγγάνιο τιμές στην διεθνή βιβλιογραφία αναφέρουν ότι για το είδος *Hydnum repandum* αυτές κυμαίνονται από 3,12-24,2 µg/g, (Sesli & Tuzen, 1999; Demirbas, 2001), που είναι μικρότερες από την ανευρεθείσα στην παρούσα μελέτη (26,3 µg/g). Αντίστοιχο συμπέρασμα εξάγεται και για τα είδη *Suillus granulatus* και *Amanita rubescens* των οποίων οι τιμές βάσει προηγούμενων πειραματικών δεδομένων ήταν 16,72 και 17,00 µg/g (Vetter, 1994b, Sesli & Tuzen, 1999) και μεταξύ 11,1-16,2 µg/g (Demirbas, 2001; Isildak et al., 2004), δηλαδή μικρότερες αυτών που προέκυψαν από την παρούσα πειραματική διαδικασία (21,2 και 35,1 µg/g). Αντιθέτως όμως, οι τιμές που προσδιορίστηκαν για τα είδη *Cantharellus cibarius* (22,1 µg/g), *Hygrophorus chrysodon*(48,7 µg/g) και *Boletus edulis* (10,6 µg/g) είναι μικρότερες από τις αναφερόμενες διεθνώς (51,4 µg/g, 67,4 µg/g, 21,3 µg/g, Sesli & Tuzen, 1999; Rudawska & Leski, 2005).

Ο σίδηρος στο έδαφος συναντάται ως συστατικό του κρυσταλλικού πλέγματος πρωτογενών (βιοτίτης) και δευτερογενών (μοντμοριλλονίτης) ορυκτών, με τη μορφή ιόντων δισθενούς (Fe^{+2}) και τρισθενούς σιδήρου (Fe^{+3}), ως σίδηρος δεσμευμένος σε ευδιάλυτα μόρια χουμικών-φουλβικών ενώσεων και σε μορφή οξειδίων του σιδήρου όπως αιματίτης (Fe_2O_3), μαγνησίτης (Fe_3O_4) και γκαιτίτης (FeOOH). Τα ιόντα του δισθενούς σιδήρου Fe^{+2} αρχίζουν να καταβυθίζονται σαν $\text{Fe}(\text{OH})_2$ μόνο όταν το pH καταστεί ουδέτερο. Αντίθετα, η διαθεσιμότητα των ιόντων τρισθενούς σιδήρου Fe^{+3} σχεδόν μηδενίζεται σε τιμές pH 4,5-5 δεδομένου ότι ο Fe^{+3} σε τιμές pH από 3 και πάνω αρχίζει να καταβυθίζεται σε μορφή αδιάλυτου $\text{Fe}(\text{OH})_3$ σύμφωνα με την αντίδραση (Lindsay, 1974):



Το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του διαλύματος σύμφωνα με την εξίσωση (Σάββας, 2000) εξαρτάται από την αναλογία ιόντων $\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}$:

$$E = 0.77 + 0.59 \log [\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}],$$

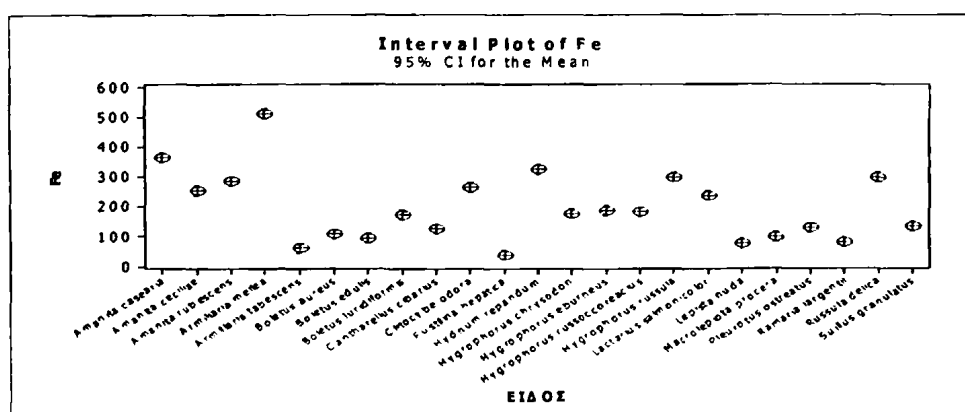
όπου E= οξειδοαναγωγικό δυναμικό σε V.

Συνεπώς, όταν το οξειδοαναγωγικό δυναμικό λαμβάνει υψηλές τιμές, η συγκέντρωση του Fe^{+2} στο εδαφικό διάλυμα καθίσταται πολύ χαμηλή, οπότε και τα φυτικά είδη δεν μπορούν να αντλήσουν σίδηρο, έστω και αν στο έδαφος υπάρχουν σημαντικές ποσότητες σιδήρου.

Η συγκέντρωση του σιδήρου στα είδη που αναλύθηκαν στην παρούσα διατριβή κυμαίνεται από 38,3 $\mu\text{g/g}$ για το είδος *Fistulina hepatica* έως 501 $\mu\text{g/g}$ για το είδος *Armillaria mellea*. Η σημαντικότερη στατιστική διαφορά που παρατηρείται μεταξύ ειδών που ανήκουν στην ίδια οικογένεια (Διάγραμμα 7), καταγράφεται μεταξύ των *Armillaria tabescens* και *Armillaria mellea* που διαφέρουν κατά 440,8 $\mu\text{g/g}$, δηλαδή η συγκέντρωση του δευτέρου είδους είναι περίπου 8,32 φορές μεγαλύτερη του πρώτου.

Η συγκέντρωση σιδήρου σε αναφερομένες βιβλιογραφικές πηγές κυμαίνεται από 321-586 $\mu\text{g/g}$, για το είδος *Lepista nuda* (Isildak et al., 2004; Turkecul et al., 2004), 57,5-281 $\mu\text{g/g}$, για το είδος *Pleurotus ostreatus* (Sesli & Tuzen, 1999; Demirbas, 2001; Isildak et al., 2004), 23,9-142 $\mu\text{g/g}$, για το είδος *Amanita rubescens* (Tuzen et al., 1998; Sesli & Tuzen, 1999; Demirbas, 2001; Rudawska & Leski, 2005), 33,5-125 $\mu\text{g/g}$, για το είδος *Hydnum repandum* (Tuzen et al., 1998; Sesli & Tuzen, 1999; Demirbas, 2001), 160 $\mu\text{g/g}$, και 87,6 $\mu\text{g/g}$, για τα είδη *Boletus edulis* και *Suillus grannulatus* (Sesli & Tuzen, 1999). Άρα στην παρούσα μελέτη τα επίπεδα σιδήρου για τα είδη *Lepista nuda* και *Boletus edulis* (74,8 και 92,8 $\mu\text{g/g}$) είναι μικρότερα αυτών των διεθνώς καταγεγραμμένων, ενώ στα είδη *Amanita rubescens*, *Suillus grannulatus* και *Hydnum repandum* (243, 135 και 317 $\mu\text{g/g}$) μεγαλύτερα.

Διάγραμμα 7.

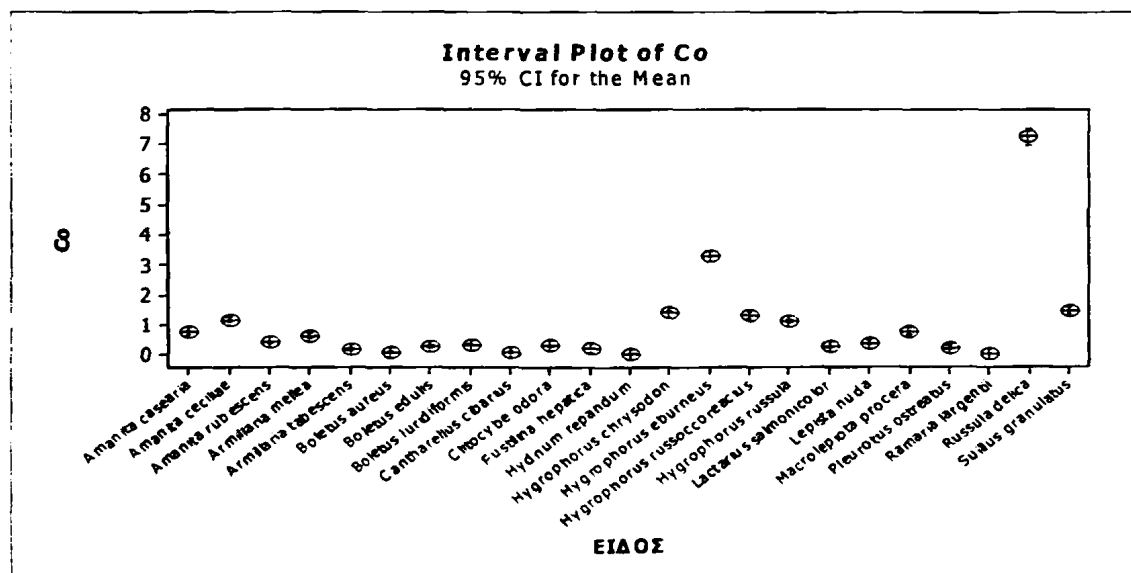


Διάγραμμα 7. Μέσες τιμές Fe συναρτήσει των ειδών των μανιταριών.

(Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης).



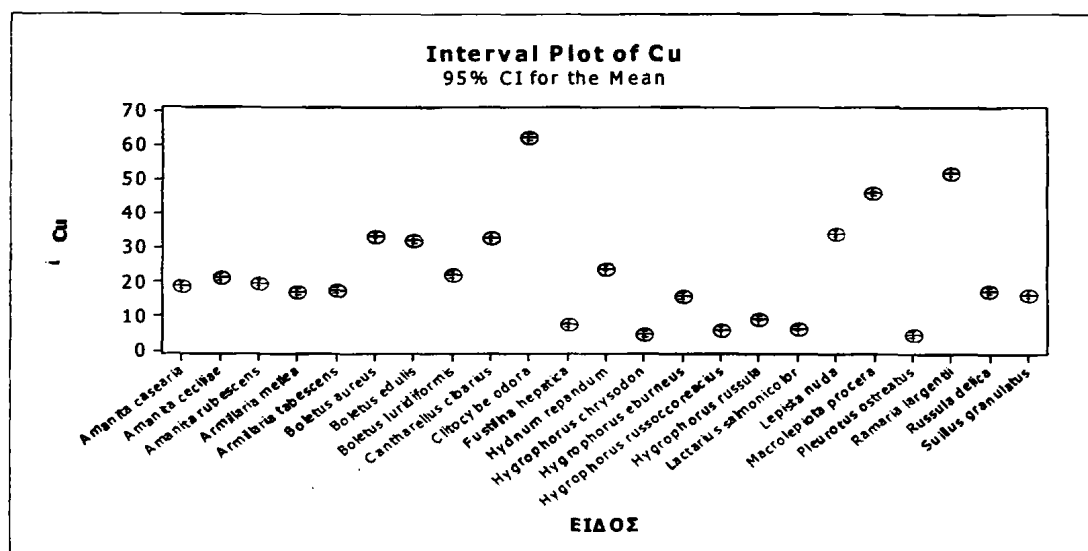
Αντίστοιχα οι προσδιοριζόμενες τιμές για το κοβάλτιο με την περιγραφή της διακύμανσης ανά είδος μανιταριού φαίνονται στο Διάγραμμα 8. Το μεγαλύτερο ποσοστό κοβαλτίου περιέχει το είδος *Ramaria Largentii*, ενώ δεν ανιχνεύεται καθόλου το συγκεκριμένο μεταλλικό στοιχείο στα είδη *Hydnum repandum* και *Russula delica*. Τα επίπεδα κοβαλτίου για τα είδη *Pleurotus ostreatus*, *Amanita rubescens* και *Hydnum repandum* σε προηγούμενες μελέτες κυμαίνονται από 0,20-0,42 $\mu\text{g/g}$, 0,35-0,62 $\mu\text{g/g}$ και 0,10-0,33 $\mu\text{g/g}$ (Sesli & Tuzen, 1999; Demirbas, 2001). Ακολούθως, τα είδη *Suillus granulatus* και *Hygrophorus chrysodon*, με συγκεντρώσεις (1,45 και 1,38 $\mu\text{g/g}$) διαθέτουν μεγαλύτερη συγκέντρωση σε σχέση με προηγούμενες ερευνητικές εργασίες (0,45 $\mu\text{g/g}$ και 0,16 $\mu\text{g/g}$, Sesli & Tuzen, 1999), ενώ τα είδη *Boletus edulis* και *Cantharellus cibarius* με συγκεντρώσεις 0,24 και 0,05 $\mu\text{g/g}$ μικρότερα επίπεδα τιμών από τα προαναφερόμενα διεθνώς (0,31 $\mu\text{g/g}$, Sesli & Tuzen, 1999). Έντονη διακύμανση δεν παρατηρείται μεταξύ των περισσότερων ειδών αν εξαιρέσει κανείς τη συγκέντρωση του είδους *Ramaria Largentii*, που είναι μεγαλύτερη ως προς τη συγκέντρωση όλων των υπολοίπων ειδών μανιταριών από 2-145 φορές (2,17 φορές μεγαλύτερη σε σχέση με τη συγκέντρωση του είδους *Hygrophorus eburneus* και 145 φορές σε σχέση με τη συγκέντρωση του είδους *Cantharellus cibarius*).



Διάγραμμα 8. Μέσες τιμές Co συναρτήσει των ειδών των μανιταριών.

(Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης).

Οι συγκεντρώσεις του χαλκού (Cu) στα καρποσώματα των μυκήτων (Διάγραμμα 10) είναι πολύ μεγαλύτερες συγκριτικά με αυτές των πράσινων φυτών, καθιστώντας τα μανιτάρια ικανοποιητική πηγή αυτού του μεταλλικού στοιχείου για τον ανθρώπινο οργανισμό (Kojo & Lodenius, 1989). Η διαθεσιμότητα του χαλκού στο έδαφος είναι μεγαλύτερη σε σχετικά χαμηλές τιμές pH και μειώνεται καθώς αυξάνεται το pH. Όταν υπάρχει χαλκός σε ευδιάλυτη μορφή στο έδαφος απορροφάται εύκολα γιατί ανταγωνίζεται επιτυχώς τα υπόλοιπα κατιόντα (Σάββας, 2000).



Διάγραμμα 10. Μέσες τιμές Cu συναρτήσει των ειδών των μανιταριών.

(Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης).

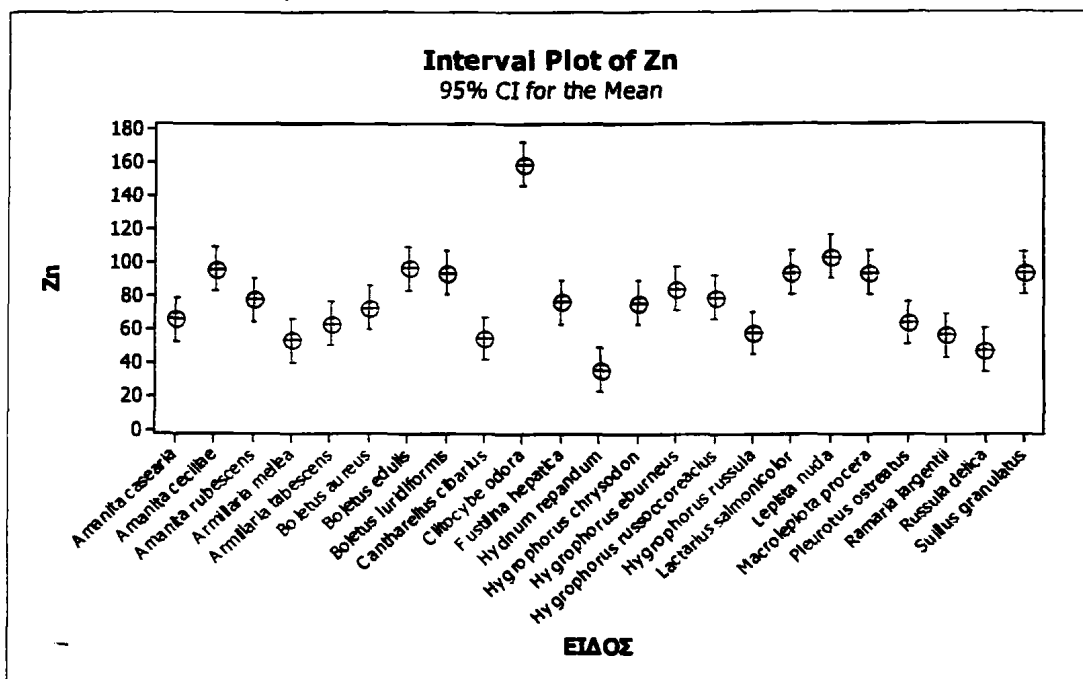
Οι προκύπτουσες για τον Cu τιμές στην παρούσα μελέτη είναι μεγαλύτερες για το είδος *Clitocybe odora* με 61,3 $\mu\text{g/g}$ και μικρότερες για το είδος *Hygrophorus chrysodon* με 4,65 $\mu\text{g/g}$. Υψηλές τιμές χαλκού μεταξύ των εξεταζομένων ειδών εμφανίζουν τα είδη του γένους *Boletus*, *Boletus luridiformis*, *Boletus edulis*, και *Boletus aureus*, (22,1, 31,9 και 33,8 $\mu\text{g/g}$), καθώς και τα είδη *Cantharellus cibarius*, *Lepista nuda*, *Macrolepiota procera* και *Russula delica* (32,6, 33,9, 47,1 και 51,7 $\mu\text{g/g}$ αντιστοίχως). Στην παρούσα μελέτη τα επίπεδα του χαλκού για τα είδη *Macrolepiota procera* και *Pleurotus ostreatus* είναι μικρότερα σε σχέση με αυτά προηγούμενων μελετών (199,9, 170,4-226,8 $\mu\text{g/g}$ και 7,16-24,6 $\mu\text{g/g}$) (Vetter, 1994b; Tuzen et al., 1998; Sesli & Tuzen, 1999; Isildak et al., 2004). Ομοίως μικρότερα είναι και τα επίπεδα συγκέντρωσης χαλκού για τα είδη *Cantharellus cibarius* και *Hygrophorus chrysodon* σε σχέση με τα αναφερόμενα βιβλιογραφικά (89,5 και 192 $\mu\text{g/g}$,

Sesli & Tuzen, 1999), ενώ βρίσκονται σε συμφωνία οι τιμές που προέκυψαν για τα είδη *Amanita rubescens*, *Boletus edulis* και *Lepista nuda* (Vetter, 1994b; Sesli & Tuzen, 1999; Demirbas, 2001; Alonso et al., 2003; Isildak et al., 2004). Οι προσδιοριζόμενες τιμές χαλκού δεν δημιουργούν προβλήματα υγείας στον ανθρώπινο οργανισμό, ενώ οι συνιστώμενες ποσότητες ημερησίως για τους ενήλικες ανέρχονται στα 0,90mg χαλκού/ημέρα (European Commission, 2003).

Αντίστοιχα, ο ψευδάργυρος στους φυτικούς ιστούς ενεργοποιεί διάφορα ένζυμα και ιδιαίτερα την ενολάση και την ανθρακική ανυδράση. Επίσης, είναι συστατικό μαζί με τον χαλκό του ενζύμου υπεροξειδισμού, ενώ συμβάλλει σε συνδυασμό με το μαγνήσιο στην σύνθεση του RNA (Σάββας, 2000). Το υψηλότερο ποσοστό Zn (159,00 $\mu\text{g/g}$) μετρήθηκε στο είδος *Clitocybe odora* ενώ το μικρότερο (35,90 $\mu\text{g/g}$) στο είδος *Hydnum repandum* (Διάγραμμα 11). Ο περιεχόμενος ψευδάργυρος για το είδος *Hydnum repandum* σε προηγούμενες μελέτες κυμαινόταν μεταξύ 14,10-21,30 $\mu\text{g/g}$, (Sesli & Tuzen, 1999, Demirbas 2001) δηλ. σε τιμές πολύ μικρότερες από αυτή που προέκυψε στην παρούσα μελέτη (35,90 $\mu\text{g/g}$), ενώ για το είδος *Cantharellus cibarius* η προκύψασα τιμή 54,10 $\mu\text{g/g}$ είναι μικρότερη συγκριτικά με αυτή προηγούμενης μελέτης (62,70 $\mu\text{g/g}$, Sesli & Tuzen, 1999). Για τα είδη *Pleurotus ostreatus*, *Amanita rubescens* και *Lepista nuda*, η συγκέντρωση του Zn, η οποία προσδιορίστηκε στην συγκεκριμένη μελέτη, είναι αντίστοιχη προηγούμενων βιβλιογραφικών αναφορών (Tuzen et al., 1998; Sesli & Tuzen, 1999; Demirbas, 2001; Alonso et al., 2003; Isiladak et al., 2004; Rudawska & Leski, 2005).

Μεταξύ των ειδών του γένους *Boletus* τη μεγαλύτερη τιμή ψευδαργύρου εμφανίζει το είδος *Boletus aureus* με 102 $\mu\text{g/g}$, ενώ τη μικρότερη το είδος *Boletus luridiformis* με συγκέντρωση 94,4 $\mu\text{g/g}$. Οι διεθνώς αναφερόμενες τιμές για το *Boletus edulis* κυμαίνονται μεταξύ 40,7-63,7 $\mu\text{g/g}$, που είναι σαφώς μικρότερες από αυτή που προέκυψε μέσω της παρούσας πειραματικής διαδικασίας (Sesli & Tuzen, 1999; Alonso et al., 2003). Μικρότερη όμως είναι και η καταγεγραμμένη βιβλιογραφικά τιμή ψευδαργύρου (51,4 $\mu\text{g/g}$, Rudawska & Leski, 2005), για το είδος *Hygrophorus chrysodon*, το οποίο βρέθηκε να έχει τιμή στην παρούσα διατριβή ίση με 76,3 $\mu\text{g/g}$. Τα μανιτάρια είναι γνωστοί βιοσυσσωρευτές ψευδαργύρου με τον πύλο και τα ελάσματα στην κάτω επιφάνεια του, να είναι τα τμήματα εκείνα του καρποσώματος στα οποία συσσωρεύεται το συγκεκριμένο μεταλλικό στοιχείο (Mendil et al., 2004).





Διάγραμμα 11. Μέσες τιμές Zn συναρτήσει των ειδών των μανιταριών.

(Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης).

Διαφορετικά είδη μανιταριών φαίνεται ότι διαθέτουν παρόμοια διατροφική σύσταση ως προς τα μακροστοιχεία στα διάφορα οικοσυστήματα, εντούτοις όμως η περιεκτικότητα σε μέταλλα των καρποσωμάτων μεταξύ των διαφορετικών οικοθέσεων ποικίλλει και επηρεάζεται εκτός από τη σύσταση του εδάφους, του νερού και της ατμόσφαιρας και από την γενετική δυνατότητα ορισμένων ειδών να βιοακινητοποιούν τα ανόργανα αυτά συστατικά στις μυκηλιακές τους υφές (Sanmee et al., 2003; Rudawska & Leski, 2005).

Τα τελευταία χρόνια διεξάγονται εξάλλου πολλές επιστημονικές έρευνες (Kojima & Lodenius, 1989; Kalač, et al., 1991; Demirbas, 2001; Turkekul, et al., 2004) σχετικά με τη βιοσυγκέντρωση βαρέων μετάλλων στους άγριους εδωδιμους μακρομύκητες. Οι μελέτες αυτές αποσκοπούν κυρίως στην επίλυση των προβλημάτων τοξικότητας και άλλων συναφών συμπτωμάτων που παρουσιάζονται μετά την κατανάλωση επιβαρυνμένων γνωστών παραδοσιακά εδωδιμων ειδών, καθώς και στον προσδιορισμό της δυνατότητας χρησιμοποίησης των μανιταριών ως βιοδεικτών της περιβαλλοντικής επιβάρυνσης συγκεκριμένων περιοχών. Είναι επίσης γνωστό πως η παρουσία βαρέων μετάλλων στην διατροφή του ανθρώπου προκαλεί τόσο οξείες όσο και μακροχρόνιες τοξικές διαταραχές. Για παράδειγμα η κατανάλωση ψαριών με μεγάλη περιεκτικότητα σε υδράργυρο (Hg), και

ο κάδμιο (Cd), είναι δυνατόν να προκαλέσει κοιλιακούς πόνους, αιματώδη διάρροια, κολικό και χρόνια νεφροτοξικότητα. Νεφρικές βλάβες μπορούν να προξενήσουν επίσης το χρώμιο (Cr) και ο μόλυβδος (Pb). Το κάδμιο εξάλλου θεωρείται υπεύθυνο της χρόνιας νεφροπάθειας, της γνωστής και ως Itai-Itai, και ο υδράργυρος με τη μεθυλιούχο μορφή για τη χρόνια νευροτοξικότητα, που είναι κοινώς γνωστή ως νόσος Minamata. Τα βαρέα μέταλλα του καδμίου, του μολύβδου και του υδραργύρου εξαιτίας των ανθρωπογενών δραστηριοτήτων, όπως είναι οι βιομηχανίες παραγωγής χημικών, προσθετικών, λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων, παρουσιάζουν σήμερα σε σχέση με το 1990 αυξημένη κατά 46% συγκέντρωση στο έδαφος (Μπούρμπος, 2007).

Η συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στα άγρια μανιτάρια ποικίλει σε ποσότητα ανάλογα με το γένος, το είδος και το ρυπαντικό φορτίο του εδάφους και της ατμόσφαιρας των περιοχών στις οποίες αναπτύσσονται. Επίσης, σημαντικές διαφοροποιήσεις είναι δυνατόν να εμφανιστούν όταν το ίδιο είδος μανιταριού συλλεχθεί σε διαφορετικές χρονικές περιόδους (π.χ. Άνοιξη ή Φθινόπωρο) και από διαφορετικές περιοχές. Η ικανότητα κάθε γένους ή είδους άγριου μανιταριού να βιοσυγκεντρώνει ή να βιοαποκλείει ένα συγκεκριμένο βαρύ μέταλλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην πράξη για τον προσδιορισμό της ρύπανσης μιας περιοχής. Έχει βρεθεί πως τα γένη *Agaricus* και *Vascellum* βιοσυγκεντρώνουν κατά εμφανή τρόπο τον υδράργυρο. Ακόμη, τα είδη του γένους *Agaricus* που αναπτύσσονται στην χλόη μπορούν να μπορούν να θεωρηθούν τέλειοι βιοδείκτες για μόλυνση από άργυρο και κάδμιο. Τα είδη των τάξεων *Boletales*, *Aphyllorphorales*, *Auriculariales*, *Lycoperdales*, *Sclerodermales* και *Tremellales* που αναπτύσσουν μυκόρριζες με διάφορα δασικά είδη έχουν την τάση να βιοσυγκεντρώνουν χρώμιο και μόλυβδο (Kojima & Lodenius, 1989; Alonso et al., 2003).

Πρέπει να επισημανθεί πως οι αυξημένες συγκεντρώσεις των στοιχείων αυτών στα καρποσώματα των εδωδιμων μακρομυκήτων επηρεάζονται από εξωτερικούς φυσικοχημικούς παράγοντες. Η μερική ή η ολική επιβάρυνση σε βαρέα μέταλλα της ατμόσφαιρας, του εδάφους και των υδάτινων συλλεκτών, τα φυσικά χαρακτηριστικά των οικοσυστημάτων αυτών, ο τρόπος μεταφοράς, καθώς και βιοχημικοί και χημικοί παράγοντες παράγοντες παίζουν καθοριστικό ρόλο στην αυξημένη ή ελαττωμένη περιεκτικότητα των μανιταριών στα στοιχεία αυτά. Επίσης, οι συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στα διάφορα είδη εξαρτώνται τόσο από το pH, όσο και από το ποσοστό της οργανικής ουσίας



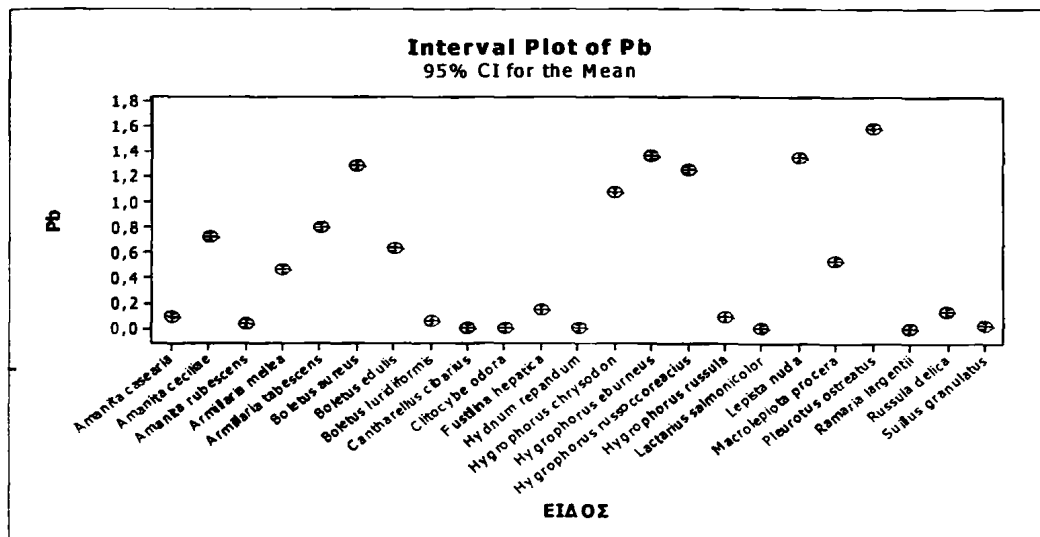
του εδάφους, αν και η επίδραση της οργανικής ύλης καθορίζεται από το ποσοστό του χούμου (Daum, & Newland, 1982, Gast et al., 1988).

Έχει διαπιστωθεί πως η παρουσία καδμίου, μολύβδου και υδραργύρου στα καρποσώματα μέσω της διαδικασίας της βιοσυσσώρευσης, οφείλεται στην απορόφηση τους μέσω των υφών των μυκήτων από το έδαφος (όπου τα βαρέα μέταλλα καταλήγουν). (Σχήμα 2). Ειδικότερα, για το είδος *Fistulina hepatica* (Φιστουλίνα η ηπατική) που αναπτύσσεται στα δέντρα, η παρουσία των βαρέων μετάλλων στο καρπόσωμα, πιθανόν να οφείλεται στη μεταφορά τους από τις ρίζες των φυτών στα οποία αναπτύσσεται. Όμως, όσον αφορά το είδος *Pleurotus eryngii* (Πλευρωτός ο ερύγκειος), η συσσώρευση γίνεται απευθείας από το έδαφος, καθώς το συγκεκριμένο μανιτάρι αναπτύσσεται πάνω στις ρίζες και στο υπόγειο τμήμα των φυτών (απονεκρωμένων ή μη). Η προσρόφηση του μολύβδου από το μυκήλιο του μανιταριού είναι η καλύτερη όταν η ενεργός οξύτητα του εδάφους (pH) είναι περίπου 5. Για το νικέλιο (Ni) και τον ψευδάργυρο (Zn) το ουδέτερο περιβάλλον είναι το ιδανικότερο. Το κάδμιο σε οξύτητα pH <5.5 δεν δεσμεύεται από τα χουμικά οξέα και έτσι ελεύθερο προσροφάται από το μυκήλιο. Ο μηχανισμός αυτός προσρόφησης του καδμίου παρατηρείται στα είδη των *Agaricales* που αναπτύσσονται σε όξινα και χουμικά εδάφη (Μπούρμπος, 2007).

Η προσρόφηση από το καρπόσωμα των βαρέων μετάλλων και η μεταφορά τους στο εσωτερικό γίνεται με την συνδρομή πολικών καρβοξυλικών ή αζωτούχων σουλφουριλίων ή ειδικών πρωτεϊνών που δεσμεύουν τα στοιχεία αυτά. Για παράδειγμα, στο είδος *Laccaria amethystea* (Λακκάρια η αμεθύστινη) η δέσμευση του αρσενικού γίνεται με την βοήθεια του διμεθυλαρσενικού οξέος και στο είδος *Amanita muscaria* (Αμανίτης ο μυγοκτόνος) για το βανάδιο με την αμαβαδίνη. Ανάλογες πρωτεΐνες δείκτες, οι μεταλλοθειονείνες, βοηθούν στην προσρόφηση και μεταφορά του καδμίου στο καρπόσωμα του *Agaricus arvensis* (Αγαρικό των αγρών). Άλλες πρωτεΐνες διευκολύνουν την προσρόφηση και μεταφορά του υδραργύρου, του χαλκού και του αργύρου στο Αγαρικό το δίσπορο (*Agaricus bisporus*), ενώ τέλος στο είδος *Agaricus macrospores*, η μυκοφωσφατίνη, μια φωσφογλυκοπρωτεΐνη που περιέχει αμινοξέα και φωσφοσερίνες είναι υπεύθυνη για την προσρόφηση και μετακίνηση του καδμίου στο καρπόσωμα (Stije & Besson, 1976).



τα είδη *Lepista nuda*, *Amanita rubescens*, *Hydnum repandum* και *Cantharellus cibarius* προηγούμενοι ερευνητές προσδιορίσαν συγκεντρώσεις από 0,10-7,86 $\mu\text{g/g}$, 1,40-10,00 $\mu\text{g/g}$, 0,38-2,45 $\mu\text{g/g}$, και 1,00-2,00 $\mu\text{g/g}$ (Garcia et al., 1988; Tuzen et al., 1998; Sesli & Tuzen, 1999; Kalac & Svoboda, 2000; Demirbas, 2001; Turkekul et al., 2004; Isildak et al., 2004, Rudawska & Leski, 2005).



Διάγραμμα 12. Μέσες τιμές Pb συναρτήσει των ειδών των μανιταριών.

(Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης).

Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μολύβδου, καταγράφονται στα είδη τους γένους *Hygrophorus* και κυμαίνονται από 1,08 $\mu\text{g/g}$ (*Hygrophorus chrysodon*) έως 1,37 $\mu\text{g/g}$ (*Hygrophorus eburneus*). Ωστόσο, αξιοσημείωτη στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρείται με το τέταρτο είδος του γένους, το *Hygrophorus russula* που εμφανίζει συγκέντρωση μολύβδου ίση με 0,09 $\mu\text{g/g}$, μικρότερη δηλαδή κατά 12-15,2 φορές. Εξάλλου, ο παγκόσμιος οργανισμός Υγείας (FAO/WHO), το 1993 θέσπισε το όριο των 0,025mg/Kg βάρους ως το θεωρητικά ανεκτό βάσει εβδομαδιαίας πρόσληψης για τους ενήλικες. Αν και ορισμένα είδη εμφανίζουν αυξημένες συγκεντρώσεις μολύβδου, οι τιμές αυτές είναι σαφώς χαμηλότερες όλων όσων προηγουμένων έχουν αναφερθεί σε αντίστοιχες επιστημονικές έρευνες, καταδεικνύοντας την καθαρότητα του φυσικού περιβάλλοντος στο οποίο αναπτύσσονται τα αναλυόμενα είδη καρποσωμάτων.

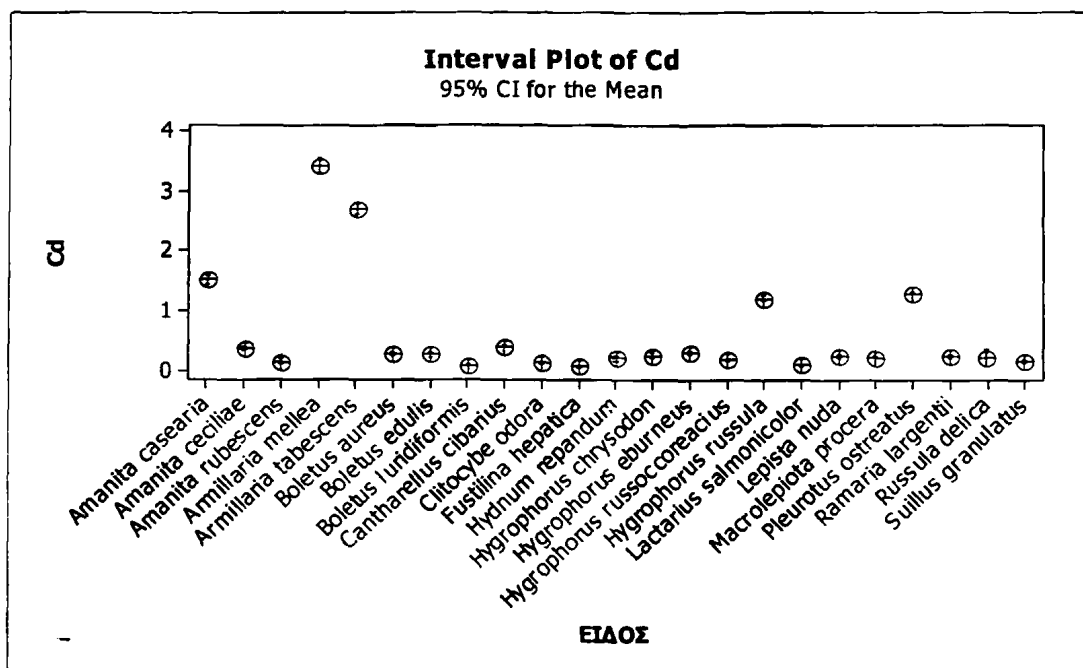
Επίσης τα καρποσώματα των μυκήτων είναι πλούσια σε κάδμιο, με το γένος των Αγάρικων να αποδεικνύεται ότι βιοσυσσωρεύει τα μεγαλύτερα ποσοστά. Το Cd είναι

παραπροϊόν της βιομηχανίας του μολύβδου και του ψευδαργύρου. Η πυρομεταλλουργική παραγωγή Zn θεωρείται ίσως η σημαντικότερη πηγή ανθρωπογενούς προέλευσης Cd στο περιβάλλον (Demirbas, 2001). Το κάδμιο συσσωρεύεται κυρίως στους λιπώδεις ιστούς, στο συκώτι, τη σπλήνα και τα νεφρά, αυξάνοντας τα επίπεδα του στον ορό του αίματος του ανθρώπου, μετά την κατανάλωση μανιταριών (Kalac, & Svoboda, 2000). Μπορεί να προσληφθεί απευθείας μέσω του νερού ή της τροφής, ενώ διαθέτει την ικανότητα να βιοσυσσωρεύεται σε φυτικούς και ζωικούς οργανισμούς (Schmitt & Meisch, 1985; Demirbas, 2001).

Το είδος *Armillaria mellea* στην παρούσα μελέτη εμφανίζει τα υψηλότερα ποσοστά Cd (3,5 µg/g), σε αντίθεση με το είδος *Fistulina hepatica* που περιέχει μόνο 0,07 µg Cd/g τροφίμου. Αντίστοιχες τιμές στην διεθνή βιβλιογραφία δείχνουν συγκέντρωση για τα είδη *Boletus edulis* και *Macrolepiota procera* που κυμαίνεται μεταξύ 1,00-2,00 µg/g (Kalac et al., 1989; Vetter, 1994a; Jorhem & Sundstrom, 1995; Cibulka et al., 1996; Sesli & Tuzen, 1999), για τα είδη *A. rubescens*, *L. nuda* και *P. ostreatus* μεταξύ 1.00-3.00 µg/g (Andersen et al., 1982; Kalac et al., 1989b; Sova et al., 1991; Vetter, 1994; Cibulka et al., 1996; Tuzen et al., 1998; Sesli & Tuzen, 1999; Demirbas 2001; Turkecul, 2004; Isildak et al., 2004; Rudawska & Leski, 2005), ενώ για το *S. granulatus* η αναφερόμενη στην βιβλιογραφία προηγούμενη τιμή ανερχόταν στα 1.38 µg/g (Sesli & Tuzen, 1999).

Ωστόσο τα ποσοστά που καταγράφηκαν στην παρούσα μελέτη και παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 13, είναι εξαιρετικά χαμηλά συγκριτικά με αντίστοιχα άλλων βιβλιογραφικών αναφορών τόσο για το είδος *Cantharellus cibarius* {1,92 µg/g (Sesli & Tüzen, 1999)}, όσο και για τα είδη *Hydnum repandum* {3,42, 3,62 και 0,76 µg/g (Tüzen, Özdemir, & Demirbas, 1998, Sesli & Tüzen, 1999, Demirbas 2001)}, και *Lepista nuda* {1,00-3,00 µg/g (Kalac και συν., 1989b, Turkecul, 2004, Isildak και συν., 2004)}.

Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρείται μόνο μεταξύ των ειδών του γένους *Armillaria* (*Armillaria tabescens*- 2,71 µg/g και *Armillaria mellea* -3,50 µg/g), σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα υπό μελέτη είδη, αλλά και μεταξύ των ειδών του γένους *Hygrophorus* και *Amanita* με το είδος *Hygrophorus russula* να διαθέτει συγκέντρωση καδμίου, 3,96-6,83 φορές περισσότερη σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη του ίδιου γένους και το είδος *Amanita caesaria* με 4,4 φορές μεγαλύτερη τιμή καδμίου συγκριτικά με το *Amanita ceciliae* και 10,6 σε σχέση με το *Amanita rubescens*.



Διάγραμμα 13. Μέσες τιμές Cd συναρτήσει των ειδών των μανιταριών.

(Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης).

Επίσης, τα μανιτάρια συγκριτικά με τα λαχανικά θεωρούνται είδη με χαμηλότερο περιεχόμενο ποσοστό νατρίου. Συνήθως, τα επίπεδα του νατρίου στα λαχανικά κυμαίνονται μεταξύ 200-2000mg/Kg, ενώ στο κρέας και στα προϊόντα του, η τιμή αυτή ανέρχεται στα 10.000-22.000mg/Kg. Τα καρποσώματα όμως του γένους *Agaricus* περιέχουν κατά μέσο όρο μόνο 396mg/Kg, ποσό που είναι εξαιρετικά ωφέλιμο διατροφικά για τους καταναλωτές (Seeger et al., 1983; Vetter, 2003).

Ακόμη, μελέτη του Rayman, (2000), έδειξε ότι αν και τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης όπως και τα δημητριακά περιέχουν ικανοποιητικές ποσότητες σεληνίου (Se), πρακτικά τα μανιτάρια θεωρούνται ιδανική πηγή του. Ειδικότερα, μια μερίδα 80g μανιταριών shiitake (*Lentinula edodes*) ή crimini (*Agaricus bisporus*), παρέχει στον ανθρώπινο οργανισμό το 1/3 της συνιστώμενης ημερήσιας ποσότητας. Το σελήνιο (Se), ως απαραίτητο ανόργανο συστατικό δρα συνεργιστικά με τη βιταμίνη E, στοχεύοντας στην παραγωγή αντιοξειδωτικών ουσιών που εξουδετερώνουν τη δράση των ελευθέρων ριζών στα κύτταρα, μειώνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου, καρδιοπαθειών και εκφυλιστικών χρόνιων νοσημάτων.

Τέλος, οι προσδιοριζόμενες από μετρήσεις καταγεγραμμένες τιμές καλίου στις διατροφικές βάσεις δεδομένων του USDA για ταμανιτάρια, αποδεικνύουν ότι μια μερίδαμανιταριών *Agaricus bisporus* 80g, περιέχει περισσότερο κάλιο από ένα πορτοκάλι ή μια ντομάτα, ενώ μόνο έναμανιτάρι *Agaricus bisporus* (Portabello) είναι πλουσιότερο σε κάλιο απ' ότι ένα ποτήρι πορτοκαλοχυμού ή μια μπανάνα (USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 13, 1999).

Ολοκληρώνοντας την αναφορά σε σχέση με τα επίπεδα συγκέντρωσης των μεταλλικών στοιχείων στα διαφορετικά είδη καρποσωμάτων παρατηρούμε όπως φαίνεται στον πίνακα 4 που ακολουθεί ότι στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων των μεταλλικών στοιχείων καταγράφεται όταν το $r > 0,44$ σε επίπεδο πιθανότητας 0,05.

Πίνακας 4. Συντελεστές συσχέτισης των συγκεντρώσεων των μεταλλικών στοιχείων

	Mg	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Pb
Cr	0,30								
Mn	0,31	0,58							
Fe	-0,03	0,24	0,50						
Co	0,08	0,34	0,64	0,23					
Ni	0,37	0,59	0,72	0,07	0,82				
Cu	-0,25	-0,33	-0,25	-0,17	-0,21	-0,25			
Zn	-0,01	-0,08	-0,16	-0,24	-0,21	-0,17	0,45		
Pb	0,53	0,18	0,22	-0,31	0,03	0,30	-0,23	0,13	
Cd	0,55	-0,01	0,10	0,40	-0,12	0,01	-0,21	-0,38	0,11

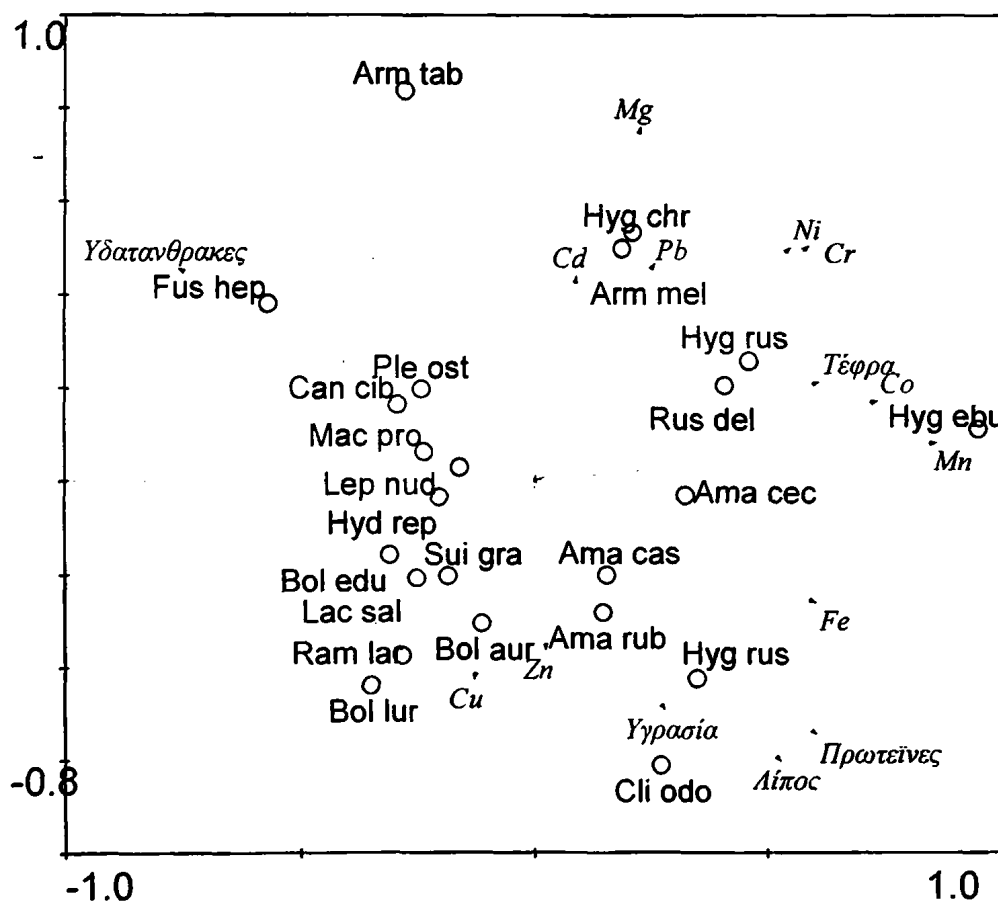
Δηλαδή, υφίσταται συσχέτιση μεταξύ μαγνησίου, μολύβου και καδμίου ($r=0,53$ και $r=0,55$), μεταξύ χρωμίου-μαγγανίου ($r=0,58$), χρωμίου-νικελίου ($r=0,59$), μαγγανίου-σιδήρου ($r=0,50$), μαγγανίου-κοβαλτίου ($r=0,64$), μαγγανίου-νικελίου ($r=0,72$), κοβαλτίου-νικελίου ($r=0,82$) και χαλκού ψευδαργύρου ($r=0,45$). Θετική συσχέτιση δηλώνει ταυτόχρονη αύξηση ή μείωση της συγκέντρωσης μεταξύ των σχετιζόμενων μεταβλητών, με συνέπεια καθώς για παράδειγμα αυξάνουν τα επίπεδα συγκέντρωσης του χαλκού να αυξάνουν αντίστοιχα και τα επίπεδα συγκέντρωσης του ψευδαργύρου, ενώ παράλληλα μείωση της τιμής του κοβαλτίου σηματοδοτεί παράλληλη πτώση και της τιμής του νικελίου.

Η διατροφική αξία τωνμανιταριών μπορεί να επηρεαστεί εξίσου σημαντικά από τη μέθοδο συντήρησης τους. Έρευνα που συνέκρινε τη θρεπτική αξία φρέσκων, κονσερβοποιημένων, βαθιά κατεψυγμένων λευκομανιταρων, φρέσκων πλευρωτών και αποξηραμένων Βωλιτών, έδειξε ότι οι μαγειρεμένοι βωλίτες διέθεταν την υψηλότερη



διατροφική αξία, μολονότι το αποτέλεσμα αυτό είναι ουσιαστικά συνέπεια μιας ανεπαρκούς επαναφύγρανσης τους. Από την άλλη πλευρά τα μαγειρεμένα βαθιάς κατάψυξης δείγματα Αγαρικών εμφάνισαν τα χαμηλότερα ποσοστά πρωτεϊνών και λιπαρών (19g/Kg, 2,6g/Kg) συγκριτικά με τα φρέσκα (20,1-4,5g/Kg) ή τα κονσερβοποιημένα (20,4-4,5 g/Kg). Είναι πιθανόν η καταστροφή των δομικών μονάδων των κυττάρων κατά την διάρκεια της επεξεργασίας με βαθιά κατάψυξη, να προάγει την απώλεια των θρεπτικών και να προκαλεί τις μειωμένες αποδόσεις κατά την προετοιμασία του μαγειρέματος (Manzi et al., 2001).

Στο Διάγραμμα 14 που ακολουθεί, παρέχεται τέλος η γενική εικόνα της επίπτωσης των χημικών μεταβλητών που βασίζονται στα αποτελέσματα της βασικής χημικής ανάλυσης.



Διάγραμμα 14. Διγράφημα βασισμένο στην ανάλυση κυρίων τμημάτων της βασικής χημικής σύστασης των μανιταριών και των διαφόρων ειδών που μελετήθηκαν.

Οι μεταβλητές με τα μεγαλύτερα βέλη είναι περισσότερο σημαντικές στην επίδραση που ασκούν, ενώ αυτά με την ίδια κατεύθυνση εμφανίζουν θετική συσχέτιση. Η ένταση της συσχέτισης αυξάνει καθώς η γωνία μεταξύ των μεταβλητών μειώνεται. Τα είδη που βρίσκονται κοντά στα βέλη κάποιων μεταβλητών έχουν στενή σχέση με αυτές. Δηλαδή υψηλές συγκεντρώσεις μαγνησίου, μολύβδου και καδμίου είναι ενδεικτικές της παρουσίας των ειδών *Armillaria mellea* και *Hygrophorus chrysodon*, ενώ τα είδη *Fistulina hepatica*, *Cantharellus cibarius* και *Pleurotus ostreatus* είναι πλούσια σε υδατάνθρακες. Αντιστοίχως, τα είδη *Hygrophorus russula* και *Amanita caesarea* εμφανίζουν υψηλές τιμές λιπαρών σε σχέση με τα υπόλοιπα καρποσώματα, το είδος *Russula delica* διακρίνεται για τις υψηλές τιμές τέφρας, το *Hygrophorus eburneus* για το μαγνήσιο και το *Boletus aureus* για το χαλκό. Το μεταλλικό αυτό στοιχείο μαζί με τον ψευδάργυρο σχετίζονται ισχυρά αρνητικά με το κάδμιο, ενώ τέλος το κοβάλτιο με το νικέλιο εμφανίζουν τη θετικότερη μεταξύ των μετάλλων συσχέτιση.

2. Ταυτοποίηση πτητικών συστατικών καρποσωμάτων

2.1. Αρωματική σύσταση καρποσωμάτων

Τα μανιτάρια που καλλιεργούνται σε βιομηχανική κλίμακα διεθνώς ξεπερνούν τα 35 είδη, με τα *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes* (Shiitake) και *Pleurotus ostreatus*, να καταγράφουν τα υψηλότερα ποσοστά παραγωγής κατά σειρά (Sánchez.2004). Αυτή η δημοτικότητα χρήσης από τους καταναλωτές δεν οφείλεται μόνο στην διατροφική τους αξία, αλλά και στις μοναδικές αρωματικές τους ιδιότητες (Stoor & Mooibroek, 1999; Cohen et al., 2002). Οι δευτερογενείς μεταβολίτες των καλλιεργούμενων ειδών έχουν μελετηθεί εκτενέστερα σε σχέση με αυτούς που προέρχονται από άγρια καρποσώματα. Αποτέλεσμα αυτής της αλματώδους βιομηχανικής ανάπτυξης στην παραγωγή φυσικών αρωμάτων από μανιτάρια ήταν ο σχηματισμός με φυσικό τρόπο της 1-οκτεν-3-όλης με, μιας αλκοόλης με 8 άτομα άνθρακα, χρησιμοποιώντας ένζυμα που απομονώθηκαν από το είδος *Agaricus bisporus* (Morawicki et al., 2005). Το γεγονός αυτό πιστοποιεί ότι οι θεμελιώδεις προσπάθειες κατανόησης της σύνθεσης των πτητικών συστατικών από καρποσώματα μακρομυκήτων μπορούν να έχουν τεράστιο εμπορικό ενδιαφέρον, αλλά και ότι η ακαδημαϊκή και βιομηχανική έρευνα μπορούν να πειραματιστούν στην χρήση περισσότερων άγριων ειδών για την παραγωγή υψηλής αξίας αρωματικών συστατικών.



