

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Επίδραση της σύστασης του ριγανέλαιου σε είδη του γένους
Penicillium

Ονοματεπώνυμο Φοιτητή
ΜΙΧΑΗΛ ΤΣΙΝΤΑΡΑΚΗΣ
(AM 02235)

Επιβλέπων καθηγητής
Βαγγέλας Ιωάννης
Επίκουρος Καθηγητής

Βόλος, 2024

«Επίδραση της σύστασης του ριγανέλαιου σε είδη του γένους *Penicillium*»

Αγγλικός Τίτλος

“Effect of the oregano oil composition on species of the genus *Penicillium*”

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

Ι. Βαγγέλας, Επίκουρος Καθηγητής

Αθ. Σφουγγάρης Καθηγητής και

Π. Μαδέσης Επίκουρος Καθηγητής

Βόλος, 2024

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
ABSTRACT	5
A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	6
A1. Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά.....	6
A2. Ρίγανη (<i>Origanum vulgare</i>).....	8
A2.1. Καταγωγή, Βοτανική ταξινόμηση.....	8
A2.2. Βοτανική περιγραφή (<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i>).....	10
A2.3. Κλιματικές συνθήκες.....	11
A2.4. Πολλαπλασιασμός.....	12
A2.5. Τρόπος καλλιέργειας.....	12
A2.6. Συγκομιδή.....	13
A2.7. Ασθένειες, εχθροί	14
A2.8. Χρήση	15
A3. Αιθέρια Έλαια	15
A3.1. Ιδιότητες και ρόλοι αιθέριων ελαίων.....	17
A3.2. Παραγωγή αιθέριων ελαίων.....	18
A3.3. Συστατικά αιθέριων ελαίων	18
A3.4. Παραλαβή των αιθέριων ελαίων	20
A3.5. Δράσεις Αιθέριων ελαίων	22
A3.6. Θυμώλη.....	23
A3.7. Καρβακρόλη	26
A4. Μύκητες (<i>Penicillium</i> spp.).....	29
A4.1. <i>Penicillium</i> sp.....	30
A4.2. Διαχείριση του γένους <i>Penicillium</i> με αιθέρια έλαια	34
B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	37
B1. Σκοπός πειράματος	37
B2. Υλικά και Μέθοδοι	37
Υλικά	37
B3. Πειραματική διαδικασία.....	38
B3.1. Προετοιμασία θρεπτικού μέσου	38
B3.2. Καλλιέργεια του μύκητα <i>Penicillium italicum</i>	40
B3.3. Πολλαπλασιασμός της αποικίας και καταπολέμηση με ριγανέλαιο	41
B3.4. Συλλογή και καταγραφή δεδομένων.....	45
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	47
Επεξεργασία δεδομένων	47
Boxplots.....	48
Ανάλυση ANOVA (Analysis of Variance).....	49

ANOVA – Data.....	49
Descriptives plots	49
Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	51
Επεξηγήσεις των πινάκων.....	55
Μετρήσεις	56
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	59
Ελληνική	59
Ξενόγλωσση.....	59

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σ' αυτή την πτυχιακή εργασία θα διερευνήσουμε την αποτελεσματικότητα του αιθέριου ελαίου της Ρίγανης (*Origanum vulgare*) στην καταπολέμηση του μύκητα του πενικιλίου (*Penicillium* sp.). Κύριος παράγοντας είναι η περιεκτικότητα σε του ελαίου σε καρβακρόλη και γίνεται και μελέτη της δράσης της αναφορικά με το χρόνο. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με μέθοδο ANOVA με το JASP. Στο πείραμα πραγματοποιήθηκε καλλιέργεια (in vitro) του πενικιλίου σε θρεπτικό μέσο PDA σε πολλαπλά τρυβλία στα οποία εφαρμόστηκε ριγανέλαιο με διαφορετικές περιεκτικότητες σε **καρβακρόλη** και πάρθηκαν μετρήσεις μεγέθους ανάπτυξης των μυκήτων σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα. Θα αναφερθούμε στη συνέχεια σε περισσότερες λεπτομέρειες. Στο πείραμα εξετάστηκε η ικανότητα καταπολέμησης μετασυλλεκτικού μύκητα, με ευεργετικό οικονομικά αποτέλεσμα για τον παραγωγό ή έμπορο.