Ωστόσο, η ένωση αυτή που φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο στην διαμόρφωση του αρωματικού προφίλ στα περισσότερα είδη, καλλιεργούμενα ή συλλεχθέντα από το φυσικό περιβάλλον, απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1936, από το είδος *Tricholoma matsutake*, από το οποίο πήρε αρχικά και το όνομα της ως αλκοόλη matsutake. Ο προσδιορισμός της σύγχρονης ονομασίας της δόθηκε από τον ερευνητή Murahashi που την ανακάλυψε πρώτος, το 1938. Από τότε, το συστατικό αυτό διαπιστώθηκε ότι περιέχεται στα αιθέρια έλαια των οικογενειών *Labiatae*, *Cupressaceae* και *Agaricaceae* (Maga, 1981). Οι Honkanen και Moiso (1963) αναφέρουν ότι η ένωση αυτή, είναι το κύριο πτητικό συστατικό στα άνθη και τα φύλλα του τριφυλλιού, ενώ ταυτόχρονα θεωρήθηκε ως πρόδρομη της 1-οκτεν-3-όνης, που είναι υπεύθυνη για την μεταλλική γεύση των γαλακτοκομικών προϊόντων, κατά την οξείδωση των λιπών (Maga, 1981).

Η πρώτη συστηματική μελέτη καταγραφής των εύοσμων συστατικών των μανιταριών έγινε το 1933 από τον ερευνητή Aye. Όμως, αξιοσημείωτη πρόοδος στον τομέα αυτό δεν επετεύχθη μέχρι την ανάπτυξη της μεθόδου της αέριας χρωματογραφίας (GC). Σήμερα, πάνω από 220 είδη μανιταριών άγριων Βασιδιομυκήτων και Ασκομυκήτων έχουν μελετηθεί για τα αρωματικά συστατικά τους, με το 70% περίπου των ειδών να έχει αναλυθεί ενδελεχώς την τελευταία 15ετία. Αν και όπως προαναφέρθηκε το τυπικό άρωμα «μανιταριού» προκύπτει από αλκοόλες, αλδεΐδες και κετόνες με 8 άτομα άνθρακα (π.χ. 1-οκτεν-3-όλη, 3-οκτανόλη, Trans-2-οκτενάλη, 3-οκτανόνη και 1-οκτεν-3-όνη), όλο και περισσότερα πτητικά συστατικά γίνεται αντιληπτό ότι αποτελούν ευδιάκριτες τυπικές αρωματικές ενώσεις διαφορετικών ειδών καρποσώματων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η παραγωγή της λενθειονίνης από τα καρποσώματα του είδους *Lentinula edodes* το 1966 (Morita & Kobayashi, 1966). Εξάλλου, στον Πίνακα 5 που ακολουθεί παρατίθενται τα σημαντικότερα πτητικά-αρωματικά συστατικά που έχουν απομονωθεί από ποικιλία ειδών μετά το 1994.



Πίνακας 5. Ταυτοποιημένα πτητικά συστατικά από ποικίλα είδη μανιταριών

Είδος καρποσώματος	Πτητικά συστατικά	Πηγή αναφοράς
<i>Agaricus blazei</i>	Βε νζαλδεΐδη, Βενζοϊκό οξύ	Stijve et al., 2002
<i>Agaricus bisporus</i>	(E)-Οξείδιο της Λιναλοόλης	Venkateshwarlu et al., 1999
<i>Agaricus esettei</i>	Βενζαλδεΐδη, Φαινυλαιθανόλη	Raprior et al., 2002
<i>Amanita ovoidea</i>	Πιπεριτόλη, α-φενχένιο, α- θουγένιο	Breheret et al., 1997
<i>Boletus erythropus</i>	Πιπεριτόνη	Breheret et al., 1997
<i>Calocybe indica</i>	p-ανισαλδεΐδη	Venkateshwarlu et al., 1999
<i>Clitocybe odora</i>	p-ανισαλδεΐδη	Raprior et al., 2002
<i>Cortinarius herculeus</i>	Γεοσμίνη	Breheret et al., 1999
<i>Cystoderma carcharias</i>	Γεοσμίνη, Φενχόλη, Φενχόνη	Breheret et al., 1997 & 1999
<i>C. amianthinum</i>	Γεοσμίνη	Breheret et al., 1999
<i>Fomes fomentarius</i>	β-φελανδρένιο, β-μυρκένιο	Falldt et al., 1999
<i>Gloeophyllum odoratum</i>	Δριμενόλη, R-(-)-Λιναλοόλη	Rösecke et al., 2000
<i>Lactarius rufus</i>	Ρουφολακτόνη	Luo et al., 2005
<i>Lactarius atlanticus</i>	Ατλαντικήνη	Clericuzio et al., 2002
<i>Lentinula edodes</i>	θειούχες-αζωτούχες ενώσεις	Cho et al., 2003, Eri et al., 2004
<i>Lepista nuda</i>	(Z)-οξείδιο της Λιναλοόλης	Breheret et al., 1997
<i>Marasmius alliaceus</i>	2,4,5,7-τετραθειοκτάνιο	Raprior et al., 1997
<i>Phallus impudicus</i>	Διμέθυλ-σουλφίδιο, (E)- οκιμένιο	Borg-karlson et al., 1994
<i>Piptoporus betulinus</i>	(+)-α-μπαρμπατένιο	Rösecke et al., 2000
<i>Pleurotus eryngii</i>	Βενζαλδεΐδη	Mau et al., 1998
<i>Termitomyces schimperi</i>	Φαινυλαιθανόλη	Nyeque et al., 2003
<i>Trametes suaveolens</i>	Methyl anisate	Rösecke et al., 2000
<i>Tricholoma caligatum</i>	α-θουγένιο	Breheret et al., 1997
<i>Tricholoma matsutake</i>	Μεθειονάλη	Cho et al., 2005
<i>Tricholoma sulfureum</i>	Λιναλοόλη, ινδόλη, 3-φορμύλινδόλη	Raprior et al., 1998
<i>Volvariella volvacea</i>	Οκτα-1,5-διεν-3-όλη	Mau et al., 1997



Η πλειοψηφία των θειούχων αρωματικών συστατικών έχει την ικανότητα να διαφοροποιεί την οσφρητική εντύπωση που προέρχεται από μείγμα αρωματικών, ακόμη και όταν οι ενώσεις αυτές βρίσκονται σε ίχνη μέσα σ' αυτό, ενώ η βιοχημεία τους στο είδος *Lentinula edodes*, φαίνεται ότι είναι παρόμοια με αυτή των φυτών του γένους *Allium*, όπως το κρεμμύδι, το σκόρδο και το Κινέζικο πράσο (*Allium schoneprasum*) (Wu, 2005).

Στην οικογένεια *Amanitaceae* εκτός των παραισθησιογόνων και δηλητηριωδών ειδών, υπάρχουν σημαντικά εδώδιμα είδη, μεταξύ των οποίων συγκαταλλέγονται τα *Amanita caesarea* (Αμανίτης του Καίσαρα), *Amanita rubescens* (Αμανίτης ο κοκκινίζων) και *Amanita ceciliae* (Αμανίτης του Κεκιλίου), για τα οποία έχουν δοθεί αναλυτικά στα αρχικά κεφάλαια της παρούσας διδακτορικής διατριβής τόσο τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά, όσο και οι οικοθέσεις ανάπτυξης τους. Μια ποικιλία αρωματικών εντυπώσεων, όπως μανιταριού, γρασιδιού, βοτάνων αλλά και φρούτων έχουν καταγραφεί και στα 3 είδη.

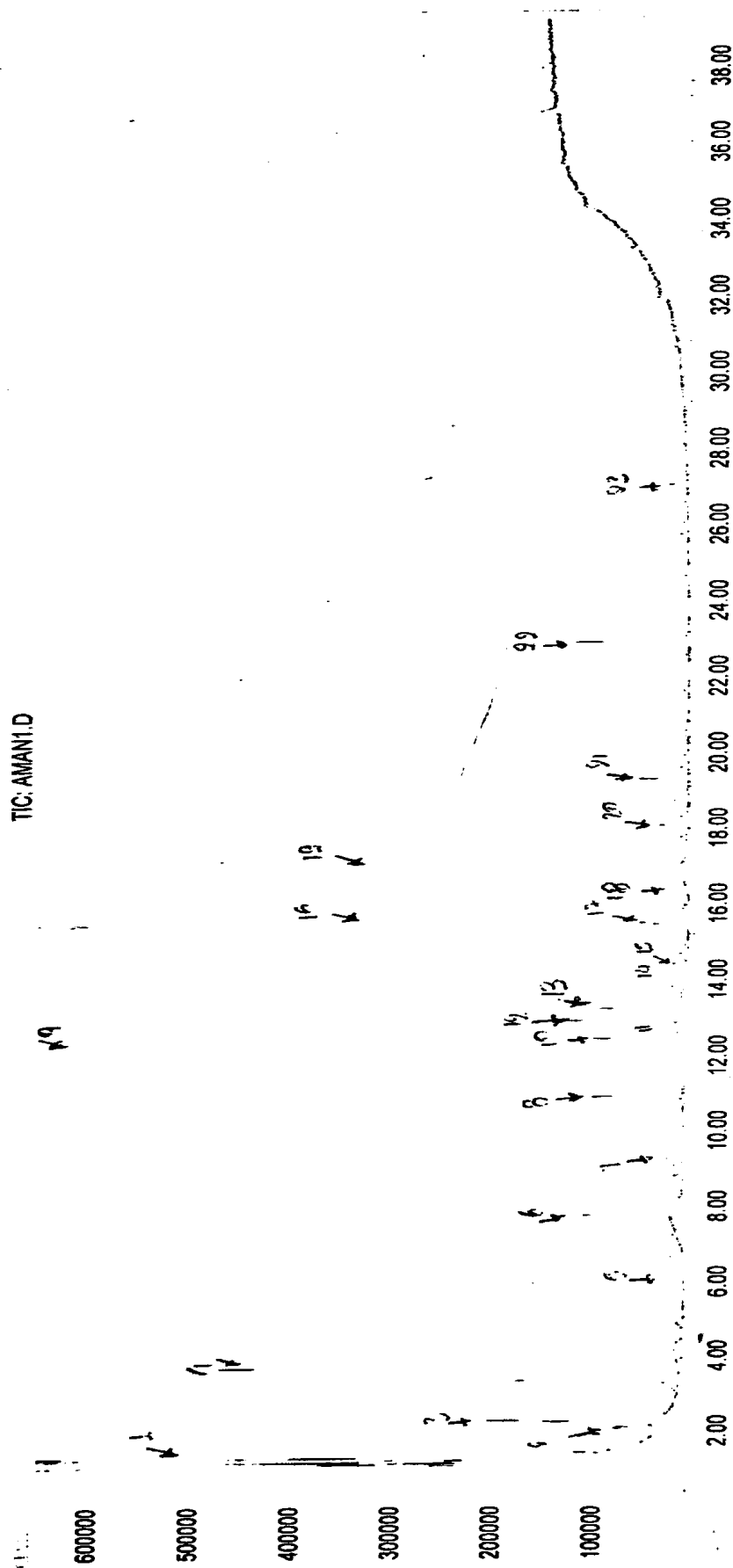
Τα πτητικά συστατικά των παραπάνω καρποσωμάτων αναφέρονται με τα % σχετικά ποσοστά τους -που βασίζονται στην συνολική χρωματογραφική επιφάνεια- στον Πίνακα 6 που ακολουθεί. Συνολικά έχουν ταυτοποιηθεί με βάση τους χρόνους κατακράτησης και τα φάσματα μαζών σε σύγκριση με τις βιβλιοθήκες Wiley και Nist, 23 ενώσεις για το είδος *Amanita caesarea*, 12 για το είδος *Amanita rubescens* και 13 για το *Amanita ceciliae* όπως παρατίθενται στα χρωματογραφήματα 1,2 και 3 αντίστοιχα. Οι ενώσεις αυτές ανήκουν στις χημικές ομάδες των αλκοολών, των αλδευδών, των κετονών, των υδρογοναθράκων, των οξέων και των τερπενίων.

Η χαρακτηριστική οσμή μανιταριού αποδίδεται κυρίως στις ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα, που είναι τα πλέον διαδεδομένα πτητικά αρωματικά συστατικά στα περισσότερα είδη καρποσωμάτων, με διακυμάνσεις στη συγκέντρωση που προέρχονται από διαφοροποιήσεις μεταξύ αλλότριων γενών, ειδών ή και στελεχών. Ενώσεις όπως η 3-οκτανόνη, 1-οκτεν-3-όνη, 3-οκτανόλη, 2-οκταναλη, 3-οκτεν-2-όνη, 2-οκτεν-1-όλη και η 1-οκτεν-3-όλη είναι γνωστό ότι αποτελούν καθοριστικής σημασίας αρωματικά συστατικά των ειδών *Psalliota bispora*, *Pleurotus sp.*, *Agaricus bisporus*, *Calocybe indica* and *Laetiporus sulphureus* (Fischer & Grosch, 1987; Lizarraga-Guerra et al., 1997; Venkateshwarlu et al., 1999; Rapior et al., 2000).



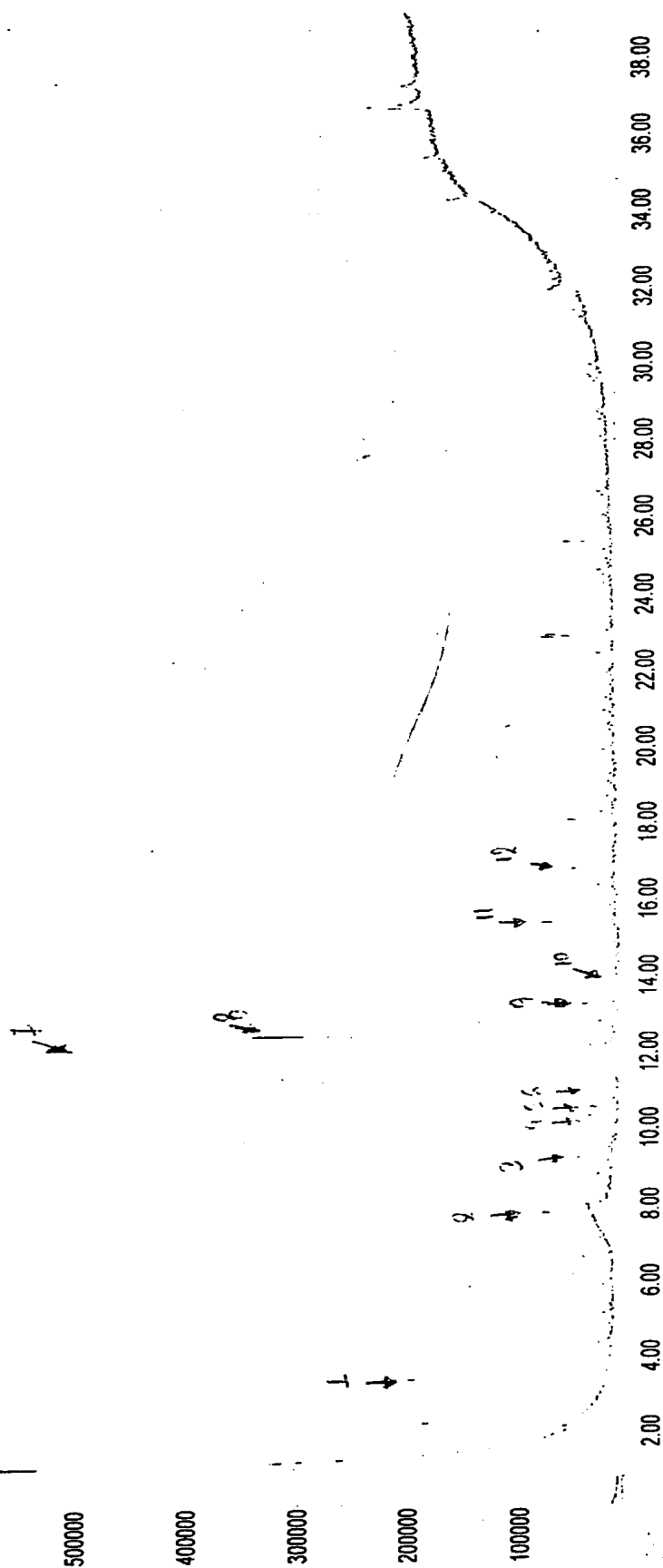
Πίνακας 6. Σχετική σύσταση % πτητικών ενώσεων Αμανιτών

RI	Ένωση	<i>A.caesaria</i> %	<i>A.rubescens</i> %	<i>A.ceciliae</i> %
759	Ακεταλδεϋδη	4,15	-	-
826	2-προπανόνη	1,07	-	-
852	1-οκτένιο	1,72	-	2,48
933	3-μεθυλ-βουτανάλη	2,97	12,57	-
957	2,2,4,6,6-πενταμεθυλ-επτάνιο	-	-	0,62
969	Κυκλοοκτάνιο	-	-	0,22
1065	2-βουτενάλη	0,25	-	-
1102	Εξανάλη	1,16	2,24	-
1160	p-ξυλόλιο	0,22	3,17	-
1204	2-επτανόνη	-	1,81	-
1216	Λεμονένιο	-	1,19	-
1229	3-μεθυλ-1-βουτανόλη	0,80	1,48	-
1278	3-οκτανόνη	41,71	54,41	29,81
1294	p-κουμόλιο	0,81	15,87	0,56
1306	C3-βενζόλιο	0,17	-	-
1309	2-οκτανόνη	-	0,76	-
1314	Οκτανάλη	1,10	-	0,18
1326	1-οκτεν-3-όλη	1,10	1,38	4,57
1340	2-επτανόλη	-	-	0,1
1363	6-μεθυλ-5-επτεν-2 όνη	0,32	-	-
1375	1-εξανόλη	0,12	-	-
1416	3-οκτανόλη	8,45	2,93	30,15
1419	Νονανάλη	0,51	-	-
1454	Κινναμωμικό οξύ	-	-	4,88
1457	2-οκτενάλη	0,22	-	-
1473	1-οκτεν-3-όλη	31,23	2,01	23,15
1557	Βενζαλδεϋδη	0,18	-	-
1583	1-οκτανόλη	0,46	-	1,94
1643	2-δεκέν-1-όλη	-	-	0,66
1781	Αζουλένιο	1,09	-	-
>2000	p-ανισαλδεϋδη	0,17	-	-



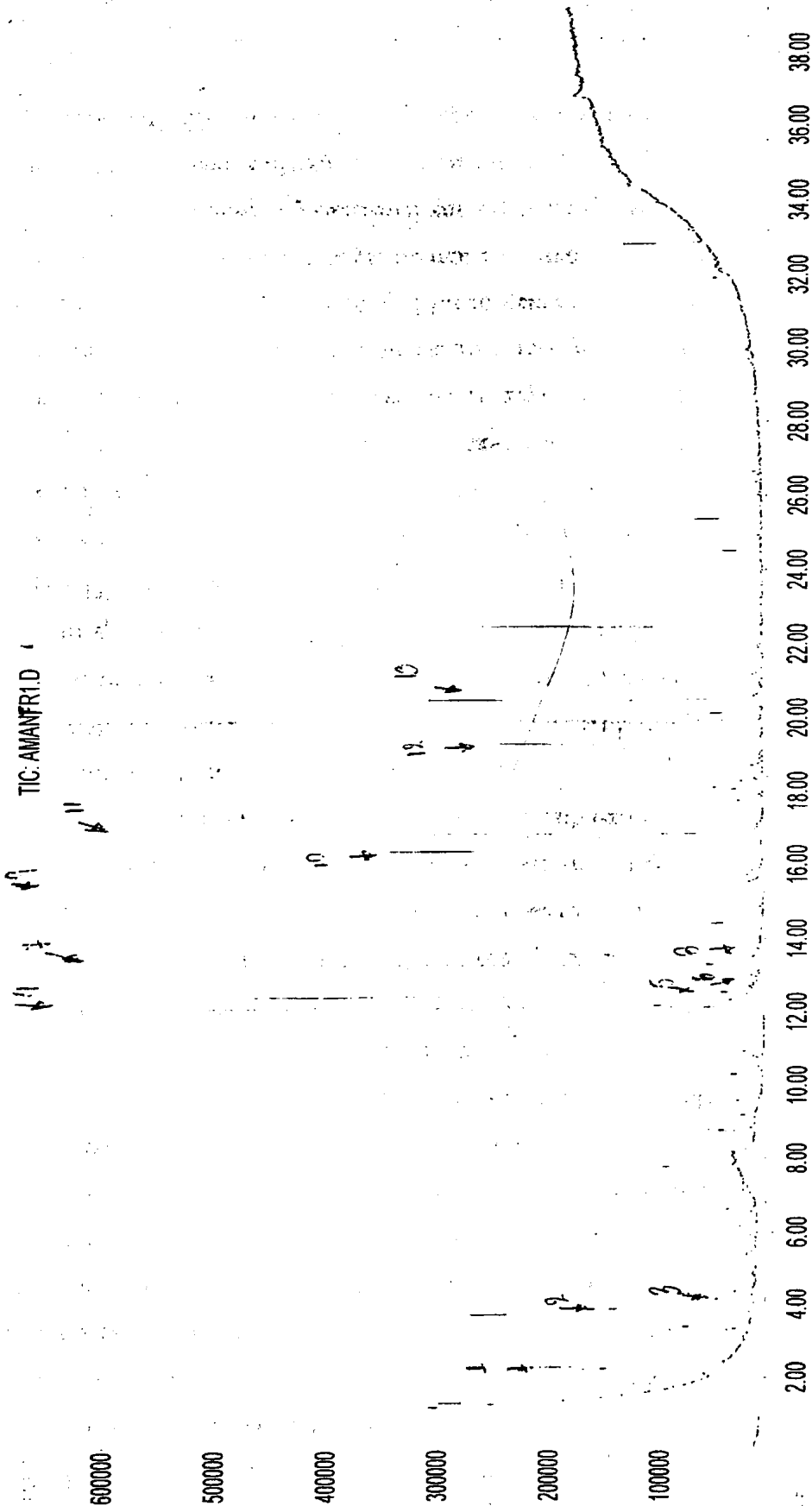
Χρωματογράφημα 1. Είδος *Amanita caesarea*

TIC: ARUB1.D



Χρωματογράφημα 2. Είδος *Amanita rubescens*





Χρωματογράφημα 3. Είδος *Amanita ceciliae*

Συγκρίνοντας την σύσταση των πτητικών των 3 παραπάνω ειδών ως προς τις κοινές ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα, διαπιστώνεται ότι 2 αλκοόλες, η 3-οκτανόλη και η 1-οκτεν-3-όλη και 2 κετόνες, η 3-οκτανόνη και η 1-οκτεν-3-όνη απαντώνται σε όλα τα είδη με την % συγκέντρωση να ποικίλει μεταξύ τους από 1,10% (1-οκτέν-3-όνη για το *Amanita caesarea*) έως 54,41% (3-οκτανόνη για το *Amanita rubescens*), πιθανόν εξαιτίας της διαφορετικότητας των καρποσωμάτων ως προς το είδος, το στάδιο ωριμότητας και τις περιβαλλοντικές-οικολογικές συνθήκες πριν τη συλλογή (Mau et al., 1994).

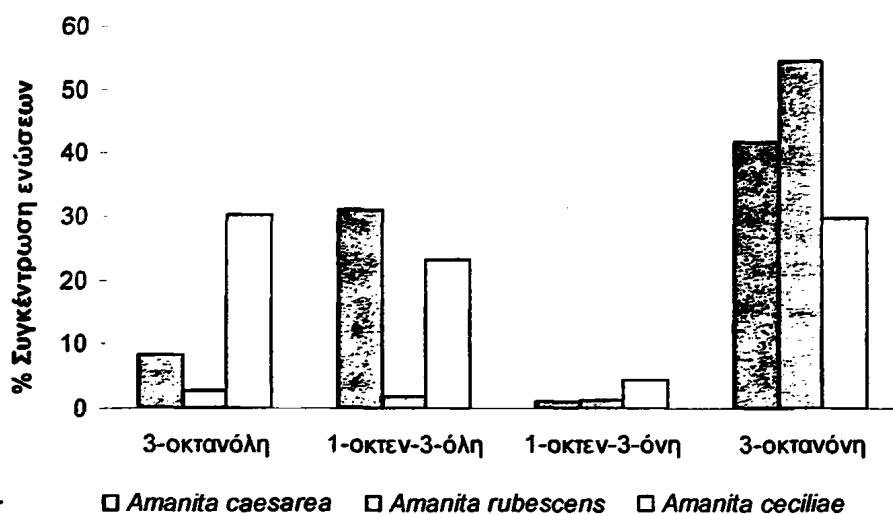
Η 1-οκτεν-3-όνη και η 3-οκτανόνη, απομονώνονται από όλα τα είδη των μακρομυκήτων και θεωρούνται βασικές ενώσεις με χαρακτηριστική οσμή μανιταριού (Venkateshwarlu et al., 1999). Ταυτόχρονα, τα επίπεδα συγκέντρωσης του αρώματος της 1-οκτεν-3-όνης στα διάφορα είδη μανιταριών, έχει αποδειχθεί μετά από πειραματικές μετρήσεις ότι είναι 10 φορές χαμηλότερα από τα αντίστοιχα της 1-οκτεν-3-όλης, ενώ οι ερευνητές Picardi και Issenberg (1973) προσδιόρισαν ότι η 1-οκτεν-3-όνη δεν βρίσκεται στα νωπά δείγματα μανιταριών του είδους *Agaricus bisporus*, αλλά παράγεται μετά το βρασμό των καρποσωμάτων για τουλάχιστον 15 λεπτά.

Μέσω του Διαγράμματος 14 που απεικονίζεται παρακάτω αποδεικνύονται σαφώς οι συγκριτικές διαφορές μεταξύ των 3 ειδών ως προς τις κοινές πτητικές αρωματικές ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα. Για τα είδη *Amanita caesarea* και *Amanita rubescens* η 3-οκτανόνη είναι η ένωση με τη μεγαλύτερη % συγκέντρωση σε αντίθεση με το είδος *Amanita ceciliae*, στο οποίο η ένωση 3-οκτανόλη έχει το μεγαλύτερο % ποσοστό συγκέντρωσης με τιμή 30,15%. Η ουσιαστική διαφορά ως προς τις ενώσεις αυτές καταγράφεται στην συγκέντρωση της 1-οκτεν-3-όλης η οποία εμφανίζει πολύ μικρό ποσοστό συγκέντρωσης μόλις 2,01% στο είδος *Amanita rubescens*.

Η ένωση αυτή όπως και οι: trans- 2-εννεαν-1- όλη, cis-3- νονεν-1- όλη, εξανόλη-1, trans-2-εξεν-1-όλη, cis-3-εξεν-1-όλη, cis-3-cis-6-νοναδιεν-1-όλη και trans-2-cis-6-νοναδιεν-1-όλη προέρχονται από την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων που απαντώνται στους φυτικούς ιστούς. Όταν τα κύτταρα των ιστών σπάζουν ως αποτέλεσμα της ωρίμανσης ή της μηχανικής θραύσης λόγω τραυματισμών, ο μηχανισμός της οξείδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων καταλύεται από το ένζυμο λιποξυγενάση. Το ένζυμο αυτό μετατρέπει τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως το λινελαϊκό και λινολενικό οξύ σε υδρουπεροξειδία. Από τη διάσπαση αυτή προκύπτουν οι αλδεϋδες, οι

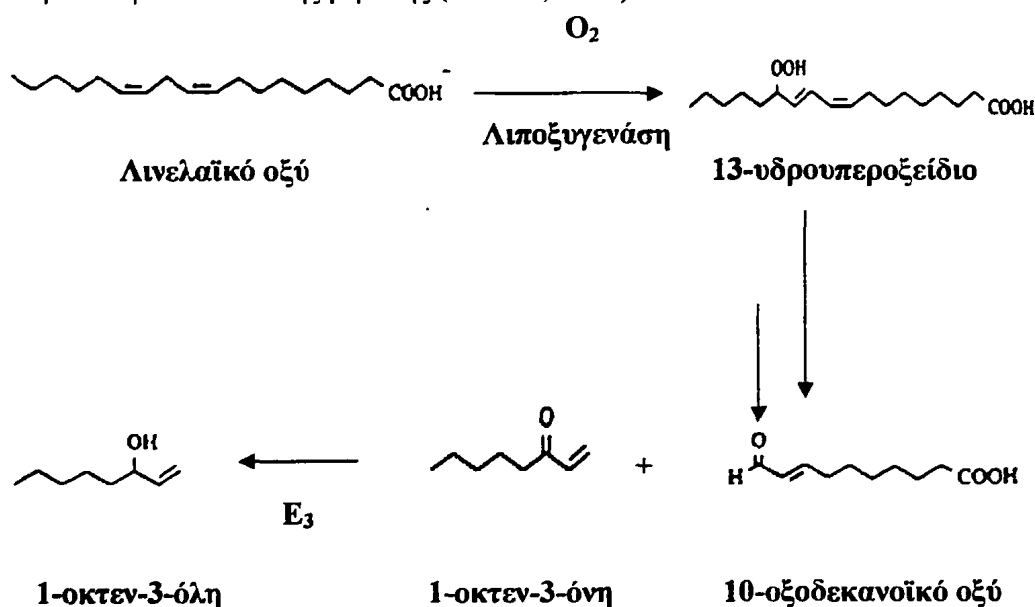


κετόνες και οι εστέρες, οι οποίοι με τη σειρά τους μετατρέπονται με τη βοήθεια άλλων ενζυμικών συστημάτων σε αλκοόλες (Fisher & Scott, 1997) (Σχήμα 1).



Διάγραμμα 14. % συγκέντρωση ενώσεων C-8/ είδος καρποσώματος γένους *Amanita*

Επίσης, η ένωση 1-οκτεν-3-όλη είναι άχρωμη, ελαιώδης στην υφή και διαθέτει ισχυρή γήινη οσμή, καθώς και άρωμα βοτάνων που προσομοιάζει με αυτό της λεβάντας, του τριαντάφυλλου και της μηδικής (JECFA, 2005).



Σχήμα 1. Βιογένεση της 1-οκτεν-3-όλης (Tressl και συν., 1982).

Στην χρωματογραφική ανάλυση του είδους *Amanita rubescens* παρατηρείται επίσης σημαντική συνεισφορά στο άρωμα του καρποσώματος των ενώσεων 3-μεθυλ-βουτανάλη με ποσοστό 12,57% , p-κουμόλιο με ποσοστό 15,87% και λεμονένιο με μικρότερο σαφώς ποσοστό της τάξης του 1,19%, αλλά με μοναδική παρουσία στον Αμανίτη τον κοκκινίζοντα μεταξύ των 3 ειδών του γένους.

Η 3-μέθυλ-βουτανάλη με μεγάλη συνεισφορά στο αρωματικό προφίλ του είδους *Amanita rubescens* παράγεται μέσω της πρωτεόλυσης και της αποικοδόμησης - αντίδραση Strecker- των αμινοξέων (Zhang et al., 1996), ενώ έχει αποδειχθεί πειραματικά ότι παίζει καθοριστικό ρόλο στο προσδιοριζόμενο άρωμα των φημισμένων αποξηραμένων χοιρινών κρεατοσκευασμάτων της Ιβηρικής χερσονήσου (Flores et al., 1997).

Το λεμονένιο είναι ένα μονοτερπένιο που απαντά σε πληθώρα αιθέριων ελαίων, σχηματίζεται από το πυροφωσφορικό γερανύλιο, συναντάται ως (+)- λεμονένιο στα εσπεριδοειδή και ως (-)- λεμονένιο στα αιθέρια έλαια της μέντας και του πεύκου, ενώ παράλληλα διαθέτει χαρακτηριστική οσμή λεμονιού. Έντονα αναδυόμενη οσμή κίτρου εμφανίζει και η ένωση p-κουμόλιο ή 1-ισοπρόπυλ-4-μεθυλβενζόλιο, η οποία σε συνδυασμό με την λιναλοόλη είναι από τα πλέον κοινά απαντούμενα τερπένια στην πλειοψηφία των αναλυμένων καρποσωμάτων (Fisher & Scott, 1997).

Ακόμη στο είδος *Amanita caesarea*, καταγράφεται η παρουσία των αλδευδών ακεταλδεϋδη, βενζαλδεϋδη και p-ανισαλδεϋδη με ποσοστά 4,15%, 0,18% και 0,17% αντίστοιχα. Οι αλδεϋδες έχουν διαφορετικό αρωματικό προφίλ, καθώς αυξάνει ο αριθμός των ατόμων άνθρακα στην ανθρακική αλυσίδα. Στον πίνακα 7 που ακολουθεί δίνεται ο αρωματικός χαρακτήρας των αλδευδών που αποτελούνται από 6-10 άτομα C στην ανθρακική τους αλυσίδα, καθώς και τα επίπεδα οσμής σε ng/L αέρα.

Πίνακας 7. Αρωματικός χαρακτήρας αλδευδών (Schieberle & Buettner, 2001)

Αλδεϋδη	Χαρακτήρας αρώματος	Κατώφλι οσμής (ng/L αέρα)
Εξανάλη	Άρωμα γρασιδιού	40
Επτανάλη	Άρωμα ελαίου	250
Οκτανάλη	Άρωμα φρούτων	11
Εννεανάλη	Άρωμα κίτρου	5
Δεκανάλη	Άρωμα κίτρου	1



Η βενζαλδεΐδη, άχρωμη ένωση, διαλυτή στο νερό και τους οργανικούς διαλύτες διαθέτει έντονη γλυκιά οσμή αμυγδάλου και αποτελεί βασικό συστατικό του αιθέριου ελαίου του (JECFA, 2005), η p-ανισαλδεΐδη είναι η καθοριστική αρωματική ένωση στα καρποσώματα των ειδών *Calocybe indica* ((Venkateshwarlu και συν., 1999) και *Clitocybe odora* (Rapiot και συν., 2002), ενώ η ακεταλδεΐδη ή αλλιώς γνωστή ως αιθανάλη, χρησιμοποιείται στη χημική βιομηχανία ως ενδιάμεσο προϊόν στην παραγωγή οξικού οξέος. Μάλιστα στις αρχές της δεκαετίας του 90' η παραγωγή της στις Η.Π.Α. έφτασε τους 336.000 τόνους. Διαθέτει φρουτώδη οσμή και ανευρίσκεται φυσικά στα ώριμα φρούτα, στον καφέ και στο φρέσκο ψωμί, ενώ παράγεται από τα φυτά, ως ουσία μέρος του βασικού τους μεταβολισμού. Επίσης, στα τελευταία στάδια της αλκοολικής ζύμωσης σε βακτήρια, φυτά και ζύμες, παρατηρείται μετατροπή του πυροσταφυλικού οξέος σε ακεταλδεΐδη, με τη βοήθεια του ενζύμου πυροσταφυλική αποκαρβοξυλάση, η οποία με τη σειρά της μετατρέπεται σε αιθανόλη. Η τελευταία αντίδραση καταλύεται εκ νέου από το ένζυμο αλκοολική δεϋδρογονάση (alcohol dehydrogenase) που λειτουργεί πια προς την αντίθετη κατεύθυνση (March, J., 1992).

Τέλος, στο είδος *Amanita ceciliae*, καταγράφεται μοναδικά μεταξύ των 3 ειδών, η παρουσία της ένωσης κινναμωμικό οξύ (cinnamic acid) με ποσοστό 4,88%. Η ένωση αυτή είναι λευκό κρυσταλλικό σώμα, μερικώς διαλυτό στο νερό. Λαμβάνεται από το αιθέριο έλαιο της κανέλλας, της οποίας αποτελεί και ένα από τα βασικά συστατικά, καθώς και από το βάλσαμο που προέρχεται από τα είδη *Myroxylon balsamum* (Tolu balsam), *Myroxylon pereirae* (Peru balsam) και *Liquidambar orientalis* (Storax). Βρίσκεται επίσης στο βούτυρο που προέρχεται από το φυτό *Butyrospermum parkii* (shea tree).

Το κινναμωμικό οξύ χρησιμοποιείται σε φαρμακευτικά παρασκευάσματα αν και η κύρια χρήση του είναι στην παραγωγή μέθυλ-, αίθυλ- και βενζύλ- εστέρων, που χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία των αρωμάτων (Merck Index, 2001). Διαθέτει γλυκιά οσμή λουλουδιών, ενώ είναι και το ενδιάμεσο κλειδί στις αντιδράσεις σχηματισμού των φαινυλοπροπανοειδών (Flavornet.org). Τα φαινυλοπροπανοειδή είναι μια ομάδα μεταβολιτών των φυτών που προέρχονται από την φαινυλαλανίνη. Είναι ευρέως κατανεμημένα στους φυτικούς ιστούς εκπληρώνοντας σημαντικές λειτουργίες, όπως αυτή της άμυνας των φυτικών οργανισμών. Η φαινυλαλανίνη μετατρέπεται πρωτίστως



σε κινναμωμικό οξύ, κουμαρίνες, καφεϊκά και σιναπικά οξέα. Το κινναμωμικό οξύ είναι ο πρόδρομος των οξέων αυτών και ο δημιουργός των εστέρων που αναφέρθηκαν παραπάνω και που χρησιμοποιούνται ως αρωματικοί παράγοντες στην βιομηχανία παραγωγής καλλυντικών προϊόντων (Katzner, 2006).

Στα είδη *Armillaria mellea* και *Armillaria tabescens* για τα οποία δεν υπάρχουν δημοσιευμένα πειραματικά και βιβλιογραφικά δεδομένα, ανιχνεύθηκαν και ταυτοποιήθηκαν με βάση τους χρόνους κατακράτησης και σε σύγκριση με τα φάσματα μάζας των βιβλιοθηκών, 33 και 29 πτητικά συστατικά αντίστοιχα (Πίνακας 8).

Τα σημαντικότερα ποσοστά % φαίνεται ότι κατέχουν και πάλι οι ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα όπως η 1-οκτεν-3-όλη (55,19% / 45,79%), η 3-οκτανόνη (16,55% / 25,23%), η 3-οκτανόλη (2,87% / 4,03%) και η 2-οκτενάλη (6,32% / 3,52%).

Παρατηρείται όμως επίσης και υψηλό ποσοστό εξανάλης (3,56% / 5,66%), καθώς και 1-οκτενίου (1,96%) στο είδος *Armillaria tabescens*. Η εξανάλη που διαθέτει έντονο γλυκό φρουτώδες άρωμα γρασιδιού, έχει ταυτοποιηθεί και αναφερθεί σε προηγούμενες μελέτες ως καθοριστικός αρωματικός παράγοντας της τομάτας (Buttery Rg, 1989), του Ασιατικού αχλαδιού (Takeoka, 1992), της μαγειρεμένης γαλοπούλας (Brunton et al., 2000), των λυοφιλοποιημένων μυϊκών ινών του κοτόπουλου (Goodridge et al., 2003), των ψαριών (Da Cunha Veloso et al., 2001) και των φυτικών ελαίων (Seppanen et al., 2001).

Η ένωση σχηματίζεται από την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων με την επίδραση ενζύμων όπως η λιποξυγενάση και η υδροϋπεροξειδική λυάση (Tressl & Drawert, 1973). Για το λόγο αυτό σε μελέτη της ανίχνευσης της σε τσιπς, διαπιστώθηκε ότι είναι ένας καλός δείκτης της οξείδωσης των λιπών της τηγανητής πατάτας, καθώς η συγκέντρωση της αυξάνει σημαντικά κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του συγκεκριμένου τροφίμου όσο περνά ο χρόνος (Silva et al., 2004).



Πίνακας 8. % σύσταση πτητικών ενώσεων των ειδών του γένους *Armillaria*

Rt	RI	Ένωση	<i>A.mellea</i> %	<i>A.tabescens</i> %
1,45	759	Ακεταλδεΐδη	0,95	2,36
2,29	852	1-οκτένιο	-	1,96
3,38	933	3-μέθυλ βουτανάλη	0,19	0,87
4,16	970	3-κυκλοεπτέν-1-όνη	-	0,19
4,84	1003	Πεντανάλη	0,29	0,39
5,17	1014	2-μεθυλ-πεντανάλη	-	0,29
6,66	1064	2- βουτενάλη	0,29	0,15
7,77	1102	Εξανάλη	3,56	5,66
9,09	1155	p-ξυλόλιο	0,09	0,09
9,26	1162	m-ξυλόλιο	-	0,05
10,40	1207	Επτανάλη	0,37	0,48
10,91	1229	3-μέθυλ-1-βουτανόλη	0,15	0,62
11,22	1242	Trans-2-εξενάλη	0,06	-
11,51	1254	2-πεντύλ-φοσφάνιο	0,12	0,09
11,93	1271	1-πεντανόλη	0,09	0,11
12,08	1278	3-οκτανόνη	16,56	25,23
12,45	1294	p-κουμόλιο	0,19	0,11
12,93	1314	Οκτανάλη	2,51	2,17
13,24	1326	1-οκτέν-3-όνη	2,61	1,94
13,80	1350	(E)-2 Επτανάλη	0,45	0,35
14,41	1375	Εξανόλη	0,17	0,27
15,40	1416	3-οκτανόλη	2,87	4,04
15,49	1419	Νονανάλη	0,21	0,13
15,85	1435	3-οκτεν-2-όνη	0,17	0,11
16,40	1457	2-οκτενάλη	6,32	3,54
16,85	1473	1-οκτεν-3-όλη	55,19	45,79
18,72	1557	Βενζαλδεΐδη	0,35	0,15
18,92	1566	Οκτενάλη	0,37	-
19,01	1570	cis-4-δεκανάλη	0,14	-
19,30	1583	Οκτανόλη	2,32	0,94
20,20	1627	2-Ενδεκανόνη	0,06	-
20,49	1643	2-οκτεν-1-όλη	2,44	1,31
20,97	1668	4-νονανόνη	0,35	-
21,14	1678	Υακινθίνη	0,27	-
22,46	1755	Βαλενσένιο	0,06	-
22,96	1785	3-δωδεκεν-1-άλη	0,14	-
23,21	1801	4-μέθυλ-5-δεκανόλη	-	0,56
	1847	Trans,trans-2-4-		-
23,91		δεκαδιενάλη	0,07	

Ο σχηματισμός των αλκοολών και των αλδεϋδών με έξι άτομα άνθρακα όπως η εξανόλη, η εξανάλη ή η trans-2-εξενάλη στο είδος *Armillaria mellea* όπως και σε άλλους φυτικούς οργανισμούς, φαίνεται ότι συνδέεται με την καταστροφή των φυτικών ιστών. Πιθανόν, ο τεμαχισμός των καρποσωμάτων του παραπάνω είδους για την προετοιμασία

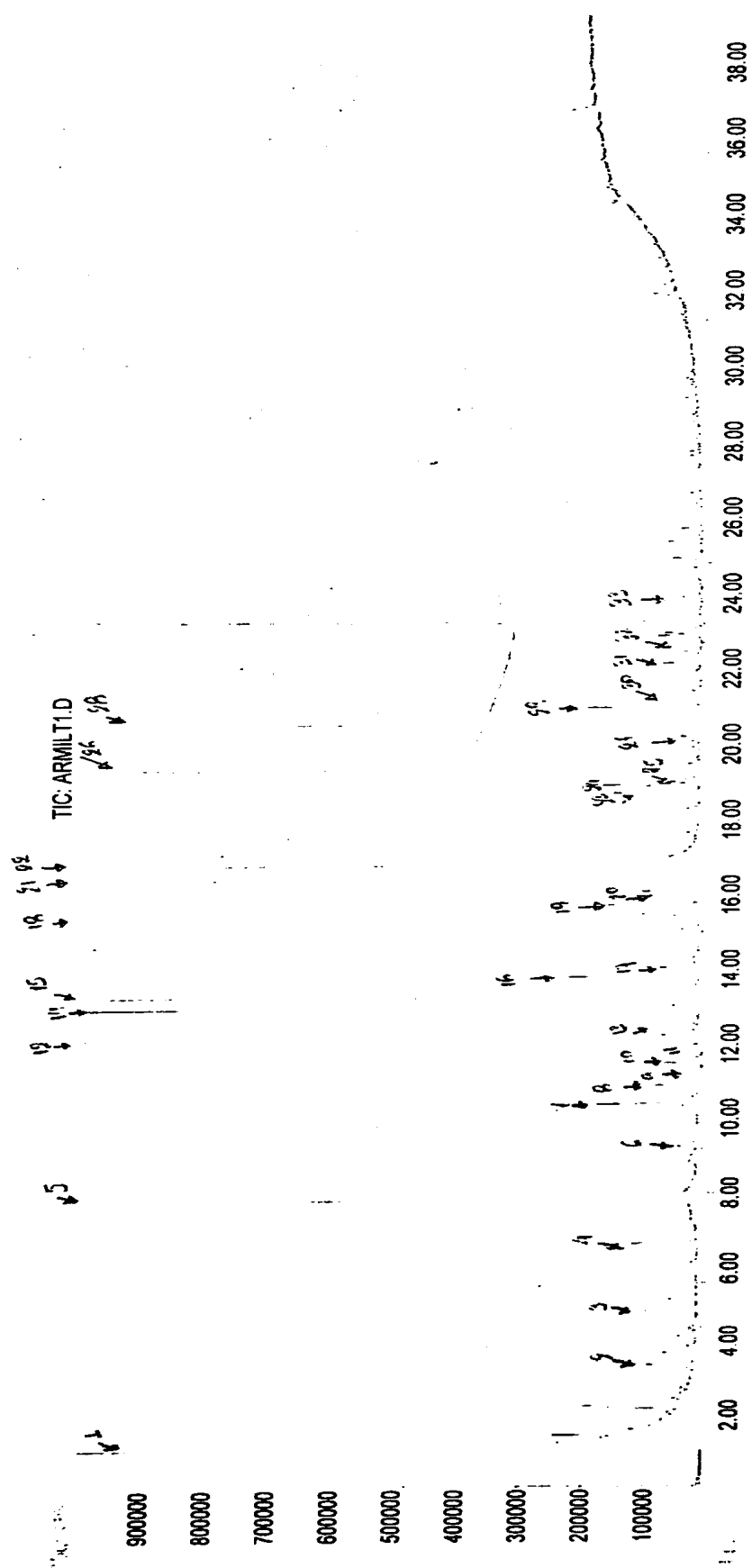


της ανίχνευσης των πτητικών συστατικών να είχε ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση των ενζύμων που αποικοδομούν το λίπος αλλοιώνοντας τις μεμβράνες στις οποίες φυλάσσεται. Κάτι αντίστοιχο συμβαίνει εξάλλου και κατά τη βιογένεση των αρωμάτων με οσμή γρασιδιού του παρθένου ελαιολάδου κατά την πολτοποίηση και μάλαξη των καρπών της ελιάς (Olias et al., 1993).

Επίσης, όπως αποδεικνύεται και από τα χρωματογραφήματα που παρατίθενται ακολούθως, οι ενώσεις 4-νονανόνη, Υακινθίνη, Βαλενσένιο, 3-δωδεκεν-1-άλη και Trans,trans-2-4-δεκαδιενάλη (υπ' αριθμ. 29,30,31,32 και 33) απαντώνται μόνο στο είδος *Armillaria mellea*. Το Βαλενσένιο ή (1*R*,7*R*,8*aS*)-1,2,3,5,6,7,8,8*a*- οκτάυδρο-1,8*a*-διμέθυλ-7-(1-μεθυλ-αιθυλενύλ)ναφθαλένιο, είναι ένα σεσκιτερπένιο με χαρακτηριστική οσμή εσπεριδοειδών που αποτελεί το βασικό αρωματικό συστατικό των πορτοκαλιών της ποικιλίας Valencia και βιοσυντίθεται από πυροφωσφορικό φαρνεσύλιο (farnesyl pyrophosphate FPP) μέσω του ενζύμου τερπενική κυκλάση (CVS terpene cyclase enzyme). Το πρώτο ένζυμο απομονώθηκε χρησιμοποιώντας cDNA πορτοκαλιών (Sharon-Asa et al., 2003).

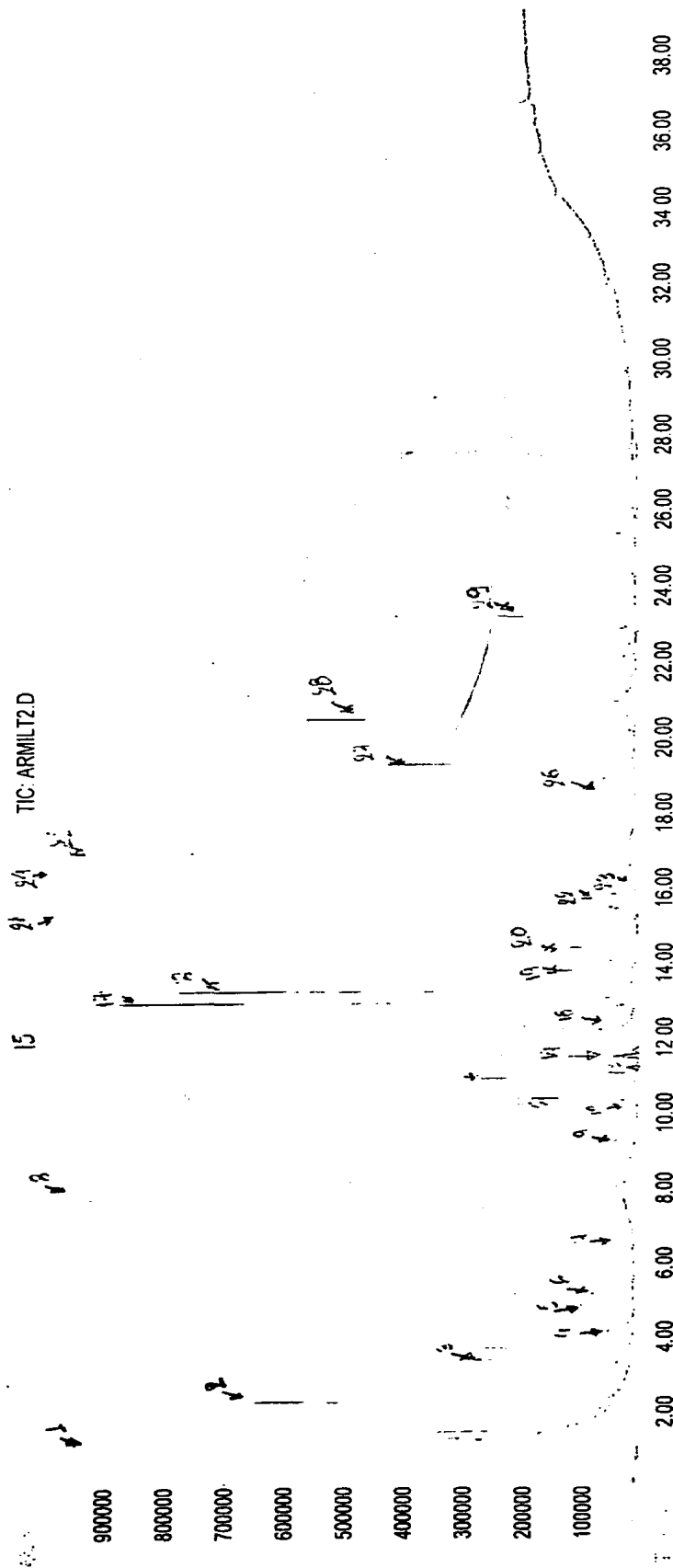
Η Υακινθίνη με χημικό τύπο C_8H_8O και σημείο ζέσεως $195^{\circ}C$, βρίσκεται σε υγρή κατάσταση, διαθέτει ελαφρώς κίτρινο χρώμα και αναδύει αρκετά ισχυρή και διαπεραστική οσμή γρασιδιού και λουλουδιών και γλυκό άρωμα όμοιο με αυτό του υακίνθου (ζουμπούλι *Hyacinthus orientalis*) (JEFCA, 2002). Τέλος, η 4-νονανόνη, που ανήκει στην χημική κατηγορία των πρόπυλ-κετονών αποτελεί βασικό συστατικό του αρώματος στο τυρί Machengo (Barron et al., 2005) και διαθέτει άρωμα λουλουδιών (JEFCA, 2002).