ABSTRACT

In this thesis we are studying the potential of oregano (*Origanum vulgare*) oil to fight against *Penicillium* fungus. The most important component of our oil is carvacrol and its level plays a crucial role in our goal as the main factor, but so does time because carvacrol has a specific duration of effect. The statistical analysis of data is done with the ANOVA method with JASP program. The experiment consists of *Penicillium* fungi in vitro cultivation on Petri plates, using PDA as a medium, in which we applied the oregano oil with different carvacrol levels. The measurements of the fungi colonies were recorded at different times and our data is gathered. This research has to do with our harvests (fruit and vegetables), so it can provide help and profit to growers by saving and preserving them for longer periods.

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

A1. Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά

Σαν αρωματικά φυτά χαρακτηρίζονται αυτά που χρησιμοποιούνται στη βελτίωση της γεύσης των τροφίμων (εστίαση, ζαχαροπλαστική, στα ποτά), στην κοσμετολογία (σαπούνια, αρώματα, καλλυντικά), για δημιουργία αφεψημάτων κλπ. Όλα τα Αρωματικά φυτά είναι και Φαρμακευτικά. Στην πλειοψηφία τους η φαρμακευτική χρήση προηγήθηκε της αρωματικής. Έτσι, στη διεθνή πραγματικότητα έχει θεσπιστεί η ορολογία «Φαρμακευτικά και Αρωματικά φυτά» (Medicinal and Aromatic Plants, MAP). Ενώ όλα τα Αρωματικά είναι και Φαρμακευτικά, μερικά Φαρμακευτικά δεν είναι και Αρωματικά, όπως βαλσαμόχορτο, δακτυλίτιδα, μπελαντόνα κ.α. Τα Φαρμακευτικά που δεν είναι Αρωματικά είναι πολύ λίγα. (Κουτσός, 2019).

Η χώρα μας έχει πληθώρα ειδών και ποικιλιών Αρωματικών και Φαρμακευτικών φυτών και ιδανικές κλιματικές και εδαφολογικές συνθήκες για την καλλιέργεια αυτών. Το προνόμιο αυτό δυστυχώς παραμένει ανεκμετάλλευτο. Σύμφωνα με στοιχεία του Υπ. Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, λίγα είδη τέτοιων φυτών καλλιεργούνται και σε μικρές εκτάσεις, ενώ δεν είναι λίγες οι περιπτώσεις που γίνονται και εισαγωγές. Η εξάπλωση του θεσμού της καλλιέργειας των Αρωματικών και Φαρμακευτικών φυτών, σαν εναλλακτικές καλλιέργειες, θα επίλυε πολλά προβλήματα του αγροτικού πληθυσμού και της περιφέρειας, διότι εκτός των άλλων, θα έδινε λύση και στην επιδιωκόμενη αναδιάρθρωση των καλλιεργειών. Τα Αρωματικά και Φαρμακευτικά φυτά μπορούν να αντικαταστήσουν τον καπνό ή άλλες καλλιέργειες ή να καλλιεργηθούν και σε χωράφια ακαλλιέργητα, όχι και τόσο γόνιμα, αξιοποιώντας έτσι τις περισσότερες κατηγορίες εδαφών που υπάρχουν στη χώρα μας, ξηρικά και ποτιστικά, εύφορα και άγονα, πεδινά, λοφώδη και ημιορεινά (Κουτσός, 2019).

Η καλλιέργειά τους για παραγωγή ξηρών δρογών ή αιθέριων ελαίων, τα οποία είναι προϊόντα που δεν έχουν ανάγκη άμεσης διάθεσης, είναι εφικτή και για τις πιο απομακρυσμένες περιοχές. Σήμερα που οι χημικές ουσίες αντικαθίστανται από τις φυσικές και η αρωματοθεραπεία βρίσκεται στην άνθιση, είναι ευκαιρία για την ανάπτυξη του κλάδου αυτού στην Ελλάδα (Κουτσός, 2019). Η Ελλάδα συγκριτικά με άλλες χώρες τρέφει στάση οπισθοδρομική στην αξιοποίηση του κλάδου και αυτό φαίνεται από το γεγονός ότι το εμπορικότερο είδος ρίγανης (*O. vulgare* subsp. *hirtum*),