Χρωματογράφημα 4. Είδος *Armillaria mellea*





Χρωματογράφημα 5. Είδος *Armillaria tabescens*

Έρευνα των Rapior et al. (1998), σχετικά με τη σύσταση των πτητικών συστατικών 14 ειδών μανιταριών της τάξης *Boletales* που περιελάμβανε τα είδη *Boletus aureus*, *Boletus calopus*, *Chroogomphus rutilus*, *Gomphidius glutinosus*, *Leccinum aurantiacum*, *Leccinum lepidum*, *Leccinum pulchrum*, *Leccinum quercinum*, *Leccinum versipelle*, *Paxillus atrotomentosus*, *Suillus bovinus*, *Suillus granulatus*, *Suillus collinitus* και *Suillus variegatus*, απέδειξε ότι 4 είδη δεν διέθεταν καθόλου πτητικά συστατικά ενώ στα υπόλοιπα δέκα ανιχνεύθηκαν συνολικά 45 πτητικές ενώσεις. Στον πίνακα 9 που ακολουθεί αναφέρεται το σύνολο των ταυτοποιημένων ενώσεων με τις % σχετικές συγκεντρώσεις τους που προσδιορίστηκαν βάσει του εμβαδού των χρωματογραφικών κορυφών.

Πίνακας 9. % Συγκέντρωση ταυτοποιημένων πτητικών ενώσεων στα δείγματα φρέσκων μανιταριών (Rapior et al., 1998)

Compound	RI	Mushroom type									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
4-hexen-3-one**	811	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7	-
γ-butyrolactone	870	-	0.4	-	-	-	0.5	-	-	-	-
γ-valerolactone	918	-	0.8	-	-	-	-	-	-	-	-
α-pinene	927	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.4
benzaldehyde	935	-	-	-	-	-	0.2	-	0.1	3.0	-
camphene	941	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.4
1-octen-3-one	948	-	-	-	-	-	0.2	2.0	1.1	1.5	-
3-octanone	950	-	-	-	2.0	-	6.3	-	47.0	-	-
δ-valerolactone	953	-	-	-	-	-	4.0	-	-	-	-
1-octen-3-ol	965	92.0	89.0	75.0	75.0	75.0	52.0	20.0	15.0	6.7	6.4
β-pinene	967	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.4
3-octanol	979	-	-	-	12.0	-	6.2	-	27.0	-	-
myrcene	980	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.4
2-octanone	983	-	-	0.4	-	-	-	-	-	-	-
dipropyleneglycol-methylether*	995	-	-	-	-	-	-	-	-	5.4	-
6-oxa-2,4,4-trimethylcyclohex-2-enone	1015	-	-	-	-	-	7.8	-	0.7	3.6	-
limonene	1026	-	-	-	-	-	-	-	3.6	3.6	16.6
benzyl alcohol	1029	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-
octanol	1050	4.0	2.6	1.6	2.0	-	-	-	-	-	-
2-phenylethanol	1095	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-
2,5-dihydroxycyclohexa-2,5-diene-1,4-dione	1125	-	-	-	-	-	-	8.0	-	-	-
(E)-2-octanol	1153	2.0	2.8	4.0	-	13.0	16.2	-	1.2	11.0	6.0
2,4,4-trimethylcyclohex-2-enone	1165	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7	-
4-oxooctan-2-ol	1171	-	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-
benzothiazole	1180	-	-	-	-	-	-	-	0.2	3.6	3.0
cyclohexyl isothiocyanate	1182	-	-	-	-	-	-	-	-	28.0	-
4-thiomethylphenol	1198	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-
2-phenoxyethanol	1219	-	-	-	-	-	0.7	-	-	-	-
bornyl acetate	1262	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0
indole	1293	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-
eugenol	1325	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	-
geranyl acetate	1353	-	-	-	-	-	-	7.0	-	-	-
β-caryophyllene	1410	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.4
4-pyridine carboxamide	1415	-	-	-	-	-	-	2.0	-	-	-
α-humulene	1435	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.2
1-phenyloctene	1443	-	-	-	-	-	-	-	-	1.5	-
geranyl acetone	1450	-	-	0.4	-	-	-	16.0	-	-	2.4
N(2-phenylethyl)acetamide	1463	-	-	-	2.0	-	-	-	0.3	0.8	-
4-methyl-5-thiazothanol	1485	-	-	-	-	-	0.9	-	-	-	-
germacrene D	1470	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.0
2-methylthiobenzothiazole	1477	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	-
8-heptadecene	1585	-	-	-	-	-	-	-	-	2.5	-
(E,E)-farnesol	1720	-	2.4	-	-	-	-	16.0	-	-	-
(E,E)-farnesyl acetate	1844	-	-	-	-	-	-	6.0	-	-	-
farnesyl acetone	1865	-	0.5	1.0	-	-	-	-	-	-	-

Mushroom type: 1 = *Suillus collinitus*, 2 = *S. bovinus*, 3 = *S. granulatus*, 4 = *S. variegatus*, 5 = *Boletus aureus*, 6 = *Leccinum quercinum*, 7 = *Chroogomphus rutilus*, 8 = *Boletus calopus*, 9 = *Leccinum aurantiacum*, 10 = *Gomphidius glutinosus*

*relative percentage of the identified volatile based on the GC/MS chromatographic area; **correct isomer not identified;

RI = Retention indices; - tentative identification



Πίνακας 10. % σύσταση πτητικών ενώσεων των ειδών του γένους *Boletus*

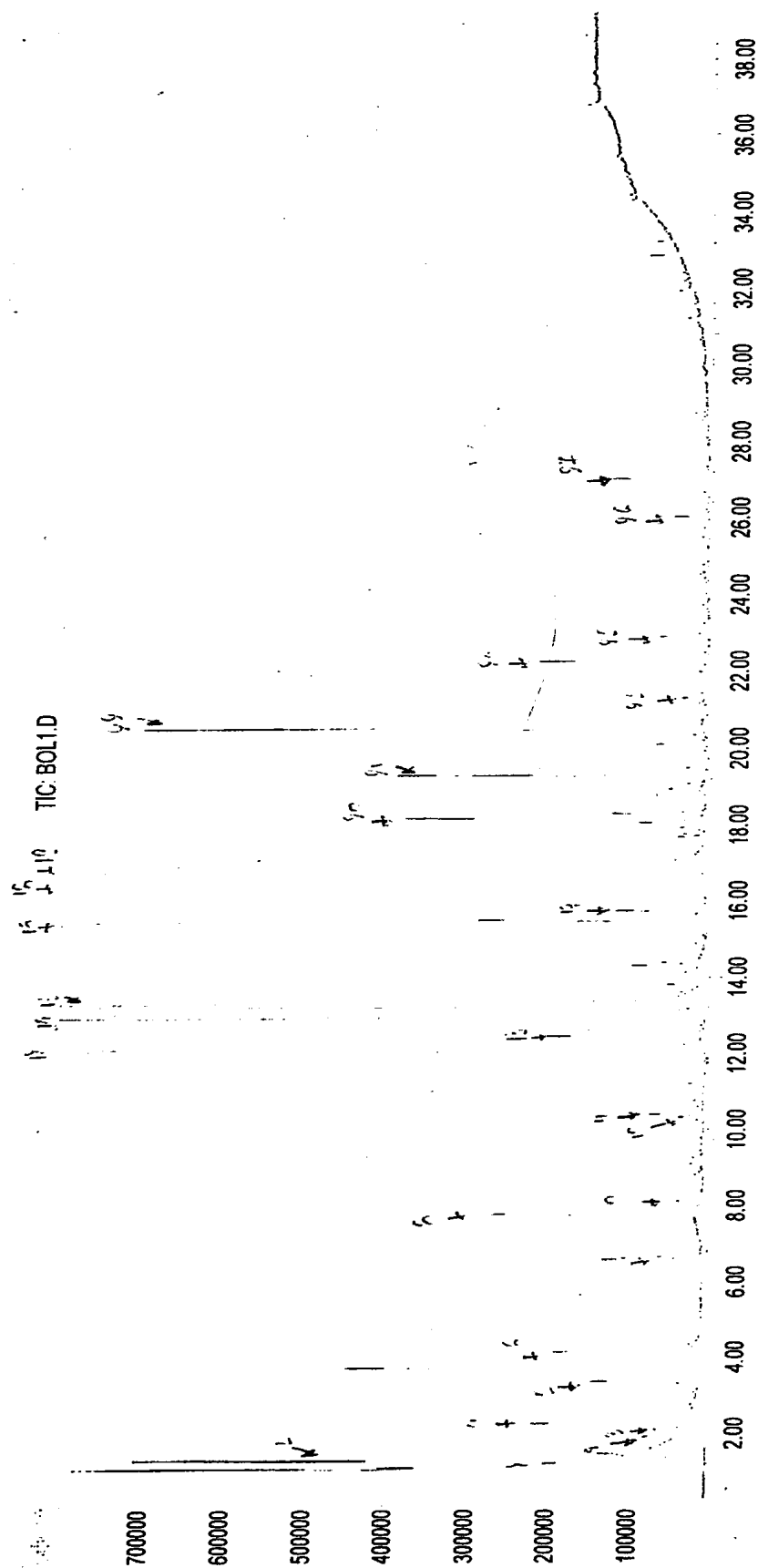
Rt (min)	RI	Ένωση	<i>B.</i> <i>aureus</i> %	<i>B.</i> <i>edulis</i> %	<i>B.</i> <i>luridiformis</i> %
1,45	759	Ακεταλδεύδη	0,57	0,53	1,05
1,90	809	Προπανάλη	0,15	0,29	-
2,04	824	2-μεθυλπροπανάλη	-	-	0,14
2,07	826	2-προπανόνη	0,10	0,20	-
	847	trans-1-βουτυλ-2- μεθυλκυκλοπροπανόνη	0,63	-	-
2,25					
2,29	852	1-οκτένιο	-	0,54	-
3,30	928	2-μεθυλ βουτανάλη	-	0,06	0,18
3,40	933	3-μεθυλβουτανάλη	0,41	0,37	0,52
4,13	969	3-κυκλοεπτέν-1-όνη	0,60	-	32,90
4,15	970	1,3-οκταδιένιο	-	0,56	0,78
6,66	1064	2-βουτενάλη	0,22	0,07	-
7,77	1102	Εξανάλη	0,61	0,54	0,32
8,11	1116	2-μεθυλ-2-βουτενάλη	0,06	-	-
10,33	-1205	2-επτανόνη	0,05	0,28	-
10,40	1207	Επτανάλη	0,13	0,11	-
10,80	1224	2-εξενάλη	-	-	0,27
10,91	1229	3-μέθυλ-1-βουτανόλη	-	-	0,33
11,68	1261	πεντύλ εστέρας προπανοϊκού οξέος	-	-	0,35
12,08	1278	3-οκτανόνη	4,37	5,92	11,32
12,45	1294	p-κουμόλιο	0,36	0,20	0,26
12,93	1314	Οκτανάλη	1,87	1,41	1,36
13,24	1326	1-οκτεν-3-όνη	13,92	15,58	5,91
13,80	1350	2-επτενάλη	-	-	0,16
14,41	1375	Εξανόλη	-	-	0,46
15,40	1416	3-οκτανόλη	8,05	10,68	7,46
15,49	1419	Νονανάλη	0,74	0,68	-
15,72	1429	1-αιθύλ-2-μεθύλ-κυκλοπεντάνιο	-	-	0,26
16,40	1457	2-οκτενάλη	8,15	7,52	1,30
16,85	1473	1-οκτεν-3-όλη	56,01	52,13	30,80
19,09	1573	Λιναλοόλη	-	0,04	-
19,30	1583	Οκτανόλη	0,66	0,41	1,60
20,09	1621	Trans, trans-2,4-οκταδιενάλη	0,19	0,16	0,07
20,34	1635	Ενδεκανάλη	-	0,03	-
20,49	1643	2-οκτέν-1-όλη	1,18	0,83	2,09
21,30	1686	Νονανόλη	0,05	0,03	-
22,26	1743	Δωδεκανάλη	0,48	0,43	-
22,90	1781	Αζουλένιο	0,11	0,15	-
23,03	1790	Δεκανόλη	-	0,04	-
24,31	1874	Αιθυλεστέρας δωδεκανοϊκού οξέος	-	-	0,06
25,72	>2000	α-αιθύλ-βενζενακεταλδεύδη	-	-	0,03
26,02	>2000	Δωδεκανόλη	0,08	0,09	-
27,03	>2000	p-ανισαλδεύδη	0,24	0,10	-



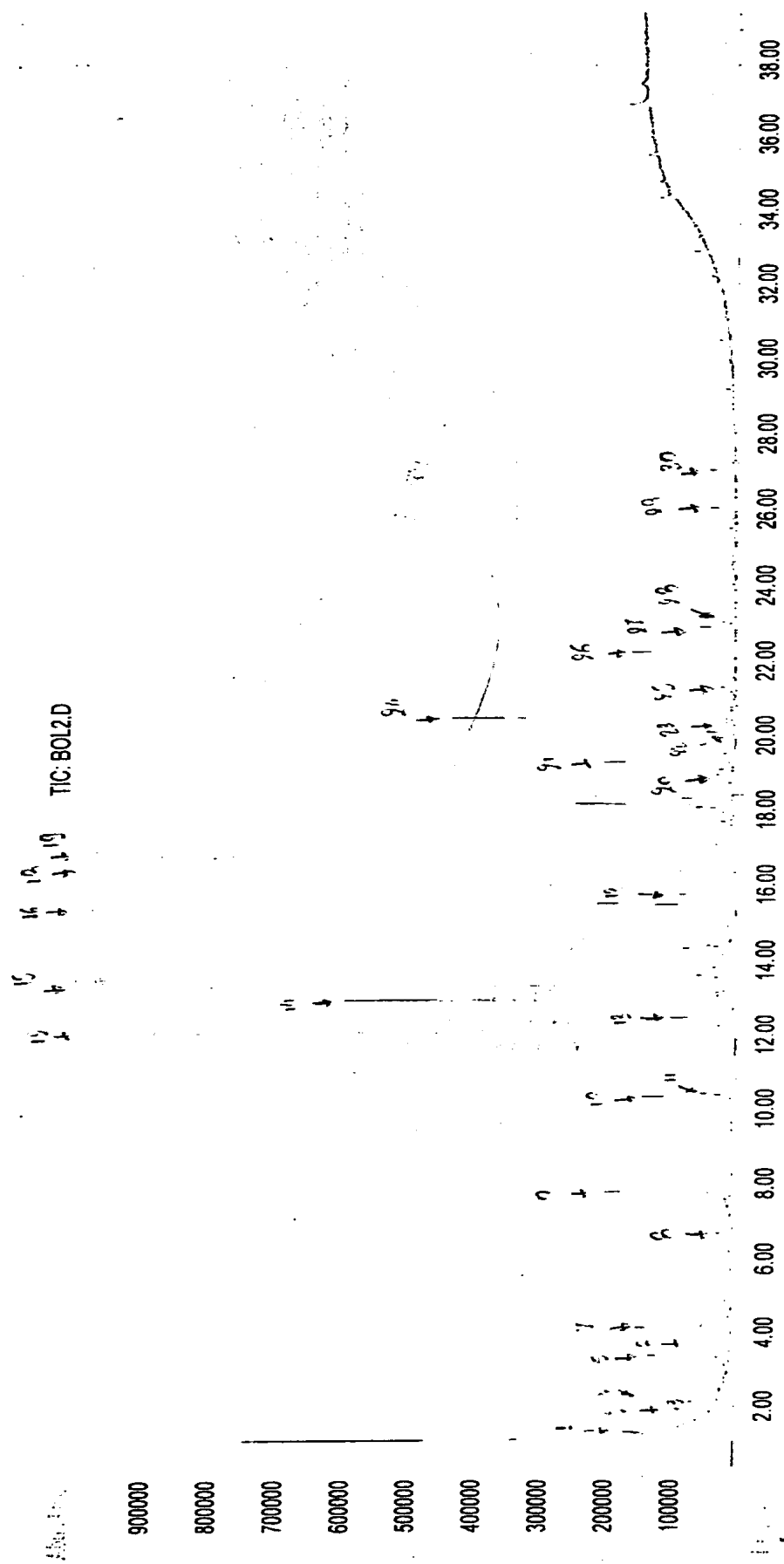
Τα στοιχεία που αφορούν στο είδος *Boletus aureus*, το οποίο αποτελεί και αντικείμενο της παρούσας διατριβής, αναφέρουν ότι ανιχνεύονται μόνο 2 πτητικές ενώσεις η 1-οκτεν-3-όλη και η (E)-2-οκτενόλη. Με τις σύγχρονες τεχνικές κατέστη δυνατή η ταυτοποίηση 27 πτητικών ενώσεων (Πίνακας 10) με σημαντικότερη σε ποσοστό επίσης την 1-οκτεν-3-όλη αλλά σε χαμηλότερα επίπεδα, της τάξης του 56,01% έναντι 75%. Για τα υπόλοιπα δύο (2) είδη το σύνολο των ταυτοποιημένων πτητικών ενώσεων όπως φαίνεται και από τα χρωματογραφήματα τους ανέρχεται σε 30 και 25 αντιστοίχως.



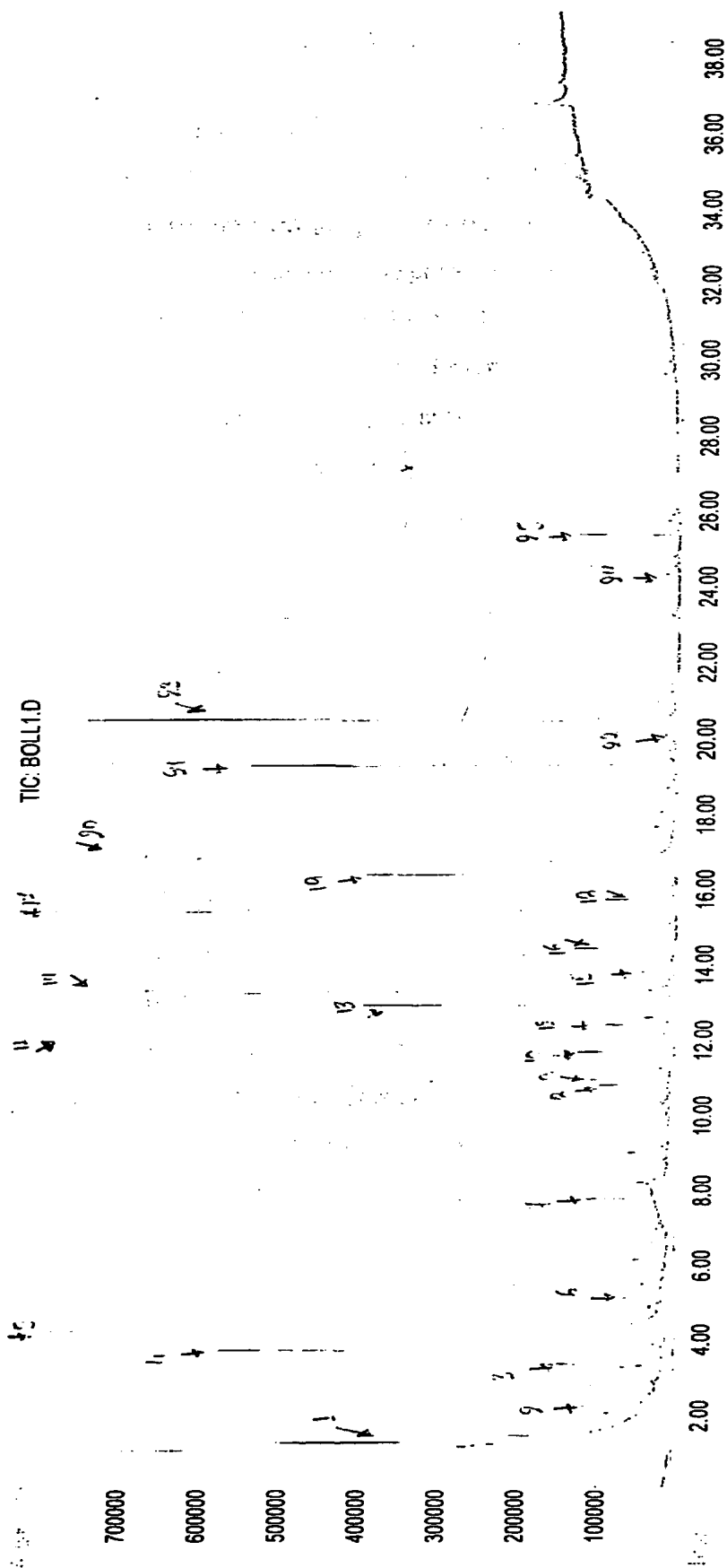
Χρωματογράφημα 6. Είδος *Boletus aureus*



Χρωματογράφημα 7. Είδος *Boletus edulis*



Χρωματογράφημα 8. Είδος *Boletus luridiformis*



Αλλά και η 2-οκτέν-1-όλη βρίσκεται σε όλα τα είδη σε πολύ μικρότερο ποσοστό, που κυμαίνεται από 0,83% για το είδος *Boletus edulis* έως 2,09% για το είδος *Boletus luridiformis*. Οι ενώσεις που φαίνεται ότι παίζουν καταλυτικό ρόλο στην διαμόρφωση του αρωματικού χαρακτήρα των φρέσκων καρποσωμάτων *Boletus edulis* είναι οι ενώσεις 3-οκτανόνη (5,92%), οκτανάλη (1,41%), 1-οκτέν-3-όνη (15,58%), 3-οκτανόλη (10,68%), 2-οκτενάλη (7,52%), 1-οκτέν-3-όλη (52,13%), ενώ ανιχνεύθηκαν και ταυτοποιήθηκαν μόνο σ' αυτό συγκριτικά με τα υπόλοιπα είδη οι ενώσεις λιναλοόλη, δεκανόλη και ενδεκανάλη. Η ενδεκανάλη ($C_{11}H_{22}O$) είναι άχρωμο υγρό με χαρακτηριστική γλυκιά φρουτώδη οσμή, ενώ η δεκανόλη ($C_{10}H_{22}O$) έχει άρωμα που προσομοιάζει με αυτό των λουλουδιών και του κεριού (JEFCA, 2002). Επίσης, η λιναλοόλη με το ιδιαίτερο άρωμα κρίνου που τη διακρίνει, αποτελεί βασικό συστατικό του αρώματος του βασιλικού, του περγαμόντο και του κοριάνδρου (*Coriandrum sativum*) (Fisher & Scott, 1997).

Αντίθετα, τα αποξηραμένα καρποσώματα του είδους διαθέτουν ενισχυμένο αρωματικό χαρακτήρα με την μελέτη του Thomas, (1973), να ανιχνεύει και να ταυτοποιεί 132 ενώσεις (Πίνακας 11). Φαίνεται από την ανίχνευση τόσο μεγάλου αριθμού ενώσεων ότι η διαδικασία της ξήρανσης ευνοεί το σχηματισμό και την παραγωγή ουσιών σε υψηλότερη κατάσταση οξειδωσης όπως οι πυραζίνες και οι πυρόλες. Μάλιστα, βάσει πειραματικών και βιβλιογραφικών δεδομένων υψηλό ποσοστό πυραζινών παρατηρείται μόνο στα ψημένα ή αποξηραμένα προϊόντα τροφίμων. Επίσης, η παρουσία φθαλικών ενώσεων (113,118,131) προήλθε πιθανόν από τις πλαστικές σακούλες στις οποίες φυλασσόταν τα δείγματα πριν την ανάλυση, ενώ οι υδρογονάνθρακες (85,130) πολύ πιθανόν από την ατμοσφαιρική ρύπανση της περιοχής συλλογής των καρποσωμάτων. Τέλος, η ένωση α-χλωροκρεσόλη, ένα παράγωγο του χλωρίου που κανονικά δεν αναμένεται να βρεθεί σε μανιτάρια, ανιχνεύθηκε διότι είναι γνωστό ότι αποτελεί βασικό συστατικό των μανιταριών που προέρχονται από το Μεξικό και αποτέλεσαν την πρώτη ύλη της μελέτης (Thomas, 1973).



Πίνακας 11. Σύσταση πτητικών αποξηραμένων *Boletus edulis* (Thomas, 1973)

1. Hexanal	25. 3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	50. 3-Methylbutyric acid	100. Octanoic acid
2. 3-Hexanol		51. 3-Decen-2-one	101. Eugenol
3. 2-Hexanol	26. Isomer of 25	52. 2-Undecanone	104. 2-Formyl-1-heptylpyrrole
6. 2-Heptanone	27. 1-Octen-3-ol	56. α -Terpineol	105. Nerolidol (?)
7. 2-Methyltetrahydrofuran-3-one	28. Tetramethylpyrazine	57. Pentanoic acid	111. Nonanoic acid
8. Methylpyrazine	30. 5-Methylfurfural	59. A 2-formyldimethylthiophene	113. Dimethyl phthalate
9. 1-Hexanol	31. Butyrolactone	65. 2-Formyl-1-(3-methylbutyl)pyrrole	115. <i>p</i> -Vinylphenol
12. 2,5-Dimethylpyrazine	32. 4-Hydroxypentanoic acid lactone	70. Heptanoic acid	116. Decanoic acid
13. 2,6-Dimethylpyrazine	33. 2-Methylbutyrolactone	72. Isomer of 70	118. Diethyl phthalate
14. 2,3-Dimethylpyrazine	34. 2-Ethyl-3,5,6-trimethylpyrazine	73. A methylbutyl acetamide	121. <i>A</i> chlorocresol
15. Dimethyl trisulfide	35. Thiobutyrolactone	75. 2-Acetylpyrrole	122. Vanillin
16. Furfural	37. 1-Ethyl-2-formylpyrrole	79. 2-Formylpyrrole	123. Phenylacetic acid
17. 2-Ethyl-5-methylpyrazine	38. 2-Decanone	80. 2(?)-Methylouinazoline	124. 2-Formyl-1-(2-phenylethyl)pyrrole
18. Isomer of 17	39. Tritriolol (2,5-dimethyl-1,3,4-trithiacyclopentane) + 2-acetyl-5-methylfuran	82. Phenol	125. 2-Formyl-5-methyl-1-(2-phenylethyl)pyrrole
19. 2,3,6-Trimethylpyrazine + ? 3-methylcyclohex-5-enone	42. Furfurylmethanol	84. α (?)-Cresol	127. Hydrocinnamic acid
22. 3-Octen-2-one	43. 2-Formylthiophene	85. Biphenyl	130. Anthracene or phenanthrene
23. 2-Acetylfuran		86. 2-Propionylpyrrole	131. Dibutyl phthalate
24. Benzaldehyde + isomer of 25		87. 1-Undecanol (?)	132. Cinnamic acid
		92. 2-Formyl-5-methylpyrrole	

Σημαντική συνεισφορά στον αρωματικό χαρακτήρα του είδους *Boletus luridiformis* εκτός από τις ενώσεις με 8 άτομα άνθρακα και χαρακτηριστική οσμή μανιταριού, παίζει και η ένωση 3-κυκλοεπέν-1-όνη με 32,90% επί της συνολικής συγκέντρωσης των αρωματικών συστατικών, όταν ανιχνεύεται μόνο στο είδος *Boletus aureus* και η συγκέντρωση της σ' αυτό δεν ξεπερνά το 0,6% επί του συνόλου των πτητικών ενώσεων. Επίσης, στο είδος *Boletus luridiformis* η συγκέντρωση της ένωσης 1,3-οκταδιένιο είναι κατά 28,2% μεγαλύτερη της αντίστοιχης συγκέντρωσης στο είδος *Boletus edulis*, ενώ στο *Boletus aureus* η ένωση δεν ανιχνεύεται καθόλου. Το συστατικό αυτό ανακαλύφθηκε αρχικά ότι αποτελεί βασική ένωση του αρώματος των βασιδιομυκήτων το 1998, όταν προσδιορίστηκε σε 17 διαφορετικά είδη Βασιδιομυκήτων (Breheret et al., 1998). Τόσο το (E)-1,3-οκταδιένιο που ανιχνεύθηκε στα δείγματα της παρούσας μελέτης, όσο και το ισομερές του (Z)-1,3-οκταδιένιο, παράγονται από τους μύκητες του γένους *Penicillium sp.* (Larsen & Frisvad, 1995). Τα ισομερή αυτά φαίνεται ότι παίζουν ουσιαστικό ρόλο στην φρουτώδη οσμή που αναδύεται από τα εδώδιμα καρποσώματα των ειδών *Cantharellus cibarius* και *Hydnum repandum* (Breheret et al., 1998).



Παράλληλα, στο είδος *Boletus luridiformis* καταγράφεται μοναδικά ανάμεσα στα 3 είδη η παρουσία 9 ενώσεων, δύο αλκοολών (εξανόλη και 3-μέθυλ-1-βουτανόλη), τεσσάρων αλδεϋδών (2-μέθυλ-προπανάλη, 2-εξενάλη, 2-επτενάλη και α-αιθύλ-βενζενακεταλδεϋδη), δύο εστέρων (αιθυλεστέρας του δωδεκανοϊκού οξέος και πεντυλεστέρας του προπανοϊκού οξέος) και ενός υδρογονάνθρακα του 1-αιθύλ-2-μέθυλ-κυκλοπεντανίου. Η 2-μέθυλ προπανάλη διαθέτει χαρακτηριστική οσμή, γρασιδιού, βοτάνων και φρούτων, ανιχνεύεται ως αρωματικό συστατικό στα τυριά (Zehentbauer and Reineccius, 2002; Qian and Reineccius, 2003) και απαντά σε πολλά είδη φυτών που ανήκουν στην οικογένεια *Rosaceae* όπως τα *Crataegus monogyna*, *Prunus armeniaca*, *Prunus avium*, *Prunus domestica*, *Prunus persica*, *Pyrus communis* και *Rubus idaeus* (Adedeji et al., 1991) και η α-αιθύλ-βενζενακεταλδεϋδη ($C_{10}H_{10}O$) έχει χαρακτηριστικό άρωμα γρασιδιού και ξύλου (JEFCA, 2002).

Ο αιθυλεστέρας του δωδεκανοϊκού οξέος ή Ethyl laurate ($C_{14}H_{28}O_2$) είναι άχρωμο λιπαρό υγρό, αδιάλυτο στο νερό με άρωμα φρούτων και λουλουδιών (JEFCA, 2002). Ανιχνεύεται ως πτητικό συστατικό στο χυμό του μήλου, στη μπύρα, στο μπράντυ, στο ουίσκι, στα λευκά κρασιά, στο ρούμι, στο ψωμί, στα σταφύλια, στις φράουλες, στα αγγούρια, στην καρύδα, στις πιπεριές, στο τυρί και στο χοιρινό κρέας, ενώ χρησιμοποιείται ως πρόσθετη αρωματική ύλη σε πληθώρα προϊόντων τροφίμων και καλλυντικών σκευασμάτων (Mosciano, 1995). Ομοίως ο πεντυλεστέρας του προπανοϊκού οξέος ή Amyl propionate ($C_8H_{16}O_2$), που διαθέτει οσμή που προσομοιάζει με αυτή του ανανά και του βερίκοκου, αποτελεί βασικό πτητικό αρωματικό συστατικό του πεπονιού και πολλών αιθέριων ελαίων φρούτων (Adams, 1995; Beaulieu & Grimm, 2001).

Στο είδος *Cantharellus cibarius* βάσει της αεριοχρωματογραφικής ανάλυσης, ανιχνεύθηκαν και ταυτοποιήθηκαν 32 πτητικές ενώσεις (Χρωματογράφημα 9 & Πίνακας 12), μεταξύ των οποίων 6 αλκοόλες, 14 αλδεϋδες, 5 κετόνες, 1 εστέρας, 4 τερπένια, 1 ιονόνη και 1 υδρογονάνθρακας.



Πίνακας 12. % σύσταση πτητικών ενώσεων του είδους *Cantharellus cibarius*

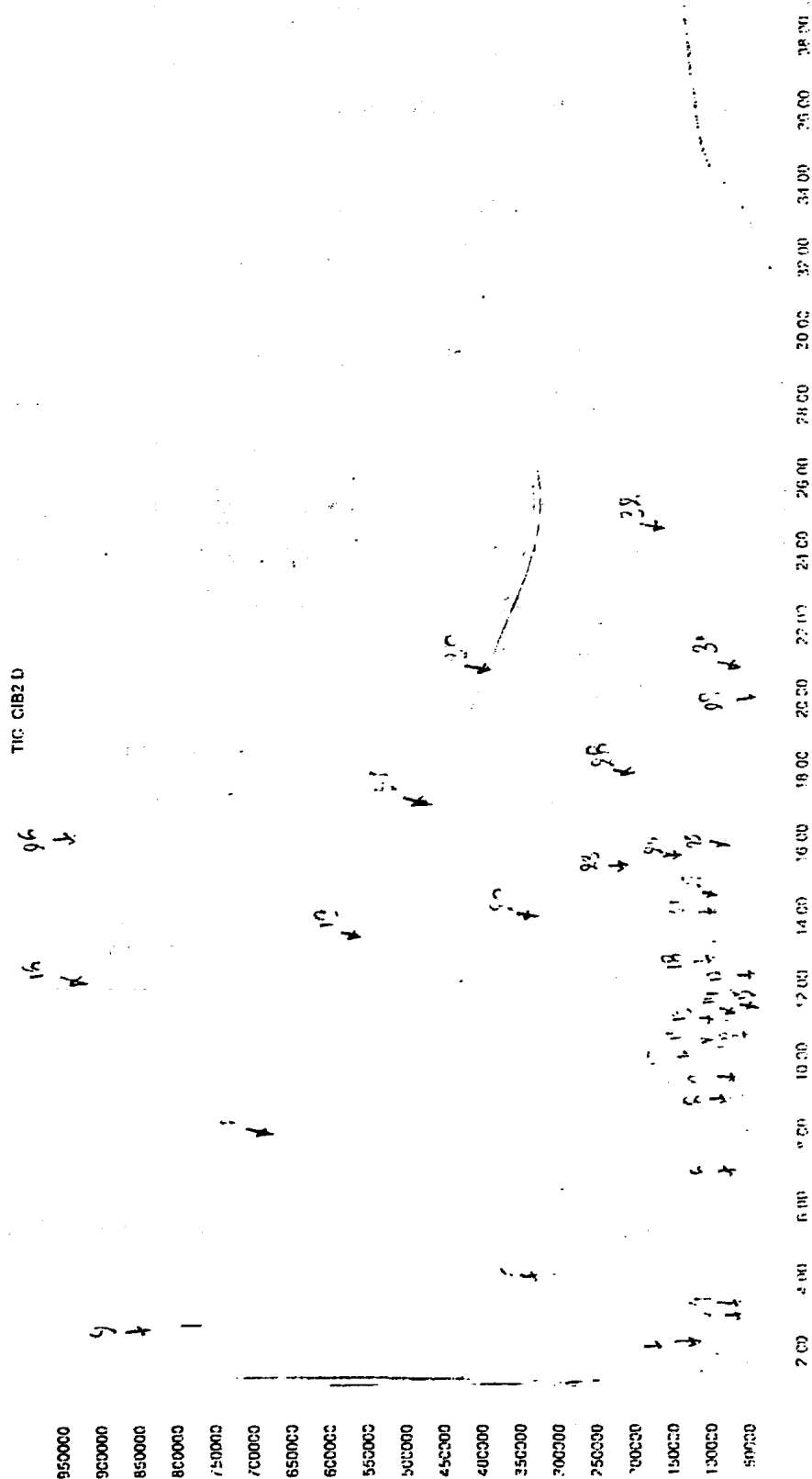
Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %	Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %
5,57	882	2- οκτένιο	0,28	12,45	1294	p-κουμόλιο	0,31
7,74	901	Βουτανάλη	7,40	12,93	1314	Οκτανάλη	0,42
13,30	928	2- μέθυλ- βουτανάλη	0,14	13,24	1326	1-οκτέν-3- όνη	6,26
14,40	933	3- μέθυλ- βουτανάλη	0,37	13,80	1350	Trans-2- επτανάλη	1,59
18,84	1003	Πεντανάλη	1,77	14,13	1363	6-μέθυλ-5- επτεν-2- όνη	0,35
19,10	1079	Trans-2- εξανάλη	0,27	14,41	1375	1- εξανόλη	0,48
19,78	1102	Εξανάλη	21,53	15,40	1416	3- οκτανόλη	0,96
19,19	1159	Ο- ξυλένιο	0,14	15,49	1419	Νονανάλη	0,14
19,52	1172	1- Βουτανόλη	0,14	15,86	1435	3-οκτεν-2- όνη	0,37
20,40	1207	Επτανάλη	0,51	16,40	1457	2- οκτενάλη	5,30
20,42	1208	Μεθυλεστέρας του εξανοϊκού οξέος	0,38	16,85	1473	1- οκτέν-3- όλη	37,81
20,60	1216	Λεμονένιο	0,59	18,72	1557	Βενζαλδεΐδη	0,14
20,93	1230	2- μεθύλ-1- βουτανόλη	0,21	20,10	1621	2,4,- οκταδιενάλη (E,E)	0,14
21,15	1239	3- εξέν-2- ονη	0,37	20,49	1643	2- οκτέν-1- όλη	4,57
21,22	1242	Trans 2- εξενάλη	0,37	20,72	1655	β- κυκλοκιτράλη	0,24
22,07	1278	3- οκτανόνη	5,99	25,80	>2000	β- ιονόνη	0,20

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι την μεγαλύτερη συνεισφορά στο αρωματικό προφίλ έχουν η αλκοόλη 1-οκτεν-3-όλη με ποσοστό 37,81%, οι αλδεΐδες βουτανάλη (7,40%), πεντανάλη (1,77%), εξανάλη (21,53%), trans-2-επτανάλη (1,59%), και 2-οκτενάλη (5,30%), καθώς και οι κετόνες 3-οκτανόνη (5,99) και 1-οκτεν-3-όνη (6,26%).

Η βουτανάλη, όπως και η εξανάλη έχει έντονο άρωμα γρασιδιού, είναι άχρωμο, εύφλεκτο υγρό και μπορεί να αναμειχθεί με την πλειοψηφία των οργανικών διαλυτών. Παράγεται δε μέσω της καταλυτικής αφυδρογόνωσης της 1-βουτανόλης (Rychlik et al., 1998).



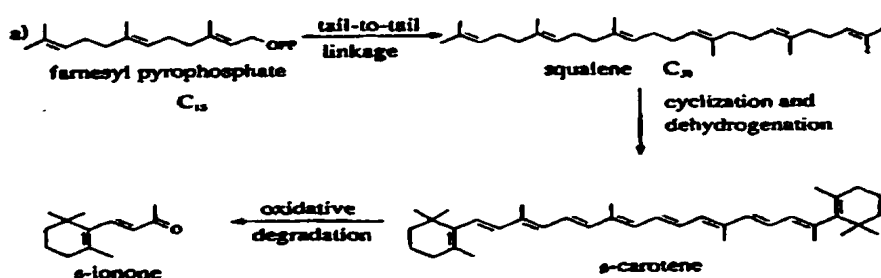
Χρωματογράφημα 9. Είδος *Cantharellus cibarius*



Ωστόσο όπως παρατηρείται, στο είδος *Cantharellus cibarius* ανιχνεύονται για πρώτη φορά σε σχέση με τα είδη που ήδη έχουν μέχρι στιγμής αναφερθεί οι ενώσεις β-ιονόνη, β-κυκλοκιτράλη, 6-μέθυλ-5-επτεν-2-όνη και μεθυλεστέρας του εξανοϊκού οξέος.

Οι τρεις πρώτες ενώσεις σε συνδυασμό με το λεμονένιο που επίσης ανιχνεύθηκε στα καρποσώματα των μανιταριών του παραπάνω είδους και την μενθόνη, αποτελούν τα πτητικά συστατικά κλειδιά για την ποιοτική ταξινόμηση των καλλιεργούμενων βερίκοκων ως προς τον αρωματικό τους χαρακτήρα (Guillot et al., 2006).

Η β-ιονόνη είναι άχρωμη, διαλυτή σε αλκοολικά διαλύματα, αδιάλυτη στο νερό με χαρακτηριστική οσμή ξύλου (JECFA, 2005). Σχηματίζεται μέσω της αποικοδόμησης του β-καροτενίου (Σχήμα 2). Αρχικά 2 μόρια της ένωσης πυροφωσφορικού φαρνεζυλίου (farnesyl pyrophosphate) ενώνονται σχηματίζοντας το τερπένιο σκουαλένιο με 30 άτομα C, το οποίο στη συνέχεια με υδρογόνωση μετατρέπεται σε β-καροτένιο που οξειδώνεται στην ένωση β-ιονόνη (Ashurst, 1999). Οι λόγοι για τους οποίους τα ανώτερα φυτά μεταβολίζουν τα ανώτερα τερπένια όπως το β-καροτένιο δεν είναι γνωστοί. Πιθανόν η οξειδωτική αποικοδόμηση του β-καροτενίου να συμβαίνει ως μέρος της διαδικασίας ωρίμανσης των φυτών, ή μετά τη συγκομιδή κατά την αποθήκευση (Ashurst, 1999).



Σχήμα 2. Σχηματισμός β-ιονόνης μέσω οξείδωσης του β-καροτενίου

Αντίστοιχα, η ένωση β-κυκλοκιτράλη (β-cyclocitral), που διακρίνεται για τη φρουτώδη οσμή της που προσομοιάζει αρκετά με το άρωμα των εσπεριδοειδών προκύπτει επίσης από τη θερμοοξείδωση, φωτοοξείδωση ή την ενζυματική αποικοδόμηση του β-καροτενίου, του κυριότερου χρωστικού καροτενοειδούς των βερίκοκων (Kanasawud & Crouzet, 1990a ; Gloria et al., 1993). Όμως και η 6-μέθυλ-5-επτεν-2-όνη

με το χαρακτηριστικό άρωμα λουλουδιών είναι αποτέλεσμα της αποικοδόμησης του λυκοπενίου (Kanasawud & Crouzet, 1990b; Waché et al., 2002). Και οι δύο αυτές ενώσεις όπως και η β-ιονόνη είναι μάλλον αποτέλεσμα ενζυματικών ή φωτοχημικών αντιδράσεων κατά τις διαδικασίες ωρίμανσης των καρποσωμάτων των μανιταριών. Επίσης, ο μεθυλεστέρας του εξανοϊκού οξέος έχει άρωμα ανανά, και προσδιορίζεται στα μήλα της ποικιλίας Golden delicious (Fisher & Scott, 1997). Τέλος, σε πολύ μικρή επίσης συγκέντρωση, της τάξης μόλις του 0,14% καταγράφεται και η παρουσία του τερπενίου ο-ξυλόλιο, το οποίο αποτελεί χαρακτηριστικό πτητικό αρωματικό του γεράνιου (Majcher & Jelen, 2005).

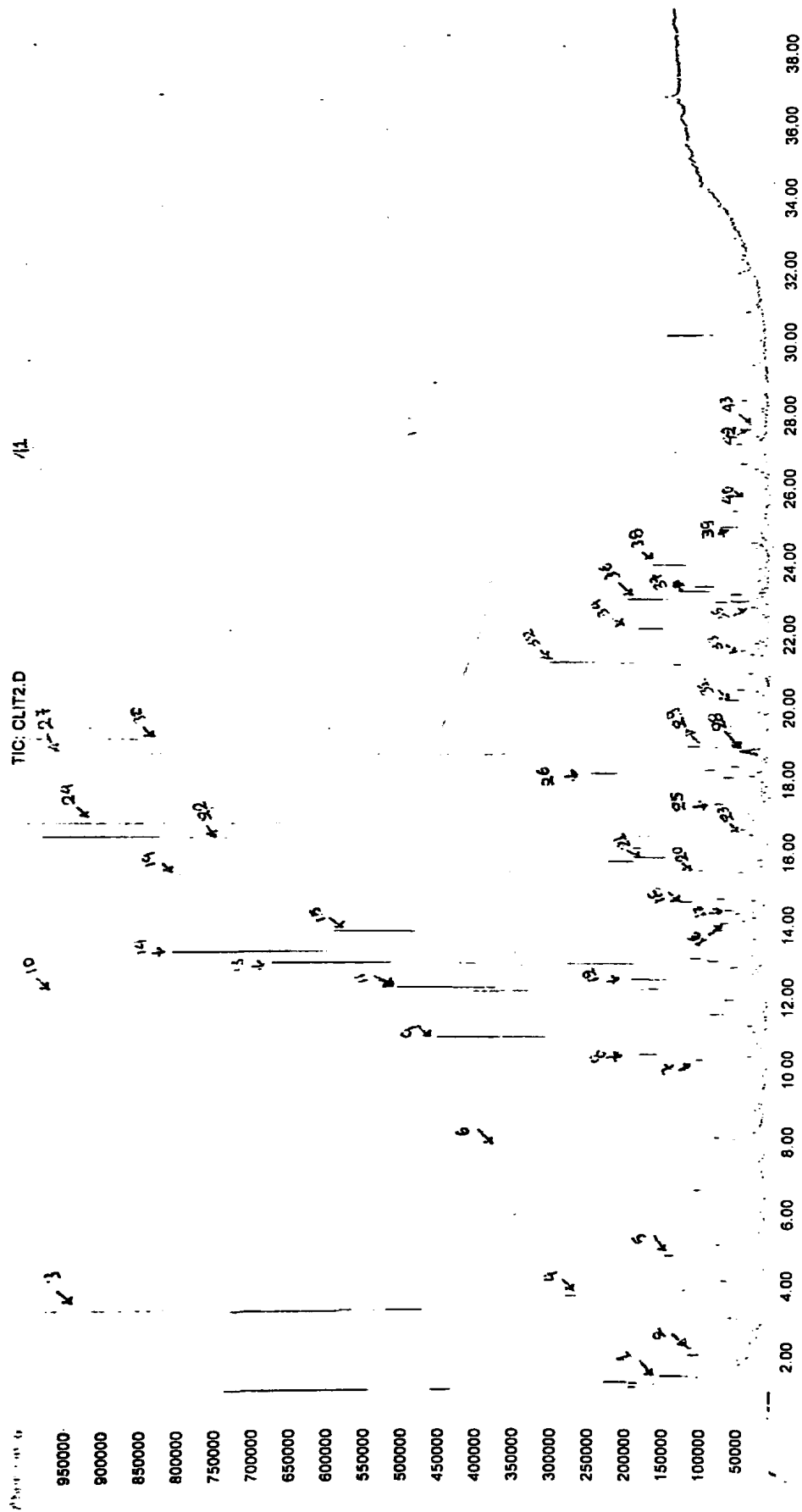
Καθοριστικά διακριτικά αρώματα έχουν κατά καιρούς χρησιμοποιηθεί ως παράγοντες ταξινομικής αναγνώρισης μανιταριών κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ταυτοποίησης τους (Besset et al., 1997). Επίσης, ενώσεις κλειδιά που ευθύνονται άμεσα και κατ' αποκλειστικότητα για το άρωμα των καρποσωμάτων έχουν ανιχνευθεί και προσδιορίζονται σε αρκετά είδη, όπως χαρακτηριστικά αναφέρθηκε στον πίνακα 4 της παρούσας διατριβής. Το άρωμα αυτών των πτητικών συστατικών έχει χαρακτηριστεί ως γήινο ή μανιταριού (Breheret et al., 1999), ως σκόρδου-θείου (Raprior et al., 1997a), ως βερίκοκου (Wood et al., 1994), ως έχων οσμή ζαχαρωτού-καραμέλας (Largent et al., 1990), αλλά και ως γλυκάνισου και αμύγδαλου (Chen & Wu., 1984; Wood et al., 1990; Raprior et al., 2000b).

Η ιδιαίτερη οσμή γλυκάνισου έχει αναφερθεί ότι αναδύεται από αρκετά είδη καρποσωμάτων όπως τα *Agaricus arvensis*, *Agaricus essettei*, *Clitocybe odora*, *Clitocybe suaveolens*, *Hydnellum suaveolens*, και *Lentinellus cochleatus* (Raprior et al., 2002). Η κουμαρίνη και η ανισαλδεΐδη φαίνεται ότι είναι υπεύθυνες για το χαρακτηριστικό άρωμα του είδους *Hydnellum suaveolens* (Wood et al., 1998), ενώ στα καρποσώματα των ειδών *Agaricus augustus* και *Gyrophagmium dunalii* φαίνεται ότι κυριαρχεί η μίξη των αρωμάτων του αμύγδαλου και του γλυκάνισου (Wood et al., 1990; Raprior et al., 2000b).

Αντίστοιχα αποτελέσματα φαίνεται ότι προκύπτουν και για το είδος *Clitocybe odora* που μελετήθηκε με την τεχνική της HS-SPME/GC-MS. Συνολικά, ανιχνεύθηκαν και ταυτοποιήθηκαν 43 πτητικά συστατικά (Χρωματογράφημα 10), με τα σημαντικότερα σε ποσοστό συγκέντρωσης τα: 3-οκτανόνη, ρ-ανισαλδεΐδη, βενζαλδεΐδη, 1-οκτεν-3-όλη, εξανάλη, 3-μέθυλ βουτανάλη, 3-οκτανόλη, 2-οκτενάλη και λιναλοόλη.

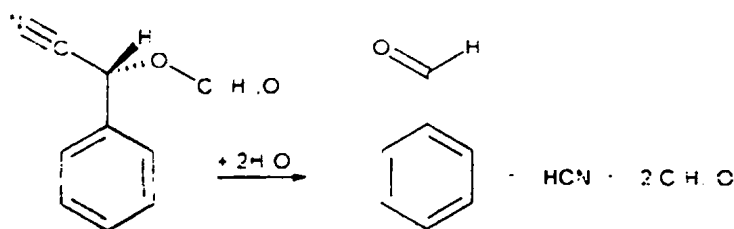


Χρωματογράφημα 10. Είδος *Clitocybe odora*



Η 3-οκτανόνη, η p-ανισαλδεΐδη και η βενζαλδεΐδη, βάσει των πειραματικών αποτελεσμάτων κατέχουν αθροιστικά ποσοστό 59,66% (Πίνακας 13). Η 4-μεθόξυβενζαλδεΐδη ($C_7H_6O_2$), γνωστή και ως p-ανισαλδεΐδη, αδιάλυτη στο νερό αλλά διαλυτή στους οργανικούς διαλύτες καθορίζει την οσμή του καρποσώματος, προσδίδοντας του χαρακτηριστικό άρωμα γλυκάνισου (Arctander, 1994), όπως χαρακτηριστικά αναφέρουν αρκετοί μυκητολόγοι, μελετητές του είδους (Lincoff, 1998, Courtecuisse, 1999). Η ένταση του αρώματος της p-ανισαλδεΐδης καλύπτει άλλα αρωματικά συστατικά που απαντώνται στα μανιτάρια, όπως την βενζαλδεΐδη και την 1-οκτεν-3-όλη, ενώ σε προηγούμενες μελέτες προσδιορίστηκε ότι αποτελεί το 20 % του συνόλου των πτητικών συστατικών που απομονώνονται από κατεψυγμένα καρποσώματα του είδους *Clitocybe odora* (Rapin et al., 2002). Οι αρύλο μεταβολίτες στους οποίους ανήκει και η p-ανισαλδεΐδη είναι γνωστό ότι παίζουν καθοριστικό ρόλο κατά τη διαδικασία αποικοδόμησης της λιγνίνης στους μύκητες που προκαλούν λευκή σήψη. Επιπρόσθετα είναι δεδομένο ότι πρόδρομες ενώσεις και αρωματικά οξέα (βενζοϊκό και 4-υδροξυβενζοϊκό οξύ) που αποτελούν προϊόντα αποικοδόμησης της λιγνίνης, προκαλούν την παραγωγή των αρύλο μεταβολιτών στους μύκητες του γένους *Bjerkandera* sp. Strain BOS55 (Mester et al., 1997).

Η βενζαλδεΐδη με τη σειρά της, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι άχρωμο υγρό με χαρακτηριστική οσμή αμυγδάλου. Είναι το πρωταρχικό και κυρίαρχο συστατικό του αρώματος του αιθέριου ελαίου των αμυγδάλων, που μπορεί όμως και να εξαχθεί από πλήθος άλλων φυσικών πηγών όπως τα βερίκοκα, τα κεράσια, τα φύλλα δάφνης και από τους σπόρους των ροδάκινων. Όλα τα παραπάνω προϊόντα περιέχουν σημαντικό ποσοστό αμυγδαλίνης, έναν γλυκοζίτη, ο οποίος διασπάται μέσω ενζύμων σε βενζαλδεΐδη, υδροκυάνιο και 2 μόρια γλυκόζης κατά την αντίδραση ((JECFA, 2005):



Η βενζαλδεΐδη χρησιμοποιείται είτε ως αρωματικό πρόσθετο, είτε για τη σύνθεση οργανικών προϊόντων όπως τα πρόσθετα των πλαστικών ή τις βαφές ανιλίνης. Ωστόσο, εκτός των δύο παραπάνω αλδεϋδών στο καρπόσωμα ανιχνεύθηκαν και οι ενώσεις 5-μέθυλ-2-φαινυλ-2-εξανάλη και 3-φαινυλ-2-προπενάλη, οι οποίες έχουν χαρακτηριστικό άρωμα κακάο και κανέλλας αντίστοιχα (JECFA, 2005).

Πίνακας 13. % σύσταση πτητικών ενώσεων του είδους *Clitocybe odora*

It	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %	Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %
115	759	Ακεταλδεΐδη	0,46	16,64	1467	Οξείδιο της λιναλοόλης	0,10
114	824	2- μέθυλ- προπανάλη	0,16	16,80	1473	1-οκτεν-3-όλη	6,28
130	928	2- μέθυλ- βουτανάλη	1,44	17,08	1485	3-μεθυλθειο- προπανάλη	0,14
130	933	3- μέθυλ- βουτανάλη	6,38	18,38	1542	3-νονεν-2-όνη	0,08
144	1003	Πεντανάλη	0,43	18,72	1557	Βενζαλδεΐδη	9,02
177	1102	Εξανάλη	8,15	18,93	1566	Cis-6-νονενάλη	0,23
1133	1205	2- Επτανόνη	0,12	19,09	1573	Λιναοόλη	2,01
1140	1207	Επτανάλη	0,34	19,30	1583	1-οκτανόλη	0,11
1160	1216	Λεμονένιο	0,06	20,21	1627	2-ενδεκανόνη	0,10
1191	1229	3-μέθυλ-1- βουτανόλη	0,79	21,16	1680	Φαινυλακεταλδεΐδη	0,28
1108	1278	3- Οκτανόνη	32,60	21,57	1701	Ισοβαλερικό οξύ	0,09
1145	1294	p- κουμόλιο	0,41	22,15	1736	2,4, Νοναδιενάλη	0,32
1181	1309	2- Οκτανόνη	0,10	22,97	1786	(E)-2-ενδεκα-1-άλη	0,32
1193	1314	Οκτανάλη	1,20	23,12	1795	a- σαμγκρένιο	0,10
1125	1326	1- οκτεν-3- όνη	1,53	23,33	1809	AR- κουρκουμένιο	0,10
1180	1350	Trans 2 Επτανάλη	1,16	23,92	1848	2-trans, 4 trans- δεκαδιενάλη	0,26
1113	1363	6- μέθυλ-5- επτεν-2-όνη	0,07	24,38	>2000	Εξανοϊκό οξύ	0,05
1134	1372	Ανιθόλη	0,11	25,73	>2000	2-φαινυλ-2- βουτενάλη	0,07
1142	1375	1-εξανόλη	0,12	27,04	>2000	p- ανισαλδεΐδη	18,04
1140	1416	3- οκτανόλη	4,40	27,21	>2000	3-φαινυλ-2- προπενάλη	0,07
1150	1419	Νονανάλη	0,27	27,61	>2000	5-μεθυλ-2-φαινυλ-2- εξανάλη	0,07
1140	1457	2- οκτενάλη	1,88				



Παρατηρείται ακόμη η παρουσία δυο οξέων του ισοβαλερικού και του εξανοϊκού οξέος. Τα οξέα εκτός από την όξινη γεύση που αφήνουν στο στόμα, συνεισφέρουν και στο αρωματικό προφίλ των τροφίμων που τα περιέχουν. Τα οξέα με 4 ή 6 άτομα C προσδίδουν το επιθυμητό άρωμα του βουτύρου στα τρόφιμα, ενώ το εξανοϊκό οξύ αποτελεί βασικό συστατικό του αρώματος του βατόμουρου. Επιπροσθέτως, το ισοβαλερικό οξύ, αν και ανιχνεύεται με τη μικρότερη συγκέντρωση μεταξύ των κορεσμένων λιπών θυμίζει άρωμα τυριού Limburger (Fisher & Scott, 1997).

Τέλος, σε ποσοστό της τάξης του 2,01% ανιχνεύθηκε στα καρποσώματα της *Clitocybe odora* και η ένωση λιναλοόλη. Η λιναλοόλη ή 3,7-διμέθυλοοκταν-1,6-διεν-3-όλη είναι μια φυσικά απαντώμενη τερπενική αλκοόλη, που βρίσκεται σε πληθώρα λουλουδιών και βοτάνων εμπορικά αξιοποιησίμων, η σπουδαιότητα των οποίων οφείλεται στο ιδιαίτερο άρωμα λουλουδιών με νότες μπαχαρικών που τα διακρίνει. Στη φύση πάνω από 200 είδη φυτών παράγουν λιναλοόλη που προέρχονται κυρίως από τις οικογένειες *Lamiaceae* (μαϊντανός, βασιλικός), *Lauraceae* (δάφνη, κανέλλα, δέντρα του γένους *dalbergia-rosewood*) και *Rutaceae* (εσπεριδοειδή). Λιναλοόλη ανιχνεύεται επίσης στις σημύδες (δέντρα του γένους *Betula*) καθώς και σε διάφορα είδη μακρομυκήτων (Casabianca et al., 1997).

Ως ένωση διαθέτει 2 στερεοϊσομερή: την λικαρεόλη (*licareol*) ή (S)-(+)-linalool με CAS No. 126-90-9 (PubChem 67179) και την κοριανδρόλη (*coriandrol*) ή (R)-(-)-linalool με CAS No. 126-91-0 (PubChem 13562). Και οι δύο μορφές εναντιομερών ανευρίσκονται στο φυσικό περιβάλλον. Η S-λιναλοόλη αποτελεί για παράδειγμα, το βασικό συστατικό του αιθέριου ελαίου των καρπών του κοριανδρου (*Coriandrum sativum* L. Οικογένεια: *Apiaceae*), της παλμαρόζας [*Cymbopogon martinii* var *martinii* (Roxb.) Wats., Οικογένεια: *Poaceae*], και των ανθέων του γλυκού πορτοκαλιού (*Citrus sinensis* Osbeck, Οικογένεια: *Rutaceae*). Αντίστοιχα, η R-λιναλοόλη είναι παρούσα στη λεβάντα (*Lavandula officinalis* Chaix, Οικογένεια: *Lamiaceae*), τη δάφνη (*Laurus nobilis*, Οικογένεια *Lauraceae*), και το γλυκό βασιλικό (*Ocimum basilicum*, Οικογένεια: *Lamiaceae*). Κάθε εναντιομερές διεγείρει διαφορετικά νευρικά κέντρα στους ανθρώπους, γι' αυτό και η οσφρητική εντύπωση τους διαφέρει σημαντικά. Η 3S-(+)-λιναλοόλη γίνεται αντιληπτή από τη γλυκιά οσμή λουλουδιών, ενώ η 3R-μορφή από τα ιδιαίτερο



κράμα αρωμάτων ξύλου και λεβάντας που αναδύει (Casabianca et al., 1997; Lewinshon et al., 2001).

Στα ανώτερα φυτά η λιναλοόλη, όπως και άλλα μονοτερπενοειδή, παράγονται από το πυροφοσφορικό ισοπεντύλιο (isopentenyl pyrophosphate) μέσω του ενδιάμεσου ισοπρενοειδούς πυροφωσφορικού γερανυλίου (geranyl pyrophosphate) και τη βοήθεια ενζύμων που καλούνται μονοτερπενικές συνθετάσες (monoterpene synthases). Μία από αυτές, η συνθετάση της λιναλοόλης {linalool synthase (LIS)} έχει προσδιοριστεί ότι παράγει την (S)-λιναλοόλη σε αρκετούς ιστούς λουλουδιών (Raguso & Pichersky, 1999).

Παράλληλα, το σύνολο των μελετών για τους δευτερογενείς μεταβολίτες των μακρομυκήτων συμπεριλαμβανομένου και του είδους *Fistulina hepatica*, είχαν στο παρελθόν εστιάσει το ενδιαφέρον τους στα ακετυλενικά συστατικά, πολλά εκ των οποίων εμφανίζουν αντιβακτηριακές δράσεις (Schwope et al., 2003). Περαιτέρω, οι πολυσακχαρίτες, η d-αραβιτόλη, τα αμινοξέα, η εργοστερόλη και οι υδρογονάνθρακες του είδους αυτού έχουν κατά καιρούς μελετηθεί διεξοδικά (Casalicchio et al., 1975; Nano et al., 2002).

Επίσης, μια μελέτη των πτητικών συστατικών των καρποσωμάτων του είδους (Wu et al., 2005), έδειξε ότι είναι δυνατή η ανίχνευση 48 πτητικών ενώσεων μεταξύ των οποίων συγκαταλλέγονται η 1-οκτέν-3-όνη, η 1-οκτέν-3-όλη, η λιναλοόλη, η φαινύλακεταλδεΐδη, το βουτανοϊκό οξύ, το E-2-μέθυλ-2-βουτενοϊκό οξύ, ο μεθυλεστέρας του (Z)-9-δεκαεξανοϊκού οξέος, το τερπένιο Bisabolol oxide B και το φαινυλοξικό οξύ (phenylacetic acid).

Ωστόσο, στην παρούσα διατριβή με τη χρησιμοποιούμενη τεχνική της HS-SPME /GC-MS, κατέστη δυνατή η ταυτοποίηση 21 πτητικών συστατικών (Πίνακας 14), πολλά εκ των οποίων δεν είχαν προηγουμένως ανιχνευθεί στο συγκεκριμένο είδος μακρομύκητα. Οι ενώσεις με τη σημαντικότερη συνεισφορά στον αρωματικό χαρακτήρα του καρποσώματος που εμφανίζουν και την μεγαλύτερη % συγκέντρωση είναι 3-μέθυλ-1-βυτανόλη, η 2-μέθυλ-βουτανάλη, η 3-μέθυλ-βουτανάλη, η 2-μέθυλ-1-προπανόλη, η 2-μέθυλ-προπανάλη, η αιθανόλη, η ακεταλδεΐδη, ο 2-μεθύλ-αιθυλεστέρας του προπανοϊκού οξέος, ο αιθυλεστέρας του βουτανοϊκού οξέος, η Υακινθίνη και η α-αιθύλ-βενζενακατελαδεΐδη.



Το σημαντικότερο ίσως στοιχείο που παρατηρείται από την ανάλυση των δειγμάτων της *Fistulina hepatica* και την αξιολόγηση των πειραματικών δεδομένων. σε σύγκριση με τα μέχρι στιγμής αναλυόμενα είδη, είναι η παρουσία μόνο δύο ενώσεων με 8 άτομα άνθρακα και χαρακτηριστική οσμή μανιταριού, της 3-οκτανόνης και της 3-οκτανόλης, με συνολική συγκέντρωση της τάξης μόλις του 0,65% επί του συνόλου των πτητικών συστατικών. Το ποσοστό αυτό θεωρείται αμελητέο αν αξιολογηθεί και συγκριθεί με τον συνολικό αριθμό των ταυτοποιημένων ενώσεων της ίδιας κατηγορίας και την % συγκέντρωσή τους στα προηγούμενα είδη.

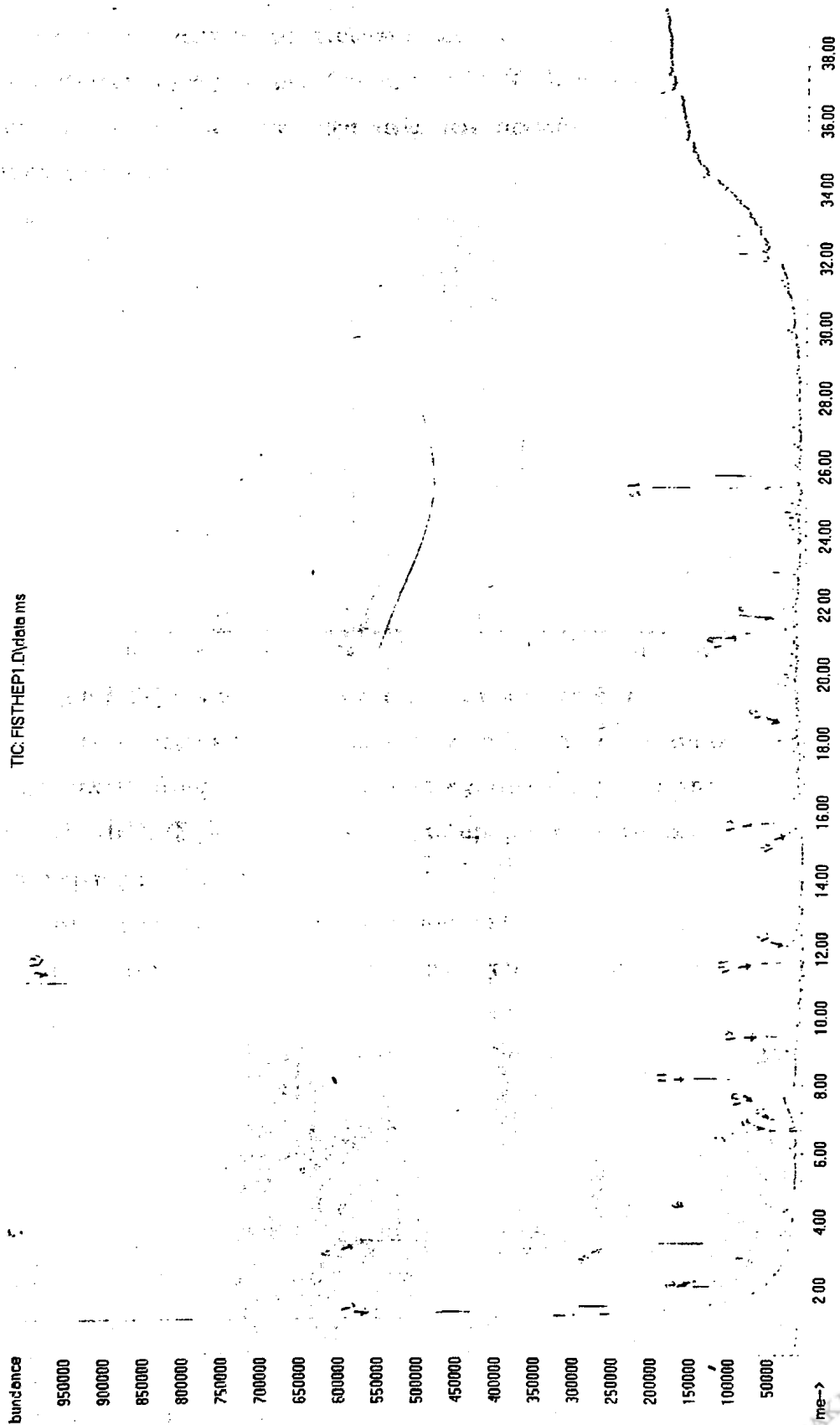
Πίνακας 14. % σύσταση πτητικών ενώσεων του είδους *Fistulina hepatica*

Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %
1,45	759	Ακεταλδεΐδη	12,53
2,04	824	2-μέθυλ-προπανάλη	2,29
3,30	928	2-μέθυλ-βουτανάλη	4,39
3,40	933	3-μέθυλ-βουτανάλη	11,11
3,69	947	Αιθανόλη	34,73
4,49	987	2-μεθυλ αιθυλεστέρας προπανοϊκού οξέος	2,83
6,59	1062	Αιθυλεστέρας βουτανοϊκού οξέος	1,80
6,66	1064	2-βουτενάλη	0,68
7,00	1077	2-μεθυλ αιθυλεστέρας βουτανοϊκού οξέος	0,50
7,43	1090	3-μέθυλ αιθυλεστέρας βουτανοϊκού οξέος	0,81
8,18	1118	2-μέθυλ-1-προπανόλη	2,14
9,45	1169	Βουτανόλη	0,63
10,91	1229	3-μέθυλ-1-βουτανόλη	18,38
11,57	1257	Αιθυλεστέρας εξανοϊκού οξέος	0,78
12,08	1278	3-οκτανόνη	0,31
15,40	1416	3-οκτανόλη	0,34
15,65	1426	2-βουτόξυ αιθανόλη	0,93
18,72	1557	Βενζαλδεΐδη	0,32
21,14	1678	Υακινθίνη	2,10
21,58	1701	Ισοβαλερικό οξύ	0,81
25,72	>2000	α-αιθύλ βενζενακεταλδεΐδη	1,58

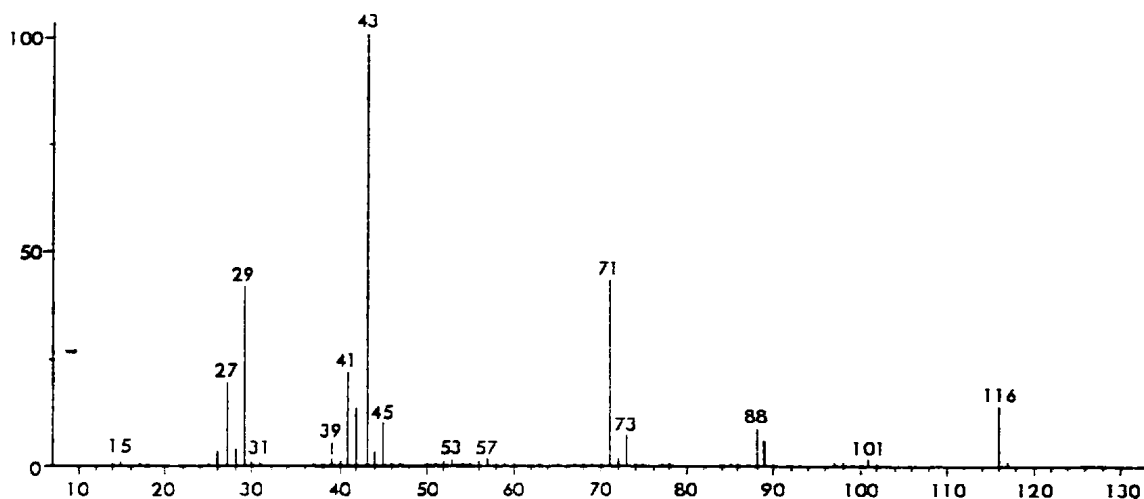
Μεταξύ των αναλυόμενων πτητικών συστατικών παρατηρείται στο χρωματογράφημα (Χρωματογράφημα 11) η παρουσία 5 εστέρων (6,7,9,10,14), του 2-μεθυλ-αιθυλεστέρα του προπανοϊκού οξέος, του αιθυλεστέρα του βουτανοϊκού οξέος, του 2-μεθυλ-αιθυλεστέρα του βουτανοϊκού οξέος, του 3-μέθυλ -αιθυλεστέρα του βουτανοϊκού οξέος και του αιθυλεστέρα του εξανοϊκού οξέος, οι οποίοι ανιχνεύονται για πρώτη φορά στα καρποσώματα του συγκεκριμένου είδους.



Χρωματογράφημα 11. Είδος *Fistulina hepatica*



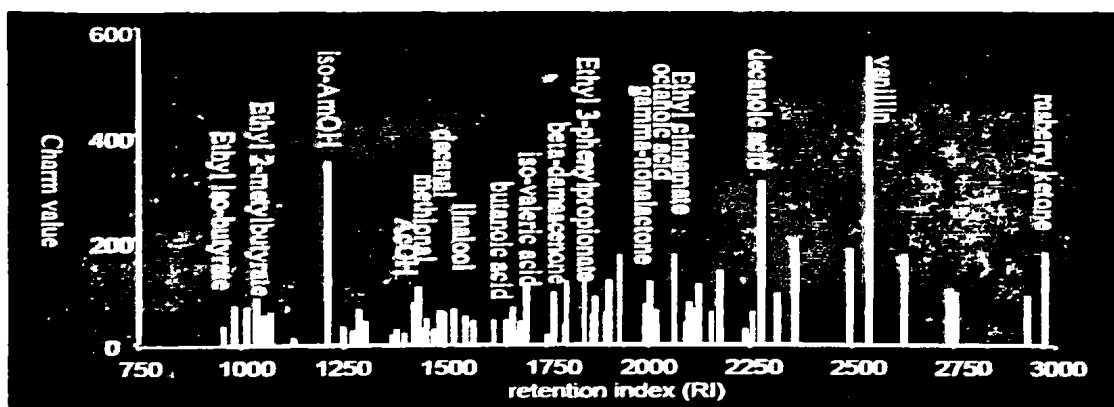
Ο 2-μεθυλ-αιθυλεστέρας του προπανοϊκού οξέος ή ethyl isobutyrate (Σχήμα 3), είναι άχρωμο υδατοδιαλυτό υγρό με σημείο ζέσεως τους 111°C. Χρησιμοποιείται για την σύνθεση οργανικών μορίων και στην βιομηχανία των αρωμάτων, ενώ μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως διαλύτης.



Σχήμα 3. Φάσμα μαζών αίθυλο-ισοβουτυρικού εστέρα

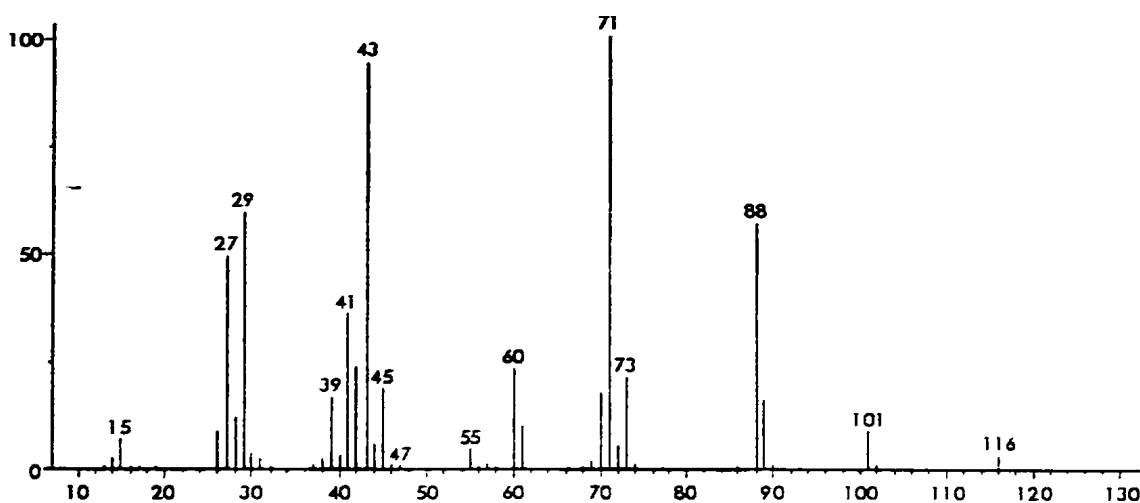
Διαθέτει φρουτώδη οσμή και ανιχνεύεται στα αλκοολικά αποστάγματα όπως για παράδειγμα τα malt ούισκι, όπως δείχνει ένα τυπικό αρωματικό διάγραμμα, της μελέτης των Wanikawa et al., 2002, (Σχήμα 4) σχετικά με τα αρωματικά συστατικά στα malt ούισκι με την προσθήκη ζύμης ζυθοποιίας.

Οι ενώσεις στο διάγραμμα αυτό έχουν ταυτοποιηθεί βάσει των φασμάτων μαζών και του χρόνου κατακράτησης, ενώ τα retention index έχουν υπολογιστεί με βάση το χρόνο κατακράτησης των n-παραφινών που χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπα



Σχήμα 4. Τυπικό διάγραμμα αρωμάτων στα malt ούισκι

Αντίστοιχα, ο αιθυλεστέρας του βουτανοϊκού οξέος, γνωστός και ως ethyl butyrate (Σχήμα 5), είναι ένας εστέρας με χημικό τύπο $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, είναι διαλυτός στην προπυλενο γλυκόλη (propylene glycol), στο έλαιο παραφίνης (paraffin oil) και στην κηροζίνη (kerosene). Χρησιμοποιείται ως πρόσθετο αρωματικό σε αλκοολούχα ποτά όπως το μαρτίνι ή τα κοκτέιλ με ρούμι και ζάχαρη, διότι έχει χαρακτηριστική οσμή ανανά. Επίσης, χρησιμοποιείται και στην βιομηχανία των αρωμάτων και των καλλυντικών, αλλά και ως πλαστικοποιητής κατά την παρασκευή της κυτταρίνης.

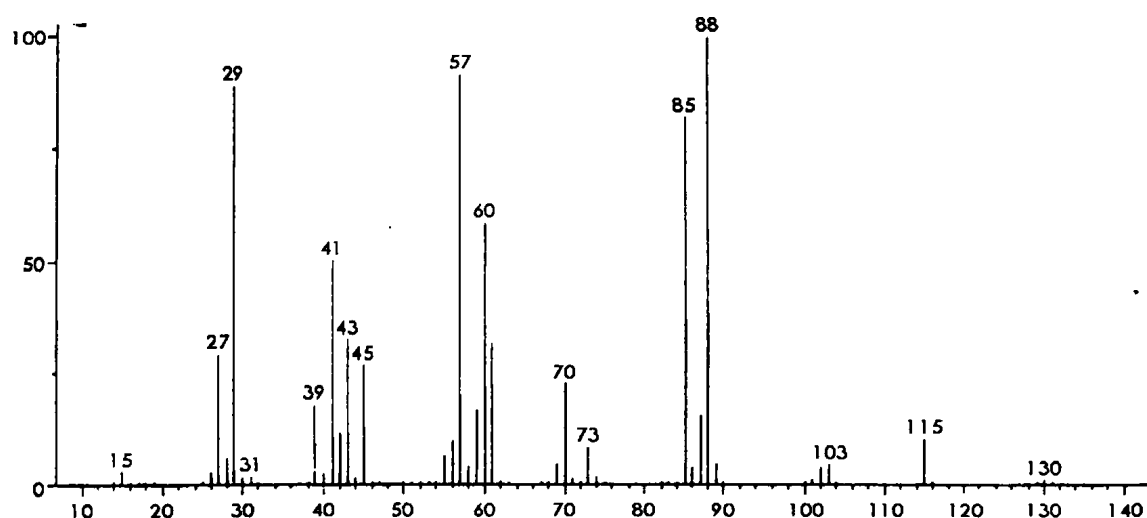


Σχήμα 5. Φάσμα μαζών αιθυλο-βουτυρικού εστέρα

Επίσης, ο 2-μεθυλ αιθυλεστέρας του βουτανοϊκού οξέος που ταυτοποιήθηκε στα δείγματα των καρποσωμάτων αποτελεί βασικό αρωματικό συστατικό της ποικιλίας μήλων Golden delicious, διαθέτοντας γλυκιά φρουτώδη οσμή. Ταυτόχρονα αποτελεί και βασικό πτητικό αρωματικό συστατικό των εσπεριδοειδών, του ανανά, της φράουλας αλλά και των τροπικών φρούτων (Lopez et al., 1997), ενώ σε συνδυασμό με τον 2-μεθυλ-αιθυλεστέρα του προπανοϊκού οξέος, αποτελούν καθοριστικά αρωματικά συστατικά του ελαιολάδου (Guth & Grosch, 1993)

Ο 3-μέθυλ αιθυλεστέρας του βουτανοϊκού οξέος (ethyl isovalerate), (Σχήμα 6) είναι άχρωμο υγρό, αδιάλυτο στο νερό, αλλά διαλυτό στο παραφινέλαιο και στην προπυλένο γλυκόλη ενώ διακρίνεται για την φρουτώδη οσμή του. Αποτελεί βασικό συστατικό του αρώματος του βατόμουρου και απαντάται φυσικά στα μήλα, στο χυμό των μήλων, στο κονιάκ, στο ρούμι, στον ανανά, στις φράουλες και στα λευκά κρασιά. Επίσης, απαντάται και στο άρωμα των ανθέων των φυτών *Sauromatum guttatum*, της

οικογένειας *Araceae*, *Asterogyne martiana*, *Calyptrogyne costatifrons*, *Calyptrogyne ghiesbreghtiana*, *Geonoma brongniartii*, *Geonoma congesta*, *Geonoma cuneata* var. *cuneata*, *Geonoma cuneata* var. *procumbens*, *Geonoma cuneata* var. *sodiroi*, *Geonoma irena*, *Geonoma longepedunculata*, *Geonoma macrostachys* var. *macrostachys*, *Geonoma maxima*, *Geonoma orbignyana*, *Geonoma poeppigiana*, *Geonoma polyandra*, *Geonoma stricta* var. *piscicauda*, *Geonoma stricta* var. *piscicauda*, *Pholidostachys synanthera*, *Welfia regia* της οικογένειας *Arecaceae*, *Anthemis nobilis*, *Matricaria recutita*, *Santolina chamaecyparissus*, της οικογένειας *Asteraceae*, *Cycas rumphii* της οικογένειας *Cycadaceae*, *Anaxagorea brevipes*, *Anaxagorea dolichocarpa*, *Duguetia asterotricha*, *Rollinia insignis*, *Xylopi aromaticum*, *Xylopi benthamii* της οικογένειας *Annonaceae* και του *Michelia figo* της οικογένειας *Magnoliaceae*.



Σχήμα 6. Φάσμα μαζών αιθυλο-ισοβαλερικού εστέρα

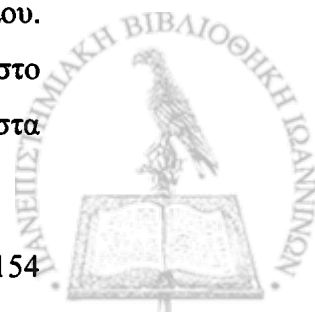
Τέλος, ο καπροϊκός αιθυλεστέρας (ethyl caproate) που ταυτοποιήθηκε στα καρποσώματα του είδους, διαθέτει χαρακτηριστική φρουτώδη οσμή (Furia & Bellanca, 1975).

Στο είδος *Hydnum repandum* παρατηρείται ότι συνήθως ανιχνεύεται στα καρποσώματα των μακρομυκήτων, με καθολική επικράτηση ως προς την % συγκέντρωση των ενώσεων με 8 άτομα άνθρακα, που στη συγκεκριμένη περίπτωση το συνολικό ποσοστό τους ανέρχεται στο 75,17%. Με ποσοστό 10,44% ανιχνεύεται η ένωση 3-κυκλοεπτέν-1-όνη, ενώ για πρώτη φορά προσδιορίζονται οι ενώσεις μεθυλεστέρας του βουτανοϊκού οξέος, γ-εξαλακτόνη και το 2-μέθυλ-πεντανοϊκό οξύ.

Πίνακας 15. % σύσταση πτητικών ενώσεων του είδους *Hydnum repandum*

lt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %	Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %
29	852	1- οκτένιο	0,52	12,08	1278	3- οκτανόνη	14,00
51	887	2- οκτένιο	0,35	12,45	1294	p- κουμόλιο	0,11
74	901	Βουτανάλη	2,14	13,24	1326	1- οκτεν-3- όνη	26,54
30	933	3- μέθυλ- βουτανάλη	0,39	13,80	1350	Trans 2 Επτανάλη	0,78
43	969	3-κυκλοεπτέν-1- όνη	10,44	14,13	1363	6- μέθυλ-5- επτεν-2-όνη	0,14
44	1003	Πεντανάλη	0,50	15,40	1416	3- οκτανόλη	1,41
99	1011	Μεθυλεστέρας του βουτανοϊκού οξέος	0,15	15,49	1419	Νονανάλη	0,08
77	1102	Εξανάλη	8,01	15,85	1435	3-οκτεν-2- όνη	0,30
84	1121	2-μεθύλ- πεντανοϊκό οξύ	0,09	16,40	1457	2- οκτενάλη	1,84
94	1177	3- επτανόνη	0,08	16,85	1473	1-οκτεν-3- όλη	29,98
140	1207	Επτανάλη	0,18	18,73	1557	Βενζαλδεϋδη	0,13
142	1208	Μεθυλεστέρας του εξανοϊκού οξέος	0,52	20,09	1621	2-4- οκταδιενάλη (E,E)	0,08
160	1216	Λεμονένιο	0,29	20,49	1643	2- οκτέν-1- όλη	0,25
122	1242	Trans-2- εξενάλη	0,13	22,22	1740	γ- εξαλακτόνη	0,20
193	1271	1- πεντανόλη	0,20	24,37	1878	Εξανοϊκό οξύ	0,19

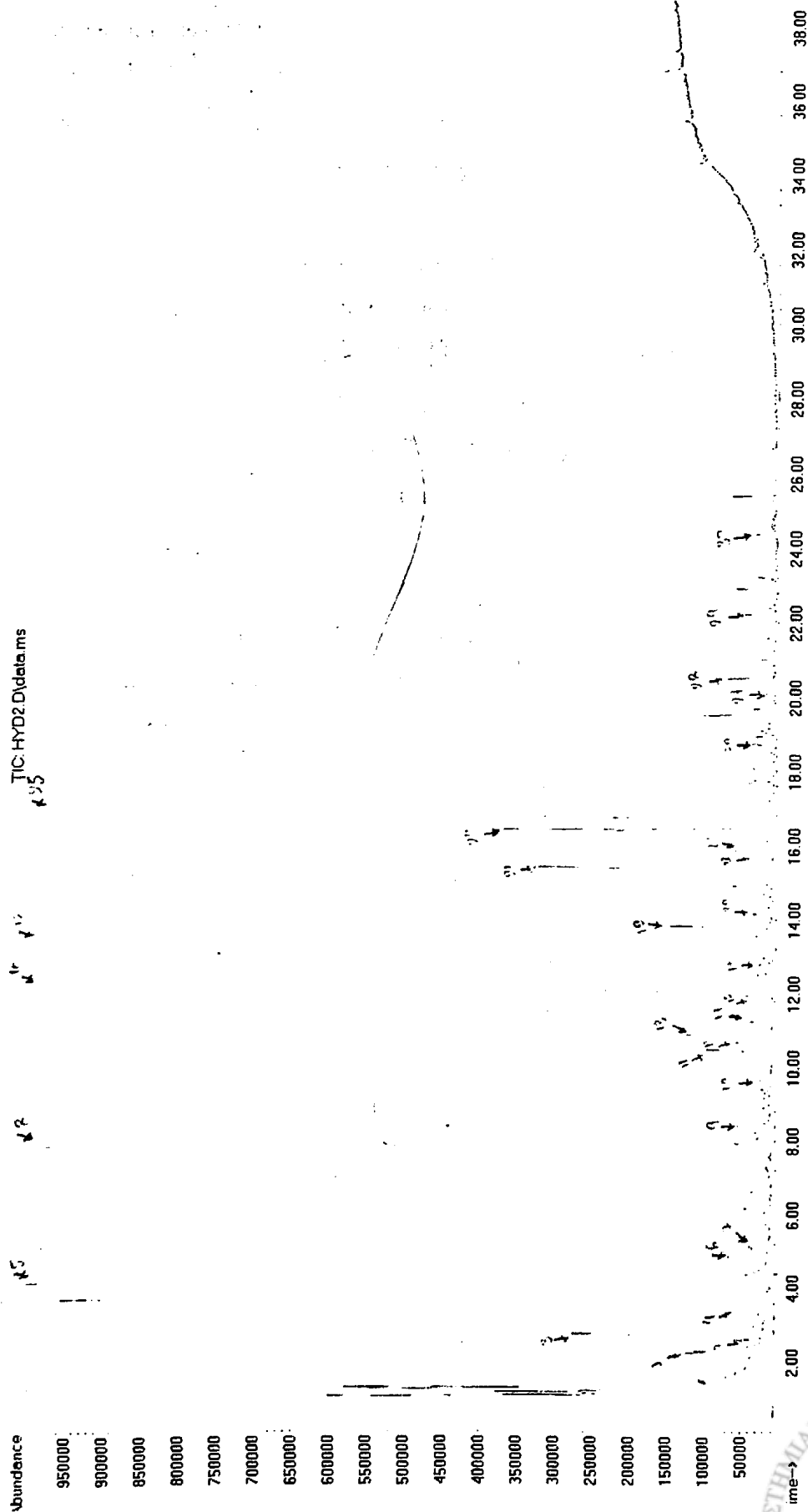
Ο μεθυλεστέρας του βουτανοϊκού οξέος, είναι ένα άχρωμο υγρό που διαθέτει γλυκιά αιθέρια φρουτώδη οσμή και γεύση που προσομοιάζει με αυτή του μήλου. Ανευρίσκεται φυσικά σε πληθώρα αγαθών όπως στα μήλα, στο τυρί cheddar, στο μαγειρεμένο βοδινό, στα σταφύλια, στο grapefruit, στο μέλι, στα ακτινίδια, στα



μανταρίνια, στο μάνγκο, στο πεπόνι, στα πορτοκάλια, στον ανανά, στις φράουλες και στο λευκό κρασί. Προστίθεται ως πρόσθετο συνθετικό αρωματικό σε αλκοολούχα ποτά, παγωτά και ψημένα προϊόντα τροφίμων με συγκέντρωση που κυμαίνεται μεταξύ 1-50 ppm στο τελικό προϊόν (Fisher & Scott, 1997).

Οι λακτόνες με χαμηλό κατώφλι οσμής στα διάφορα τρόφιμα (0,1 ppm), ασκούν σημαντική επίδραση στον αρωματικό τους χαρακτήρα. Σε πολλά γαλακτοκομικά προϊόντα, οι δ-λακτόνες είναι υπεύθυνες για το ελαφρύ κρεμώδες άρωμα. Αν και οι δ-λακτόνες βρίσκονται κυρίως στα ζωικά προϊόντα, οι γ-λακτόνες υπάρχουν στους φυτικούς ιστούς. Η γ-εξαλακτόνη που ανιχνεύθηκε στο είδος *Hydnum repandum* έχει προσδιοριστεί σε ποικιλία φυτικών και ζωικών τροφίμων (μοσχάρι, κοτόπουλο, βερίκοκο, βατόμουρο, φράουλα, σταφίδα, τομάτα, ανανά, λεμόνι, κακάο, ψωμί, μπύρα, κρασί και ξύδι) και παρέχει χαρακτηριστικό άρωμα ροδάκινου, ενώ τέλος, το 2-μέθυλ πεντανοϊκό οξύ χρησιμοποιείται ως αρωματικό σε μείγματα, ώστε να παράσχει τον έντονο αρωματικό χαρακτήρα της φράουλας που το χαρακτηρίζει (Fisher & Scott, 1997).

Χρωματογράφημα 12. Είδος *Hydnum repandum*



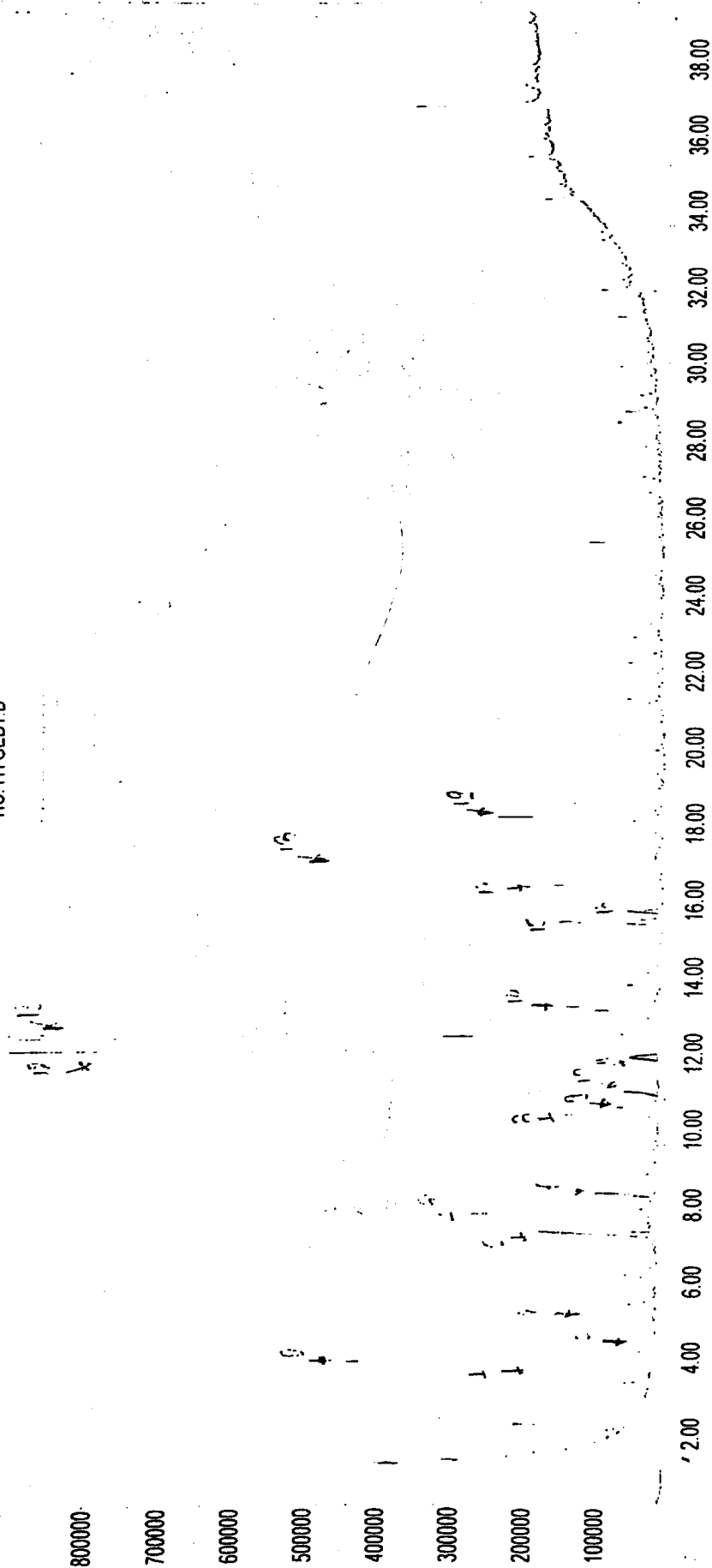
Τα πτητικά αρωματικά συστατικά των ειδών *Hygrophorus chysodon* [1], *Hygrophorus eburneus* [2], *Hygrophorus russocoreacius* [3] και *Hygrophorus rusula* [4], παρατίθενται με την % σχετική τους συγκέντρωση που βασίζεται στην χρωματογραφική επιφάνεια που καλύπτουν στον πίνακα 16. Ανιχνεύθηκαν 46 συνολικά ενώσεις και από τα 4 είδη, συμπεριλαμβανομένων αλκοολών, αλδευδών, κετονών, υδρογονανθράκων, εστέρων και τερπενίων με τις σημαντικότερες αρωματικές ενώσεις στα δείγματα των φρέσκων καρποσωμάτων να είναι η 3-μέθυλ-βουτανάλη (4,33% [1], 8,44% [2]), το 2,2,4,6,6 πενταμεθύλ-επτάνιο (18,68% [2]), η εξανάλη (10,63% [1], 14,42% [2] 5,48% [3], 4,01%[4]), το p-κουμόλιο (8,97% [1], 18,04% [2]), η 3-οκτανόνη (4,18% [2], 38,52% [3], 56,09%[4]), η 1-οκτέν-3-όνη (5,82% [1], 2,72%[4]), η 3-οκτανόλη (12,93% [3], 11,15%[4]), η 1-οκτέν-3-όλη (13,28% [1], 15,28% [2] 5,82% [3], 18,65%[4]) και ο μεθυλεστέρας του βενζοϊκού οξέος (39,28% [1]).

Η ανάλυση των φασμάτων μαζών αποκαλύπτει επίσης την ύπαρξη σημαντικού αριθμού τερπενίων. Τα τερπένια είναι μικρά οργανικά μόρια που εμφανίζουν τεράστια ποικιλομορφία ως προς τη δομή τους. Σύμφωνα με τον κανόνα του ισοπρενίου που προτάθηκε από τον Leopold Ruzicka, τα τερπένια μπορεί να θεωρηθεί ότι προέρχονται από συνένωση κεφαλής- ουράς μονάδων ισοπρενίου (2-μέθυλο-1,3- βουταδιένιο) (Mc Murty, II, 2002). Αποτελούν κυρίως βασικά συστατικά των αιθέριων ελαίων και διακρίνονται σε μονοτερπένια, σесκιτερπένια και διτερπένια, ανάλογα με το αν βιοσυντίθενται από 2, 3 ή 4 μονάδες ισοπρενίου (Fisher & Scott, 1997). Τα μονοτερπένια είναι ενώσεις με 10 άτομα C και βιοσυντίθενται από 2 μονάδες ισοπρενίου, ενώ τα σесκιτερπένια έχουν 15 άτομα C που προέρχονται από τρία μόρια ισοπρενίου (Fisher & Scott, 1997).

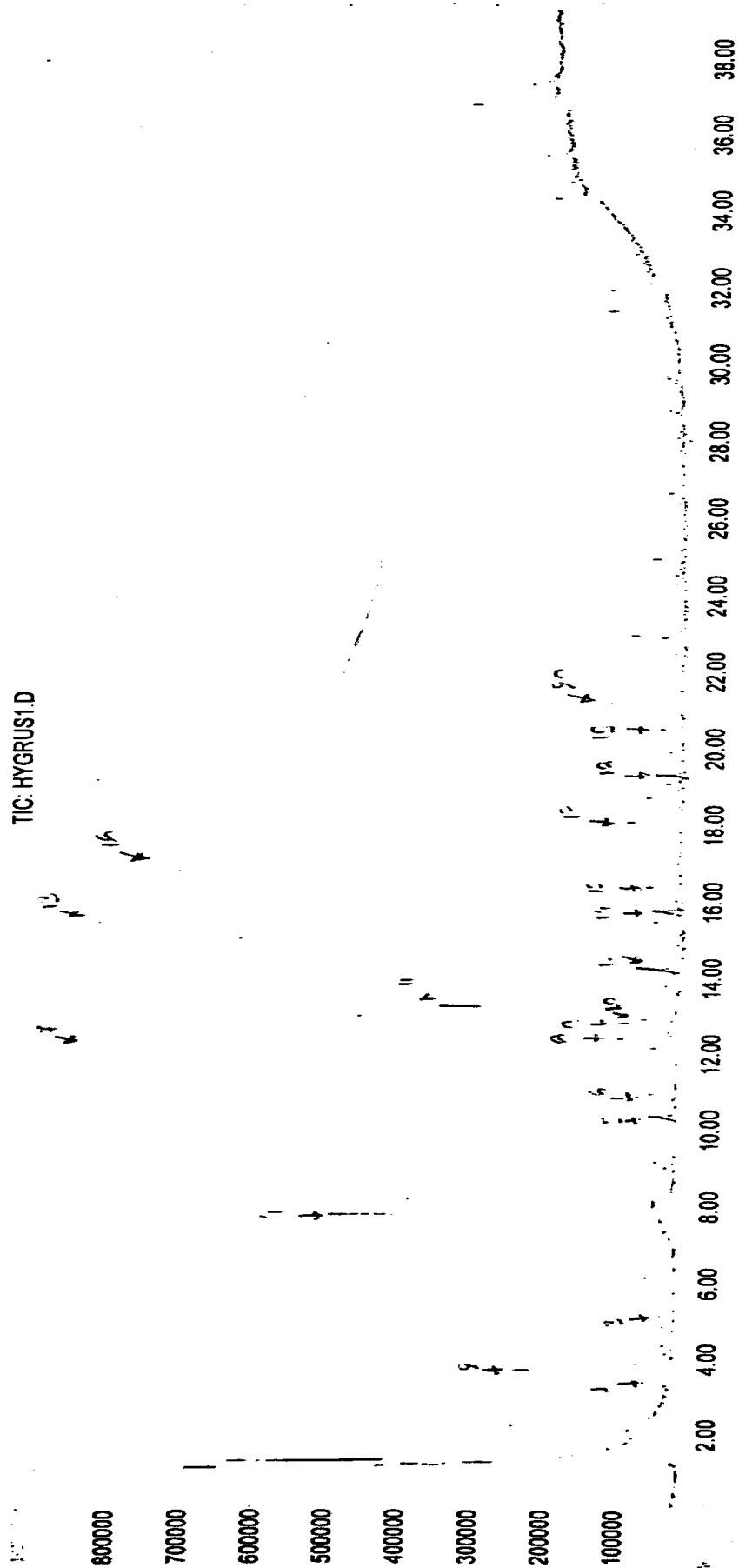
Τα πλέον συχνά απαντώμενα μονοτερπένια που είναι υπεύθυνα για το ευχάριστο και έντονα αναδύόμενο άρωμα μεταξύ των 4 ειδών και χαρακτηρίζονται ως πρωτεύοντα για τον αρωματικό χαρακτήρα τους, είναι οι ενώσεις p-κουμόλιο σε όλα τα δείγματα μανιταριών και D-λεμονένιο στα 3 από τα 4, καθώς και η παρουσία της ουσίας καμφένιο στο είδος *Hygrophorus eburneus* σε αντίθεση με τα υπόλοιπα 3 είδη. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε απόλυτη συμφωνία με προηγούμενα δημοσιευμένα επιστημονικά δεδομένα (Audouin, et al., 1989; Buchbauer et al., 1993; Breheret et al., 1997).