που είναι και το αντικείμενο της έρευνας, είναι γνωστό διεθνώς ως Ελληνική ρίγανη (Greek oregano) και η χώρα μας αδιαφορεί. «Στην αγορά όμως της Ν.Υόρκης, το είδος αυτό της ρίγανης πουλιέται ως «Greek oregano produced in Turkey» (Ελληνική ρίγανη παραγωγής Τουρκίας). Εάν δεν αλλάξει η κατάσταση, ίσως δούμε και το ίδιο για το Ελληνικό φασκόμηλο (Greek sage, *Salvia triloba*) ή το Κρητικό (Cretan sage, *S. pomifera*)» αναφέρει στο βιβλίο του ο καθηγητής του ΑΠΘ, Θεόδωρος Β. Κουτσός.

Η αδυναμία του καλλιεργητικού κλάδου των Αρωματικών και Φαρμακευτικών ειδών στη χώρα μας, οφείλεται κυρίως:

- Στην άγνοια του τρόπου καλλιέργειας των ειδών αυτών και έλλειψη επιστημόνων για την υπόδειξη αυτού (Κουτσός, 2019).
- Στην ανυπαρξία ερευνών πάνω στον κλάδο και είναι επόμενο εφόσον δεν υπάρχει αρκετή βιβλιογραφία για γενετική βελτίωση και τεχνικές καλλιέργειας, δε μπορεί να υπάρξει μελέτη που σχετίζεται με τη φυσιολογία των φυτών και των αιθέριων τους ελαίων (Κουτσός, 2019).
- Υπάρχουν ολίγες μόνο αξιόλογες μονάδες επεξεργασίας των φυτών αυτής της κατηγορίας (Κουτσός, 2019).

Για την ανάπτυξη του τομέα των Αρωματικών και Φαρμακευτικών στη χώρα μας πρέπει να προηγηθεί η δημιουργία μονάδων επεξεργασίας και η οργάνωση του εμπορίου για να εξασφαλιστεί η σίγουρη διάθεση της παραγωγής (Κουτσός, 2019). Η συμβολαιακή γεωργία είναι μια καλή διέξοδος για την επίτευξη του στόχου του παραγωγού, μιας και μιλάμε για πιο εξειδικευμένες καλλιέργειες. Επίσης, πρέπει να γνωρίζουν οι παραγωγοί πως το πολλαπλασιαστικό υλικό το ενδημικό και αυτοφυές της χώρας μας υπερτερεί έναντι του εξωτερικού ως προς την περιεκτικότητα των δραστικών ουσιών, (Κουτσός, 2019). Οφείλονται σε κάθε περίπτωση να τηρούνται οι προδιαγραφές διεθνείς ποικιλιών και ποιότητας, να περνάει το προϊόν ποιοτικό έλεγχο (HACCP) και επίσης βιολογική καλλιέργεια είναι ελκυστική για εξαγωγές. (Κατσιώτης, 2011).

Στις περισσότερες μεσογειακές χώρες, πράγματι υπάρχουν πολλά αυτοφυή αρωματικά φυτά και πολλά από τα οποία καλλιεργούνται συστηματικά. Τα κυριότερα αρωματικά φυτά ανήκουν στις οικογένειες Labiatae (Χειλανθή), Umbelliferae (Σκιαδιοφόρα), Lauraceae (Δαφνοειδή), Myrtaceae (Μυρτώδη), Compositae (Σύνθετα)

(Karousou *et. al*, 2007). Ας εμβαθύνουμε στα χαρακτηριστικά της καλλιέργειας των Αρωματικών Φυτών που αφορά την ποιότητα της παραγόμενης δρόγης, μιας και αυτή μας ενδιαφέρει για την εξαγωγή αιθέριου ελαίου με υψηλά επίπεδα καρβακρόλης, για τα οποία θα μιλήσουμε στη συνέχεια.

Αρχικά, αφού επιλεγεί η κατάλληλη ποικιλία που επιθυμούμε, εξασφαλίζουμε ότι το πολλαπλασιαστικό υλικό είναι απαλλαγμένο από ασθένειες και παθογόνα, αφού το φυτό καταπονείται από το στρες προσπαθώντας να αντισταθμίσει τους εχθρικούς παράγοντες που βλάπτουν την ανάπτυξή του και έτσι φαινοτυπικά δεν τηρεί τις προδιαγραφές, π.χ κιτρινίσματα ή κατεστραμμένα φύλλα, μικρότερου μεγέθους ατροφικά, λιγότερο λιπαρά (ελαιώδη) με υποβαθμισμένη μυρωδιά.