Χρωματογράφημα 13. Είδος *Hygrophorus eburneus*

TIC: HYGEB1.D

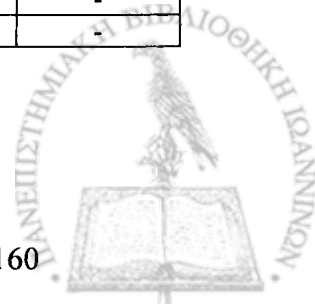


Χρωματογράφημα 14. Είδος *Hygrophorus rusula*

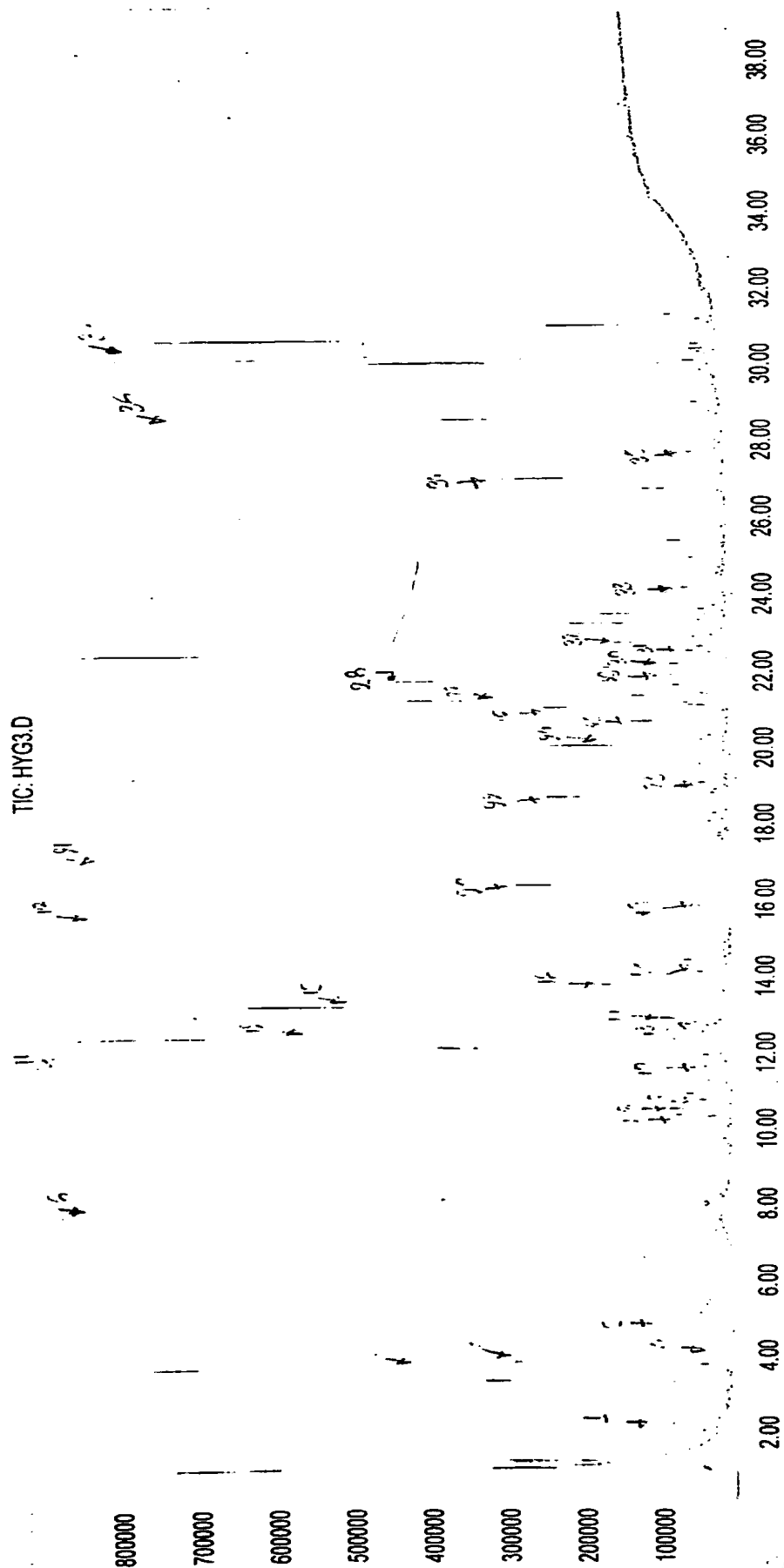


Πίνακας 16. % σύσταση πτητικών ενώσεων του γένους *Hygrophorus*

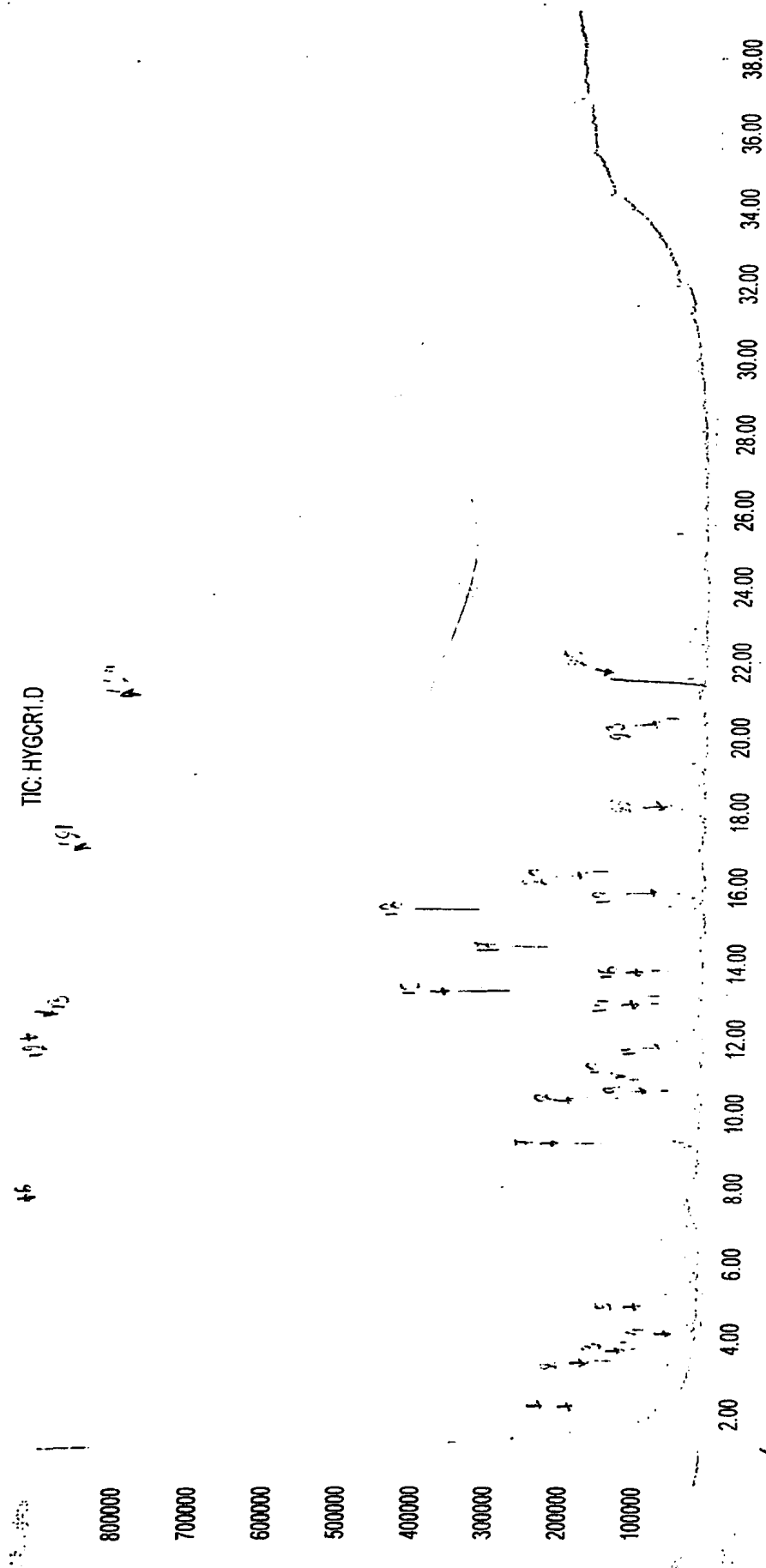
	RI	Ένωση	<i>H, chrysodon</i> *%	<i>H, eburneus</i> *%	<i>H, russocoreacius</i> *%	<i>H, rusula</i>
27	826	2 μέθυλ-προπανάλη	-	-	0,23	-
21	832	Βουτανάλη	1,13	-	-	-
31)	933	3 μέθυλ-βουτανάλη	4,33	8,44	1,33	0,39
33	957	2,2,4,6,6- πενταμεθύλ-επτάνιο	1,80	18,68	0,55	0,70
41	968	Κυκλοοκτένιο	-	0,78	0,10	-
45	970	1,3 οκταδιένιο	0,25	-	-	-
45	1003	Πεντανάλη	1,40	2,76	0,66	0,24
72	1080	Καμφένιο	-	1,42	-	-
73	1102	Εξανάλη	10,63	14,42	5,48	4,01
85	1118	3-μέθυλ-2-βουτανόλη	-	1,31	-	-
99	1159	5-εξανάλη	1,80	-	-	-
100	1207	Επτανάλη	1,69	4,11	0,23	0,20
100	1216	D- λεμονένιο	0,65	1,60	0,16	-
102	1229	3-μέθυλ-1-βουτανόλη	0,72	1,28	0,16	0,35
112	1271	1-πεντανόλη	0,30	0,57	0,07	-
127	1278	3-οκτανόνη	2,20	4,18	38,52	56,09
126	1294	ρ-κουμόλιο	8,97	18,04	2,33	0,70
122	1309	2-οκτανόνη	-	-	0,22	0,58
123	1314	Οκτανάλη	0,52	-	0,25	0,39
134	1326	1-οκτέν-3-όνη	5,82	1,17	2,83	2,72
131	1350	2-επτανάλη, (E)	0,97	-	0,52	-
143	1363	6-μεθύλ-5-επτέν-2- όνη	-	-	0,18	-
142	1375	1-εξανόλη	0,65	-	-	0,21
150	1416	3-οκτανόλη	0,49	1,70	12,93	11,15
159	1419	Νονανάλη	0,54	0,64	-	0,41
156	1435	3-οκτέν-2-όνη	-	-	0,14	-
160	1457	2-οκτενάλη	1,58	2,13	0,70	0,44
169	1473	1-οκτέν-3-όλη	13,28	15,28	5,82	18,65
182	1557	Βενζαλδεΐδη	0,23	1,49	0,56	0,62
199	1573	1-λιναλοόλη	-	-	0,10	0,15
209	1643	2-οκτέν-1-όλη	0,25	-	-	0,29
202	1655	Θουτζοπσένιο	-	-	0,16	-
205	1657	Μεθυλεστέρας βενζοϊκού οξέος	39,22	-	-	-
218	1674	Βήτα- Σεσκουιφαλανδρένιο	-	-	0,38	-
215	1678	Βενζένακεταλδεΐδη	0,59	-	0,15	1,70
218	1690	Λονγκιφολένιο -(V4)	-	-	0,24	-
215	1712	b-ακοραδιένιο	-	-	0,94	-
212	1722	a-λονγκικινένιο	-	-	0,16	-
222	1740	b-σαμικρένιο	-	-	0,12	-
225	1767	Αρομαδενδρένιο	-	-	0,05	-
227	1774	b-χμασαλένιο	-	-	0,22	-
247	1865	Κουπαρένιο	-	-	0,10	-
271	>2000	Νερολιδόλη	-	-	0,70	-
273	>2000	Λονγκικυκλένιο	-	-	0,10	-
281	>2000	Άγνωστο	-	-	5,52	-
301	>2000	Άγνωστο	-	-	16,85	-



Χρωματογράφημα 15. Είδος *Hygrophorus russococcineus*



χρωματογράφημα 16. Είδος *Hygrophorus chrysodon*



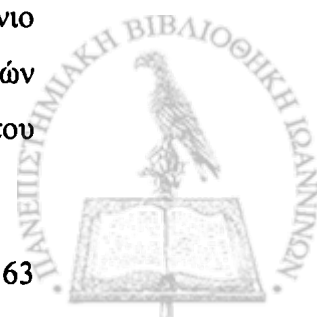
Το p-κουμόλιο είναι μια φυσικά απαντώμενη οργανική ένωση, που όπως αναφέρθηκε στην ανάλυση του είδους *Amanita rubescens* ανήκει στην κατηγορία των μονοτερπενίων. Είναι αδιάλυτο στο νερό, αλλά διαλυτό σε αιθανόλη και αιθέρα. Είναι επίσης συστατικό της πλειοψηφίας των αιθέριων ελαίων των φυτών, αλλά κυρίως του θυμαριού (*Thymus vulgaris*) και του κύμινου. Διαθέτει 2 ακόμη ισομερή το ο-κουμόλιο και το m-κουμόλιο, αλλά μόνο η p-μορφή απαντάται στο φυσικό περιβάλλον. Τέλος, είναι κοινός υποκαταστάτης για το σχηματισμό του ρουθηνίου. (Bennett et al., 1982).

Ακόμη η παρουσία των σесκιτερπενίων (κορυφές 23, 25, 27-34, Χρωματογράφημα 15) όπως το θουτζοπσένιο (Thujopsene), το βήτα-σεσκουιφελανδρένιο (Beta-Sesquiphellandrene), το Λονγιφολένιο (Longifolene-(V4), το β-ακοραδιένιο (b-acoradiene), το α-λονγκιπινένιο (a-longipinene), το β-σαμιγκρένιο (b-chamigrene), το αρομαδενδρένιο (Aromadene), το β-χιμασάλενιο (b-himachalene), το κουπαρένιο (cuparene), το λονγκικυκλένιο (Longicyclene) και η νερολιδόλη μόνο στο είδος *Hygrophorus russocoriaceus*, επικυρώνουν την ιδιαίτερα έντονη και χαρακτηριστική οσμή κέδρου του παραπάνω είδους, όπως αυτή περιγράφεται σε προηγούμενες μελέτες (Agora, 1985). Μάλιστα η πλειοψηφία των ενώσεων αυτών έχει ταυτοποιηθεί και σε προηγούμενες μελέτες προσδιορισμού της σύστασης των πτητικών του αιθέριου ελαίου του φυτού *Zingiber officinale* (Ashurst 1999, Onyenekwe & Hashimoto, 1999, Πίνακας 17).

Πίνακας 17. Βασική σύσταση αιθέριου ελαίου *Zingiber officinale* (Ashurst 1999)

A/A	Ένωση	Ποσοστό %	Αρωμα
1	α- ζινγκιμπρενιο	35	Ξύλου
2	AR-κουρκουμένιο	10	Ξύλου
3	β- σεσκουιφελανδρένιο	10	Ξύλου
4	β- μπισαμπολένιο	8	Βάλσαμου
5	Καμφένιο	6	Καμφοράς
6	β- φελανδρένιο	3	Φρέσκου πιπεριού
7	1,8, κινεόλη	2	Ευκάλυπτου

Η νερολιδόλη, γνωστή και ως περουβιόλη (peruvial) είναι ένα σесκιτερπένιο που βρίσκεται στο φυσικό περιβάλλον ως συστατικό των αιθέριων ελαίων πολλών φυτών και λουλουδιών. Είναι συστατικό που απαντάται στο αιθέριο έλαιο του

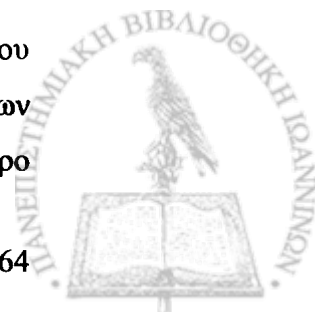


πορτοκαλανθού, του τζίντζερ (*Zingiber officinale*), του γιασεμιού (*Jasminum officinale*), της λεβάντας (*Lavandula officinalis*), και διαφόρων ειδών λουίζας (*Cymbopogon flexuosus*, *Cymbopogon citratus*). Υφίστανται φυσικά 2 ισομερή νερολιδόλης η *cis* και η *trans* μορφή, οι οποίες διαφέρουν ως προς τη γεωμετρία του κεντρικού διπλού δεσμού. Το άρωμα της ένωσης προσομοιάζει με αυτό του ξύλου και ειδικότερα με αυτό του φλοιού των δέντρων. Χρησιμοποιείται ως πρόσθετο αρωματικό στα τρόφιμα, αλλά και στην βιομηχανία των αρωμάτων και των καλλυντικών προϊόντων (Fisher & Scott, 1997).

Στο είδος *Hygrophorus chrysodon* η συγκέντρωση του περιεχόμενου μεθυλεστέρα του βενζοϊκού οξέος (κορυφή No 24, Χρωματογράφημα 13) ήταν συγκριτικά πολύ υψηλότερη σε σχέση με τα 3 υπόλοιπα είδη στα οποία δεν κατέστη δυνατή η ανίχνευση του. Το αποτέλεσμα αυτό βρίσκεται σε απόλυτη συμφωνία με τις μελέτες των Wu et al., (2005) και των Cho et al., (2006), οι οποίοι ανίχνευσαν και ταυτοποίησαν σε αντίστοιχες συγκεντρώσεις την ένωση αυτή, στα καρποσώματα των ειδών *Fistulina hepatica* και *Tricholoma matsutake*. Στα άνθη των φυτών του γένους *Antirrhinum* (π.χ snapdragon), ο μεθυλεστέρας του βενζοϊκού οξέος είναι το πλέον σημαντικό αρωματικό συστατικό. Σχηματίζεται μέσω ενζυματικής μεθυλίωσης του βενζοϊκού οξέος σε αντίδραση που καταλύεται από το ένζυμο μεθύλ-καρβοξυλική τρανσφεράση του βενζοϊκού οξέος (benzoic acid carboxyl methyl transferase - BAMT). Πέραν αυτού, συντίθεται και εκπέμπεται μόνο από τους ανώτερους και κατώτερους λοβούς των πετάλων, όπου οι επικονιαστές έρχονται σε άμεση επαφή με τα άνθη (Dudareva et al., 2000).

Τέλος, στο είδος *Hygrophorus russocoriaceus* ανιχνεύονται 2 ενώσεις με χρόνους κατακράτησης 28.40 min και 30.20 min, που δεν εμπεριέχονται στο πτητικό αρωματικό προφίλ των υπόλοιπων 3 ειδών. Η ένωση με χρόνο κατακράτησης 28.40 min χαρακτηρίζεται από 2 φασματικά θραύσματα με λόγους μάζας /φορτίο (m/z) 83 και 94. Αντίστοιχα, το έτερο συστατικό χαρακτηρίζεται από 3 θραύσματα m/z 83, 93 και 111, τα οποία εμφανίζουν 100% ένταση. Και στις 2 περιπτώσεις επειδή τόσο το μοριακό βάρος είναι άγνωστο, αλλά και η θραύση είναι αμφίβολη, δεν ήταν εφικτή η ταυτοποίηση τους, αλλά ούτε και οι βιβλιοθήκες Wiley 275 ή Nist 98 επεσήμαναν ικανές υποδείξεις (Ouzouni et al., 2009b).

Στο είδος *Lactarius salmonicolor* ταυτοποιήθηκαν 36 πτητικές ενώσεις που ανήκουν στις χημικές ομάδες των αλκοολών (3), αλδευδών (14), κετονών (5), οξέων (1), εστέρων (3), τερπενίων (8) και υδρογονανθράκων (2). Το σημαντικότερο



ποσοστό κατέχουν όπως φαίνεται και στον Πίνακα 18 οι ενώσεις 3-οκτανόνη, εξανάλη, 2-επτανάλη, 3-οκτανόλη, 2-οκτενάλη, 1-οκτέν-3-όλη, λιναλοόλη και πεντανάλη, με το ποσοστό τους να κυμαίνεται στα φρέσκα καρποσώματα από 1,64% έως 36,19%.

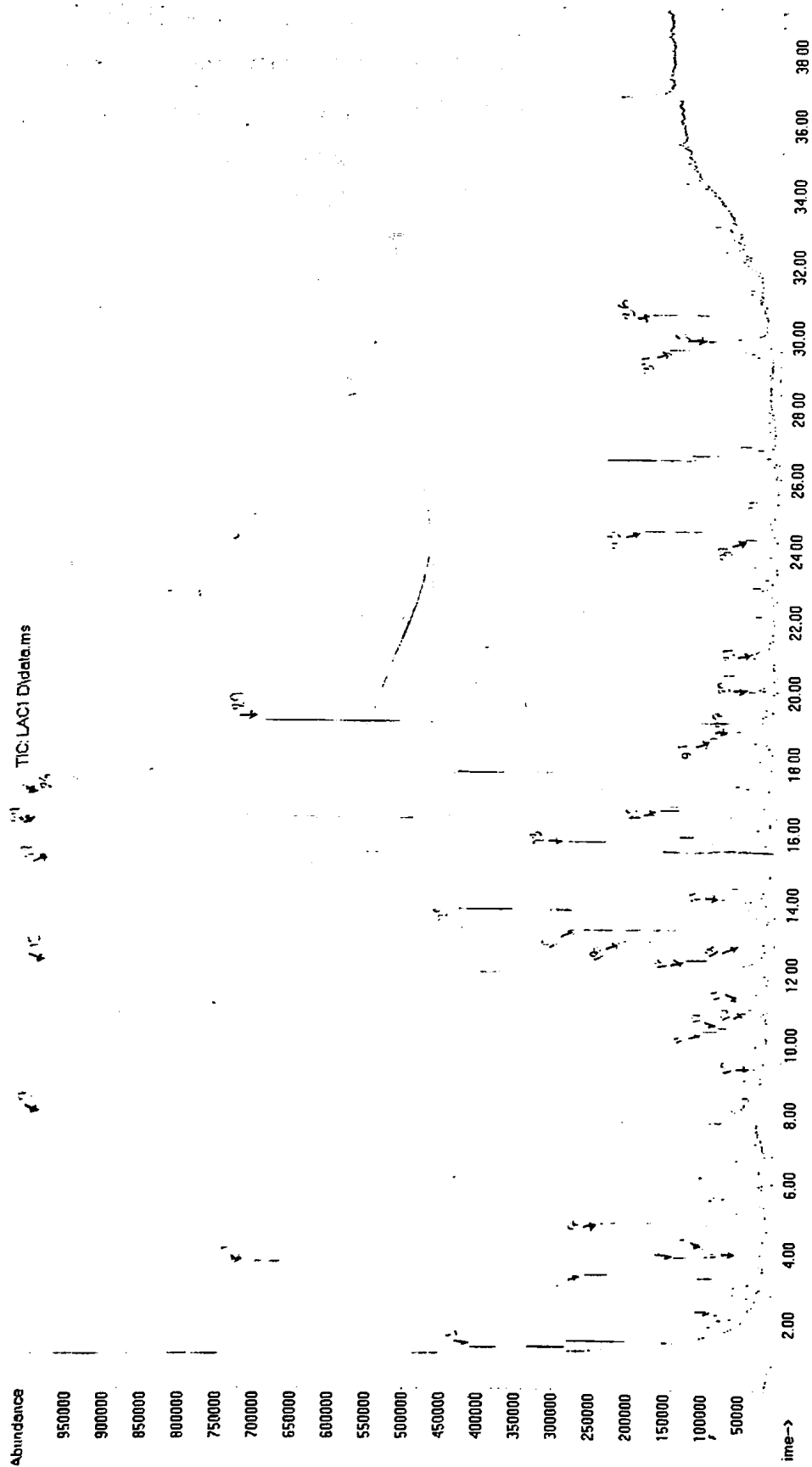
Πίνακας 18. % σύσταση πτητικών ενώσεων του είδους *Lactarius salmonicolor*

#	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %	Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %
4.	759	Ακεταλδεΐδη	1,30	13,24	1326	1-οκτέν-3-όνη	0,91
0.	824	2-μέθυλ-προπανάλη	0,15	13,81	1350	2-επτανάλη	1,76
	928				1363	6-μεθύλ-5-επτέν-2- όνη	0,27
3.		2-μέθυλ-βουτανάλη	0,36	14,13			
4.	933	3-μέθυλ-βουτανάλη	1,13	15,40	1416	3-οκτανόλη	7,33
	957	2,2,4,6,6- πενταμεθύλ-επτάνιο	0,78	15,49	1419	Νονανάλη	0,68
8.							
0.	964	3-βουτέν-2-όνη	0,21	16,40	1457	2-οκτενάλη	7,61
	970				1467	Οξείδιο της λιναλοόλης	0,65
1.		1,3-οκταδιένιο	0,59	16,63			
8.	1003	Πεντανάλη	1,64	16,79	1473	1-οκτέν-3-όλη	16,66
7.	1102	Εξανάλη	13,58	18,70	1557	Βενζαλδεΐδη	0,39
0.	1155	p-ξυλόλιο	0,09	18,89	1564	Νοενάλη	0,23
0.	1207	Επτανάλη	0,42	19,09	1573	Λιναλοόλη	2,41
0.	1216	Λεμονένιο	0,27	20,01	1617	b-ελεμένιο	0,10
	1232				1668	Αιθυλεστέρας δεκανοϊκού οξέος	0,14
0.		Επτανόλη	0,14	20,96			
	1241				1874	Αιθυλεστέρας δωδεκανοϊκού οξέος	0,14
1.		(E)-2-εξενάλη	0,19	24,31			
2.	1278	3-οκτανόνη	36,19	24,52	1888	Γερανύλ-ακετόνη	0,60
	1294				>200 0	Αιθυλεστέρας δεκατριανοϊκού οξέος	0,50
2.		p-κουμόλιο	0,45	29,62			
	1309				>200 0	Δεκανοϊκό οξύ	0,68
2.		2-οκτανόνη	0,10	29,87			
	1314				>200 0	α-σινενσάλη	0,51
2.		Οκτανάλη	0,82	30,61			

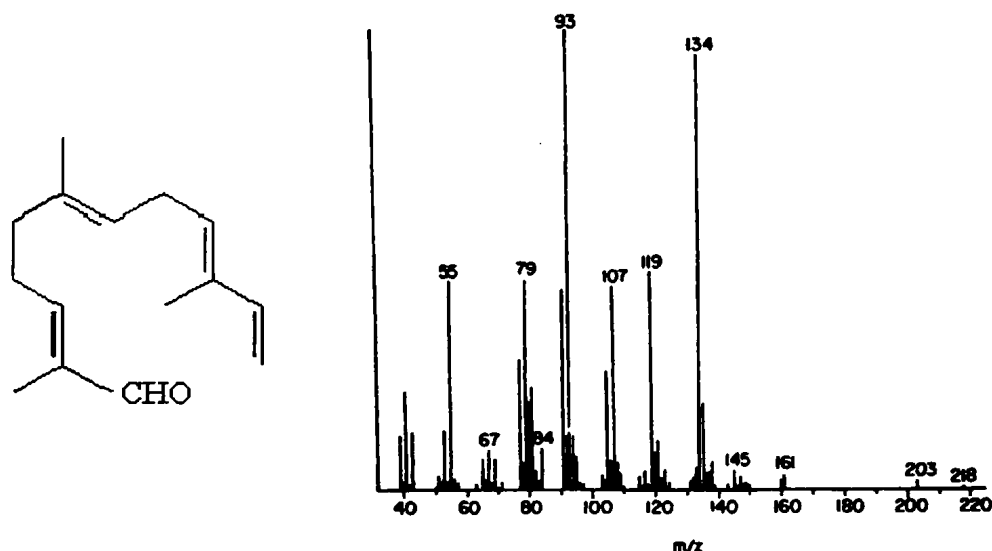
Ωστόσο, καταγράφεται για πρώτη φορά η παρουσία ενώσεων όπως τα τερπένια οξείδιο της λιναλοόλης, β-ελεμένιο και α-σινενσάλη (κορυφές No 25,30,36, Χρωματογράφημα 17), οι εστέρες, αιθυλεστέρας του δεκανοϊκού οξέος, αιθυλεστέρας του δωδεκανοϊκού οξέος και αιθυλεστέρας του τριδεκανοϊκού οξέος (κορυφές No 31,32 και 34), καθώς και η κετόνη γερανύλ-ακετόνη (geranyl acetone) (κορυφή No 33), με συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 0,10% έως 0,65%.



Χρωματογράφημα 17. Είδος *Lactarius salmonicolor*



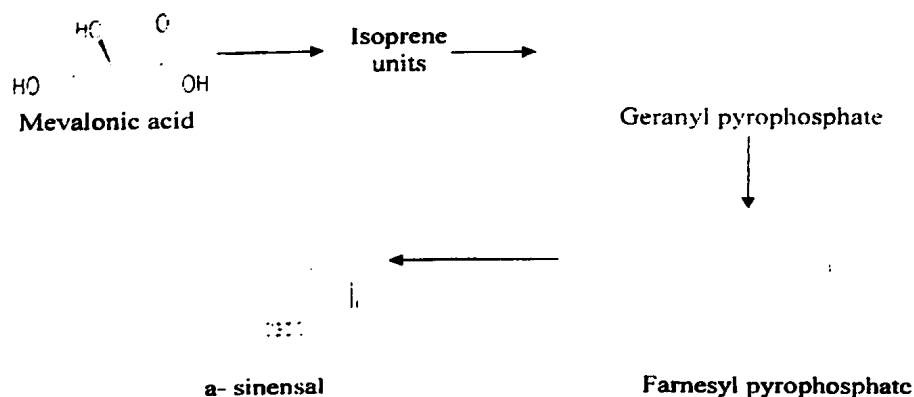
Η α-σινενσάλη ή E,E,E-2,6,10-τριμέθυλ-2,6,9-11-δωδεκατριενάλη (Σχήμα 7) είναι μια σεσκιτερπενική αλδεΐδη, η οποία πιστεύεται ότι συνεισφέρει καταλυτικά στον ιδιαίτερο αρωματικό χαρακτήρα του πορτοκαλιού και του αιθέριου ελαίου που απομονώνεται από το φλοιό του (Moshonas & Shaw, 1990).



α-Sinensal

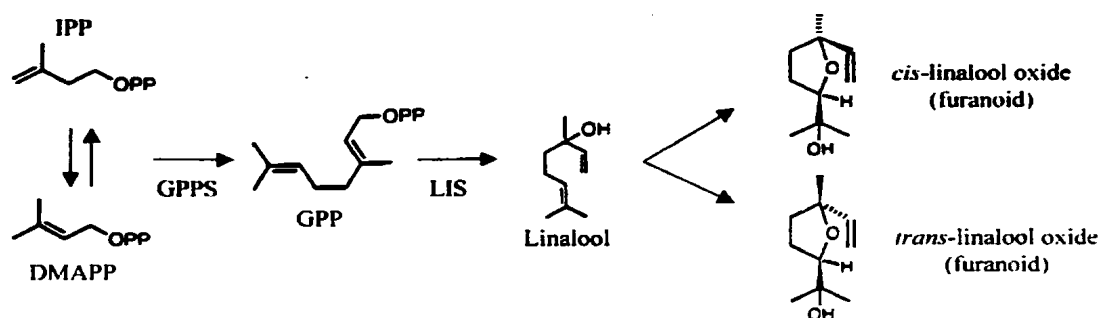
Σχήμα 7. Χημικός τύπος και φάσμα μαζών α-σινενσάλης

Σχηματίζεται μέσω του μεβαλονικού οξέος (mevalonic acid), από το οποίο αρχικά προκύπτει το πυροφωσφορικό γερανύλιο (geranyl pyrophosphate), που αντιδρά με το πυροφωσφορικό ισοπεντανύλιο (3-isopentenyl pyrophosphate) για να παραχθεί πυροφωσφορικό φαρνεσύλιο (farnesyl pyrophosphate) που είναι ένα ενδιάμεσο παραγόμενο προϊόν κατά την βιοσύνθεση των τερπενίων, το οποίο και τελικά οξειδώνεται σε α-σινενσάλη (α-sinensal) κατά την συνολική αντίδραση (Ashurst, 1999) :



Επίσης, η ένωση β-ελεμένιο (b-elemene) ή 1- μέθυλ-βινύλ 2,4 ισοπρεναλίνη, με μοριακό βάρος 200,4 είναι ένα φυσικά απαντώμενο συστατικό, το οποίο μπορεί να απομονωθεί από πλειάδα φυτικών ειδών όπως αυτά της αμπέλου (*Vitis Vinifera*), της δάφνης (*Lauris nobilis*), του δέντρου *Litchi chenensis*, του γερανιού (*Geranium sp.*) καθώς και των ειδών *Aglaia odorata*, *Fortunella odorata*, *Magnolia sieboldi* και *Polygonum longisetum* (Tamogami et al., 2007). Απομονώθηκε για πρώτη φορά εργαστηριακά το 1983 και θεωρείται ένα υψηλής αποτελεσματικότητας αντικαρκινικό σκέυασμα, αποτελούμενο από διάφορα στερεοϊσομερή του ελεμενίου με τη β-μορφή να αποτελεί το σημαντικότερο ποσοστό >85% του μείγματος. Μάλιστα το γαλάκτωμα ελεμενίου έχει ήδη εγκριθεί για την καταπολέμηση διαφόρων τύπων καρκίνου στην Κίνα από το 1994. Έχει δε χρησιμοποιηθεί ως θεραπευτικό σχήμα σε πάνω από 10.000 καρκινοπαθείς προκαλώντας αναστολή της ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων μέσω της απομόνωσης της μεταβολής του κύκλου των κυττάρων από τη φάση G0/G1 στη φάση S (Xu, 1999).

Το οξείδιο της λιναλοόλης είτε στην trans, είτε στην cis μορφή του διαθέτει γλυκιά, γήινη οσμή λουλουδιών και ανευρίσκεται σε πλήθος φυσικών προϊόντων, όπως στο αιθέριο έλαιο του φλοιού του φυτού *Citrus junos* (Song et al., 2000), στα φρούτα του δέντρου *Litchi chinesis* και στα λευκά κρασιά που προέρχονται από την ποικιλία Gewürztraminer (Ong & Acree, 1999), στον αρωματικό καπνό τύπου perique (Leffingwell & Alford, 2005), αλλά και στο τσάι Longjing, που είναι ένας τύπος πράσινου Κινεζικού τσαγιού, ο οποίος αποξηραίνεται με ψήσιμο σε ειδικά δοχεία, ενώ τα φύλλα του κατά την διάρκεια της ξήρανσης αναποδογυρίζονται χειρωνακτικά ένα προς ένα, προσδίδοντας του ιδιαίτερο αρωματικό χαρακτήρα (Kawakami & Yamanishi, 1983). Σχηματίζονται μέσω του διφωσφορικού διμεθυλαλύλιου (dimethylallyl diphosphate-DMAPP), και του διφωσφορικού ισοπεντανίου (isopentenyl diophosphate-IPP) με την επίδραση του ενζύμου της συνθετάσης του διφωσφορικού γερανυλίου (geranyl diphosphate synthase-GPPS) σε διφωσφορικό γερανύλιο (geranyl diphosphate), το οποίο με τη σειρά του μετατρέπεται σε λιναλοόλη με την επίδραση της συνθετάσης της λιναλοόλης (linalool synthase -LIS), που τελικά οξειδώνεται στις ζητούμενες ενώσεις (Lavy et al., 2002, Σχήμα 8).



Σχήμα 8. Σχηματισμός Λιναλοόλης και παραγώγων της

Αντίστοιχα η ένωση γερανύλο ακετόνη (geranyl acetone) είναι μια κετόνη, άχρωμη, αδιάλυτη στο νερό, αλλά διαλυτή σε αλκοολικά διαλύματα με χαρακτηριστική οσμή που προσομοιάζει με αυτή του ρόδου, του ξύλου και της μανόλιας. Απαντάται φυσικά στον άνθηθο, στο αιθέριο έλαιο του grapefruit, στον μαϊντανό, στην μέντα, στο φασκόμηλο, στο πράσινο τσάι και στην τομάτα (JECFA, 2005). Βιομηχανικά συντίθεται μέσω της αντίδρασης Carroll (Σχήμα 9). (Pommer & Nfirrenbach, 2000).

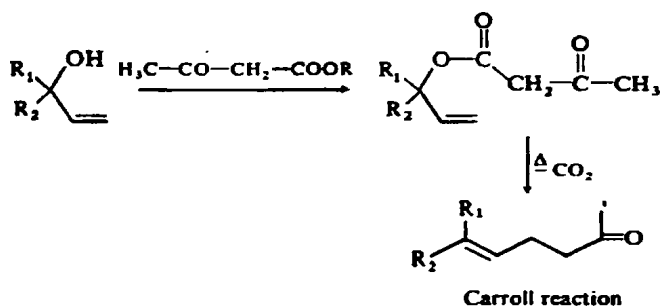
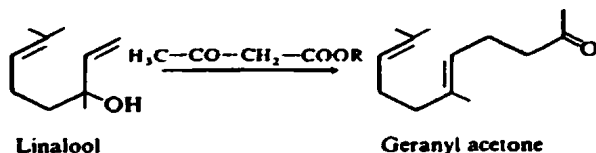
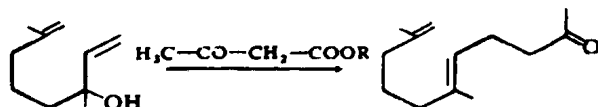


Figure 8

Δ^2 -Series



Δ^1 -Series



Σχήμα 9. Βιομηχανική σύνθεση γερανύλο ακετόνης μέσω αντίδρασης Carroll

Ο αιθυλεστέρας του δεκανοϊκού οξέος, ο αιθυλεστέρας του δωδεκανοϊκού οξέος, καθώς και ο αιθυλεστέρας του δεκατριανοϊκού οξέος έχει αποδειχθεί με



μελέτη των Netto et al. (2003), ότι αποτελούν βασικά συστατικά του “caninha” ενός Βραζιλιάνικου ποτού που παράγεται από το χυμό του ζαχαροκάλαμου (*Saccharum officinarum*), ο οποίος ζυμώνεται με την επίδραση μυκήτων, αποστάζεται και παλαιώνεται σε βαρέλια από δρυ ή μυρόξυλο. Η οσμή των 2 πρώτων εστέρων είναι παρόμοια με αυτή του ξύλου, ενώ το άρωμα του τρίτου είναι φρουτώδες. Μάλιστα, η συγκέντρωση των 2 πρώτων είναι μεγαλύτερη όταν το ποτό παλαιώνεται σε δρύινα βαρέλια, σε αντίθεση με μη παλαιωμένα δείγματα ή ποσότητες που παλαιώθηκαν σε βαρέλια από μυρόξυλο. Εξάλλου οι εστέρες με 8, 10 ή 12 άτομα άνθρακα θεωρούνται θεμελιώδη συστατικά του αρώματος στο ρούμι (Nykanen & Nykanen, 1983; Pino, 1996). Επίσης, οι 2 πρώτοι εστέρες αποτελούν και βασικά συστατικά της ψημένης καρύδας, αλλά και του αιθέριου ελαίου που εξάγεται από τον φρέσκο καρπό (Saittagaroon, et al., 1984).

Τα είδη που ανήκουν στο γένος *Lepista* χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερο αρωματικό προφίλ. Για παράδειγμα οι οσμές που αναδύονται από το καρπόσωμα του είδους *Lepista nebularis* θυμίζουν βραστό λάχανο (Ammirati et al., 1985) ή αναδύουν ένα δυνατό και πολύπλοκο αρωματικό χαρακτήρα, άλλοτε κυανίου, (Mazza, 1998), άλλοτε αλεύρου (Breheret et al., 1997) ή ακόμη και έντονα δύσοσμου ή αποκρουστικού (Courtecuisse, 1999). Το γεγονός αυτό οφείλεται πιθανόν στην ύπαρξη 2 διαφορετικών φύλλων μέσα στο ίδιο είδος όπως απέδειξε μελέτη των Rapior et al., το 2003, εκ των οποίων το πρώτο παράγει δυσάρεστες οσμές καθώς ωριμάζει, ενώ το δεύτερο αναπτύσσει πολύ γρήγορα, ακόμη και στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης τα δύσοσμα αυτά πτητικά συστατικά.

Εντούτοις, καταγράφονται τόσο στο είδος *Lepista nebularis* όσο και στο είδος *Lepista nuda* που αποτελεί και αντικείμενο της παρούσας διδακτορικής διατριβής, πτητικά συστατικά που επηρεάζουν σαφώς θετικά το αρωματικό προφίλ των παραπάνω καρποσωμάτων. Ειδικότερα, για το πρώτο είδος έχουν καταγραφεί συνολικά 49 πτητικά συστατικά με σημαντικότερα σε ποσοστό την 2-φαινύλ-αιθανόλη, την ινδόλη, το τερπένιο β-μπαρμπατένιο (β-Barbatene), τα αλκάνια ενδεκάνιο και δωδεκάνιο, το 3-μέθυλ βουτυρικό οξύ και την βενζαλδεΐδη (Rapior et al., 2003).

Επίσης, μελέτη των Noel-Suberville et al., (1996) για τη συσχέτιση της απελευθέρωσης των πτητικών αρωματικών συστατικών σε συνδυασμό με την περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα φρέσκων δειγμάτων μανιταριών του είδους *Lepista*



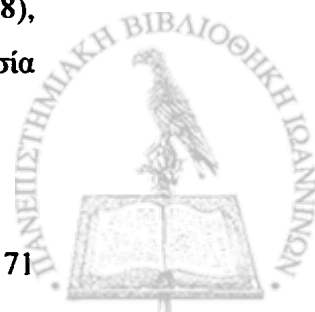
nuda , έδειξε ότι τα σημαντικότερα πτητικά αρωματικά συστατικά που ανιχνεύονται στο είδος αυτό είναι οι ενώσεις 1-οκτεν-3-όλη, 1-οκτεν-3-όνη και 3-οκτανόνη.

Στον πίνακα 19 που ακολουθεί αποτυπώνονται οι 36 συνολικά ταυτοποιημένες πτητικές ενώσεις που απομονώθηκαν με την τεχνική της HS-SPME/GC-MS για το είδος *Lepista nuda* με τις σημαντικότερες σε ποσοστό να είναι οι 3-μέθυλ-βουτανάλη, εξανάλη, 3-οκτανόνη, p-cymene, 3-οκτανόλη, 2-οκτενάλη, 1-οκτέν-3-όλη, βενζαλδεΐδη, 2-οκτέν-1-όλη και 3-μέθυλ βουτανοϊκό οξύ με συνολική συγκέντρωση 83,65% επί του συνόλου των πτητικών συστατικών.

Πίνακας 19. % σύσταση πτητικών ενώσεων του είδους *Lepista nuda*

	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %	Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %
34	928	2-μέθυλ-βουτανάλη	0,95	13,24	1326	1-οκτέν-3-όνη	1,62
44	933	3-μέθυλ-βουτανάλη	4,55	14,42	1375	Εξανόλη	1,08
84	957	2,2,4,6,6-πενταμεθύλ-επτάνιο	1,16	15,40	1416	3-οκτανόλη	3,34
14	970	1,3-οκταδιένιο	0,13	15,49	1419	Νονανάλη	0,35
80	1003	Πεντανάλη	0,35	15,85	1435	3-οκτέν-2-όνη	0,28
12	1080	Camphene	0,06	16,40	1457	2-οκτενάλη	6,39
74	1102	Εξανάλη	5,42	16,85	1473	1-οκτέν-3-όλη	11,22
74	1183	Μυρκένιο	0,08	17,33		Οξείδιο της λιναλοόλης	0,55
03	1204	2-επτανόνη	0,36	18,72	1557	Βενζαλδεΐδη	17,55
04	1207	Επτανάλη	0,35	19,09	1573	Λιναλοόλη	1,68
04	1216	Λεμονένιο	0,15	19,30	1583	1-οκτανόλη	1,53
03	1226	1,8-cineole	0,10	20,49	1643	2-οκτέν-1-όλη	12,32
04	1229	3-μέθυλ-1-βουτανόλη	2,47	20,76	1657	Μεθυλεστέρας του βενζοϊκού οξέος	0,15
17	1266	γ-τερπινένιο	0,06	21,54	1699	3-μέθυλ βουτανοϊκό οξύ	4,44
14	1271	Πεντανόλη	0,54	22,96	1785	Ενδεκανάλη	0,71
24	1278	3-οκτανόνη	10,94	24,40	1880	Εξανοϊκό οξύ	0,22
24	1294	p-κουμόλιο	7,48	26,99	>2000	Νερολιδόλη	0,41
24	1314	Οκτανάλη	0,67	27,29	>2000	Οκτανοϊκό οξύ	0,33

Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε απόλυτη συμφωνία με αντίστοιχα δεδομένα άλλων μελετών (Audouin, 1989; Noel-Suberville et al.,1996; Rapior et al., 2003), ωστόσο στο χρωματογράφημα του είδους που έπεται (Χρωματογράφημα 18), καταγράφεται για πρώτη φορά, αν και με ελάχιστη συγκέντρωση, η παρουσία

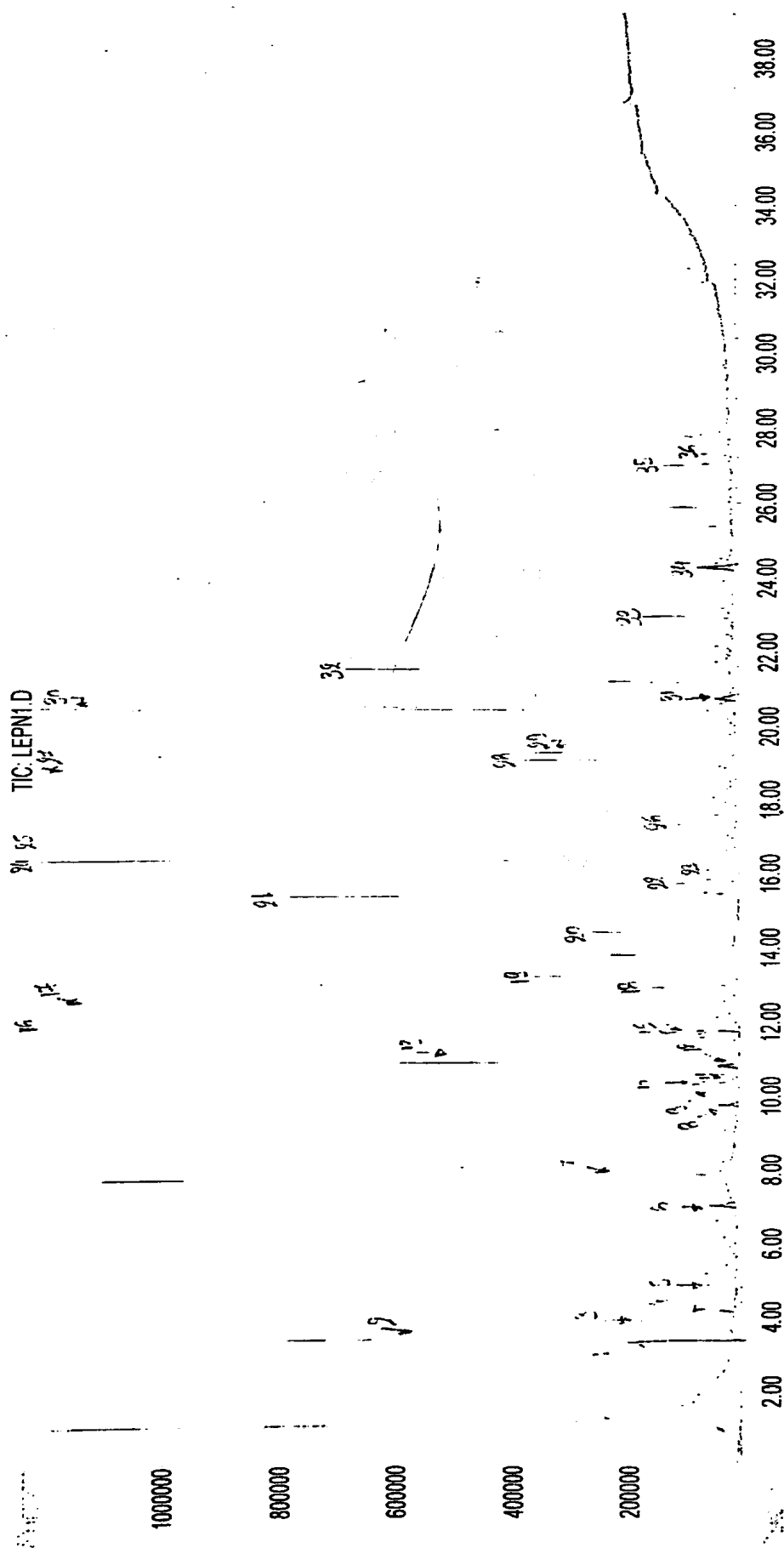


ενώσεων όπως τα τερπένια καμφένιο, μυρκένιο, 1,8-κινεόλη και γ-τερπινένιο (κορυφές No 6,8,12,14) και το οκτανοϊκό οξύ (κορυφή No 36).

Ενότητα 13. Είδη, Γενικά στοιχεία



Χρωματογράφημα 18. Είδος *Lepista nuda*



Το καμφένιο (camphene) είναι ένα δλυκλικό μονοτερπένιο. Είναι σχεδόν αδιάλυτο στο νερό, αλλά διαλυτό στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες. Εξατμίζεται άμεσα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και διαθέτει έντονη οσμή καμφοράς. Είναι συστατικό αρκετών αιθέριων ελαίων, όπως του τερεβινθελαίου, του κυπαρισσέλαιου, του ελαίου της καμφοράς (*Cinnamomum camphora*), της κιτρονέλλας (*Cymbopogon nardus*), του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλανθού, του τζίντζερ και της βαλεριάνας (*Valeriana officinalis*). Παράγεται βιομηχανικά με καταλυτικό ισομερισμό του α-πινενίου (α-pinene). Στα μέσα του 19^{ου} αιώνα χρησιμοποιείτο ως καύσιμη ύλη των λαμπτήρων, αλλά η χρήση του εγκαταλείφθηκε λόγω της μεγάλης ευφλεκτότητας του. Σήμερα, χρησιμοποιείται ως πρόσθετος αρωματικός παράγοντας σε καλλυντικά προϊόντα και τρόφιμα (JEFCA).

Το μυρκένιο (myrcene) ή β-μυρκένιο είναι μια φυσικά απαντώμενη οργανική ένωση που κατατάσσεται χημικά στην κατηγορία των μονοτερπενίων. Λαμβάνεται από το αιθέριο έλαιο αρκετών φυτών όπως της δάφνης (*Laurus nobilis*), της ιεροβοτάνης (βερβένα) και της μυρτιάς, από την οποία πήρε και το όνομα της. Συντίθεται με πυρόλυση του β-πινενίου. Είναι επίσης, ενδιάμεσο προϊόν για την βιομηχανική παραγωγή πρόσθετων αρωματικών, όπως η μενθόλη, η κιτρονελλόλη (citronellol), η γερανιόλη (geraniol), η νερόλη (nerol) και η λιναλοόλη (linalool). Αποτελεί ακόμη, βασικό αρωματικό συστατικό του πορτοκαλοχυμού των ποικιλιών Valencia late και Ovale calabresse, ενώ μαζί με το βαλενσένιο (valencene) από τα τερπένια και την εξανόλη και τη λιναλοόλη από τις αλκοόλες, είναι γνωστό ότι καθορίζει το ιδιαίτερο άρωμα των εσπεριδοειδών που διακρίνεται από φρουτώδεις νότες γρασιδιού (Maccarone et al., 1998). Ωστόσο, εκτός από συστατικό των πορτοκαλιών είναι και βασική αρωματική ένωση στα μανταρίνια των ποικιλιών Satsuma, Bodrum και Clemantine, με τη συγκέντρωση του να μειώνεται καθώς παρατείνεται ο χρόνος αποθήκευσης τους (Elmaci & Altug, 2005).

Τέλος, το μυρκένιο σε συνδυασμό με το α-πινένιο χρησιμοποιούνται από τα κολεόπτερα του είδους *Ips paraconfusus*, όπως πιθανόν και από άλλα είδη σκαθαριών του φλοιού των δέντρων, ως πρόδρομες ενώσεις για τη συσσώρευση φερομονικών συστατικών όπως η ιπενόλη (ipsenol), η ιπσντιενόλη (ipsdienol) και η cis-βερμπενόλη (cis-verbenol). Οι ενώσεις αυτές συγκεντρώνονται μόνο στα αρσενικά, που εκτείθενται στα πτητικά μονοτερπένια του δέντρου ξενιστή, όπως για παράδειγμα το μυρκένιο και μάλιστα με λογαριθμική σχέση. Το μυρκένιο με υδροξείλιωση



μετατρέπεται σε ιπενόλη και ιπσντιενόλη, ενώ το α-πινένιο σε cis- βερμπενόλη (Byers, 1990).

Η 1,8-κινεόλη ή ευκαλυπτόλη ανήκει επίσης στα μονοτερπένια, είναι άχρωμο υγρό, αδιάλυτο στο νερό, αλλά αναμίξιμο με αιθέρα, αιθανόλη και χλωροφόρμιο. Έχει σημείο ζέσεως τους 176°C και αποτελεί πάνω από το 90% της σύστασης του αιθέριου ελαίου διαφόρων ειδών ευκαλύπτου (π.χ. *Eucalyptus polybractea*). Ανευρίσκεται επίσης στα φύλλα της δάφνης, του βασιλικού, της αρτεμισίας, του δενδρολίβανου, και του φασκόμηλου. Όταν η καθαρότητα της ένωσης κυμαίνεται μεταξύ 99,6 έως 99,8%, μπορεί να παραχθεί σε μεγάλες ποσότητες με κλασματική απόσταξη του αιθέριου ελαίου του ευκαλύπτου (Boland et al., 1991).

Εξαιτίας της ιδιαίτερης οσμής του που θυμίζει μπαχαρικά, χρησιμοποιείται ως πρόσθετο σε αρώματα, καλλυντικά και τρόφιμα., ενώ φαίνεται ότι είναι και από τα συστατικά εκείνα που προσελκύουν τις αρσενικές μέλισσες της ορχιδέας που παράγουν τις αντίστοιχες φερομόνες. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται συνήθως στις εντομοπαγίδες που συλλαμβάνουν τα είδη αυτά, είτε για μελέτη, είτε για καταπολέμηση (Schiestl & Roubik, 2004).

Το γ-τερπινένιο (gamma-terpinene) ανήκει στην κατηγορία των μονοτερπενίων όπως το καμφένιο και το μυρκένιο και αποτελεί το πλέον σημαντικό συστατικό που εξάγεται από τα αιθέρια έλαια των εσπεριδοειδών, εμφανίζοντας ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Στους φυτικούς ιστούς παράγεται με την επίδραση του ενζύμου συνθετάση του γ-τερπινενίου, η οποία προκαλεί το σχηματισμό δακτυλίων από το διφωσφορικό γερανύλιο (geranyl diphosphate -GPP) (Suzuki et al., 2004). Αν και τα αιθέρια έλαια των εσπεριδοειδών χρησιμοποιήθηκαν εκτενώς στην παραδοσιακή ιατρική, με πολλές αναφορές για τη δράση τους στην συμπεριφορά του ασθενούς ή την διέγερση του πόνου, δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία για την επίδραση που ασκούν στους νευροδιαβιβαστές μετά από απορρόφηση ή λήψη εσωτερικά του εγκεφάλου. Μελέτη των Fukumoto et al. (2006), σχετικά με την επίδραση των ενώσεων αυτών στην απελευθέρωση μονοαμινών από εγκεφαλικούς ιστούς αρουραίων, έδειξε ότι το p-κουμόλιο, μεταβολίτης του γ-τερπινενίου που επίσης εμπεριέχεται στο αιθέριο έλαιο του λεμονιού, ασκεί μεγαλύτερη επίδραση στην αύξηση της αποδέσμευσης των ουσιών αυτών σε σχέση με την πρωτογενή ένωση.

Τέλος, το οκτανοϊκό ή καπρυλικό οξύ, είναι μια φυσικά απαντώμενη οργανική ουσία που συναντάται στις καρύδες και σε όλα τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Βιομηχανικά χρησιμοποιείται για την σύνθεση εστέρων που αξιοποιούνται στην

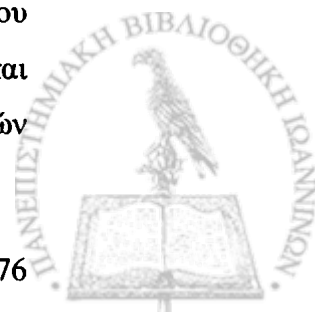


παραγωγή αρωμάτων και βαφών. Επίσης, είναι γνωστό ότι διαθέτει αντιμυκητιακές ιδιότητες και συστήνεται για την θεραπεία της στοματίτιδας που προκαλείται από τα διάφορα στελέχη του γένους *Candida sp.* Ωστόσο, εμφανίζει και σημαντική αντιβακτηριδιακή δράση. Είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό, διότι εξαιτίας του μικρού σχετικά μήκους της ανθρακικής του αλυσίδας, έχει την ικανότητα να διεισδύει στις λιπώδεις μεμβράνες των κυτταρικών τοιχωμάτων. Για το λόγο αυτό προκαλεί αναστολή της δράσης των βακτηριών που διαθέτουν τέτοιου είδους μεμβράνες όπως ο *Staphylococcus aureus* και διάφορα είδη του γένους *Streptococcus* (Nair et al., 2005). Στο είδος, *Macrolepiota procera*, ταυτοποιήθηκαν συνολικά 26 ενώσεις (Πίνακας 20, Χρωματογράφημα 19), με σημαντικότερη σε ποσοστό την ένωση 3-οκτανόνη με συγκέντρωση 74,70%, τη μεγαλύτερη που έχει μέχρι στιγμής παρατηρηθεί σε οποιοδήποτε άλλο είδος καρποσώματος που αναλύθηκε.

Πίνακας 20. % σύσταση πτητικών ενώσεων του είδους *Macrolepiota procera*

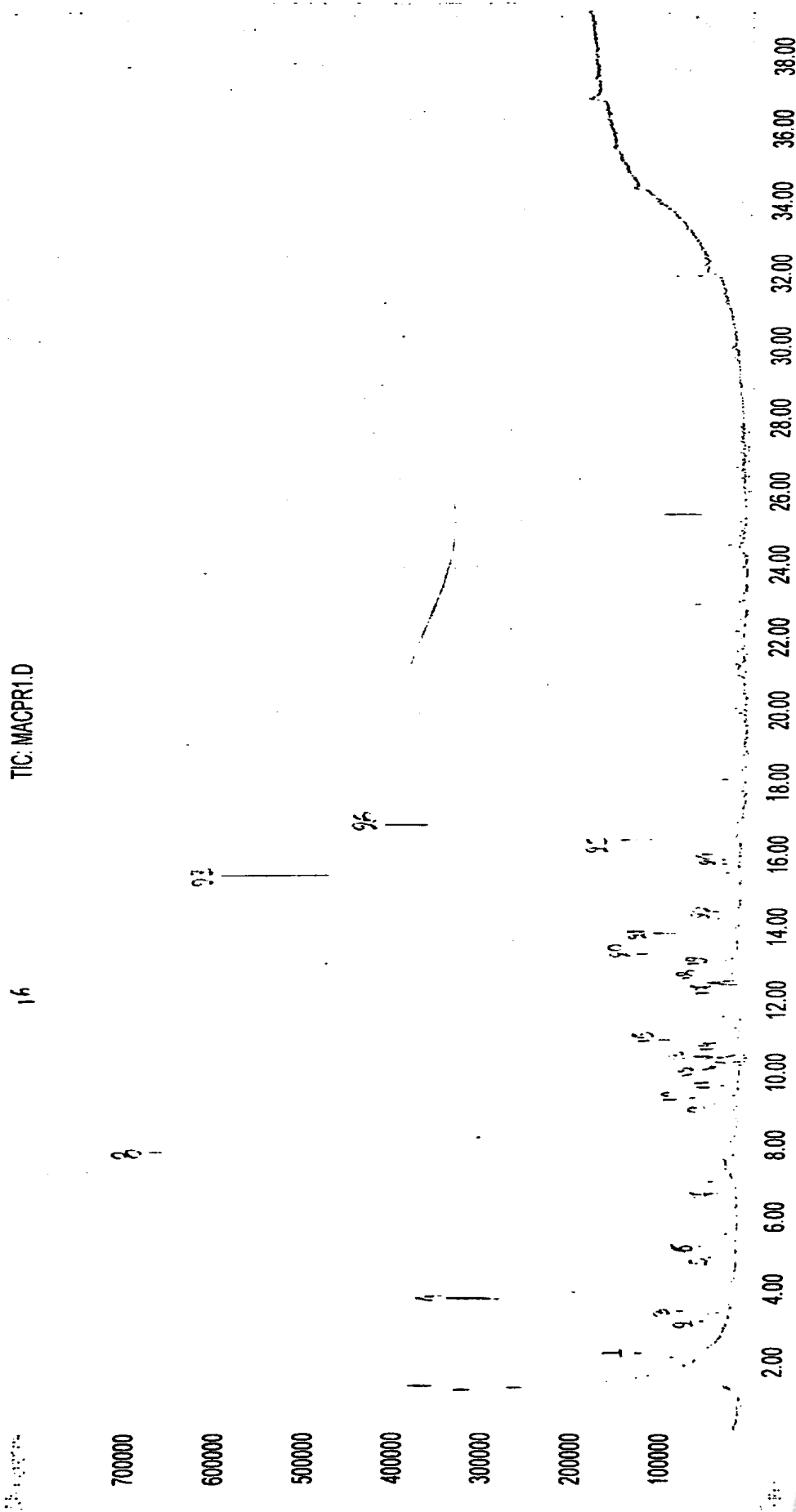
Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %	Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %
07	826	2-προπανόνη	0,64	10,60	1216	Λεμονένιο	0,17
11	919	2-βουτανόνη	0,29	10,93	1230	2-μέθυλ-1-βουτανόλη	0,72
40	933	3-μέθυλ βουτανάλη	0,59	12,08	1278	3-οκτανόνη	74,70
88	957	2,2,4,6,6-πενταμεθύλ-επτάνιο	2,22	12,45	1294	p-κουμόλιο	0,25
84	1003	Πεντανάλη	0,47	12,81	1309	2-οκτανόνη	0,32
118	1014	2-εξανόνη	0,57	12,93	1314	Οκτανάλη	0,32
97	1075	3-εξανόνη	0,28	13,24	1326	1-οκτέν-3-όνη	0,93
77	1102	Εξανάλη	6,22	13,80	1350	2-επτανάλη	0,86
09	1155	Ξυλόλιο	0,25	14,13	1363	6-μεθύλ-5-επτέν-2-όνη	0,21
22	1160	p-ξυλόλιο	0,42	15,40	1416	3-οκτανόλη	4,49
63	1177	3-επτανόνη	0,17	15,85	1435	3-οκτέν-2-όνη	0,18
32	1204	2-επτανόνη	0,24	16,40	1457	2-οκτενάλη	1,21
40	1207	Επτανάλη	0,22	16,80	1473	1-οκτέν-3-όλη	3,05

Η 3-οκτανόνη διαθέτει γλυκιά, φρουτώδη οσμή ή άρωμα λουλουδιών και αιθέρα. ενώ έχει περιγραφεί και από αρκετούς ερευνητές ότι προσδίδει ιδιαίτερη οσμή μανιταριού όπου προστίθεται (Cronin & Ward, 1971, Mau et al., 1994). Επίσης, κατά τη διάρκεια της κονσερβοποίησης, όπου λαμβάνει χώρα η τεχνική του ζεματίσματος για την συρρίκνωση των ιστών, την αδρανοποίηση των ενζύμων και την μείωση του μικροβιακού πληθυσμού, ένα μεγάλο ποσοστό των διαλυτών



συστατικών των μανιταριών, χάνεται στο νερό του ζεματίσματος. Από τις ενώσεις με 8-άτομα άνθρακα που ανιχνεύονται στα φρέσκα δείγματα, μόνο η 1-οκτέν-3-όλη και η 3-οκτανόνη ταυτοποιούνται στον τελικό χυμό κονσερβοποίησης του προϊόντος (Mau et al., 1994). Εξάλλου, η παρουσία των 2 αυτών ενώσεων σε πολύ υψηλές τιμές στα δείγματα των φρέσκων καρποσωμάτων πιστοποιεί ότι η δραστηριότητα των ενζύμων λιποξυγενάση και υδροϋπεροξειδίου της λυάσης (hydroperoxide lyase) που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή ενώσεων με 8-άτομα άνθρακα από το λινελαϊκό οξύ, είναι ισχυρότερη στα είδη αυτά. (Overton & Manura, 1999).

Χρωματογράφημα 20. Είδος *Macrolepisma procera*



Αν και το είδος *Pleurotus ostreatus* είναι ένα από τα πλέον κοινά καλλιεργούμενα είδη παγκοσμίως (Bano & Rajarathnam, 1987) ελάχιστα είναι γνωστά για τα πτητικά συστατικά που παράγονται από τα φρέσκα καρποσώματα του. Μελέτη των Mau et al., (1998), σχετικά με τα αρωματικά συστατικά του είδους *Pleurotus eryngii*, κατέδειξε ότι οι ενώσεις που καθορίζουν το αρωματικό προφίλ του είδους είναι η 3-οκτανόνη, η 1-οκτέν-3-όνη, η 3-οκτανόλη, η 1-οκτέν-3-όλη, η βενζαλδεΐδη, η 1-οκτανόλη και η 2-οκτέν-1-όλη. Το μεγαλύτερο όμως ποσοστό στα φρέσκα καρποσώματα εμφάνισε η βενζαλδεΐδη, γεγονός που πιστοποιεί το εμπειρικό όνομα του είδους ως αμυγδαλωτός πλευρωτός.

Αντίστοιχα, έρευνα των Rajarathnam & Bano, (1988), για το είδος *Pleurotus flabellatus*, απέδειξε την παρουσία ενώσεων όπως η 2-πεντανόνη, 3-πεντανόνη, 2-μέθυλ-3-πεντανόλη, 2-πεντανόλη, 3-οκτανόνη, 1-οκτέν-3-όνη και 1-οκτέν-3-όλη. Οι πλέον πρόσφατες και μοναδικές μελέτες για το συγκεκριμένο είδος μανιταριού είναι αυτές των Lizarraga-Guerra et al., (1997), σχετικά με την ταυτοποίηση των σημαντικότερων αρωματικών στον πλευρώτο τον οστρεώδη και στον Βασιδιομύκητα *Ustilago maydis*, ο οποίος είναι και η κύρια αιτία ανάπτυξης ερυσίβης στο καλαμπόκι και αυτή των Beltran-Garcia et al., (1997) και Wood et al., (2000) για τα πτητικά συστατικά του *Pleurotus ostreatus* και τις αντιβακτηριδιακές τους ιδιότητες.

Στην παρούσα διατριβή ταυτοποιήθηκαν συνολικά 20 πτητικές ενώσεις (Πίνακας 21) με σημαντικότερες σε ποσοστό τις 3-μέθυλ-βουτανάλη, εξανάλη, 3-οκτανόνη, 3-οκτανόλη και 1-οκτέν-3-όλη. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε πλήρη συμφωνία με εκείνα προγενεστέρων επιστημονικών ερευνών, οι οποίες αποδεικνύουν ότι οι σημαντικότερες ενώσεις που συμβάλλουν καταλυτικά στον προσδιορισμό του αρωματικού χαρακτήρα του είδους είναι η εξανάλη και η οκτανάλη (Lizarraga-Guerra et al., 1997), αλλά και η 3-οκτανόνη, 3-οκτανόλη, 1-οκτέν-3-όλη, η βενζαλδεΐδη, η οκτανόλη και το βενζοϊκό οξύ (Beltran-Garcia et al., 1997).



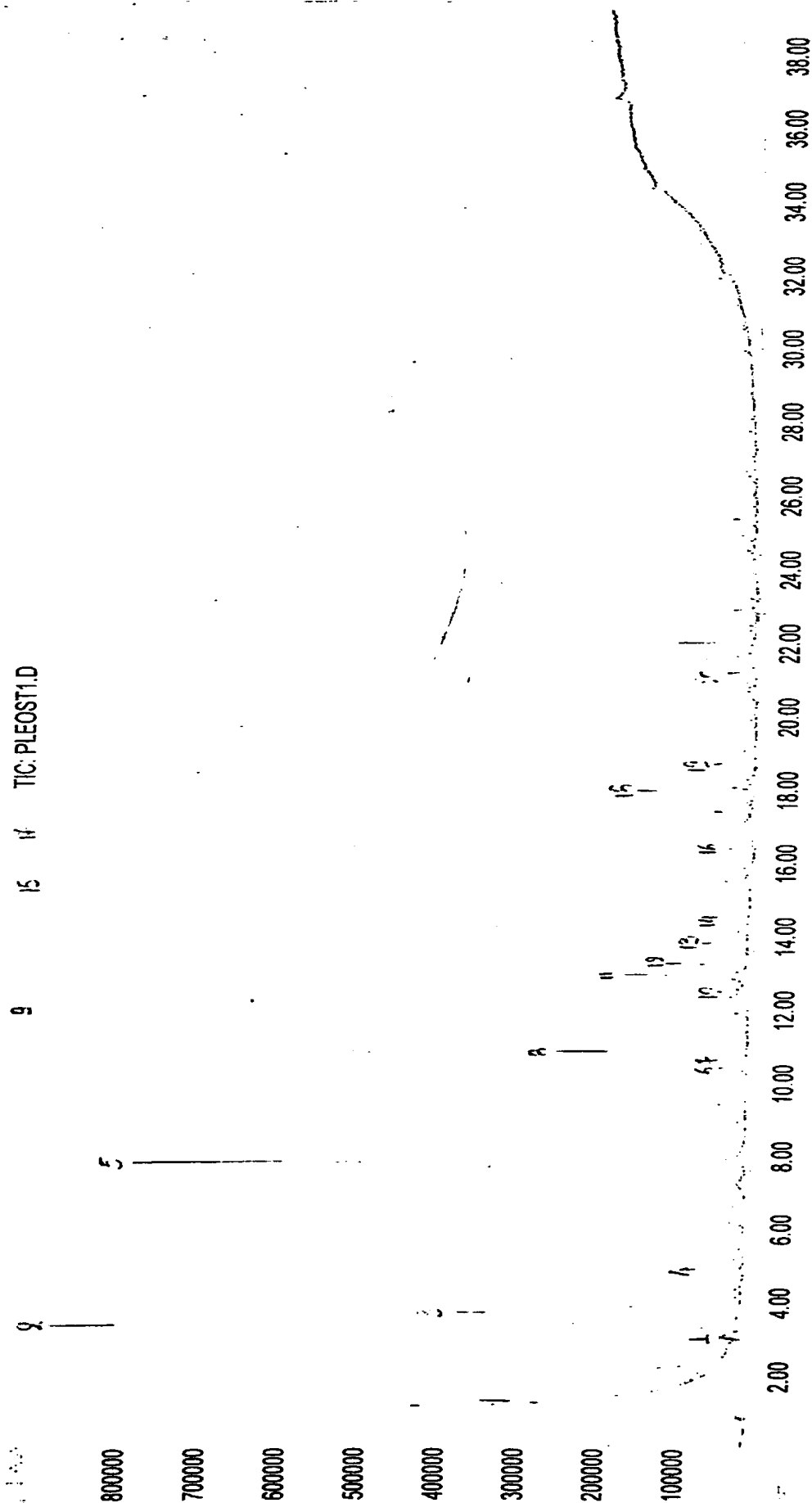
Πίνακας 21. % σύσταση πτητικών ενώσεων του είδους *Pleurotus ostreatus*

Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %	Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %
3,30	928	2-μέθυλ-βουτανάλη	0,19	12,93	1314	Οκτανάλη	0,69
4,40	933	3-μέθυλ-βουτανάλη	5,39	13,24	1326	1-οκτέν-3-όνη	0,51
5,88	957	2,2,4,6,6-πενταμεθύλ-επτάνιο	1,05	13,81	1350	2-επτανάλη	0,31
6,86	1003	Πεντανάλη	0,43	14,42	1375	Εξανόλη	0,18
7,77	1102	Εξανάλη	4,27	15,40	1416	3-οκτανόλη	9,93
10,40	1207	Επτανάλη	0,19	16,40	1457	2-οκτενάλη	0,20
10,60	1216	Λεμονένιο	0,31	16,79	1473	1-οκτέν-3-όλη	27,22
10,92	1229	3-μέθυλ-1-βουτανόλη	1,17	17,98	1524	α -longipinene	0,88
12,07	1278	3-οκτανόνη	46,20	18,72	1557	Βενζαλδεΐδη	0,33
12,46	1294	p-κουμόλιο	0,17	21,14	1678	Υακινθίνη	0,39

Ειδικότερα οι ενώσεις 3-οκτανόνη, 3-οκτανόλη και 1-οκτέν-3-όλη φαίνεται ότι διαθέτουν έντονη αντιβακτηριδιακή δράση, αφού αποδεικνύεται ότι αναστέλλουν την ανάπτυξη των βακτηρίων *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* και *Salmonella typhimurium* (Beltran-Garcia et al., 1997). Αλλά και οι ενώσεις 2-εξανόλη και εξανάλη που παράγονται από τα περισσότερα φυτά (Lyt & Banasiak, 1983), εμφανίζουν διευρυμένη βακτηριδιοκτόνο δράση. Θεωρούνται πιθανόν ως αέριες μορφής φυτοαλεξίνες (phytoalexins), που χρησιμοποιούνται για την προστασία των φυτικών ιστών από μικροβιακούς εισβολείς. Ειδικότερα ο ερευνητής Deng et al., (1993), διαπίστωσε ότι η εξανάλη αναστέλλει την ανάπτυξη της *Escherichia coli* και της *Pseudomonas syringae*, ενώ ο Kubo et al., (1993), ότι η οκτανόλη ως βασικό αρωματικό συστατικό πολλών ειδών μανιταριών και του τσαγιού από το φυτό *ilex paraguensis* (mate tea), επιδεικνύει ανασταλτική δράση μεταξύ των αλκοολών, κατά τον πολλαπλασιασμό πολλών μικροοργανισμών. Ωστόσο, στο χρωματογράφημα του είδους, διαπιστώνεται και η παρουσία ενός τερπενίου του α -λονγκιπινενίου (κορυφή No 18), με συγκέντρωση 0,88%.



Χρωματογράφημα 20. Είδος *Pleurotus ostreatus*



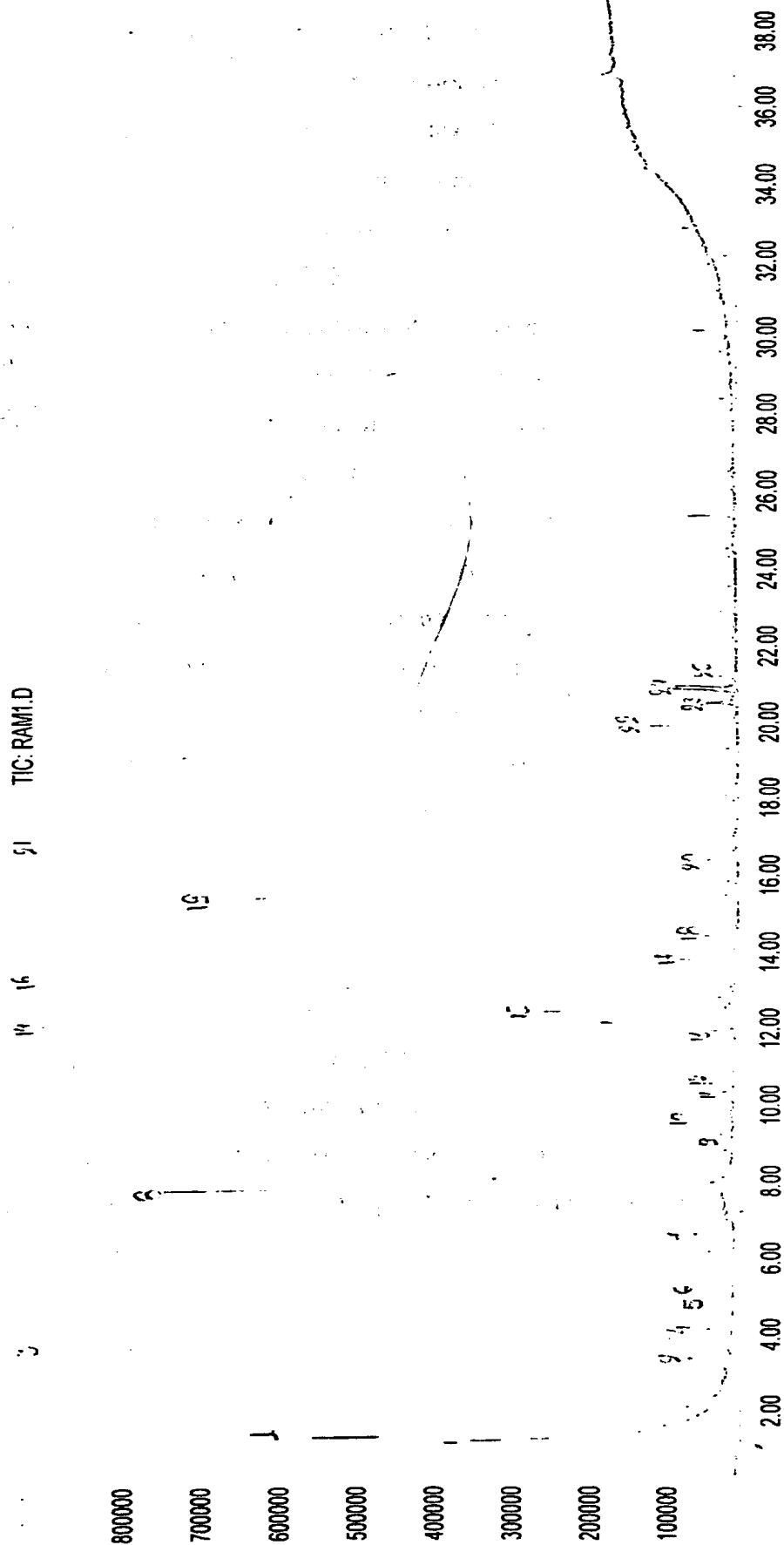
Για το είδος *Ramaria larentii* δεν υπάρχουν δυστυχώς βιβλιογραφικά δεδομένα που να προσδιορίζουν το αρωματικό προφίλ του καρποσώματος. Στην παρούσα διδακτορική διατριβή προσδιορίστηκαν συνολικά 25 πτητικά συστατικά (Πίνακας 22), με καθοριστικότερα σε ποσοστό όπως και στο σύνολο των ειδών, εκείνα με 8 άτομα άνθρακα (3-οκτανόνη, 1-οκτεν-3-όλη, 3-οκτανόλη, 1-οκτεν-3-όνη).

Πίνακας 22. % σύσταση πτητικών ενώσεων του είδους *Ramaria larentii*

Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση	Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση
1,45	759	Ακεταλδεϋδη	1,83	12,08	1278	3-οκτανόνη	65,49
3,38	933	3-μέθυλ-βουτανάλη	0,38	12,45	1294	p-κουμόλιο	1,48
3,88	957	2,2,4,6,6-πενταμεθύλ-επτάνιο	0,75	13,24	1326	1-οκτέν-3-όνη	7,15
4,13	969	3-κυκλοεπτέν-1-όνη	0,27	13,80	1350	2-επτανάλη	0,42
4,86	1003	Πεντανάλη	0,35	14,41	1375	Εξανόλη	0,27
5,17	1014	2-μέθυλ-πεντανάλη	0,46	15,40	1416	3-οκτανόλη	3,49
6,62	1063	Μεθύλφουλβένιο	0,47	16,40	1457	2-οκτενάλη	0,22
7,78	1102	Εξανάλη	4,52	16,85	1473	1-οκτέν-3-όλη	10,25
9,22	1160	p-Ξυλόλιο	0,12	19,89	1611	a-φαρνεζένιο	0,69
9,63	1177	3-επτανόνη	0,29	20,33	1634	a-τερπινένιο	0,09
10,40	1207	Επτανάλη	0,16	20,49	1643	2-οκτέν-1-όλη	0,31
10,60	1216	Λεμονένιο	0,21	21,20	1681	(+ -)-γυμνομιτρένιο	0,13
11,92	1271	Πεντανόλη	0,18				

Ωστόσο, καταγράφεται για πρώτη φορά μεταξύ των ειδών και η παρουσία 3 τερπενίων, του μεθύλφουλβενίου (Methylfulvene), του α-φαρνεζενίου (a-farnesene) και του (+ -)- γυμνομιτρενίου [(+ -)-gymnomitrene] (κορυφές No 7, 22, και 25, Χρωματογράφημα 21).

Χρωματογράφημα 21. Είδος *Ramaria largentii*



Τα α- και β- φαρνεζένια (farnesene) είναι ισομερείς οργανικές ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των σεσκιτερπενοειδών. Το α φαρνεζένιο (α-farnesene) είναι το 3,7,11-τριμέθυλ-1,3,6,10-δωδεκατετραένιο, ενώ το β-φαρνεζένιο είναι η ένωση 7,11-διμέθυλ-3-μεθυλέν-1,6,10-δωδεκατριένιο. Το πρώτο ισομερές διαθέτει 4 στερεοϊσομερή που διαφέρουν ως προς τη γεωμετρία των 2 εκ των 3 εσωτερικών διπλών δεσμών (τα E και Z στερεοϊσομερή του τρίτου διπλού εσωτερικού δεσμού είναι ταυτόσημα) (Gibson, & Pickett, 1983).

Ωστόσο, το πλέον γνωστό ισομερές είναι το α-(E,E)-φαρνεζένιο, το οποίο βρίσκεται στο φλοιό των μήλων, αλλά και άλλων φρούτων και που η οξείδωση του από το οξυγόνο της ατμόσφαιρας έχει ως συνέπεια την παραγωγή συστατικών που προκαλούν ζημιές στον καρπό. Αυτά τα προϊόντα οξείδωσης τραυματίζουν τις κυτταρικές μεμβράνες, με αποτέλεσμα να προκαλούν θανάτωση των κυττάρων στα εξώτατα κυτταρικά στρώματα των καρπών, προκαλώντας έτσι με την αποθήκευση το γνωστό φαινόμενο εμφάνισης εγκαυμάτων. Η ένωση αυτή έχει χαρακτηριστική οσμή πράσινου μήλου, ενώ έχει απομονωθεί και από το αιθέριο έλαιο της μέντας τους γένους *Perilla*. Τόσο το α- όσο και το β-φαρνεζένιο είναι φερομόνες εντόμων και πολλά φυτά μεταξύ των οποίων και η αγριοπατατιά συνθέτουν τις φερομόνες αυτές ως φυσικό εντομοαπωθητικό. Τούτο συμβαίνει διότι οι ενώσεις αυτές απελευθερώνονται από τις αφίδες κατά τη διάρκεια του θανάτου τους, ως φερομόνες προειδοποίησης κινδύνου, με σκοπό την απομάκρυνση των υπολοίπων μελών της κοινότητας (Gibson, & Pickett, 1983).

Το πλέον ενδιαφέρον στοιχείο που προκύπτει από την ανάλυση του καρποσώματος του είδους *Russula delica* είναι το γεγονός ότι μεταξύ των 32 συνολικά ταυτοποιημένων ενώσεων (Πίνακας 23), ανιχνεύονται έστω και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις 11 τερπένια (κορυφές No12,14,16,17,22,23,25,26,29,30,31, Χρωματογράφημα 22) κάτι που παρατηρήθηκε μόνο κατά την ανάλυση του είδους *Hygrophorus russocoreacius*.

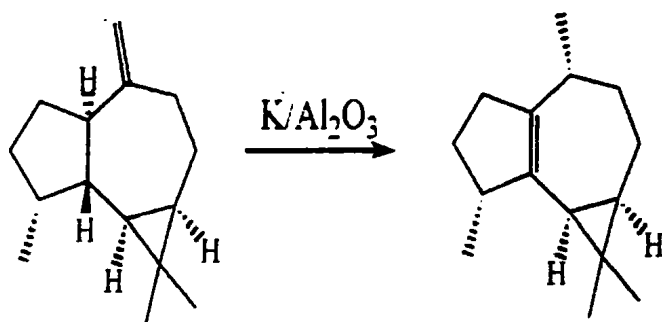


Πίνακας 23. % σύσταση πτητικών ενώσεων του είδους *Russula delica*

Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %	Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %
1,45	759	Ακεταλδεϋδη	0,53	14,87	1394	(-)-ισολεντένιο	0,21
2,04	824	2-μέθυλ- προπανάλη	0,30	15,40	1416	3-οκτανόλη	3,68
2,29	852	1-οκτένιο	0,82	15,86	1435	3-οκτέν-2-όνη	0,20
3,30	928	2-μέθυλ- βουτανάλη	0,27	16,40	1457	2-οκτενάλη	0,71
3,40	933	3-μέθυλ- βουτανάλη	0,54	16,79	1473	1-οκτέν-3-όλη	1,19
3,88	957	2,2,4,6,6- πενταμεθύλ- επτάνιο	0,32	17,08	1485	Trans- καρνοφυλλένιο	0,06
4,13	969	3-κυκλοεπτέν-1- όνη	0,15	17,25	1492	a- Γκουαϊένιο	0,14
6,96		3-εξανόνη	0,14	18,72	1557	Βενζαλδεϋδη	0,90
7,77	1102	Εξανάλη	4,68	18,89	1564	D-Γερμακρένιο	0,49
9,12	-	Ξυλόλιο	0,09	19,80	1606	Νεοαλλοκουμόλ ιο	0,04
10,40	1207	Επτανάλη	0,20	20,20	1627	2-ενδεκανόνη	0,22
10,60	1216	Λεμονένιο	0,10	20,97	1668	4-νονανόνη	0,21
12,08	1278	3-οκτανόνη	78,53	21,95	1724	Άλλο- αρομαδενδρένιο	0,06
12,45	1294	p-κουμόλιο	1,21	23,06	1791	b-καδινένιο	0,06
13,24	1326	1-οκτέν-3-όνη	3,09	25,74	>2000	a-αμορφένιο	0,07
13,28	1328	a- Γκουρτζουνένιο	0,67	29,62	>2000	Αιθυλεστέρας δεκατριανοϊκού οξέος	0,12

Το (-)-ισολεντένιο είναι ένα σесκιτερπένιο το οποίο βρίσκεται εξαιρετικά σπάνια σε διάφορους φυτικούς ιστούς. Έχει προς το παρόν απομονωθεί από τα αιθέρια έλαια των ειδών *Citrus aurantifolia* και *Cistus ladaniferus* (Lamers, 2003), στα οποία βρίσκεται σε πολύ μικρές ποσότητες. Επίσης, έχει ανευρεθεί στα αιθέρια έλαια των φύλλων και του κορμού των φυτών *Rhododendron adamsii*, *R. aureum*, και *R. Dauricum* (Rogachev et al., 2006). στο έλαιο των φύλλων ευκαλύπτου των ειδών *Eucalyptus resinifera* Smith, *Eucalyptus tereticornis* Smith και *Corymbia maculata* (Hook.) K. D. Hill & L. A. S. Johnson (Pino et al., 2002), καθώς και στο αιθέριο έλαιο που εξάγεται από τα φύλλα του *Juniperus macropoda* (Srivastava. et al., 2005). Όμως, σημαντικές ποσότητες του σесκιτερπενίου αυτού μπορούν να εξαχθούν από το τερπένιο (+)- αρομαδενδρένιο, όταν αυτό κατεργαστεί με κάλιο και καταλύτη οξειδίου του αλουμινίου (K/Al_2O_3) (Lamers, 2003).

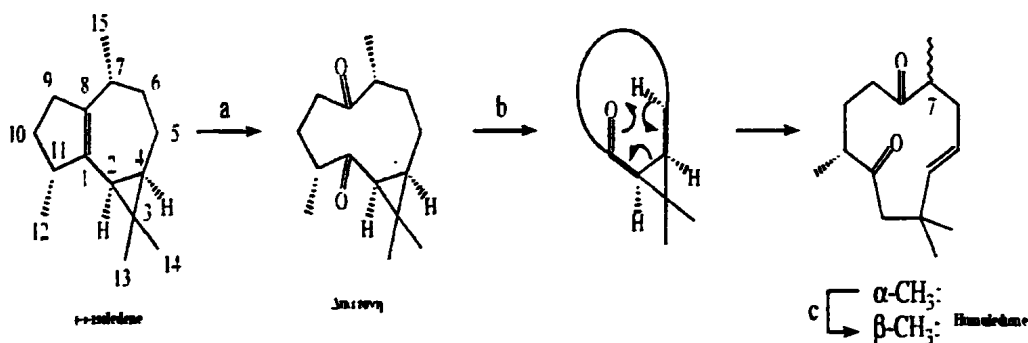




(+)-aromadendrene

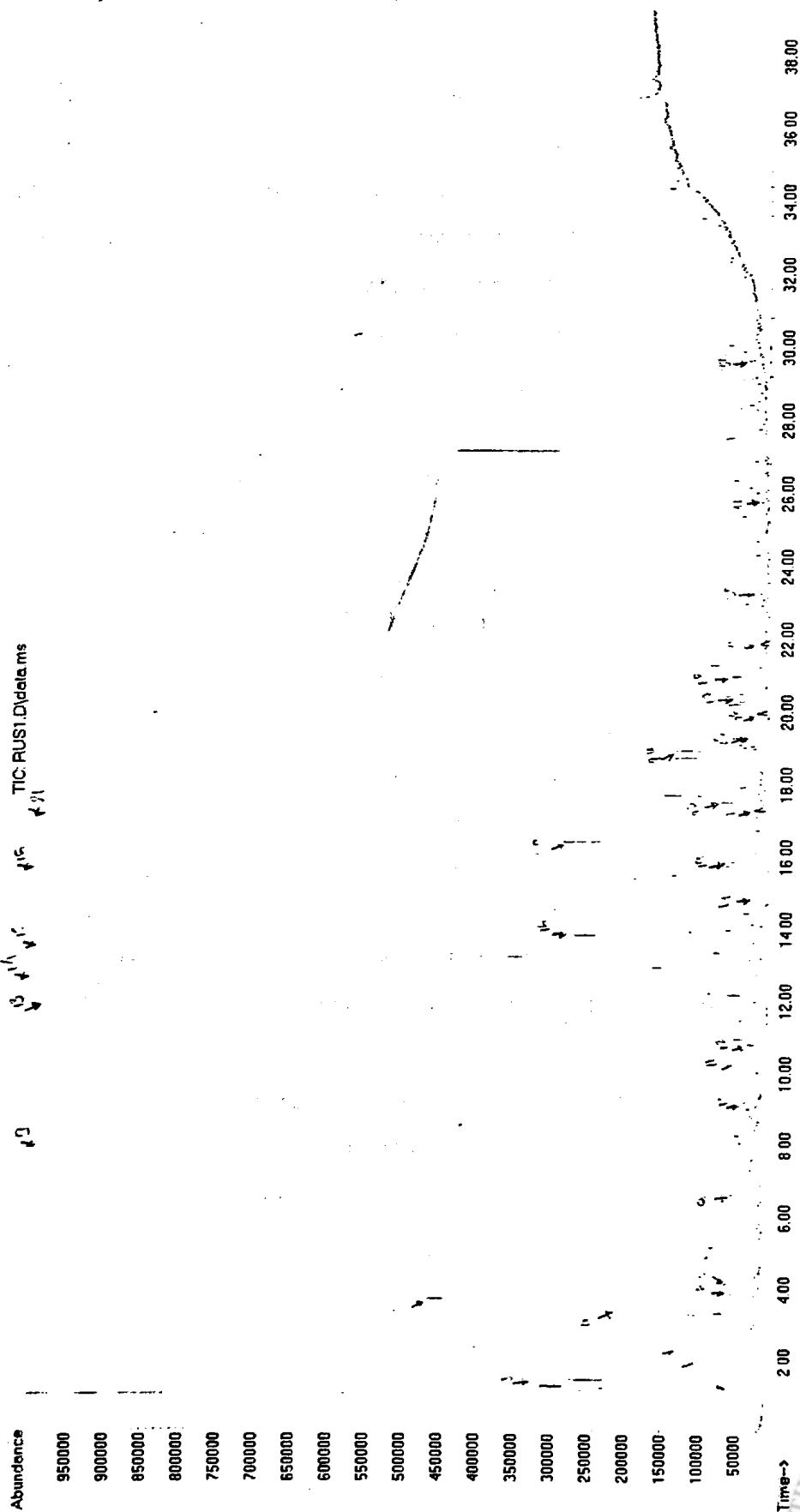
(-)-isolekene

Ωστόσο, το (-)-ισολεντένιο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη για την σύνθεση άλλων φυσικά απαντώμενων σεσκιτερπενοειδών, όπως για παράδειγμα των ενώσεων χουμουλεντιόνη (humuledione) και (-)-κουμπενόλη [(-)-cubenol]. Ειδικότερα, για το σχηματισμό χουμουλεντιόνη, ο διπλός δεσμός του (-)-ισολεντενίου οξειδώνεται με RuO_2 , παρουσία NaIO_4 , ώστε να παραχθεί δικετόνη. Η θερμική επαναδιευθέτηση της δικετόνης στους 100°C , οδηγεί στην σύνθεση ενδιάμεσων προϊόντων, των οποίων η αμοιβαία αλλαγή θέσης H και OH στον C που βρίσκεται δίπλα στην καρβονυλική ομάδα στη θέση C7 με NaOMe σε MeOH οδηγεί στο σχηματισμό χουμουλεντιόνης κατά την αντίδραση (Lamers, 2003):



a: RuO_2 , NaIO_4 ; b: 1,4-dioxane, reflux; c: NaOMe , MeOH .

Χρωματογράφημα 22. Είδος *Russula delica*



Time-->



Για αιώνες στην Ανατολική Ασία, ποικίλα τμήματα των δέντρων των πεύκων, όπως οι βελόνες, τα κουκουνάρια, ο φλοιός, αλλά και η γύρη χρησιμοποιούνται ευρέως για τη βελτίωση της υγείας ως φαρμακευτικά προϊόντα σε παραδοσιακές ιατρικές τεχνικές, αλλά και ως τρόφιμα. Σύμφωνα, με τα ιερά βιβλία των Βουδιστών και της Yoga, αφεψήματα πευκοβελόνων χρησιμοποιείται είτε ως τονωτικό σώματος και πνεύματος, είτε ως αρωματικό παραδοσιακών φαγητών. Μελέτη των Kim & Chung (2000) για τα πτητικά αρωματικά συστατικά του τσαγιού που προέρχεται από πευκοβελόνες ή βλαστούς του δέντρου, απέδειξε την ύπαρξη ως βασικών αρωματικών ενώσεων μεταξύ άλλων τις ενώσεις trans-καρυοφυλλένιο (trans-caryophyllene) και b-καντινένιο (b-cadinene), οι οποίες ανιχνεύονται έστω και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στο είδος *Russula delica*.

Αντίστοιχα η ένωση α-γκουαϊένιο (α-guaiene) βρίσκεται στο αιθέριο έλαιο του βασιλικού (*Ocimum basilicum* L.), το οποίο εμφανίζει αντιμεταλλακτικές ιδιότητες επί των στελεχών του είδους *Salmonella typhimurium* TA 100 (Stajkovic et al., 2007), καθώς και στον φλοιό του μάγκο μαζί με άλλα 3 σεσκιτερπένια το γερμακρένιο D (germacrene D), το α-αμορφένιο (α-amorphene) και το α-μουουρολένιο (α-muurolene) (Lalel et al., 2003), τα 2 πρώτα εκ των οποίων απαντώνται και στο καρπόσωμα της *Russula delica*. Επειδή τα σεσκιτερπένια αυτά ανιχνεύονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις μόνο στην επιδερμίδα του μάγκο και σε κανένα άλλο τμήμα του μεσοκαρπίου, είναι πιθανόν να αποτελούν πτητικά αρωματικά συστατικά μόνο της επιδερμίδας (Lalel et al., 2003), γεγονός που μπορεί πιθανόν να εξηγεί και στην περίπτωση των μανιταριών ότι οι ενώσεις αυτές πιθανόν ανιχνεύονται μόνο στην επιδερμίδα του καπέλου και για το λόγο αυτό η συγκέντρωσή τους είναι εξαιρετικά μικρή.

Ακόμη, το σεσκιτερπένιο α-γκουρτζουνένιο (α-Gurjunene) που ανιχνεύθηκε στο καρπόσωμα του είδους *Russula delica* σε ποσοστό 0,67% αποτελεί συστατικό του αιθέριου ελαίου του είδους *Erigeron karwinskianus* (0,8%), το οποίο είναι ενδημικό φυτό του Μεξικό που μοιάζει με την μαργαρίτα και χρησιμοποιείται ευρέως από τους ιθαγενείς Ινδιάνους ως φαρμακευτικό σκεύασμα. Σημαντικά όμως συστατικά του ελαίου αυτού αποτελούν οι ενώσεις γερμακρένιο D (Germacrene D) και α-γκουαϊένιο (α-guaiene) με ποσοστό 21%, trans-καρυοφυλλένιο (trans-caryophyllene) (6,8%), ισομερή του καντινενίου (cadinene) και του α-φαρνεσένιου (α-farnesene) (8%) που ανιχνεύθηκαν τόσο στο είδος αυτό, όσο και στο είδος *Ramaria largentii* (Pieribattesti et al., 1988).



Τέλος, όσον αφορά το είδος *Suillus granulatus*, ταυτοποιήθηκαν συνολικά 17 πτητικές ενώσεις (Πίνακας 24) με σημαντικότερες σε ποσοστό τις 3-οκτανόνη, p-κουμόλιο, οκτανάλη, 3-οκτανόλη, 2-οκτενάλη, οκτανόλη και 2-οκτεν-1-όλη.

Η οκτανόλη είναι μια αλκοόλη ευθείας αλυσίδας με 8 άτομα άνθρακα και χημικό τύπο $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{OH}$. Αν και ο όρος οκτανόλη αναφέρεται συνήθως στην ένωση 1-οκτανόλη, εντούτοις υπάρχουν και άλλες 3 ισομερείς ενώσεις οι 2-οκτανόλη, η 3-οκτανόλη που συνήθως απαντάται στα περισσότερα είδη φρέσκων καρποσωμάτων εδώδιμων μακρομυκήτων και η 4-οκτανόλη.

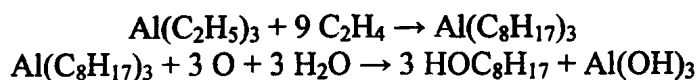
Πίνακας 24. % σύσταση πτητικών ενώσεων του είδους *Suillus granulatus*

	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %	Rt	RI	Ένωση	Συγκέντρωση %
1.4	759	Ακεταλδεϋδη	0,54	14,42	1375	Εξανόλη	0,15
1.4	781	Επτένιο	0,11	15,40	1416	3-οκτανόλη	6,54
3.4	933	3-μεθύλ-βουτανάλη	0,12	16,40	1457	2-οκτενάλη	8,45
4.	970	1,3-οκταδιένιο	0,14	16,80	1473	1-οκτέν-3-όλη	30,39
128	1278	3-οκτανόνη	3,49	18,72	1557	Βενζαλδεϋδη	0,20
125	1294	p-κουμόλιο	1,29	19,30	1583	Οκτανόλη	7,12
	1314				1621	2,4-οκταδιενάλη	0,31
123		Οκτανάλη	1,25	20,10			
135	1326	1-οκτέν-3-όνη	0,71	20,49	1643	2-οκτέν-1-όλη	39,07
	1363	6-μεθύλ-5-επτέν-2-όνη	0,12				
143							

Στην περίπτωση του είδους *Suillus granulatus* η συνολική συγκέντρωση των 2 ισομερών (οκτανόλης και 3-οκτανόλης) ανέρχεται στο 13,66% του συνόλου των πτητικών συστατικών. Η πρωταρχική χρήση της ένωσης ήταν στην παραγωγή με φυσικό ή συνθετικό τρόπο εστέρων όπως ο οξικός οκτυλεστέρας (octyl acetate) που χρησιμοποιείται στην αρωματοποιία. Άλλες χρήσεις περιλαμβάνουν πειραματικές ιατρικές εφαρμογές, οι οποίες αξιοποιούν την οκτανόλη για τον έλεγχο του κινητικού ρίγους (Essential tremor), αλλά και άλλων τύπων ακούσιων νευρολογικών ριγών (ClinicalTrials.gov).

Η οκτανόλη συντίθεται βιομηχανικά με πολυμερισμό (oligomerization) του αιθυλενίου κάνοντας χρήση τριεθυλαλουμινίου (triethylaluminium), ενώ ακολουθεί οξείδωση των προϊόντων αλκυλαλουμινίου. Η συνολική διαδικασία έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μιας ευρείας γκάμας αλκοολών, οι οποίες διαχωρίζονται με απόσταξη (Falbe et al., 2002).

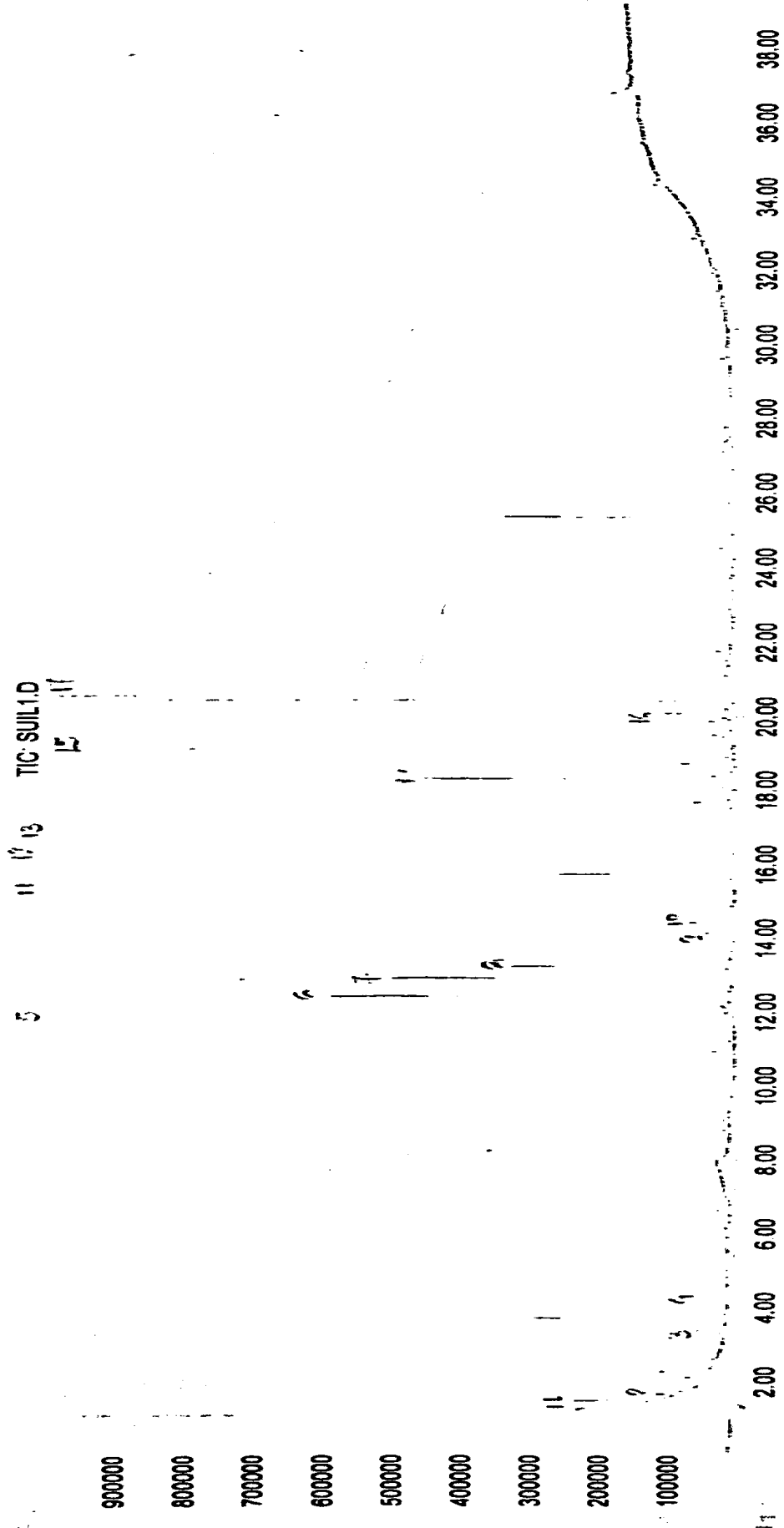




Σημαντικό ποσοστό όμως επί του συνόλου των πτητικών συστατικών κατέχει και η ένωση 2-οκτενάλη (κορυφή No 12, Χρωματογράφημα 23) με συγκέντρωση 8,45%. Η ένωση διαθέτει ιδιάζον άρωμα γρασιδιού, το οποίο είναι λιγότερο έντονο σε σχέση με το άρωμα της οκτανάλης που θυμίζει πορτοκάλι, μέλι ή κονιάκ. Η 2-οκτενάλη είναι πιθανόν ότι σχηματίζεται από την 3-νονενάλη, η οποία με τη σειρά της προέρχεται από αποικοδόμηση του λινελαϊκού οξέος (Spanier et al., 1999). Βιομηχανικά, παράγεται με παρατεταμένη θέρμανση διαλύματος επτανάλης και φορμαλδεΐδης υπό την παρουσία διμεθυλαμίνου υδροχλωριδίου (dimethylamino hydrochlorid) με θέρμανση 4,5-δικετο-3-πεντυλ-τετραϋδροφουρανίου (4,5-diketo-3-pentyltetrahydrofuran) κάτω από στρώμα αζώτου (nitrogen blanket) (Burdo, 1997).



Χρωματογράφημα 23. Είδος *Sullus granulatus*

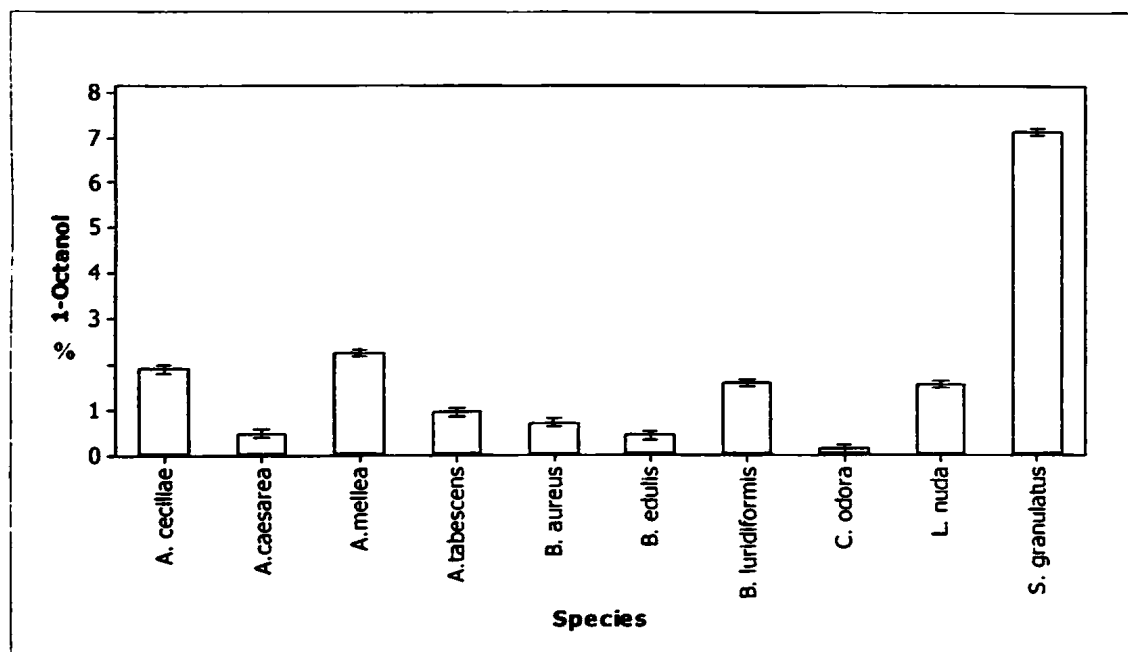


2.2. Στατιστική επεξεργασία

Συγκρίνοντας τα 95% όρια εμπιστοσύνης των ενώσεων με 8 άτομα άνθρακα (1-οκτανόλη, 2-οκτανόλη, 3-οκτανόλη, 1-οκτεν-3-όλη, οκτενάλη, 3-οκτανόνη και 1-οκτεν 3-όνη) που ανιχνεύθηκαν στα διάφορα είδη μανιταριών καταγράφονται όπως φαίνεται στα σχήματα 34-40, ενδιαφέροντα στατιστικά συμπεράσματα.

Ειδικότερα, εκ των επτά ενώσεων που φαίνεται ότι ασκούν σημαντική επίδραση στον αρωματικό χαρακτήρα των καρποσωμάτων, συγκαταλλέγονται 4 αλκοόλες: η 1-οκτανόλη, 2-οκτανόλη, 3-οκτανόλη και η 1-οκτεν-3-όλη.

Η ένωση 1-οκτανόλη, καταγραφόμενη σε 10 από τα 23 είδη μανιταριών, δηλαδή στα δυο από τα τρία είδη της οικογένειας *Amanitaceae* (*Amanita caesarea*, και *Amanita ceciliae*), στα είδη του γένους *Armillaria* και *Boletus* (*Armillaria mellea*, *Armillaria tabescens*, *Boletus aureus*, *Boletus edulis* και *Boletus luridiformis*), αλλά και στα μεμονωμένα είδη *Lepista nuda*, *Clitocybe odora* και *Suillus granulatus*, εμφανίζεται (Διάγραμμα 15) στο τελευταίο με ποσοστό που φτάνει το 7,12% του συνόλου των πτητικών ενώσεων του. Συγκριτικά με τα υπόλοιπα είδη καρποσωμάτων η τιμή αυτή είναι από 3,06 (*Armillaria mellea*)- 64,7(*Clitocybe odora*) φορές μεγαλύτερη.



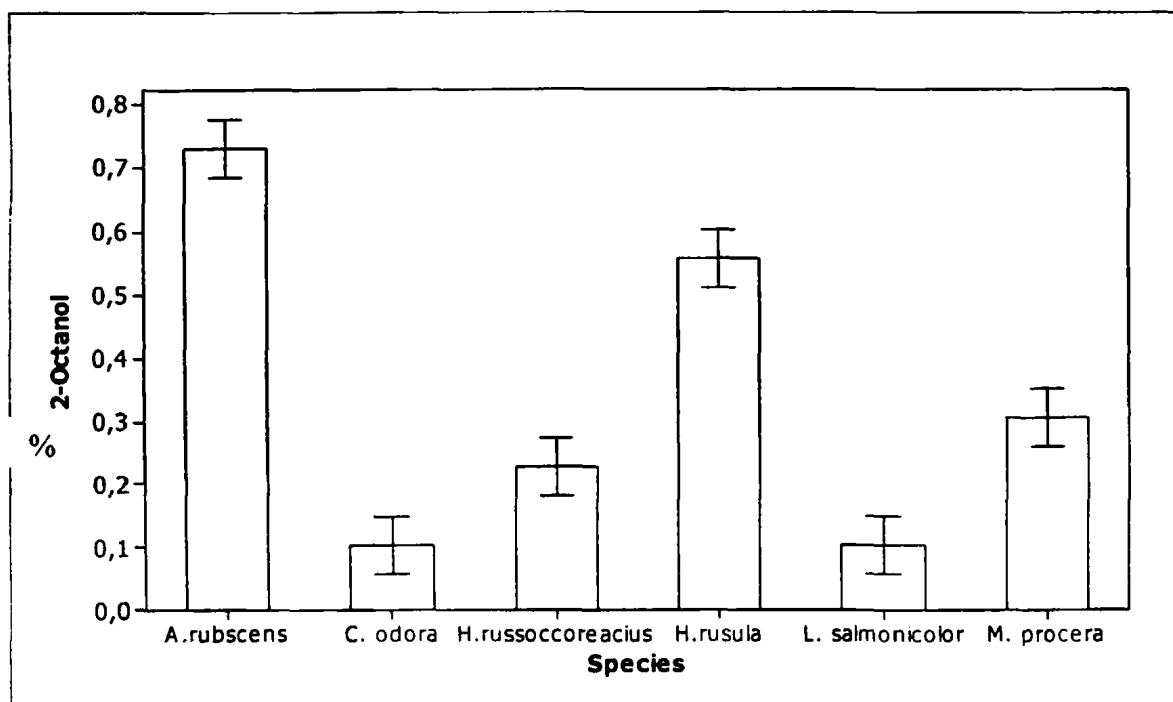
Διάγραμμα 15. Μέση τιμή 1-οκτανόλης συναρτήσει των ειδών μανιταριών.

Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης.

Αλλά και μεταξύ των ειδών του ίδιου γένους, εμφανίζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές. Αναλυτικότερα, η τιμή της 1-οκτανόλης στο είδος *Armillaria*

mellea είναι 2,46 φορές μεγαλύτερη της τιμής στο είδος *Armillaria tabescens*. Επίσης, στα είδη του γένους *Boletus*, το μεγαλύτερο ποσοστό καταγράφεται στο είδος *Boletus luridiformis*, του οποίου η συγκέντρωση στην αντίστοιχη ένωση είναι 2,42-3,90 φορές μεγαλύτερη των υπολοίπων ειδών. Τέλος, και το είδος *Amanita ceciliae*, εμφανίζει ποσοστό 1,94%, δηλαδή 4,21 φορές μεγαλύτερο από το αντίστοιχο του είδους *Amanita caesarea* (0,46%).

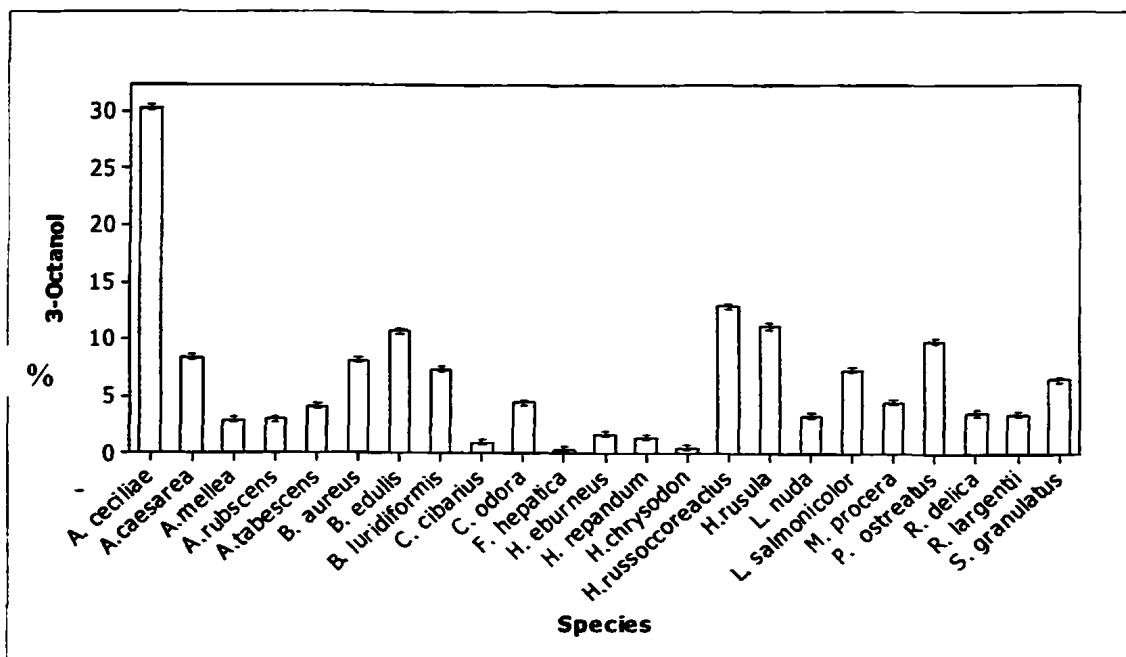
Αντίστοιχα, η ένωση 2-οκτανόλη ταυτοποιήθηκε σε 6 είδη καρποσωμάτων, δύο εκ των οποίων ανήκουν στο γένος *Hygrophorus* (*Amanita rubescens*, *Clitocybe odora*, *Hygrophorus russocoreacius*, *Hygrophorus russula*, *Lactarius salmonicolor*, και *Macrolepiota procera*, Διάγραμμα 16), με το μεγαλύτερο ποσοστό να καταγράφεται στο είδος *Amanita rubescens* (0,76%) και το μικρότερο στο είδος *Lactarius salmonicolor* (0,10%). Πρακτικά, τα είδη *Lactarius salmonicolor* και *Clitocybe odora* δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, διότι οι μέσοι όροι των 95% ορίων εμπιστοσύνης είναι σχεδόν ταυτόσημοι (0,10 και 0,12% αντίστοιχα), σε αντίθεση με τα 2 είδη του γένους *Hygrophorus*, όπου το είδος *Hygrophorus russocoreacius* με ποσοστό 2-οκτανόλης 0,22% εμφανίζει τιμή 2,63 φορές μικρότερη του είδους *Hygrophorus russula* (0,58%).



Διάγραμμα 16. Μέση τιμή 2-οκτανόλης συναρτήσεως των ειδών μανιταριών.

Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης.

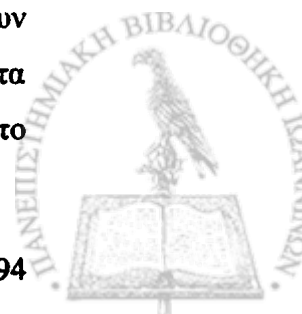
Αντιθέτως όμως, η ένωση 3-οκτανόλη σε σχέση με τις δύο προηγούμενες καταγράφεται και στα 23 είδη μανιταριών (Διάγραμμα 17), με το μικρότερο ποσοστό να κατέχει το είδος *Fistulina hepatica* (0,34%) και το μεγαλύτερο, το είδος *Amanita ceciliae* (30,15%).



Διάγραμμα 17. Μέση τιμή 3-οκτανόλης συναρτήσει των ειδών μανιταριών.

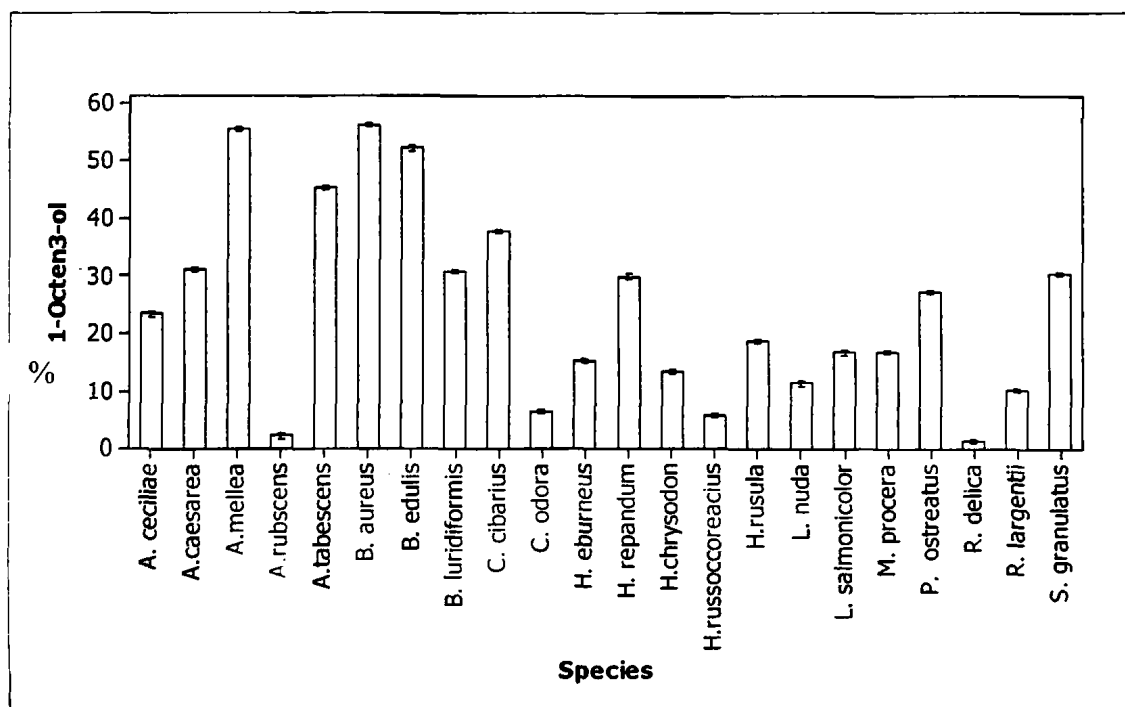
Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης.

Το είδος αυτό εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τα άλλα δύο είδη της οικογένειας *Amanitaceae* (*Amanita rubescens* και *Amanita caesarea*) σε ποσοστό που κυμαίνεται από 356,8%-1029%. Αντίθετα, τα είδη του γένους *Armillaria* δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, εφόσον οι μέσοι όροι δεν διαφέρουν κατά πολύ (2,87%-*Armillaria mellea* και 4,04% *Armillaria tabescens*), αλλά και στα είδη του γένους *Boletus* οι διακυμάνσεις μεταξύ του *Boletus luridiformis* και *Boletus aureus* δεν είναι πολύ μεγάλες (7,46% και 8,05%), σε αντίθεση με το είδος *Boletus edulis* που κατέχει ποσοστό 10,68%. Επίσης, δεν διαφέρουν μεταξύ τους τα είδη *Lepista nuda*, *Ramaria largentii* και *Russula delica* που διαθέτουν ποσοστά από 3,34-3,68%, τα είδη *Lactarius salmonicolor* και *Boletus luridiformis* (7,33 και 7,46%), καθώς και τα είδη *Clitocybe odora* και *Macrolepiota procera* (4,40 και 4,49% αντιστοίχως). Από τη μελέτη τέλος των ειδών του γένους *Hygrophorus*, το συμπέρασμα που εξάγεται είναι ότι όλα τα είδη διαθέτουν διαφορετικό ποσοστό 3-οκτανόλης σε επίπεδο στατιστικά σημαντικό σε σχέση με τα συγγενικά τους. Ειδικότερα, στο είδος *Hygrophorus chrysodon* καταγράφεται το



μικρότερο ποσοστό της ένωσης, μόλις 0,49%, στο είδος *Hygrophorus eburneus*, το ποσοστό ανέρχεται στο 1,70%, ενώ στα είδη *Hygrophorus russula* και *Hygrophorus russocoreacius* η τιμή ανεβαίνει στα 11,15 και 12,93% αντιστοίχως.

Την γκάμα των αλκοολών με 8-άτομα άνθρακα κλείνει η ένωση 1-οκτεν-3-όλη πρόδρομη της αντίστοιχης κετόνης που καταγράφεται σε 22 από τα 23 υπο μελέτη είδη μανιταριών (Διάγραμμα 18). Στο μοναδικό είδος που δεν ανιχνεύεται είναι το είδος *Fistulina hepatica*, ενώ το ποσοστό της κυμαίνεται από 1,19% στο είδος *Russula delica* έως 56,01% στο είδος *Boletus aureus*.



Διάγραμμα 18. Μέση τιμή 1-οκτεν-3-όλης συναρτήσεως των ειδών μανιταριών.

Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης.

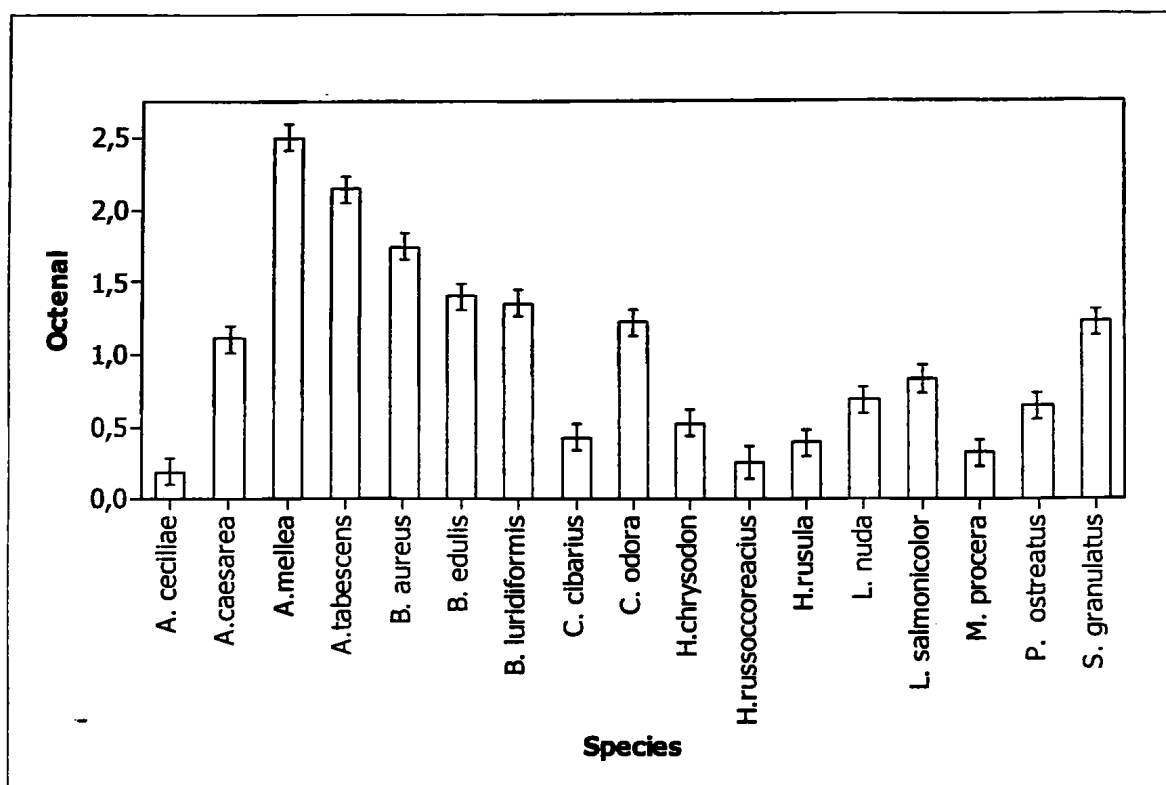
Πολύ υψηλά ποσοστά της ένωσης αυτής κατέχουν τα είδη *Hydnum repandum* (29,98%), *Suillus granulatus* (30,39%), *Boletus luridiformis* (30,80%), *Amanita caesarea* (31,23%), *Cantharellus cibarius* (37,81%), *Armillaria tabescens* (45,79%), *Boletus edulis* (52,13%), *Armillaria mellea* (55,19%) και *Boletus aureus* (56,01%). Έντονη διακύμανση καταγράφεται μεταξύ των ειδών του γένους *Amanita*, καθώς το είδος *Amanita rubescens* διαθέτει ποσοστό 1-οκτεν-3-όλης μόλις στο 2,01%, δηλαδή 11,5 φορές μικρότερο σε σχέση με το είδος *Amanita ceciliae* και 15,5 φορές με το είδος *Amanita caesarea*. Αντίστοιχα, στα είδη του γένους *Hygrophorus*, τα είδη *Hygrophorus chrysodon*, *Hygrophorus eburneus*, και *Hygrophorus russula* δεν διαφέρουν κατά πολύ μεταξύ τους, αφού η τιμή της ένωσης κυμαίνεται από 13,28-



18,65%, σε αντίθεση με το είδος *Hygrophorus russocoreacius* στο οποίο το ποσοστό της ένωσης ανέρχεται μόλις στο 5,82%. Οι διαφορές αυτές πιθανόν οφείλονται στο στάδιο ωριμότητας των συλλεγέντων δειγμάτων καθώς οι αλκοόλες αυτές είναι ασταθείς ενώσεις και μετατρέπονται σε αλδεύδες και κετόνες καθώς εξελίσσεται η ανάπτυξη του καρποσώματος.

Από τις αλδεύδες με οκτώ άτομα άνθρακα, η μοναδική καταγραφή σχετίζεται με την παρουσία της ένωσης οκτενάλη, η οποία καταγράφεται σε δεκαεπτά είδη καρποσωμάτων σε ποσοστό που κυμαίνεται από 0,18% στο είδος *Amanita ceciliae* έως 2,51% στο είδος *Armillaria mellea*. Η διακύμανση μεταξύ συγγενικών ειδών μανιταριών δεν είναι στατιστικά σημαντική μεταξύ των περισσότερων υπό μελέτη γενών (Διάγραμμα 19), καθώς για παράδειγμα στα είδη των γενών *Armillaria*, *Boletus* και *Hygrophorus* οι τιμές των μέσων όρων που αναφέρονται στα 95% όρια εμπιστοσύνης, δεν απέχουν κατά πολύ. Έτσι, στα είδη *Armillaria mellea* και *Armillaria tabescens* το ποσοστό της ένωσης είναι 2,51% και 2,17% αντιστοίχως. στα είδη *Boletus aureus*, *Boletus edulis* και *Boletus luridiformis*, το ποσοστό της ένωσης προσδιορίστηκε στα 1,87%, 1,41% και 1,36%, ενώ στα είδη *Hygrophorus chrysodon* και *Hygrophorus russula*, 0,52% και 0,39%. Διαφορά υποδιπλάσιας τιμής παρατηρείται μόνο μεταξύ των *Hygrophorus chrysodon* και *Hygrophorus russocoreacius*, ενώ η ένωση δεν ανιχνεύθηκε καθόλου στο είδος *Hygrophorus eburneus*. Δεν διαφέρουν επίσης μεταξύ τους τα είδη *Lepista nuda* και *Pleurotus ostreatus* (0,67% και 0,69%), καθώς και τα είδη *Clitocybe odora* και *Suillus granulatus* (0,20% και 0,25%).

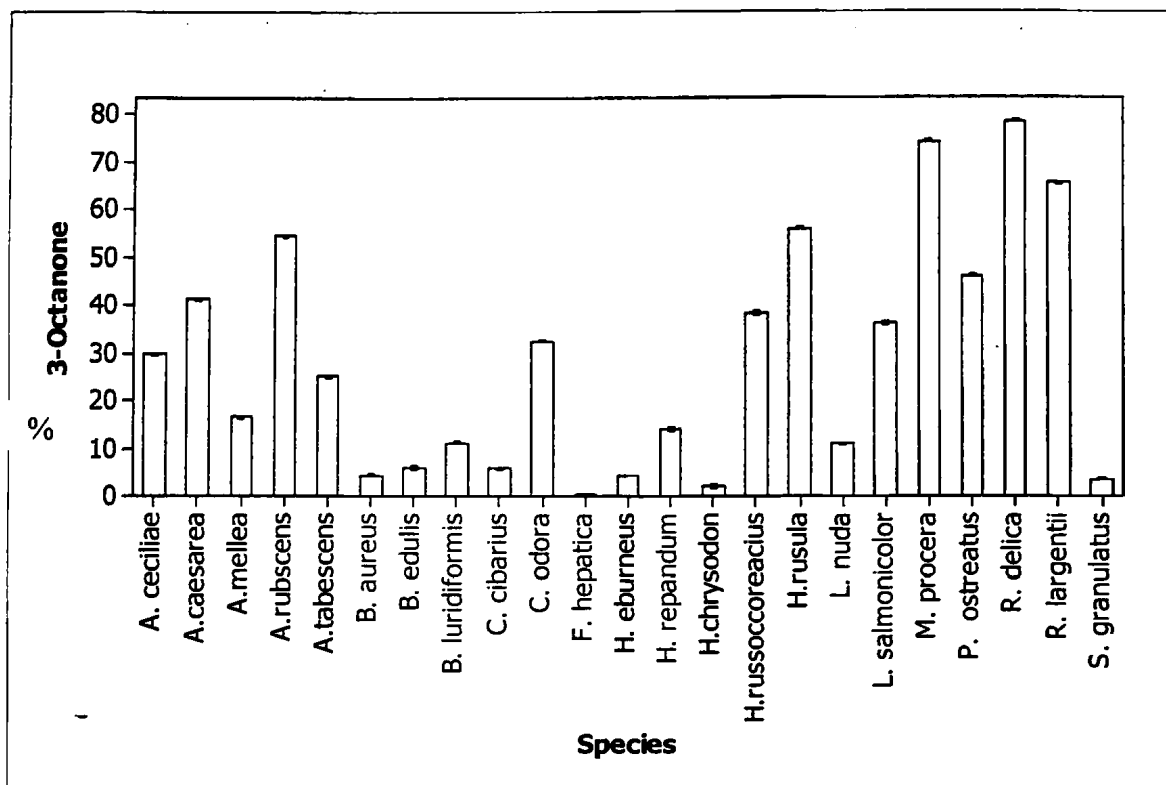




Διάγραμμα 19. Μέση τιμή οκτενάλης συναρτήσεως των ειδών μανιταριών.

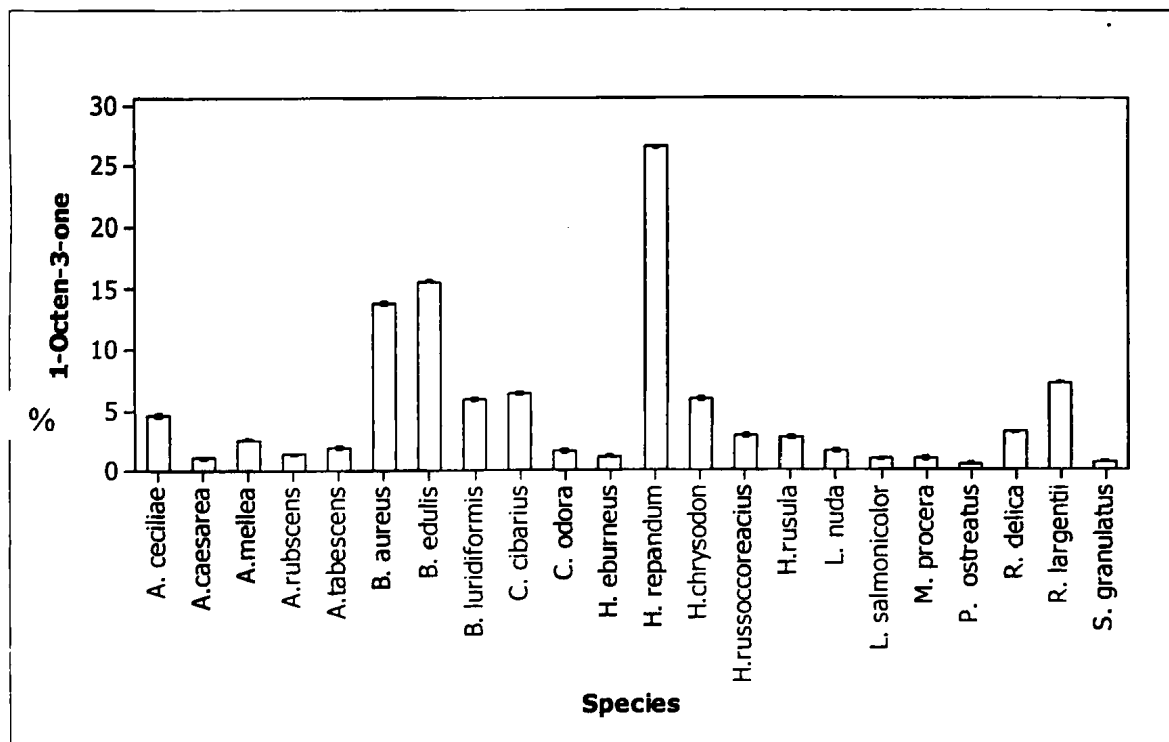
Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης.

Μεταξύ των κετονών, η 3-οκτανόνη ανιχνεύθηκε και στα 23 είδη καρποσωμάτων, ενώ η 1-οκτεν-3-όνη σε 22, εκτός του είδους *Fistulina hepatica*. Τα ποσοστά για τη μεν πρώτη κυμαίνονται από 0,31% στο είδος *Fistulina hepatica* έως 78,53% στο είδος *Russula delica* και για την δεύτερη από 0,51% στο είδος *Pleurotus ostreatus* έως 26,54% στο είδος *Hydnum repandum*. Στα Διαγράμματα 20 και 21 που ακολουθούν καταγράφεται η διακύμανση των μέσων όρων των ειδών, βάσει των 95% ορίων εμπιστοσύνης.



Διάγραμμα 20. Μέση τιμή 3-οκτανόνης συναρτήσεως των ειδών μανιταριών.

Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης.



Διάγραμμα 21. Μέση τιμή 1-οκτέν-3-όνης συναρτήσεως των ειδών μανιταριών.

Οι κατακόρυφες γραμμές (γραμμές τυπικής απόκλισης) αντιπροσωπεύουν τα όρια εμπιστοσύνης 95% των μέσων όρων βασισμένων στην τυπική απόκλιση της ανάλυσης της διακύμανσης.

Αναλυτικότερα, για την ένωση 3-οκτανόνη, η μικρότερη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ συγγενικών ειδών καταγράφεται στα είδη του γένους *Armillaria*, καθώς το είδος *Armillaria mellea* διαθέτει ποσοστό 16,56%, 1,52 φορές μικρότερο σε σχέση με το ποσοστό του είδους *Armillaria tabescens* (25,23%). Ακολουθούν τα είδη των γενών *Amanita* και *Boletus* όπου τα είδη *Amanita ceciliae*, *Amanita caesarea* και *Amanita rubescens* διαφέρουν μεταξύ τους από 1,30-1,82 φορές, ενώ τα είδη *Boletus aureus*, *Boletus edulis* και *Boletus luridiformis* από 1,91-2,59 φορές. Η μεγαλύτερη διακύμανση καταγράφεται μεταξύ των ειδών του γένους *Hygrophorus*, όπου τα ποσοστά της ένωσης κυμαίνονται από 2,2% και 4,18% για τα είδη *Hygrophorus chrysodon* και *Hygrophorus eburneus*, έως 38,52% για το *Hygrophorus russocoreacius* και 56,09% για το είδος *Hygrophorus russula*.

Οι υψηλές τιμές 3-οκτανόνης για τα είδη *Ramaria largentii* (65,49%), *Macrolepiota procera* (74,7%) και *Russula delica* (78,53%), έρχονται σε πλήρη συμφωνία με τα μικρά ποσοστά 3-οκτανόλης που ανιχνεύθηκαν στα ίδια είδη (3,49%, 4,49% και 3,68%). Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει πλήρως την θεωρία ότι κατά την ωρίμανση των καρποσωμάτων οι αλκοόλες οξειδώνονται προοδευτικά στις αντίστοιχες κετόνες.

Αντίστοιχο συμπέρασμα όσο αφορά την ένωση 1-οκτεν-3-όνη, εξάγεται και για τα είδη *Amanita ceciliae*, *Amanita caesarea*, *Armillaria mellea*, *Armillaria tabescens*, *Boletus aureus*, *Boletus edulis*, *Boletus luridiformis*, *Cantharellus cibarius*, *Hygrophorus eburneus*, *Hygrophorus russula*, *Lepista nuda*, *Lactarius salmonicolor*, *Pleurotus ostreatus* και *Suillus grannulatus* τα οποία εμφανίζουν μικρό ποσοστό της ένωσης αυτής, συγκριτικά με το ποσοστό της 1-οκτεν-3-όλης που ανιχνεύθηκε σ' αυτά όπως χαρακτηριστικά αναφέρθηκε παραπάνω. Εξαίρεση αποτελούν τα είδη *Amanita rubescens* και *Hydnum repandum* καθώς εμφανίζουν αντίστοιχα ποσοστά 1-οκτεν-3-όλης και 1-οκτεν-3-όνης. Το γεγονός αυτό πιθανόν να οφείλεται στην τυχαία δειγματοληψία που επέτρεψε τη συλλογή καρποσωμάτων μέσης ωριμότητας καθολικά για τα δύο αυτά είδη. Παράδοξο ωστόσο συμπέρασμα εξάγεται για το είδος *Ramaria largentii*, που ενώ μεταξύ των ενώσεων 3-οκτανόλη και 3-οκτανόνη επιβεβαιώνεται η παραπάνω θεωρία, στις ενώσεις 1-οκτεν-3-όλη και 1-οκτεν-3-όνη τα ποσοστά συγκεντρώσεων δεν διαφοροποιούνται σημαντικά μεταξύ τους, αφού για τη μεν πρώτη ένωση το ποσοστό της ανέρχεται στο 10,25% και για τη δεύτερη στο 7,15%.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Τα καρποσώματα των μακρομυκήτων που μελετήθηκαν, βάσει των πειραματικών δεδομένων που προέκυψαν, θεωρούνται τρόφιμα με μεγάλη περιεκτικότητα σε υγρασία που κυμαίνεται από 82,50% για το είδος *Cantharellus cibarius* έως 92,80% για το είδος *Suillus granulatus*. Οι διαφορές αυτές στο περιεχόμενο νερό οφείλονται πιθανότατα στις περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία – σχετική υγρασία) στις οποίες αναπτύσσονται τα μανιτάρια, στο είδος του μακρομύκητα, αλλά και στο στάδιο ωριμότητας του.
- Παράλληλα, τα είδη με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες είναι τα *Fistulina hepatica*, *Suillus granulatus* και *Armillaria tabescens*.
- Το ποσοστό των πρωτεϊνών στα είδη μανιταριών της παρούσας διατριβής ήταν σημαντικό και κυμάνθηκε από 11,65% για το είδος *Fistulina hepatica* έως 43,24% για το είδος *Clitocybe odora*. Ωστόσο, το ποσοστό των πρωτεϊνών στα περισσότερα είδη δεν εμφανίζει στατιστικά σημαντική διακύμανση και κυμαίνεται από 19,11% -19,83% για τα είδη *Lactarius salmonicolor*, *Hydnum repandum* και *Lepista nuda*, από 21,44%- 21,48% για τα είδη *Pleurotus ostreatus* και *Cantharellus cibarius* και από 25,99%-26,49% για τα *Amanita rubescens*, *Russula delica* και *Boletus edulis*.
- Μεταξύ των περισσότερων υπό μελέτη ειδών δεν υπάρχει μεγάλη απόκλιση στο περιεχόμενο λίπος. Οι τιμές αυτές που καταγράφονται για τα περισσότερα είδη κυμαίνονται από 2,01-5,16%. Τα ποσοστά αυτά εξακολουθούν να είναι χαμηλά συγκριτικά με το περιεχόμενο ποσοστό λίπους άλλων τροφίμων, κατατάσσοντας τα μανιτάρια στα τρόφιμα εκείνα που συμβάλλουν στη μείωση του σωματικού βάρους σε μια δίαιτα χαμηλών απαιτήσεων σε λιπαρά. Επίσης, τα είδη *Armillaria tabescens* και *Cantharellus cibarius*, διακρίνονται για το ιδιαίτερα χαμηλό ποσοστό λίπους τους που ανέρχεται μόνο στο 1,56% και 1,88% αντίστοιχα.
- Τα μεταλλικά στοιχεία της παρούσας διατριβής (Mg, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Al, As και Sn), απαντώνται στο φυσικό περιβάλλον είτε ως ιόντα διαλυμένα στο εδαφικό νερό, είτε ως οξείδια στο κρυσταλλικό πλέγμα πρωτογενών και δευτερογενών ορυκτών του εδάφους. Ειδικότερα, η συγκέντρωση όλων των ειδών μακρομυκήτων που αναλύθηκαν σε αργίλιο



(Al), αρσενικό (As) και κασσίτερο (Sn), ήταν κάτω από τα όρια ανίχνευσης σε όλα τα υπό μελέτη δείγματα.

- Τα μανιτάρια είναι πλούσια σε μαγνήσιο, ένα μεταλλικό στοιχείο που παίζει καταλυτικό ρόλο στην πρωτεϊνοσύνθεση, με συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 690-1166 $\mu\text{g/g}$, (*Russula delica*- *Armillaria tabescens*), σε σίδηρο, αφού στην πλειονότητα των ειδών η συγκέντρωση του στα καρποσώματα κυμαίνεται από 119-355 $\mu\text{g/g}$, (*Cantharellus cibarius*-*Amanita caesarea*), καθώς και σε χαλκό και ψευδάργυρο με τιμές για το μεν πρώτο μεταλλικό στοιχείο από 4,65-61,3 $\mu\text{g/g}$, ενώ για το δεύτερο από 35,9-159 $\mu\text{g/g}$.
- Οι συγκεντρώσεις των μανιταριών σε βαρέα μέταλλα (Cd, Pb, As) της παρούσας διατριβής είναι εξαιρετικά χαμηλές, άρα τα μανιτάρια μπορούν να καταναλωθούν χωρίς να αποτελούν διατροφικό κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία, καταδεικνύοντας παράλληλα την καθαρότητα των οικοσυστημάτων στα οποία αναπτύσσονται.
- Διαθέτουν ταυτόχρονα πλειάδα αρωματικών συστατικών, (αλκοόλες, αλδεΐδες, οξέα, κετόνες, τερπένια, ιονόνες), άρα είναι εφικτό να χρησιμοποιηθούν είτε αυτόνομα, είτε ως αρωματικά στον εμπλουτισμό του αρώματος των γευμάτων ή στην βιομηχανία αρωμάτων και καλλυντικών.
- Ωστόσο, το τυπικό άρωμα «μανιταριού» προκύπτει από αλκοόλες, αλδεΐδες και κετόνες με 8 άτομα άνθρακα όπως για παράδειγμα οι ενώσεις 1-οκτανόλη, 2-οκτανόλη, 3-οκτανόλη, 1-οκτεν-3-όλη, οκτενάλη, 3-οκτανόνη και 1-οκτεν-3-όνη.
- Σημαντική επίσης είναι και η καταγραφή μεγάλου αριθμού τερπενίων (όπως οι ενώσεις; λεμονένιο, καμφένιο, p-κουμόλιο, θουτζοπσένιο (*Thujopsene*), βήτα-σεσκιφελανδρένιο (*Beta-Sesquiphellandrene*), λονγιφολένιο (*Longifolene*-(V4), β-ακοραδιένιο (*b-acoradiene*), α-λονγκιπινένιο (*a-longipinene*), β-σαμιγκρένιο (*b-chamigrene*), αρομαδενδρένιο (*Aromadenedrene*), β-χιμασάλενιο (*b-himachalene*), κουπαρένιο (*cuparene*), και λονγκικυκλένιο (*Longicyclene*) στα είδη του γένους *Hygrophorus* και ειδικότερα στο είδος *Hygrophorus russocoreaci*, στο οποίο προσδίδουν ιδιαίτερη οσμή κέδρου.
- Μολονότι τα αρώματα συντίθενται de novo στα καρποσώματα, η ποσότητα που παράγεται είναι μικρή. Άρα, μια ενδελεχής έρευνα των πτητικών συστατικών από συγκεκριμένα είδη αποτελεί βασική και κυρίαρχη ανάγκη για



την αποκάλυψη του μηχανισμού σχηματισμού των αρωμάτων στα καρποσώματα. Οι εμπειριστατωμένες έρευνες μπορούν να ανοίξουν νέους ορίζοντες στην ανακάλυψη σχετικών ενζύμων και γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη του αρώματος. Το γεγονός αυτό, θα επιταχύνει τη διαδικασία βιοσύνθεσης των φυσικών αρωμάτων τεχνητά.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα αυτοφυή εδώδιμα μανιτάρια αποτελούν ένα εξαιρετικό και ιδιαίτερα δημοφιλές έδεσμα σε πολλές Ευρωπαϊκές χώρες, κυρίως της Κεντρικής και Νότιας Ευρώπης. Για παράδειγμα, στην Ελλάδα μέχρι στιγμής έχουν καταγραφεί 2100 είδη μακρομυκήτων και αρκετά από αυτά συλλέγονται σε όλη την επικράτεια ως πηγή διατροφής. Για το λόγο αυτό, είναι πολύ σημαντικός ο προσδιορισμός της βασικής σύστασης των καρποσωμάτων, ο προσδιορισμός των μεταλλικών στοιχείων και των βαρέων μετάλλων τους, καθώς και η ταυτοποίηση των πτητικών ενώσεων τους που συμβάλλουν καθοριστικά στο αρωματικό τους προφίλ.

Στην παρούσα μελέτη, είκοσι τρία είδη αυτοφυών εδώδιμων μακρομυκήτων (*Amanita caesaria*, *Amanita rubescens* var. *rubescens*, *Amanita ceciliae*, *Armillaria mellea*, *Armillaria tabescens*, *Boletus aureus*, *Boletus edulis*, *Boletus luridiformis* var. *luridiformis*, *Cantharellus cibarius*, *Clitocybe odora*, *Fistulina hepatica*, *Hydnum repandum*, *Hygrophorus chrysodon*, *Hygrophorus eburneus*, *Hygrocybe russocoriacea*, *Hygrophorus russula*, *Lactarius salmonicolor*, *Lepista nuda*, *Macrolepiota procera* var. *procera*, *Pleurotus ostreatus*, *Ramaria largentii*, *Russula delica*, και *Suillus granulatus*) από τις περιοχές της Ηπείρου και της Δυτικής Μακεδονίας, αναλύθηκαν ως προς τη βασική τους σύσταση (υγρασία, πρωτεΐνες, λίπη, υδατάνθρακες και τέφρα) και την περιεκτικότητα τους σε μεταλλικά στοιχεία (Mg, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Al, και Sn) με την μέθοδο της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης (Atomic Absorption Spectrometry- AAS). Επίσης, οι πτητικές ενώσεις ταυτοποιήθηκαν με την τεχνική της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης σε συνδυασμό με αέρια χρωματογραφία- φασματοσκοπία μαζών (SPME/GC-MS).

Η περιεχόμενη υγρασία μεταξύ των ειδών κυμάνθηκε από 82,5% (*Cantharellus cibarius*) έως 92,8% (*Suillus granulatus*). Επίσης, τα μανιτάρια που μελετήθηκαν έδειξαν ότι αποτελούν καλή πηγή πρωτεϊνών και υδατανθράκων με τα ποσοστά τους να κυμαίνονται επί ξηρού από 11,65% (*Fistulina hepatica*) – 43,24% (*Clitocybe odora*) και από 40,05% (*Hygrophorus eburneus*) - 80,90% (*Fistulina hepatica*) αντιστοίχως. Επιπροσθέτως, το περιεχόμενο λίπος κυμάνθηκε σε πολύ μικρό ποσοστό επί ξηρού από 1,56% (*Armillaria tabescens*) έως 9,88% (*Hygrophorus russula*). Η μελέτη αυτή αποδεικνύει ουσιαστικά ότι τα καρποσώματα αυτά που καταναλώνονται παραδοσιακά στις περιοχές της Ηπείρου και της Δυτικής

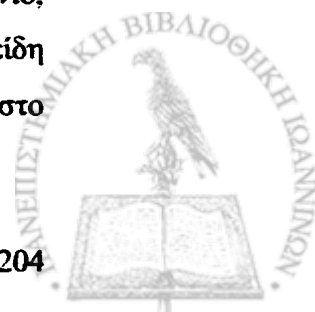


Μακεδονίας, μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ισορροπημένα διατροφικά σχήματα εξαιτίας των υψηλών ποσοστών πρωτεϊνών και υδατανθράκων που περιέχουν και του χαμηλού ποσοστού λίπους που τα διακρίνει.

Ταυτόχρονα, τα αντίστοιχα ποσοστά επί ξηρού για τα προσδιοριζόμενα μεταλλικά στοιχεία κυμάνθηκαν από 690-1166μg/g για το Mg, 0-11,1 για το Cr, 7,26-100 για το Mn, 38,3-501 για το Fe, 0-7,26 για το Co, 0,28-10,1 για το Ni, 4,65-61,3 για το Cu, 35,9-159 για το Zn, 0-1,59 για το Pb, και 0,07-3,5 μg/g για το Cd. Οι συγκεντρώσεις για το As, Sn και Al σε όλα τα είδη ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε. Οι χαμηλές συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στα είδη που μελετήθηκαν δείχνει παράλληλα ότι οι παραπάνω περιοχές συλλογής δεν ήταν περιβαλλοντικά επιβαρημένες, άρα όλα τα εδώδιμα είδη μπορούν να καταναλωθούν χωρίς να ελλοχεύει κίνδυνος για την ανθρώπινη υγεία.

Μεταξύ των ειδών που μελετήθηκαν, ανιχνεύθηκαν πολλά πτητικά συστατικά, συμπεριλαμβανομένων αλκοολών, αλδευδών, κετονών, υδρογονανθράκων, εστέρων, οξέων, λακτονών και τερπενίων. Τα πλέον κοινά πτητικά συστατικά μεταξύ των δειγμάτων μανιταριών ήταν οι ενώσεις με οκτώ άτομα άνθρακα (C₈), όπως η 1-οκτανόλη, 2-οκτανόλη, 3-οκτανόλη, 1-οκτεν-3-όλη, οκτενάλη, 3-οκτανόνη και 1-οκτεν-3-όνη. Το χαρακτηριστικό άρωμα μανιταριού οφείλεται στις ενώσεις αυτές, με τη διαφοροποίηση της συγκέντρωσης τους ανά δείγμα να οφείλεται στη διαφορετικότητα των γενών, των ειδών ή των στελεχών των μυκήτων. Η συγκέντρωση των ενώσεων αυτών στα διάφορα είδη σε σχέση με το σύνολο των προσδιοριζόμενων πτητικών συστατικών κυμάνθηκε για παράδειγμα από 0,11% για την οκτανόλη-1 στο είδος *Clitocybe odora* έως 78,53% για την 3-οκτανόνη στο είδος *Russula delica*. Αυτή η μεγάλη διακύμανση στη συγκέντρωση είναι πιθανόν αποτέλεσμα της διαφορετικότητας των ειδών, της ωριμότητας τους καθώς και των συνθηκών πριν τη συλλογή.

Στην παρούσα μελέτη, ανιχνεύθηκαν στα καρποσώματα των μακρομυκήτων αλειφατικές αλδεΐδες όπως οι ενώσεις 2-μέθυλ-προπανάλη, βουτανάλη, 3-μέθυλ-βουτανάλη, πεντανάλη, εξανάλη, επτανάλη και 2-οκτενάλη, καθώς και σημαντικός αριθμός τερπενίων όπως λεμονένιο, καμφένιο, p-κουμόλιο, θουτζοπσένιο, βήτα-σεσκιφελανδρένιο, λονγιφολένιο, β-ακοραδιένιο, α-λονγκυπινένιο, β-σαμιγκρένιο, αρομαδενδρένιο, β-χιμασαλένιο, κουπαρένιο, και λονγκικυκλένιο κυρίως στα είδη του γένους *Hygrophorus*, και ειδικότερα στο είδος *Hygrophorus russocoreacius* στο οποίο και προσδίδουν ιδιαίτερη οσμή κέδρου.



Εντούτοις, οι διάφορες ενώσεις κάθε κατηγορίας που ταυτοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη αναδύουν πλήθος αρωματικών εντυπώσεων όπως για παράδειγμα οι ενώσεις με 6-άτομα άνθρακα (εξανάλη, εξανόλη) που διακρίνονται για το χαρακτηριστικό άρωμα γρασιδιού, το οξείδιο της λιναλοόλης που είτε στην *trans*, είτε στην *cis* μορφή του διαθέτει γλυκιά, γήινη οσμή λουλουδιών, η γ-εξαλακτόνη που ανιχνεύθηκε στο είδος *Hydnum repandum*, και η οποία έχει προσδιοριστεί σε ποικιλία φυτικών και ζωικών τροφίμων όπως μοσχάρι, κοτόπουλο, βερίκοκο, βατόμουρο, φράουλα, σταφίδα, τομάτα, ανανά, λεμόνι, κακάο, ψωμί, μύρα, κρασί και ξύδι παρέχοντας χαρακτηριστικό άρωμα ροδάκινου, καθώς και η *p*- ανισαλδεΐδη, βασική αρωματική ένωση του είδους *Clitocybe odora*, στο οποίο προσδίδει χαρακτηριστικό άρωμα γλυκάνισου με νότες μπαχαρικών.

Μολονότι τα αρώματα συντίθενται *de novo* στα καρποσώματα, η ποσότητα που παράγεται είναι μικρή. Άρα, μια ενδελεχής έρευνα των πτητικών συστατικών από συγκεκριμένα είδη αποτελεί βασική και κυρίαρχη ανάγκη για την αποκάλυψη του μηχανισμού σχηματισμού των αρωμάτων στα καρποσώματα. Οι εμπειριστατωμένες έρευνες μπορούν να ανοίξουν νέους ορίζοντες στην ανακάλυψη σχετικών ενζύμων και γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη του αρώματος. Το γεγονός αυτό, θα επιταχύνει τη διαδικασία βιοσύνθεσης των φυσικών αρωμάτων τεχνητά.

Τέλος, η αποσαφήνιση του αρωματικού προφίλ των μανιταριών μπορεί ακόμη να συμβάλει στην ανακάλυψη νέων δευτερογενών μεταβολιτών από το βασίλειο των μυκήτων και μπορεί να προωθήσει με τον τρόπο αυτό μια νέα μέθοδο χημικής ταξινόμησης των ειδών.

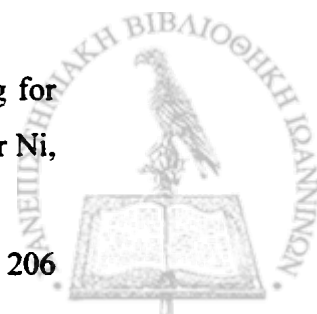
SUMMARY

Wild edible mushrooms are a popular and favorite delicacy in many European countries, mainly in middle and South Europe. For instance, in Greece existing figures produce a total of about 2100 recorded mushroom species, and many people across the country collect many of them and consume them as a part of their daily food intake. Therefore, is important to determine their basic composition, levels of minerals and toxic elements, and volatiles which have significant contribution to their aroma profile.

In the present study, twenty-three wild edible mushroom species (*Amanita caesaria*, *Amanita rubescens* var. *rubescens*, *Amanita ceciliae*, *Armillaria mellea*, *Armillaria tabescens*, *Boletus aureus*, *Boletus edulis*, *Boletus luridiformis* var. *luridiformis*, *Cantharellus cibarius*, *Clitocybe odora*, *Fistulina hepatica*, *Hydnum repandum*, *Hygrophorus chrysodon*, *Hygrophorus eburneus*, *Hygrocybe russocoriacea*, *Hygrophorus russula*, *Lactarius salmonicolor*, *Lepista nuda*, *Macrolepiota procera* var. *procera*, *Pleurotus ostreatus*, *Ramaria largentii*, *Russula delicata*, and *Suillus granulatus*) from West Macedonia and Epirus, regions of Northern Greece, were analyzed for their basic composition (moisture, crude protein, crude fat, total carbohydrates and ash) and metal content profile (Mg, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Al, and Sn) by atomic absorption spectrometry (AAS). Also, the volatile composition of these wild edible species was analyzed by headspace-solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry (SPME/GC-MS).

The moisture content of mushrooms varied from 82.5% (*Cantharellus cibarius*) to 92.8% (*Suillus granulatus*). Also, mushrooms were found to be good sources of proteins and total carbohydrates, with contents varying in the range 11.65% (*Fistulina hepatica*) - 43.24% (*Clitocybe odora*) and 40.05% (*Hygrophorus eburneus*) - 80.90% (*Fistulina hepatica*) dry weight respectively. In addition, the fat contents were very low 1.56% (*Armillaria tabescens*) - 9.88% (*Hygrophorus russula*) dry weight. This study proves that wild edible fungi consumed traditionally in Epirus and West Macedonia can be used in well-balanced diets due to their high contents of total carbohydrates and proteins and low contents of fat.

The mineral elements of mushroom samples ranged from 690-1166µg/g for Mg, 0-11.1 for Cr, 7.26-100 for Mn, 38.3-501 for Fe, 0-7.26 for Co, 0.28-10.1 for Ni,



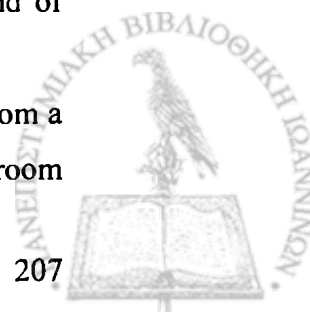
4.65-61.3 for Cu, 35.9-159 for Zn, 0-1.59 for Pb, 0.07-3.5 $\mu\text{g/g}$ for Cd. As, Sn and Al concentrations were under the detection limit of the method used ($0.02\mu\text{g/g}$). Low contents of heavy metals in the studied mushroom samples indicates that collection areas are not polluted, therefore all collected edible mushroom species can be unreservedly consumed without any health risk.

Among the species, many volatile compounds were identified, including alcohols, aldehydes, ketones, hydrocarbons, esters, acids, lactones and terpenes. The most abundant compounds in the mushroom samples, are C_8 compounds such as 1-octanol, 2-octanol, 3-octanol, 1-octen-3-ol, octenal, 3-octanone and 1-octen-3-one. The characteristic aroma of the mushrooms may be attributed to a series of C_8 volatile compounds common to most mushroom species, with differences arising due to fluctuations in concentration and particular compounds characteristic of specific genera, species or strains. The concentration of C_8 compounds relative to the total volatiles varied widely ranging for example from 0.11% (octanol – *Clitocybe odora*) to 78.53% (3-octanone- *Russula delica*). This large variation may be a result of the differences among mushroom species, maturity or post-harvest conditions.

In the present study, aliphatic aldehydes such as 2-methyl propanal, butanal, 3-methyl butanal, pentanal, hexanal, heptanal and 2-octenal were also found from fungal fruiting bodies along with a significant number of terpenes such as limonene, camphene, p-cymene, thujopsene, beta-Sesquiphellandrene, longifolene-(V4), b-acoradiene, a-longipinene, b-chamigrene, aromadene, b-himachalene, cuparene, and longicyclene mainly in *Hygrophorus* genus species, and especially in *Hygrophorus russocoreacius* confirms the characteristic distinctive cedar odor of this species.

However, many different compounds which are identified in the present study emerge important number of aromatic impressions. For instance, C_6 compounds such as hexanol and hexanal have a characteristic grass odor. Trans- or cis-linalool has a sweet, earthy, pleasant floral odor. Gamma-hexalactone which is present in *Hydnum repandum* and found in beef, chicken, apricots, blackberries, strawberries, tomatoes, lemons, plums, pineapples, cocoa beans, bread, beer, wine and vinegar, gives a characteristic peach aroma, and finally p-anisaldehyde, basic volatile compound of *Clitocybe odora*, gives aniseed flavor mixed with spice odor impressions.

Although odors formed de novo in fruiting bodies of mushrooms suffer from a low yield, a detailed investigation of volatile compounds from specific mushroom



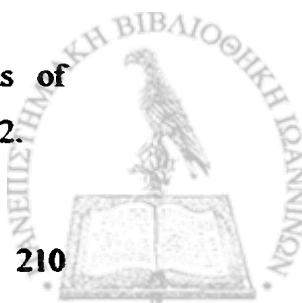
species is a critical and basic start to reveal the mechanism of flavor formation in fruiting bodies. The full-scale investigations may open up new avenues for discovering related enzymes and genes responsible for the flavor development. This will accelerate the process of engineering the biosynthesis of natural flavors.

Finally, the elucidation of flavor profiles contributes to the discovery of novel secondary metabolites from the fungal kingdom, and may serve as a new method for a chemo- taxonomical index of fungi.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

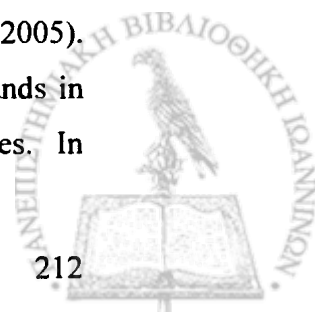
- Adams, R. P. (1995). Identification of essential oil components by gas chromatography-mass spectrometry. Allured Publishing, Carol Stream, Illinois, USA, 79-101.
- Agrawal, R. (2004). Flavors and Aromas. In Fungal biotechnology in agricultural, food and environmental applications. Arora, D.K. Ed; Marcel Dekker, New York, 281-289.
- Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi" (1983). 7th Edition, Commonwealth Mycological Institute, 5-9.
- Alexopoulos, C. J., C. W. Mims, and M. Blackwell. (1996). Introductory Mycology. John Wiley and Sons, New York, 5-36.
- Alonso, J., Garcia, M-A., Perez-Lopez, M., & Meglar, M.J. (2003). The concentrations and bioconcentration factor of copper and zinc in edible mushrooms. *Arch.env.Contamin.Toxicol.*, 44, 180-188.
- Ammirati J.F., Traquair J.A.& Horgen P.A. (1985). Poisonous mushrooms of Canada. Fitzhenry and Whiteside, Markham, Ontario, 85-90.
- Anderson, A., Lykke, S.E., Lange, M. & Bech, K. (1982): Trace elements in edible mushrooms. *Publ,68, Stat, Levenedmiddelinst, Denmark* 14-16.
- Anoliefo, G, O., Isikhuemhen, O.S., & Okosolo, E.C. (1999). Traditional coping mechanisms and environmental sustainability strageties in *Nnewi. J. Agric. Environ. Ethics*, 11, 101-109.
- AOAC (1995). Official methods of Analysis (16th ed.). Arlighton VA, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Arlott, N., Fitter, R., & Fitter, A. (1995): Collins Complete Guide: British Wildlife, 1-64.
- Arora D (1986). Mushrooms Demystified:A Comprehensive Guide to the Fleshy Fungi. Ten Speed Press, Berkeley, California. 26-84.
- Audouin, P.; Vidal, J-P.; Richard, H.(1989). Volatile compounds from aroma of some edible mushrooms: morel (*Morchella conica*),wood blewit (*Lepista nuda*), clouded agaric (*Clitocybe nebularis*) and false chanterelle (*Hygrophoropsis aurantiaca*). *Sci. Aliments*, 9, 185-193.