Όσον αφορά τις κλιματικές συνθήκες, ως ανθεκτικά φυτά ευδοκιμούν παντού, με αγαπημένη προτίμηση ξηροθερμικό κλίμα για την ανάδειξη των αρωμάτων και των ελαίων τους. Ανάλογα με αυτές τις παραμέτρους λογαριάζουμε και τη φροντίδα για την άρδευση κλπ. Στη συνέχεια, ό,τι έχει να κάνει με τη συγκομιδή, αυτή παίζει κρίσιμο ρόλο για την ποιότητα της διάθεσης του προϊόντος ή του ελαίου αν έχουμε τέτοιο σκοπό. Στη συγκεκριμένη περίπτωση της ρίγανης μας ενδιαφέρει η συλλογή της άκρης του μίσχου παρέα με το άνθος. Έπειτα, ακολουθεί επεξεργασία, αφαίρεση των άχρηστων στελεχών και αποξήρανση και τέλος είτε διάθεση ή αποθήκευση στις συνθήκες που επιθυμούμε. Για τη ρίγανη συγκεκριμένα όσο περισσότερο ξερή τόσο το καλύτερο.

A2. Ρίγανη (*Origanum vulgare*)

A2.1. Καταγωγή, Βοτανική ταξινόμηση

Το είδος *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* είναι παγκόσμια γνωστή ως Ελληνική ρίγανη (Greek oregano), που πρόκειται για ιθαγενές φυτό στην Ελλάδα. Ετυμολογικά είναι σύνθετη λέξη και προέρχεται από τις λέξεις όρος (βουνό) και γάνος (λαμπρός, χαρά). Στο γένος *Origanum* εντάσσονται πολλά είδη, υποείδη και ποικιλίες, που κατακλύζουν τις παραμεσόγειες χώρες της Ευρώπης και της Αφρικής, αλλά υπάρχουν και στις εύκρατες ζώνες της Ασίας και Αμερικής. Εκτός από τα υποείδη του *Origanum vulgare* (subsp. *hirtum*, subsp. *vulgare* και subsp. *viridulum*) με το όνομα ρίγανη κυκλοφορούν στο εμπόριο και άλλα είδη του γένους *Origanum* π.χ *Origanum onites*,

που στην εγχώρια αγορά υπάρχει ως νησιώτικη ρίγανη, ενώ στο εξωτερικό ως Turkish oregano.

Η ρίγανη εκτός από τη χώρα μας παράγεται και σε άλλες χώρες (Τουρκία, Αλβανία, Κροατία, Βουλγαρία, Ισπανία, Γαλλία, Μεξικό κ.α.). Η Ελληνική ρίγανη (*Origanum vulgare. hirtum*) θεωρείται πως κατέχει στην πρωτιά σε ολόκληρο τον κόσμο, γι' αυτό και έχει τη μεγαλύτερη ζήτηση, αποδίδοντας εξίσου καλά είτε αυτοφυής είτε σε οργανωμένη καλλιέργεια στον ελλαδικό χώρο. (Κουτσός, 2019).

Η ρίγανη (*Origanum vulgare*) είναι φυτό της οικογένειας των Χειλανθών (Lamiaceae, Labiatae), της τάξης των Lamiales. Στη χώρα απαντώνται 3 υποείδη του *Origanum vulgare*:

-*O. vulgare* subsp. *vulgare* (χαρακτηριστικά μωβ άνθη). Στο είδος αυτό περιέχεται ελάχιστη περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου (0,3% σε ξηρή δρόγη) διαφορετικής σύστασης συγκριτικά με τα επόμενα υποείδη.



Εικόνα 1: Ταξιανθίες του φυτού *Origanum vulgare* subsp. *vulgare*.

-*O. vulgare* subsp. *hirtum* . Το είδος αυτό από κάποιους ταυτίζεται με το είδος *O. heracleoticum*



Είκονα 2: Ταξιανθίες *Origanum vulgare* sp. *hirtum*

-*O. vulgare* subsp. *viridulum*. Το είδος χαρακτηρίζεται από σχετικώς μεγάλα βράκτια φύλλα.

Στο γένος του *Origanum* ανήκουν 42 είδη, 49 taxa (είδη, υποείδη, ποικιλίες). Τα πιο γνωστά είδη είναι:

-*Origanum onites* , ή και *Majorana onites* .Έχει λευκά άνθη σε ταξιανθίες κορύμβων και είναι γνωστή ως νησιώτικη ρίγανη.

- *Origanum syriacum* γνωστό και ως *Origanum maru* , αγριορίγανη, κυπριακά σαμψυχιά.

-*Origanum majorana* . ματζουράνα και

-*Origanum dictamnus* . (δίκταμος, έρωντας, μαλλιαρόχορτο)

Έχουν περιγραφεί επίσης και 17 φυσικά υβρίδια μεταξύ των ειδών του γένους *Origanum*.

A2.2. Βοτανική περιγραφή (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*)

Η Ελληνική ρίγανη πρόκειται για πολυετή φυτό, αλλά οι βλαστοί της γρήγορα χάνουν τον ποώδη χαρακτήρα και ξυλοποιούνται. Μετά την ξυλοποίηση του βλαστού, το φυτό δίνει την εικόνα κοντού θάμνου που στο καλοκαίρι γίνεται φρύγανο, ξηρής δηλαδή υφής. Στην αρχή η ανάπτυξη είναι έρπουσα με μικρά βλασταράκια με φύλλα σταχτόχρωμα, σε αντίθετη διάταξη, ωοειδή, τριχωτά στην κάτω επιφάνεια. Οι έρποντες

βλαστοί όπου ακουμπούν στο έδαφος παράγουν ρίζες και ριζώνουν. Αργά την άνοιξη, αυτοί οι βλαστοί διακλαδώνονται και εκπύσσονται πολλά ανθοφόρα στελέχη. Τα άνθη είναι μικρά, λευκά, σε ταξιανθίες στάχυος που καλύπτουν το 1/3 περίπου του άνω μέρους κάθε στελέχους. Το ύψος των κλαδιών φτάνει τα 50-80 εκ. Το υποείδος *subsp. vulgare* έχει μωβ άνθη με παρόμοιες ταξιανθίες. Το είδος *O. onites* έχει λευκά άνθη σε ταξιανθίες κορύμβων στη κορυφή του βλαστού, δίχως στάχεις δηλαδή. Οι σπόροι είναι πολύ μικροί (8.000 σπόροι ανά γρ.) και χρώματος καφέ. Οι στάχεις κάθε ταξιανθίας εμφανίζουν διακυμάνσεις στο χρόνο ωρίμανσή τους και γιαυτό, ενώ οι κάτω στάχεις του ανθοφόρου στελέχους φέρουν ώριμους σπόρους, οι επάνω μπορεί να βρίσκονται ακόμη στο στάδιο της ανθοφορίας, (Κουτσός, 2019).

A2.3. Κλιματικές συνθήκες

Η ρίγανη αναπτύσσεται σωστά στους 18-22 °C με όρια ανάπτυξης 4-33 °C ,ενώ το ριζικό σύστημα καλώς ανεπτυγμένων φυτών δύναται να αντέξει και σε αέρα θερμοκρασίας -25 έως 42 °C. Γενικά είναι ανθεκτικό στις περισσότερες εδαφοκλιματικές συνθήκες που ποικίλουν από παραθαλάσσιες έως ορεινές περιοχές, στα νησιά και σε στεριά, σε φτωχά και πλούσια εδάφη. Άριστο pH 6,8, αλλά με μεγάλο εύρος ανεκτικότητας και σε ελαφρά όξινα ή και ασβεστούχα. Για την βέλτιστη ποιότητα προϊόντος απαιτείται άμεση επαφή με τον ήλιο και όχι σκιά, καθώς παρουσία έντονης ηλιοφάνειας παρουσιάζεται υψηλή περιεκτικότητα σε ριγανέλαιο και καρβακρόλη.