- Ashurst, P. (1999). Food flavorings, 3rd Edition, Aspen Publication, Maryland, USA. 96-104.
- Bano, Z., & Rajarathnam, S., (1987). Pleurotus mushroom Part 1A. Morphology, life cycle, taxonomy, breeding and cultivation. *Crit.Rev.Food Sci. Nutr.* 26. 157-223.
- Barron, L.J.R., Redondo, Y., Aramburu, M., Perez-Elortondo, F.J., Albisu, M., Najera, A.I., & De Renobales, M. (2005). Variations in volatile compounds and flavour in Idiazabal cheese manufactured from ewe's milk in farmhouse and factory. *J Sci Food Agric* 85, pp.1660-1671.
- Bas, C., Kyper, T.W., Noordeloos, M.E. & Vellinga, E.C. (1990). Flora Agaricina Neerlandica—Critical monographs on the families of agarics and boleti occurring in the Netherlands. Volume 2. Pluteaceae, Tricholomataceae. A. A. Balkema: Rotterdam, Netherlands. 56-78.
- Bas, C. (1984). On the correct name of 'Amanita inaurata Secr.' Persoonia 12.
- Beaulieu, J.C., & Grimm, C.C. (2001). Identification of volatile compounds in cantalope at various developmental stages using solid phase microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1345–1352.
- Beltran-Garcia M.J., Estarron-Espinosa, M., & Ogura, T. (1997). Volatile compounds secreted by the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and their antibacterial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4049-4052.
- Bennett, M. A., Huang, T. N., Matheson, T. W., & Smith, A. K. (1982). "(h6-Hexamethylbenzene)ruthenium complexes". *Inorganic Syntheses* 21: 74-78.
- Berger, R.G., Krings, U., & Zorn, H. (2002). Biotechnological flavour generation. In Food Flavour Technology. Taylor, A.J., Ed. Sheffield Academic Press, Sheffield, UK, pp.60-91.
- Berger, R.G., & Zorn, H. (2004). Flavors and Fragrances. In Advances in Fungal Biotechnology for Industry, Agriculture and Medicine. Tkacz, J.S., Lange, L. Eds: Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 341-358.
- Bergmeier E (2005). Phytodiversity in deciduous oak forest vegetation in Greece - a comparative approach. *Botanika Chronika* 18: 37-49.
- Bessette, A.E., Bessette, A.R., & Fisher, D.W.(1997). Mushrooms of Northeastern North America, Syracuse University Press Hong Kong, p 582.



- Blackwell, M., Rytas V., Timothy Y.J., & Taylor J.W. (2008). Fungi. Eumycota: mushrooms, sac fungi, yeast, molds, rusts, smuts, etc.. Version 21 February 2008. <http://tolweb.org/Fungi/2377/2008.02.21> in The Tree of Life Web Project, <http://tolweb.org/>
- Boland, D.J., Brophy, J.J., and A.P.N. House. (1991). *Eucalyptus Leaf Oils*, Inkata Press, Melbourne, Australia, p23.
- Bobek, P., Ozdin, L., & Galbavy, S. (1998). Dose and time dependent Hypocholesterolemic effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in rats. *Nutrition*, 14, 282-286.
- Borgkarlson, A.K., Englund, F.O., & Unelius, C.R.(1994). Dimethyl oligosulphides, major volatiles released from *Sauromatum guttatum* and *Phallus impudicus*. *Phytochemistry*, 35, 321-323.
- Breheret, S., Talou, T., Rapior, S., & Bessiere, J-M. (1998). (Z)- and (E)-1,3-octadiene- New major volatile compounds in mushroom aromas (Basidiomycotina). *J.Essent.Oil.Res.*, 10, 716-718.
- Breheret S, Talou T, Rapior S, Bessiereb J.M. (1997). Monoterpenes in the aromas of fresh wild mushrooms (Basidiomycetes) *J. Agric Food Chem.*, 45 (3): 831-836.
- Breheret, S., Talou, T., Rapior, S., & Bessiere, J.M. (1999). Geosmin, a sesquiterpenoid compound responsible for the musty-earthly odor of *Cortinarius herculeus*, *Cystoderma amianthinum* and *Cystoderma carcharias*, *Mycologia*, 91, 117-120.
- Breitenbach J, Kränzlin F. (1984-2000). The Fungi of Switzerland, Vols 1-5. Mycologia Luzerne, Lucerne, 4-86.
- Brenna, E., Fuganti, C., & Serra, S. (2003). Emantioselective perception of chiral odorants. *Tetrahedron Asymmetr*, 14,1-42.
- Brondz, I., Hoiland, K., & Ekeberg, D. (2004). Multivariate analysis of fatty acid in the spores investigated of higher Basidiomycetes: a new method for chemotaxinomical classification of fungi. *J. Chromatogr. B*, 800, 303-307.
- Brunton, N.P., Cronin, D.A. , Frank, J. , Monahan, R. & Durcan (2000). A comparison of solid-phase microextraction (SPME) fibres for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey, *Food Chemistry*, 68 ,339-345.

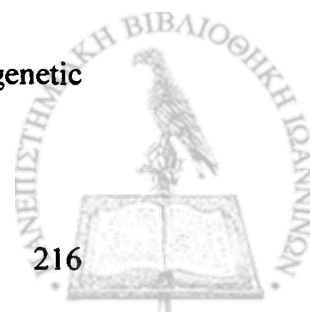
- Buchbauer G, Jirovetz L, Wasicky M, Nikiforov A. (1993). Zum Aroma von Speisepilzen. *Zeitschrift für Lebensmittel- Untersuchung und- Forschung*, 197 (5): 429-433.
- Burdo, A.G. (1997). Encyclopedia of food and color additives. CRC Press, 104-107.
- Buttery, R.G., Turnbaugh, J.G., & Ling, L.C. (1988). Distribution of volatiles to rice aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36, pp.1006-1009.
- Byers, J. A. (1990). Pheromone Production in a Bark Beetle Independent of Myrcene Precursor in Host Pine Species. *Naturwissenschaften*, 77, 385 – 387.
- Campell, B. (1996). The miombo in transition: woodlands and welfare in Africa. Centre for International Forestry research. Bogor, Indonesia, p. 266.
- Campell, A.N. (2006). Biology-Exploring life. Editor: Pearson Prentice Hall, Boston, Massachusetts, USA, 15-23.
- Caporael, R. L. (1976). Ergotism: The Satan Loosed in Salem?", *Science*, Vol. 192, 21-26.
- Carluccio A (2003). The Complete Mushroom Book. Quadrille publishing Ltd, London, U.K., 129-132.
- Casabianca H, Graff JB, Faugier V, Fleig F, & Grenier C (1997). Enantiomeric distribution studies of linalool and linalyl acetate. A powerful tool for authenticity control of essential oils. *HRC J High Res Chrom* 21:107-112.
- Castello G. (1999). Retention index systems: alternatives to the n-alkanes as calibration standards. Review. *Journal of Gromatography A*, 842, 51-64.
- CEC (The Council of European Communities). Council Directive 91/71/EWG and 91/72 EWG of 16 January 1991.
- Chen, C.C., & Wu, C.M. (1984). Volatile components of mushroom (*Agaricus subrufecens*). *Journal of Food Science*, 49, 1208-1209.
- Cho, D.B., Seo, H.Y., & Kim, K.S. (2003). Analysis of the volatile flavor compounds produced during the growth stages of the shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*). *J. Food Sci. Nutr.*, 8, 306-314.
- Cho, I.H., Kim, S.Y., Lee, S.M., Choi, H.K., Kim, K.O., & Kim, Y.S. (2005). Characterization of the overall flavor profiles and odor-active compounds in pine mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.) of different grades. In



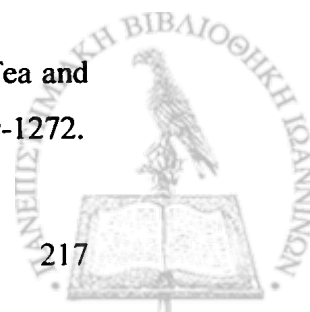
- Danell, E., & Eaker, D. (1992). Amino acid and total protein content of the edible mushroom *Cantharellus cibarius*. *J.Sci.Agric.*, 60, 333-337.
- Demirbas, A. (2001). Concentrations of 21 metals in 18 species of mushrooms growing in the East Black Sea region. *Food Chemistry*, 75, 453-457.
- Deng, W., Hamilton-Kemp, T.R., Nielsen, M.T., Andersen, R.A., Collins, G.B., & Hildebrand, D.F. (1993). Effect of six-carbon aldehydes and alcohols on bacterial proliferation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 506-510.
- Dimopoulos P, Bergmeier E, Theodoropoulos K, Eleftheriadou E (2005) Deciduous oak forest vegetation of Greece: A preliminary survey. *Botanika Chronika* 18: 83-100.
- Dimou, DM, Zervakis GJ, Polemis E. (2002). Mycodiversity studies in selected ecosystems of Greece: I. Macrofungi from the southernmost *Fagus* forest in the Balkans (Oxya Mountain, central Greece). *Mycotaxon* 81: 177-207.
- Dimou, DM, Zervakis, GJ, Polemis, E. (2008). Mycodiversity studies in selected ecosystems of Greece: 4. Macrofungi from *Abies cephalonica* forests and other intermixed tree species (Oxya Mt., central Greece). *Mycotaxon* 104, 39-42.
- Dudareva N, Murfitt LM, Mann CJ, Gorenstein N, Kolosova N, Kish CM, Bonham C, Wood K .(2000). *Plant Cell*, 12(6): 949-962.
- Eadie MJ (2003). "Convulsive ergotism: epidemics of the serotonin syndrome?". *Lancet Neurol.* 2: 429-434.
- Elmaci, Y., & Altug, T. (2005). Flavor characterization of three mandarin cultivars (Satsuma, Bodrum, Clemantine) by using GC/MS and flavor profile analysis techniques. *Journal of Food Quality*, 28, 163-170.
- Eri, S., & da Costa, N. (2004). Identification of volatile compounds in shiitake mushrooms using modern analytical techniques including GC-olfactometry. In State-of-the-art in Flavour Chemistry and Biology, Proceedings of Wartburg Symposium on Flavour Chemistry and Biology, Hofmann, T., Rothe, M., & Schieberle, P. Eds., Deutsche Forschungsanstalt fuer Lebensmittelchemie, Garching, 284-291.

- European Commission, 2003. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper intake level of copper. Health and Consumer Protection Directorate-General, Brussels, Belgium, 2-11.
- Exeter, R. (2006). Ramaria. Trial key to the Pacific northwest species. Version 2. USDI, Bureau of Land Management Salem, Oregon, USA, 86-89.
- Faldt, J., Jonsell, M., Nordlander, G., & Borg-Karlson, A-K. (1999). Volatiles of bracket fungi *Fomitopsis pinicola* and *Fomes fomentarius* and their functions as insect attractants. *J. Chem. Ecol.*, 25, 567-590.
- FAO/WHO, (2002). Human Vitamin and Mineral Requirements. World Health Organization food and agriculture organization of the United Nations, Rome, Italy, 3-24.
- FAO. (2004). Wild edible fungi. A global overview of their use and importance to people Rome, Italy, 16-68.
- Fischer, K-H., & Grosch, W. (1987). Volatile compounds of importance in the aroma of mushrooms (*Psalliota bispora*). *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*, 20, 233-236.
- Fisher, C., & Scott, T. (1997). Food flavours, Biology and Chemistry. Royal Society of Chemistry, USA, 99-108.
- Flavornet by Terry Acree & Heinrich Arn <http://www.flavornet.org>
- Flores, M., Grimm, C.C., Toldra, F., & Spanier, A.M. (1997). Correlations of sensory and volatile compounds of Spanish 'Serrano' dry-cured ham as a function of two processing times. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2178-2186.
- Fogiel, M. (1989). The biology-Solver problem. Research and Education Association, Piscataway, New Jersey, USA, 14-19.
- Fujihara, S., Kasuga, A., Aoyagi, Y., & Sugahara, T. (1995). Nitrogen to protein conversion factors for some common edible mushrooms. *J. Food Sci.*, 60, 1045-1047.
- Fukumoto S, Sawasaki E, Okuyama S, Miyake Y, Yokogoshi H. (2006). Flavor components of monoterpenes in citrus essential oils enhance the release of monoamines from rat brain slices. *Nutr Neurosci.*, 9(1-2):73-80.

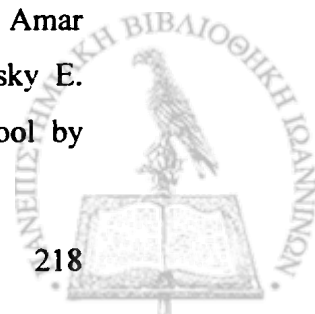
- Gatfield, I.L. (1999). Biotechnological production of natural flavor materials. In Flavor chemistry: 30 years progress; Teranishi, R., Wick, E. L., Hornstein, I. Ed.; Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York, .211-227.
- Gianelli, P.M., Flores, M., & Toldra, F. (2002). Optimisation of solid phase microextraction(SPME) for the analysis of volatile compounds in dry-cured ham. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 1703–1709.
- Gibson, R. W. & Pickett, J. A. (1983). "Wild potato repels aphids by release of aphid alarm pheromone", *Nature*, 302, 608 – 609.
- Gloria, M.B.A., Grulke, E.A., & Gray, J.I. (1993). Effect of type of oxidation on beta-carotene loss and volatile products formation in model systems, *Food Chemistry*, 46, 401–406.
- Goodridge, C.F., Beaudry, R.M., Pestka, J.J., & Smith, D.M. (2003). Solid-phase microextraction for the measurement of hexanal in chicken myofibrils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4185.
- Guillot, S., Peytavi, L., Bureau, S., Boulanger, R., Lepoutre, J-P., Crouzet J., & Schorr-Galindo, S. (2006). Aroma characterization of various apricot varieties using headspace–solid phase microextraction combined with gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography–olfactometry. *Food Chemistry*, 96, (1), 147-155.
- Guth, H. & Grosch W., (1993). Quantitation of potent odorants of virgin olive oil by stable-isotope dilution assays. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Volume 70,(5), 513-518.
- Hall IR, Lyon AJE, Wang Y, Sinclair L (1998). "Ectomycorrhizal fungi with edible fruiting bodies. 2. ' *Boletus edulis*'. *Economic botany*, 52: 44–56.
- Hawksworth, D. L. (1991). The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, 95:641-655.
- Hawksworth, D. L., P. M. Kirk, B. C. Sutton, and D. N. Pegler. (1995). Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi (8th Ed.). CAB International, Wallingford, United Kingdom. p.616.
- Hawksworth, D.L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*, 105: 1422-1432.
- Hawksworth, D.L. (2004). Fungal diversity and its applications for genetic resource collections. *Stud. Mycol.*, 50, 9-18.



- Honkanen, E., & Moisio, T. (1963). On the occurrence of oct-1-en-3-ol in clover plants. *Acta Chem. Scand*, 17,p.858.
- Ilievska, B.P., & Petrovska, B.B. (2000). Amino acid analysis of some Macedonian edible wild mushrooms. *Acta Pharmaceutica*, 50, 141–149.
- Isildak, O., Turkekul, I., Elmastas, M., & Tuzen, M.(2004). Analysis of heavy metals in some wild- grown edible mushrooms from the middle black sea region, Turkey. *Food Chemistry*, 86, 547-552.
- JECFA available at <http://www.fao.org>.
- Kabbaj, W., Breheret, S., Guimberteau, J., Talou, T., Olivier, J.M., Bensoussan, M., Sobal, M., & Roussos, S. (2002). Comparison of volatile production in fruit body and in mycelium of *Pleurotus ostreatus* identified by submerged and solid-state cultures. *Appl. Biochem. Biotech.*, 103, 463-470.
- Kaláč, P., Burda, J., & Staskova, I.(1991). Concentrations of lead, cadmium, mercury and cooper in mushrooms in the vicinity of a lead smelter. *The Science of the Total Environment*, 105, 109-119.
- Kaláč, P. & Svoboda, L. (2000). A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 69, 273-281.
- Kanasawud, P., & Crouzet, J.(1990a). Mechanism of formation of volatile compounds by thermal degradation of carotenoids in aqueous medium. 1. β -carotene degradation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 237–243.
- Kanasawud, P., & Crouzet, J.(1990b). Mechanism of formation of volatile compounds by thermal degradation of carotenoids in aqueous medium. 2. Lycopene degradation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1238–1242.
- Kaspera, R., Krings, U., Pescheck, M., Sell, D., Schrader, J., & Berger, R.G. (1995). Regio- and stereoselective fungal oxyfunctionalisation of limonenes. *Z. Naturforsch C*, 60, 459-466.
- Katzer, G. (2006). *Gernot Katzer's Spice Pages*, 44-52.
- Kawakami Michiko & Yamanishi Tei, (1983). Flavor Constituents of Longjing Tea. *Agric. Biol Chem.*, 47 (9), 2077-2083.
- Kim K-Y., & Chung H-J. (2000). Flavor Compounds of Pine Sprout Tea and Pine Needle Tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1269-1272.



- Kojo, M.R., & Lodenius, M.(1989). Cadmium and mercury in macrofungi-mechanisms of transport and accumulation. *Angew.Bot.* 63, 279-292.
- Kubo, I., Muroi, H., & Himejima, M. (1993). Antibacterial activity against *Streptococcus* mutants of mate tea flavor components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 107-111.
- Kurzman, R.H. (1997). Nutrition from mushrooms, understanding and reconciling available data. *Mycoscience*, 38, 247-253.
- Lalel, H.J.D., Singh, Z., & Tan, C.S. (2003). Distrubition of aroma volatile compounds in different parts of mango fruit. *Journal of Horticulture Science and Biotechnology*.Vol (2), 131-138.
- Lamers, Y.M.A.W. (2003). (+)- Aromadendrene as chiral starting material for the synthesis of fragrances and pheromones. Thesis Wageningen University, 2-16.
- Largent, D.L. (1985). The Agaricales (Gilled Fungi) of California. 5. Hygrophoraceae. Mad River Press: Eureka, CA, 26-29.
- Largent, D.L., Bradshaw, D.E., & Wood, WF. (1990). The candy-like odor of *Nolanea fructufragrans*. *Mycologia*, 82, 786-787.
- Larsen, T.O., & Frisvad, C.J. (1995). Comparison of different methods for collection of volatile chemical markers from fungi. *J.Microbiol.Methods*, 24, 135-144.
- Lavy, M., Zuker, A., Lewinsohn, E., Larkov, O., Ravid, U., Vainstein, A., Weiss, D. (2002). Linalool and linalool oxide production in transgenic carnation flowers expressing the *Clarkia breweri* linalool synthase gene. *Molecular Breeding*, 9: 103-111.
- Leffingwell, J.C., and Alford, E.D. (2005). Volatile constituents of perique tobacco. *J. Environ. Agric. Food Chem.* 4:899-915.
- Leon-Guzman, M.F., Silva, I., & Lopez, M.G.(1997). Proximate chemical composition, free amino acid contents, and free fatty acid contents of some wild edible mushrooms from Queretaro, Mexico. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4329-4332.
- Lewinshon E, Schalechet F, Wilkinson J, Matsui K, Tadmor Y, Nam K, Amar O, Lastochkin E, Larkov O, Ravid U, Hiatt W, Gepstein S, Pichersky E. (2001). Enhanced levels of the aroma and flavor compound S-linalool by

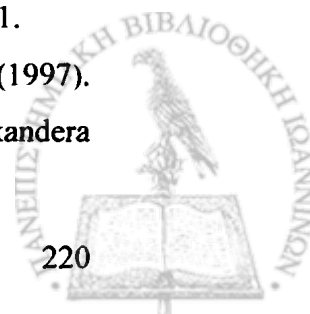


metabolic engineering of the terpenoid pathway in tomato fruits. *Plant Physiol*, 127:1256–1265.

- Lincoff, G.H.(1998). National Audubon Society Field Guide to North American Mushrooms, Alfred A. Knopf., New York, USA, p.926.
- Lindsay, W.L. (1974). Role of chelation in micronutrient availability. In: Carson, E.W.(Ed.). The plant root and its environment, University Press of Virginia, Charlottesville, VA, 507-524.
- Lizarraga-Guerra, R., Guth, H., & Lopez, G.M. (1997). Identification of the most potent odorants in huitlacoche (*Ustilago maydis*) and austern pilzen (*Pleurotus* sp.), by aroma extract dilution analysis and head-space samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1329-1332.
- Lohmeyer, T.R., & Künkele, U. (2005). Pilze. Bestimmen und Sammeln. Parragon Books Ltd, Bath, U.K., 26-49 .
- Lucas EH, Byerrum M, Clarke DA, Reilly HC, Stevens JA, Stock CC (1958) Production of oncostatic principles in vivo and in vitro by species of the genus *Calvatia*. *Antibiot Annu.*, 6:493-496.
- Lucas EH, Montesano R, Pepper MS, Hafner M, Sablon E (1957). Tumor inhibitors in *Boletus edulis* and other holobasidiomycetes. *Antibiot Chemother*, 7:1–4.
- Luo, D.Q., Wang, F., Bian, X.Y., & Liu, J.K. (2005). Rufoslactone, a new antifungal sesquiterpene from the fruiting bodies of the Basidiomycete *Lactarius rufus*. *J. Antibiot.* , 58, 456-459.
- Lyr, H., & Banasiak, L. (1983). Alkenals, volatile defense substances in plants, their properties and activities. *Acta Phytopathol.Acad.Sci.Hung.*, 18, 3-12.
- Maccarone, E., Campisi, S., Fallico, B., Rapisarda, P., & Sgarlata, R. (1998). Flavor Components of Italian Orange Juices, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2293-2298.
- Maga, A.J. (1981). Mushroom flavor (Review). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29, No.1, 1-4.
- Manzi, P., Aguzzi, A., Vivanti, V., Paci, M., & Pizzoferrato, L. (1999). Mushrooms as a source of functional ingredients. In Euro. Food Chem

X European conference on: Functional foods. A new challenge for the food chemist, 22-24 September, Budapest, Hungary, Vol. 1, 86-93.

- Manzi, P., Aguzzi, A., & Pizzoferrato, L. (2001). Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chemistry*, 73, 321-325.
- March, J. (1992). "Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structures" J. Wiley, New York, 68-70.
- Mattila, P.H., Piironen, V.I., Uusi-Rauva, E.J., & Koivistoinen, P.E. (1994). Vitamin D contents in edible mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 2449-2453.
- Matilla, P., Vaananen, P-S., Konko, K., Aro, H., & Jalava, T. (2002). Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6419-6422.
- Mau, J-L., Beelman, R.B., & Ziegler, G.R. (1994). In *Spices, Herbs and Edible fungi; Aroma and flavour components of cultivated mushrooms*, Charalambous, G., Ed.; Elsevier: Amsterdam, 657-684.
- Mau, J.L., Chyau, C.C., Li, J.Y., & Tseng, V.H. (1997). Flavor compounds in straw mushrooms *Volvariella volvacea* harvested at different stages of maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4726-4729.
- Mau, J-L., Lin, Y-P., Chen, P-T., Wu, Y-H, & Peng J-T. (1998). Flavor compounds in king oyster mushrooms *Pleurotus eryngii*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4587-4591.
- Mazza R. (1998). Introduzione alla "micologia". *Pagine di micologia* 10:10-96.
- McMaster, M.C. (2005). GC/MS. A practical User's Guide. John Wiley and Sons, Hoboken, NJ, USA, 34-42.
- Metzler, Susan (1992). Texas Mushrooms: A Field Guide. 1st edition. University of Texas Press. Austin, 56-68.
- Mendil, D., Uluozlu, O.D., Hasdemir, E., & Caglar, A. (2004). Determination of trace elements on some wild edible mushrooms samples from Kastamonu, Turkey, *Food Chemistry*, 88, 281-285.
- *Merck Index*, Merck & Co., Inc, New Jersey, USA, 11th Edition, p.1591.
- Mester, T : Swarts, H J : Romero i Sole, S : de Bont, J A : Field, J A. (1997). Stimulation of aryl metabolite production in the basidiomycete *Bjerkandera*



- sp. strain BOS55 with biosynthetic precursors and lignin degradation products. *Appl-Environ-Microbiol.*, 63(5): 1987-94.
- Mizuno T (1995a). Bioactive biomolecules of mushrooms: food function and medicinal effect of mushroom fungi. *Food Rev Int* 11:7-21.
 - Mizuno T (1995b). Yamabushitake, *Hericium erinaceum*: bioactive substances and medicinal utilization. *Food Rev Int* 11:173-178.
 - Morawicki, R.O., Beelma, R.B., Peterson, D., & Ziegler, G. (2005). Biosynthesis of 1-octen-3-ol and 10-oxo-trans-8-decenoic acid using a crude homogenate of *Agaricus bisporus*. Optimization of the reaction: Kinetic factors. *Process Biochem*, 40, 131-137.
 - Morita, K., & Kobayashi, S. (1966). Isolation and synthesis of lenthionine, an odorous substance of shiitake, an edible mushroom. *Tetrahedron Lett.*, 6, 573-577.
 - Mosciano, Gerard, (1995). Organoleptic characteristics of flavor materials *P&F* 20, No. 4, p.23.
 - Moshonas, M. G.; Shaw, P. E.(1990). Composition of Essential Oil From Overripe Oranges. *J. Agric. Food Chem.* 27, (6), 1337-1339.
 - Mullins, J.T. (1990). Regulatory mechanism of β -glucan synthetases in bacteria, fungi and plants, *Physiological Plantarum*, 78, .309-314.
 - Murugkar, D.A & Subbulakshmi. G. (2005). Nutritional value of edible wild mushrooms collected from the Khasi hills of Meghalaya. *Food Chemistry*, 89, 599-603.
 - Nair MK, Joy J, Vasudevan P, Hinckley L, Hoagland TA, Venkitanarayanan KS.(2005) Antibacterial effect of caprylic acid and monocaprylin on major bacterial mastitis pathogens. *J Dairy Sci.*, 88(10):3488-95.
 - Netto, C.C., Moreira, R. F.A., & De Maria, C. A.B., (2003). Volatile Profile from Caninha Aged in Oak (*Quercus* sp) and Balsam (*Myroxylon* sp) Barrels. *Food Science and Technology International*, 9, 359-364.
 - Neville, P. and S. Poumarat. 2004. Amaniteae. 1. *Fungi Europaei* 9: 1-119.
 - Niess, W., ed. (2001). Current Practice of Gas Chromatography- Mass Spectrometry. Marcel Dekker, Oxford, 24-28 .

- Noel-Suberville, C., Cruz, C., Guinberteau, J., & Montury M. (1996) Correlation between fatty acids content and aromatic compound release in fresh blewit (*Lepista nuda*). *J. Agric. Food Chem.* 44, 1180-1183.
- Noordeloos, M., & Polemis, E. (2008). Studies in the genus *Entoloma* (*Basidiomycetes, Agaricales*) from the Kiklades (C. Aegean, Greece). *Mycotaxon* 105: 301-312.
- Nyeque, M., Zollo, P.H.A., Bessiere, J.M., & Rapior, S. (2003). Volatile components of fresh *Pleurotus ostreatus* and *Termitomyces simperi* from Cameroon. *J. Essent. Oil- Bearing Plants*, 6, 153-160.
- Nykanen L. & Nykanen I. (1983). Rum flavour. In: Piggott J. (ed.), *Flavour of Distilled Beverages: Origin and Development*, Chichester: Ellis Horwood Ltd, West Sussex, 49-63.
- Olias, M., Perez, A.G., Rios, J.J., & Sanz, L.C. (1993). Aroma of virgin olive oil - biogenesis of the green odor notes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41,(12), 2368-2373.
- Ong, P.K.C., and Acree, T.E. (1999). Similarities in the aroma chemistry of Gewürztraminer variety wines and Lychee (*Litchi chinesis* Sonn.) fruit. *J. Agric. Food Chem.* 47:665-670.
- Onyenekwe. P., Hashimoto, S. (1999). The composition of the essential oil of dried Nigerian ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), *Eur Food Res Technol*, 209, 407-410.
- Outila. T.A., Mattila, P.H., Piironen, V.I., & Lamberg-Allardt, C.J.E. (1999). Bioavailability of vitamin D from wild mushrooms (*Cantharellus tubaeformis*) as measured with a human bioassay. *American Journal of Clinical Nutrition* 69, pp.95-98.
- Ouzouni, K.P., & Riganakos, A.K. (2007a). Nutritional value and metal content profile of Greek wild edible fungi. *Acta Alimentaria*, 36, (1), pp.99-110.
- Ouzouni, K.P., Veltsistas, G.P., Paleologos, K.E., & Riganakos, A.K. (2007b). Determination of metal content in wild edible mushroom species from regions of Greece. *Journal of food composition and Analysis*, 20, pp.480-486.

- Ouzouni, K.P., Petridis, D., Koller, W-D., & Riganakos, K. (2009a). Nutritional value and metal content of wild edible mushrooms collected from West Macedonia and Epirus, Greece. *Food Chemistry*, 115, (4) 1575-1580.
- Ouzouni, P.K., Koller, W-D., Badeka, A.V. & Riganakos, K.A. (2009b). Volatile compounds from the fruiting bodies of three *Hygrophorus* mushroom species from Northern Greece. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 854-859.
- Overton S.V. & Manura J.J. (1999). Determination of volatile organic compounds in Mushrooms. Scientific Instrument Services, Inc. Application Note, 18a.
- Pauli, G. (1998). Qingyuan: the mushroom capital of the world, (available at www.zeri.org.news/1998/august/aug_chin.htm).
- Pawliszyn, J. (1999). Applications of solid phase microextraction. Royal society of Chemistry, Cambridge, UK, 41-169.
- Pegler, D.N., & Vanhaecke, M. (1994). Termitomyces of Southeast Asia. *Kew Bulletin*, 49: 717-736.
- Pegler, D.N., Roberts, P.J. & Spooner, B.M. (1997). British Chanterelles and Tooth Fungi. Royal Botanic Gardens: Kew, England. p.114.
- Philippoussis, A., Zervakis, G. & Diamantopoulou, P. (2001). Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17, 191-200.
- Philippoussis, A.N., Diamantopoulou, P.A. & Zervakis, G.I. (2003) Correlation of the properties of several lignocellulosic substrates to the crop performance of the shiitake mushroom *Lentinula edodes*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19, 551-557.
- Phillips R (1985). Mushrooms and other fungi of Great Britain and Europe. pan Books, London, U.K. 274-288.
- Phillips, R (2006). Mushrooms. Pan MacMillan., London, U.K. 45-46.
- Picardi, S.M., Issenberg, P. (1973). Investigation of some volatile constituents of mushrooms (*Agaricus bisporus*): changes which occur during heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 21, 959-962.

- Pierbattesti, C.J., Mondo, M.J., Gaydou, M.E., & Vincent, J.E. (1988). Constituents of the Essential Oil of *Erigeron karwinskyanus*. *Agric. Biol. Chem.*, 52 (2), 599-600.
- Pino J.A. (1996). Los componentes volatiles del aroma del ron. *Alimentaria* 33(2): 79-85.
- Pino, A.J., Marbot, A. R., Rolando, Q., & Garcia, H. (2002). Study of essential oils of *Eucalyptus resinifera* Smith, *E. tereticornis* Smith and *Corymbia maculata* (Hook.) K. D. Hill & L. A. S. Johnson, grown in Cuba. *Flavour Fragr. J.* 17: 1-4.
- Polemis, E, Zervakis GJ, Dimou, DM. 2002. New and interesting findings of macromycetes from the islands of Andros and Naxos (Cyclades, Greece). In: The 7th International Mycological Congress, Book of Abstracts, Oslo, 11-17 August, 2002, Oslo 169-170.
- Polemis, E. & Noordeloos, M.E. (2007). Two new *Gymnopus* species from the Island of Andros (Kiklades, C. Aegean, Greece). *Mycotaxon*, 102: 171-178.
- Pommer. H., & Nfirrenbach A., Industrial synthesis of terpene compounds, BASF AG, 6700 Ludwigshafen, GFR, 1-3.
- Prance, G. (1984). The use of edible fungi by Amazonian Indians. *Advances in Economic Botany*, 1: 127-139.
- Qian. M. & Reineccius. G. (2003). Potent aroma compounds in Parmigiano Reggiano cheese studied using a dynamic headspace (purge-trap) method. *Flavour and Fragrance Journal* 18(3): 252-259.
- Rajarathnam, S. & Bano, Z. (1988). *Pleurotus* mushroom Part II. Chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation and role as human food. *Crit.Rev.Food Sci. Nutr.* 27, 87-158.
- Raguso RA, Pichersky E (1999). A day in the life of a linalool molecule: chemical communication in a plant-pollinator system. Part 1: linalool biosynthesis in flowering plants. *Plant Species Biol*, 14:95-120.
- Rapior, S., Breheret, S., Talou, T., & Bessière, J.M., (1997a). Volatile flavor constituents of fresh *Marasmius alliaceus* (Garlic *Marasmius*) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 820-825.

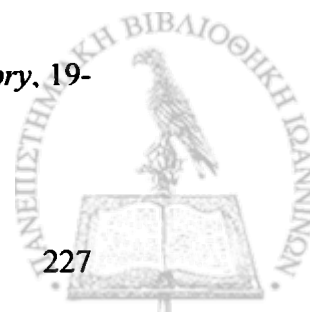
- Rapior, S., Breheret, S., Talou, T., Pelissier, Y., Milhau, M., & Bessiere, J-M. (1998). Volatile components of *fresh Agrocybe aegerita* and *Tricholoma sulfureum*. *Cryptogamie, Mycologie*, 19, 15-23.
- Rapior, S., Konska, G., Guillot, J., Andary, C., & Bessiere, J-M. (2000). Volatile composition of *Laetiporus sulphureus*. *Cryptogamie, Mycol.*, 21, (1), 67-72.
- Rapior, S., Mauruc, M.J., Guinberteau, J., Masson, C.L., & Bessière, J.M. (2000b). Volatile composition of *Gyrophragmium dunalii*. *Mycologia*, 92, 1043-1046.
- Rapior, S., Breheret, S., Talou, T., & Bessière, J.M. (2002). The anise-like odor of *Clitocybe odora*, *Lentinellus cochleatus* and *Agaricus essettei*. *Mycologia*, 94(3), 373-376.
- Rapior s., Fons F., & Bessiere J-M. (2003). Volatile constituents of *Lepista nebularis* (Clouded Clitocybe). *Cryptogamie, Mycologie*, 24, (2), 1-8.
- Rassios, E. (2007). Rocks in the wild. A guide to the identification of imperfect Rocks and Minerals. Published by I.G.M.E. The Institute of Geology and Mineral Exploration for the Alaakmon River Legacy Project.
- Rassios, E. (2008). A geologist's guide to West Macedonia, Greece. Published by Grevena Development Agency, Grevena-Greece.
- Rayman, M. (2000). The importance of selenium to human health. *The Lancet*, 356, 233-24.
- Reygadas, F., Zamora-Martinez, M. & Cifuentes, J. (1995). Conocimiento sobre los hongos silvestres comestibles en las comunidades de Ajusco y Topilejo D.F. *Revista Mexicana de Micologia* 11: 85-108.
- Reshetnikof, S.V., Wasser. S.P., & Tan, K.K.(2001). Higher basidiomycota as a source of antitumour and immunostimulating polysaccharides. A review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 3: 361-394.
- Rifai, M. (1989). Plant resources of South-East Asia, Proceedings of the 1st PROSEA International Symposium, 22-23 May 1989, Jakarta, Indonesia, 297-298.
- Rinker, D.L. (2002). Handling and using "spent" mushroom substrate around the world. In *Mushroom biology and mushroom products*. Sanchez, J.E.,

Huerta, G., Montiel, E., Eds; Cuernavaca Impresos Jupiter, Cuernavaca, Mexico, 43-60.

- Roman, M., Boa, E., & Woodward, S. (2006). Wild-gathered fungi for health and rural livelihoods. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65, 190-197.
- Rogachev, D.A., Fomenko, V. V., Salnikova, I.O., Pokrovskii, M.L., & Salakhutdinov F.N. (2006). Comparative analysis of essential oil compositions from leaves and stems of *Rhododendron adamsii*, *R. aureum*, and *R. dauricum*. *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 42, No. 4, 426-430.
- Rose, ME., & Johnstone, RAW. (1982). *Mass spectrometry for Chemists and Biochemists*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 4-38.
- Rösecke J, Pietsch M, König WA. (2000). Volatile constituents of wood-rotting basidiomycetes. *Phytochemistry*, 54, 747-750.
- Rudawska, M. & Leski, T. (2005). Macro- and microelement contents in fruiting bodies of wild mushrooms from the Notecka Forest in West-central Poland. *Food Chemistry*, 92, 499-506.
- Rychlik, M., Schieberle, P., and Grosch, W. 1998. In compilation of odour thresholds, odour qualities and retention indices of key food odorants. Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie and Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität München, Germany, 11-38.
- Sadler M. (2003). Nutritional properties of edible fungi, British Nutrition Foundation, *Bulletin* , 28, 305-308.
- Saittagaroon, S., Kawakishi S., & Namiki. M.(1984). Aroma Constituents of Roasted Coconut. *Agric. Biol. Chem.*, 48 (9), 2301 -2307.
- Sanches-Silva, A. Rodriguez-Bernaldo de Quiros, A., Lopez-Hernandez, J., & Paseiro-Losada, P. (2004). Determination of hexanal as indicator of the lipidic oxidation state in potato crisps using gas chromatography and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1046, 75-81.
- Sanchez, C. (2004). Modern aspects of mushroom culture technology. *Appl. Microbiol. Biot*, 64, 756-762.
- Sanmee, R., Dell, B., Lumyong, P., Izumori, K., & Lomyong, S. (2003). Nutritive value of popular wild edible mushrooms from northern Thailand, *Food Chemistry*, 82, 527-532.



- Schieberle, P., & Buettner, A. (2001). Influence of the chain length on the aroma properties of homologous epoxy- aldehydes, ketones, and alcohols, In *Aroma active compounds in foods, chemistry and sensory properties*, Edited by Tkeoka, G., Guntert, M., Engel, K. ACS Symposium Series 794, American Chemical Society, Washington DC, 109-118.
- Schiestl, F.P. & Roubik, D.W. (2004) Odor Compound Detection in Male Euglossine Bees. *Journal of Chemical Ecology* 29, 253-257.
- Schnabel, G., Bryson, P.K., and Williamson, M.A. (2006). First report of *Armillaria tabescens* causing Armillaria root rot of Pindo palm in South Carolina. *Pl. Dis.* 90: 1106. (40789).
- Schrader, J., & Berger, R.G. (2001). Biotechnological production of terpenoid flavor and fragrance compounds. In *Biotechnology* (2nd, completely revised edition), Rehm, H.J., Reed, G.A., Puhler, A.P., Stadler, P. Ed; Wiley-VCH: Weinheim, 374-422.
- Seeger, R. Trumpfheller, S., Schweinschaut, P. (1983). On the occurrence of sodium in fungi. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 79, 80-87.
- Seppanen, C.M., Casallany, A., & Sari, A. (2001). Simultaneous determination of lipophilic aldehydes by high-performance liquid chromatography in vegetable oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 78, p.1253.
- Serra, S., Fuganti, C., & Brenna, E. (2005). Biocatalytic preparation of natural flavors and fragrances. *Trends Biotechnol*, 23, 193-198.
- Sharma, S (1996). *Applied multivariate techniques.*, John Wiley and Sons: New York, p. 493.
- Sharon-Asa, Liat; Moshe Shalit, Ahuva Frydman, Einat Bar, Doron Holland, Etti Or, Uri Lavi, Efraim Lewinsohn, Yoram Eyal (2003). "Citrus fruit flavor and aroma biosynthesis: isolation, functional characterization, and developmental regulation of Cstps1, a key gene in the production of the sesquiterpene aroma compound valencene.". *The Plant Journal* (36), 664-674.
- Smith, J.E., Rowan, N.J., & Sullivan, R. (2002). Medicinal mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. *University of Strathclyde*, 29-38.
- Sommer, R. (1995) Why I will continue to eat corn smut. *Natural History*, 19-22.



- Song, H.S., Sawamura, M., Ito, T., Kawashimo, K., and Ukeda, H. (2000). Quantitative determination and characteristic flavour of Citrus junos (yuzu) peel oil. *Flavour Fragr. J.* 15, 245-250.
- Spanier, H.A., Shahidi, F., Parliment, T., Mussinam, C., Ho, C-T., & Tratas H. (1999). Food Flavors and Chemistry: Advance of the new Millenium, Royal Society of Chemistry, London, 274-281.
- Srivastava, D., Haider, F., Dwivedi, P. D. , Naqvi, A. A., & Bagchi, G. D. (2005). Comparative study of the leaf oil of *Juniperus macropoda* growing in Garhwal regions of Uttranchal (India). *Flavour Fragr. J.* 20, 460-461.
- Stajkovic, O., Beric-Bjedov, T., Mitic-Julafi, D., Stankovic, S., Vukovic-Gacic, B., Simic, D., & Knezevic-Vukevic, J. (2007). Antimutagenic Properties of Basil (*Ocimum basilicum* L.) in *Salmonella typhimurium* TA100. *Food Technol. Biotechnol.* 45 (2), 213-217.
- Stamets, P. (1993). Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms, Ten Speed Press, Berkeley, CA, USA, 94-97.
- Stashenko, E.E., & Martinez, R.J. (2007). Sampling volatile compounds from natural products with headspace/solid-phase micro-extraction (Review). *Journal of biochemical and biophysical methods*, 70, 235-242.
- Stije, T. & Besson, R. (1976). Mercury, cadmium, lead and selenium content of mushroom species belonging to the genus *Agaricus*. *Chemosphere*, 2, 151-158.
- Stijve, T., Amazonas, M.A., & Giller, V. (2002). Flavour and taste components of *Agaricus blazei* ss. Heinem, - a new gourmet and medicinal mushroom. *Deut. Lebensm-Rundsch.*, 98, 448-453.
- Stoop, J.M.H., & Mooibroek, H. (1999). Advances in genetic analysis and biotechnology of the cultivated button mushrooms *Agaricus bisporus*. *Appl. Microbiol. Biot.* 52, 474-483.
- Strickland, G.T., Beckner, W.M., Leu, M.L., O'Reilly, S. (1972). Turnover studies of copper in homozygotes and heterozygotes for Wilson's disease and controls: isotop tracer studies with ²⁷Cu. *Clinical Science*, 43, 605-615.
- Sugihara, T.F., & Humfeld, H. (1954). Submerged culture of mycelium of various species of mushroom. *Appl. Microbiol.* 2, 170-172.

- Sunderman, F.W. Measurements of nickel in biological materials by atomic absorption spectrometry. *Amer J. Clin Pathol.*, 44, 182-200, 1965.
- Suzuki, Y., Sakai, H., Shimada, T., Omura, M., Kumazawa, S., & Nakayama T. (2004). Characterization of gamma-terpinene synthase from Citrus unshiu (Satsuma mandarin). *Biofactors.*, 21 (1-4), 79-82.
- Takeoka, G. R., Buttery, R. G., & Flath, R.A. (1992). Volatile Constituents of Asian Pear (*Pyrus serotina*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1925-1929.
- Tamogami, S., Narita, Y., Suzuki, S., Nishizawa, T., Hanai, H., & Noma M. (2007). Volatile sesquiterpenes emitted from leaves of *Polygonum longisetum* treated with jasmonic acid and its amide conjugates. *Journal of Pesticide Science*, Vol. 32, No.3, 264-269.
- Taylor, J. W., Spatafora, J.W., & Berbee, M. L. (2008). Ascomycota, available at www.tolweb.org.
- Thomas, A.F. 1973. An analysis of the flavor of the dried mushroom, *Boletus edulis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 21, 955-958.
- Tressl, R., & Drawert, F. (1973). Biogenesis of banana volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 21, (4), p.504.
- Tressl, B., Bahri, D., & Engel. K-H. (1982). Formation of eight carbon and ten-carbon components in mushroom (*Agaricus campestris*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30, 89-93.
- Trinci, A.P.J. (1995). Pure and applied mycology. *Can.J.Bot.*, 73. (Suppl.1), 1-14.
- Tsiripidis, I., Bergmeier, E. & Dimopoulos, P. (2007). Geographical and ecological differentiation in Greek Fagus forest vegetation. – *Journal of Vegetation Science*, 18, 743-750.
- Tudzynski P, Correia T. Keller U (2001). "Biotechnology and genetics of ergot alkaloids". *Lancet Neurol.* 57: 4593-4605.
- Turkekul, I., Elmastas, M., & Tüzen, M. (2004). Determination of iron, copper, manganese, zinc, lead, and cadmium in mushroom samples from Tokat, Turkey, *Food Chemistry*, 84, 389-392.
- USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 13 (1999).



- Vandamme, E.J. (2003). Bioflavors and Fragrances via fungi and their enzymes. *Fungal Divers.*, 13, 153-166.
- Venkateshwarlu, G., Chandravada, M.V., Tewari, P.R. (1999). Volatile flavour components of some edible mushrooms (Basidiomycetes). *Flavour and Fragrance Journal*, 14, 191-194.
- Verbeken, A. (2001). *Worldwide systematics of Lactarius: a state of art. Micologia e vegetazione mediterranea*, 16(1), 71-88.
- Vetter, J. (1993). Toxic elements in certain higher fungi. *Food Chemistry*, 48, 207-208.
- Vetter, J. (1994b). Die Kupfer-, Mangan-, und Zink Gehalte eininger essbarer Grosspilzarten, *Z. Lebesm. Unters.-Forsch*, 198, 469-472.
- Villanueva, C. (1997). 'Huitlacoche' (*Ustilago maydis*) as a food in Mexico, *Micologia Neotropica Aplicada*, 10: 73-81.
- Volk, T., & Burssall, H. (1995). A nomenclatural Study of *Armillaria* and *Armillariella* species. Synopsis, Fungorum 8, Fungiflora, Oslo, Norway, 14-16.
- Waché, Y., Bosset-De Ratuld, A., & Belin, J.M. (2002). Production of aroma compounds by enzymatic co-oxidation of carotenoids. In: P. Winterhalter and R.L. Rouseff, Editors, *Carotenoids-derived aroma compounds*, American Chemical Society, Washington, DC, 102-113.
- Walton, N.J., Mayer, M.J., & Narbad, A. (2003). Molecules of interest- Vanillin. *Phytochemistry*, 63, 505-515.
- Wardencki, W., Michulec, M., & Curylo, J. (2004). A review of theoretical and practical aspects of solid-phase microextraction in food analysis. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 703-717.
- Wasser SP (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol* 60, 258-274.
- Wasser SP, Weis AL (1999). Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: current perspectives (review). *Int J Med Mushrooms*, 1, 31-62.
- Wasson, R.G., Hofmann, A., & Ruck C.A.P. (1978). The road to Eleusis. Unveiling the Secret of the Mysteries by Harcourt Brace Jovanovich., Harcourt, New York, USA, 24-25.

- Watling, R., G.A. Kile and N.M. Gregory. (1982). The genus *Armillaria* - Nomenclature, Typification, the identity of *Armillaria mellea* and species differentiation. *Trans. British Mycol. Soc.* 78, 271-285.
- White, FA, & Wood, GM. (1986). Mass spectrometry: Applications in Science and Engineering. Wiley-Interscience, New York, 12-23.
- Whittaker, R H (1969). "New concepts of kingdoms or organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms". *Science* (New York, N.Y.) 163 (863): 150-160.
- Wildman, H.G. (1995). Influence of habitat on the physiological and metabolic diversity of fungi. *Can.J.Bot.*, 73, (Suppl.1), 907-916.
- Williams, R.E., Shaw, C.G., Wargo, P.M., & Sites, W.H. (1986). *Armillaria* root disease. Northern area and Forest Service, For. Ins & Dis Leaflet 78, Colorado, USA.
- Wood, F.W., Farquar, R.G., & Largent L.D. (2000). Different volatile compounds from mycelium and sporocarps of *Pleurotus ostreatus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 89-90.
- Wood, W.F., DeShazer, D.A., & Largent, D.L. (1988). The identity and metabolic fate of volatiles responsible for the odor of *Hydnellum suaveolens*. *Mycologia*, 80, 252-255.
- Wood, W.F., Watson, R.L., & Largent, D.L. (1990). The odor of *Agaricus augustus*. *Mycologia*, 82, pp.276-278.
- Wu, S. (2005). Volatile compounds generated by Basidiomycetes. PhD Thesis, Universitat Hannover, 48-64.
- Wu, S., Krings, U., Zorn, H., & Berger, R.G. (2005). Volatile compounds from the fruiting bodies of beefsteak fungus *Fistulina hepatica* (Schaeffer: Fr.)Fr. *Food Chemistry*, 92, 221-226.
- Xu, X.J. (1999). Studies of beta-Elemene's induction of human liver cancer cells. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, (1), 30-32.
- Yang, Z. L. and Y. Doi. (1999). A contribution to the knowledge of *Amanita* (Amanitaceae, Agaricales) in Japan. *Bull. Natl. Sci. Mus. Tokyo B* 25(3): 108-130.

- Δημόπουλος, Π. Η βιοποικιλότητα της Ηπείρου. Περιφέρεια Ηπείρου, Ειδική υπηρεσία Διαχείρισης ΠΕΠ ΗΠΕΙΡΟΥ. Το έργο χρηματοδοτήθηκε από το μέτρο 1.3. «Ανάπτυξη και Προώθηση της καινοτομίας» Δράση 1.3.1. «Κοινωνία της Πληροφορίας» του ΠΕΠ Ηπείρου 2000-2006.
- Δήμου, Δ. (2005). Μύκητες - Μανιτάρια. Εισαγωγή στη βιολογία των μακρομυκήτων. Ελληνική Εταιρεία Εθνοφαρμακολογίας. www.iaama-ethno.gr Επιστημονικό συνέδριο: Τα Βρώσιμα μανιτάρια στην θεραπευτική, Καστοριά, 28-30/10/2005.
- Ζερβάκης, Γ. (1998). Εισαγωγή στην μυκητολογία και στοιχεία καλλιέργειας εδώδιμων μανιταριών. Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό ίδρυμα Καλαμάτας. Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Καλαμάτα, 18-44.
- Ζερβάκης, Γ., Δήμου, Δ. & Πολέμης, Η. (2008). Η βιοποικιλότητα των μακρομυκήτων στην Ελλάδα, [www. microbiokosmos.gr](http://www.microbiokosmos.gr).
- Καραταπάνης Α. (2004). Μεταβολές των πτητικών ενώσεων του παστεριωμένου γάλακτος συναρτήσει του χρόνου συντήρησης – Επίδραση του υλικού συσκευασίας, Μεταπτυχιακή διατριβή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, 26-40.
- Κατσικάτσος, Γ. (1992). Γεωλογία της Ελλάδας, Οργανισμός Εκδόσεων Διδακτικών Βιβλίων, Αθήνα, 11-58.
- Κελτεμλίδης, Δ. (1982). Τα φαρμακερά μανιτάρια του τόπου μας. Εκδόσεις: Γ.Χ. Κανελλόπουλος, Αθήνα., 17-33.
- Κούκης, Γ. Καλλέργης. (1985). Τεχνική Γεωλογία, Οργανισμός Εκδόσεων Διδακτικών Βιβλίων, Αθήνα, 36-42.
- Κωνσταντινίδης, Γ. (2004). Μανιτάρια, Οδηγός Μανιταροσυλλέκτη, Εκδόσεις Ζαρζώνη, Θεσσαλονίκη, 11-17.
- Μπαδέκα, Α. (2003). Σημειώσεις ΜΠΣ, Τμήμα Χημείας, Ιωάννινα.
- Μπαμπαλώνας, Δ., & Κοκκίνη, Σ. (1999). Συστηματική Βοτανική, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, 19-21.
- Μπούρμπος, Β. (2007). Τα θανατηφόρα και δηλητηριώδη μανιτάρια της χώρας μας. ΔΗΩ (Οργανισμός Ελέγχου και Πιστοποίησης Βιολογικών Προϊόντων), Αθήνα, 93-98.
- Πετρίδης, Δ. (2000). Εφαρμοσμένη Στατιστική με έμφαση στην επιστήμη των τροφίμων. Θεσσαλονίκη, Ομηρος, Εκδοτική, 59-106.

- Σάββας. Δ. (2000). Θρέψη φυτών, Τ.Ε.Ι Ηπείρου, Σχολή Τεχνολόγων Γεωπονίας, Τμήμα Ανθοκομίας- Αρχιτεκτονικής Τοπίου, ΤΕΙ Ηπείρου, Άρτα, 79-86.
- Τζουβάρα- Καραγιάννη, Σ. (1996). Σύσταση, Χημική Ανάλυση και Προδιαγραφές βασικών τροφίμων. 8^η έκδοση, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, 265-266.