Σε ότι αφορά την απαίτηση θρεπτικών, αυτή είναι μικρή, αλλά στις συμβατικές καλλιέργειες συνίσταται 40-50 κιλά βασικό λίπασμα 11-15-15, με εφαρμογή φθινόπωρο/ χειμώνα, όμως παράλληλα αυξάνουμε και τις ανάγκες των ιχνοστοιχείων. Σε υψηλές περιεκτικότητες χαλκού στο έδαφος, τα φύλλα γίνονται μικρά, κίτρινα, με μπόλικά στομάτια και λίγους χλωροπλάστες. Αν παρουσιαστεί παρατεταμένη ξηρασία ιδίως την άνοιξη, μπορούμε να ποτίσουμε 1 ή 2 φορές σε 40-50 κ.μ. / στρ αυξάνοντας την απόδοση, δίχως να υπεραυξάνονται οι ανάγκες. Με στάγδην άρδευση απαιτούνται 8-10 λίτρα νερό τη φορά. Γνωρίζοντας την παροχή του σταλάκτη με την πίεση του νερού υπολογίζουμε το χρόνο για να το πετύχουμε. Όπως προείπαμε, η προσθήκη ανόργανης λίπανσης δημιουργεί απαιτήσεις σε νερό (Κουτσός,2019).

A2.4. Πολλαπλασιασμός

Η ρίγανη πολλαπλασιάζεται με παραφυάδες (μικρά βλασταράκια με ρίζα που βγαίνουν δίπλα στον κεντρικό βλαστό και μεταφυτεύονται) ή με σπόρο ή και με διαίρεση παλαιών φυτειών, αλλά ο συνηθέστερος τρόπος είναι με σπόρο. Όταν μιλάμε για διαίρεση εννοούμε το ξερίζωμα του φυτού και η διαίρεση του υπέργειου και υπόγειου μέρους στα δύο προς σχηματισμό δύο νέων φυτών. Η εγκατάσταση της καλλιέργειας (μεταφύτευση στο χωράφι) μπορεί να γίνει φθινόπωρο ή άνοιξη και τα σπορεία για τα φυτά μας γίνονται αντίστοιχα τέλη Ιουλίου για τη χειμερινή και αρχές Ιανουαρίου για την εαρινή. Αν δεν υπάρχει θερμοκήπιο στη διάθεσή μας για την εαρινή καλλιέργεια καλό θα ήταν να χρησιμοποιήσουμε απλά το υλικό κάλυψης που είναι διαφανές κάλυμμα πολυαιθυλενίου για την προστασία των σπορειών ή έστω να κάνουμε όψιμη σπορά. Για κάθε στρέμμα χρειάζονται 8-10 τ.μ σπορείου, ενώ για σιγουριά μπορούμε να σπείρουμε και μέχρι 20 τ.μ. Έτσι, απαιτούνται περιποιήσεις και ποιοτική σποροκλίνη στην οποία το έδαφος εμπλουτίζεται σε βάθος 8-10 εκ. με λεπτή άμμο ποταμίσια και τύρφη και ισοπεδώνεται. Η σπορά θέλει 2-5γρ. σπόρου ανά τ.μ για να παράξουμε 700-800 φυτά. Ο σπόρος δεν έχει ομοιόμορφο φύτρωμα και αρχίζει να φυτρώνει μετά από 15 μέρες, ενώ τα φυτά είναι έτοιμα για μεταφύτευση σε 1,5-2 μήνες περίπου (Κουτσός, 2019).

A2.5. Τρόπος καλλιέργειας

Τα σπορόφυτα ή οι παραφυάδες μεταφυτεύονται σε δύο περιόδους: τον Οκτώβριο ή και νωρίτερα σε μεγάλα υψόμετρα για τη χειμερινή περίοδο (σπορείο καλοκαιριού) και Μάρτη- μέσα Μάϊου για την εαρινή περίοδο (σπορείο Ιανουαρίου) ανάλογα με το αν υπάρχει δυνατότητα στάγδην άρδευσης. Οι αποστάσεις φύτευσης είναι από 60-80 εκ. μεταξύ των γραμμών και 30-40εκ. μεταξύ των φυτών της γραμμής, με υποκειμενικότητα ανάλογα με τις συνθήκες του χωραφιού (για παράδειγμα στα άγονα χωράφια φυτεύουμε πιο κοντά, ενώ στα εύφορα και ποτιζόμενα αραιότερα). Η πυκνότητα μπορεί να κυμαίνεται από 3500-6000 φυτά/στρ. και το πότισμα κατά την μεταφύτευση είναι απαραίτητο, όπως και ένα δεύτερο με αρκετό νερό, σε περίοδο υψηλών θερμοκρασιών.

Εννοείται όποτε υπάρχει ανάγκη θα πρέπει να παρέχεται νερό στο φυτό ειδικά την πρώτη καλοκαιρινή σεζόν. Τρεις βδομάδες αφού μεταφυτεύσουμε θα ήταν καλό

να σκαλίζαμε με ένα φρεζάκι επί της γραμμής για καταστροφή των ζιζανίων, αλλά και παροχή αέρα στις ρίζες. Ως ζιζανιοκτόνα προτιμούμε σκευάσματα με τη δραστική ουσία terbacil, όπως είναι το Sinbar WDG, και τα εφαρμόζουμε την εποχή της φύτευσης ή στις παλιές καλλιέργειες το Φεβρουάριο για να προλάβουμε την ανοιξιιάτικη βλάστηση. Στις καλλιέργειες της άνοιξης, τα φυτά παραμένουν έρποντα χωρίς ανθοφόρους βλάστους τον πρώτο χρόνο, ενώ του φθινοπώρου προλαβαίνουν να εμφανίσουν λίγους. Το δεύτερο χρόνο εκπτύσσουν ακόμη περισσότερους για να φτάσουμε στον τρίτο, αυτόν της πλήρους αναπτυξης. Γενικά, η βιολογική καλλιέργεια της ρίγανης αποδίδει σε ποσότητα το ίδιο καλά με τη συμβατική, ενώ το προϊόν πωλείται ευκολότερα και σε καλύτερη τιμή. Η ρίγανη μπορεί να παραμείνει στο χωράφι για 8 χρόνια, παραμένοντας εξίσου αποδοτική (Κουτσός, 2019).

A2.6. Συγκομιδή

Η συγκομιδή γίνεται μια φορά στο στάδιο της πλήρους άνθησης κόβοντας το υπέργειο τμήμα σε ύψος 8-10 εκ. από το έδαφος με χορτοκοπτικό. Επιτυγχάνουμε βέλτιστη ποιότητα όταν ξεραίνεται στη σκιά σε ελεγχόμενες συνθήκες, ξηραντήριο, ενώ αν πρόκειται για βιομηχανική χρήση μπορεί να στεγνώσει και στο χωράφι σε διάστημα μιας ημέρας με τις επικρατούσες συνθήκες. Έπειτα δένεται σε μπάλες ή λαμβάνει την αντιμετώπιση συλλογής με θεριζοαλωνιστική μηχανή, αρκεί να κάνουμε κάποιες μετατροπές σε αυτήν.

Προσοχή, σε καμία περίπτωση η ρίγανη μας δεν πρέπει να βραχεί, αφού μαυρίζει και καθίσταται ακατάλληλη για πώληση είτε ως δρόγη, είτε για παραγωγή αιθέριου ελαίου. Ευτυχώς, ο ΕΛΓΑ αποζημιώνει τους καλλιεργητές σε περίπτωση χαλαζιού ή πλημμύρας, αφού ολόκληρη σοδειά μπορεί να καταστραφεί πολύ εύκολα. Όσον αφορά ανοιξιιάτικες καλλιέργειες στο πρώτο έτος δεν αξίζει να συγκομιστεί, ενώ οι φθινοπωρινές μπορούν να παράξουν και 40 κιλά ξερής ρίγανης. Το δεύτερο χρόνο η παραγωγή τριπλασιάζεται, ενώ από τον τρίτο έχουμε πλήρη φανέρωση του ανωτέρου σημείου παραγωγής.

Στη συνέχεια, οι αποδόσεις διατηρούνται σταθερές μέχρι και τον 6^ο χρόνο και στη συνέχεια φθίνουν έως στα 10 χρόνια που πλέον σταματούν. Από το 3^ο έτος και έπειτα είναι δυνατή η επίτευξη μέχρι και 300 κιλά περίπου το στρέμμα, ενώ η περιεκτικότητα των φύλλων και ταξιανθιών σε ριγανέλαιο μπορεί να αγγίζει και το 7%

(3-4% μέσος όρος βιομηχανικά). Τα κύρια συστατικά του ελαίου είναι η **καρβακρόλη**, η θυμόλη, το γ-τερπινένιο και το p-κυμένιο. Η καρβακρόλη, που καθορίζει και την ποιότητα της ρίγανης κυμαίνεται από 70-85%, ενώ σε ημιάγρια αυτοφυή μπορεί να υπάρχει και σε ποσοστά 90%. Η απόδοση της φυτείας σε ριγανέλαιο και καρβακρόλη αντίστοιχα σχετίζεται με τις καλλιεργητικές και κλιματικές συνθήκες, τον καλλιεργούμενο πληθυσμό και το είδος του φυτού σε καλλιεργούμενα χωράφια, δηλαδή με ήμερες ποικιλίες ή αυτοφυείς.

Σχετικά με το κλίμα, είναι αποδεδειγμένο πως η ρίγανη μικρού υψομέτρου περιέχει περισσότερο αιθέριο έλαιο. Αυτό οφείλεται στο ότι το υψόμετρο και το γεωγραφικό πλάτος είναι συνδεδεμένα με τη διάρκεια του καλοκαιριού. Όταν το υψόμετρο μεγαλώνει, τόσο περιορίζεται το καλοκαίρι και η προσλαμβανόμενη ακτινοβολία για τη φωτοσύνθεση των φυτών μειώνεται μαζί με το χρόνο. Γνωρίζουμε πως οι ξηροθερμικές και καυτερές συνθήκες «βράζουν» τα βότανα απελευθερώνοντας έλαια και μυρωδιές, έτσι όσο περισσότερο ήλιο έχουμε και γενικά παράγοντες εξατμισοδιαπνοής, ευνοούμε αυτή τη φαινοτυπική συμπεριφορά. Έτσι, είναι αποδεδειγμένο πως η ρίγανη μικρού υψομέτρου περιέχει περισσότερο αιθέριο έλαιο. (Κουτσός, 2019).

A2.7. Ασθένειες, εχθροί

Σπάνια η ρίγανη παρουσιάζει μυκητολογικές ασθένειες του υπέργειου τμήματος παρά μόνο σηψιρριζίες και προσβολές μυκήτων εδάφους σε κακώς στραγγιζόμενα εδάφη τα οποία δεν προτείνονται για καλλιέργεια αυτής για λόγους ποιότητας όπως αναφέραμε. Προσβολές από έντομα δεν αποκλείονται, αλλά δεν δημιουργούν προβλήματα και σοβαρές ζημιές. Για παράδειγμα, ο βλαστορρήκτης που δημιουργεί στοές στο άνω άκρο του βλάστου είναι ένα τέτοιο έντομο.

Σοβαρός εχθρός της καλλιέργειας είναι τα ζιζάνια αγριάδα και περικοκλάδα που εκτός του ότι μίζουν θρεπτικά και νερό η δεύτερη περιπλέκεται στη χορτομάζα κατά το θερισμό και αποτελεί πρόβλημα συνολικά στην ποιότητα του προϊόντος, ως ξένο στοιχείο. Δυστυχώς, πρέπει να καταπολεμηθεί υπολογίζοντάς την ως αύξηση στις δαπάνες. Οι καταπολεμήσεις στις καλλιέργειες που ονομάζονται συμβατικές γίνεται με ζιζανιοκτόνα, ενώ στις βιολογικές με τους αντίστοιχους τρόπους (βοτάνισμα, ίσως όργωμα με φρεζάκι, πολλές φορές απαιτούνται και εργατικά) (Κουτσός, 2019).

A2.8. Χρήση

Η ξηρή βιομάζα (φύλλα, ταξιανθίες), η δρόγη της ρίγανης αξιοποιείται ως καρύκευμα σε πολλά φαγητά, ενώ το αιθέριο έλαιο (ριγανέλαιο) χρησιμοποιείται ως σιτηρέσιο για τη διατροφή μηρυκαστικών και πτηνών βιολογικής εκτροφής, αντικαθιστώντας επικίνδυνα αντιβιοτικά. Όπως και η δρόγη, το αιθέριο έλαιο έχουν αντιοξειδωτικές, αντιμυκητιακές και αντιβακτηριακές ιδιότητες που τα καθιστούν, πέραν της βελτίωσης γεύσεως που δίνουν, ως αβλαβή συντηρητικά φυσικής προέλευσης. (Κουτσός, 2019)

Μπαίνοντας σε λεπτομέρειες, ο μηχανισμός της αντιβακτηριδιακής δράσης οφείλεται στην ικανότητα των ελαίων να διασπώνε το κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων, επιτρέποντας στις φαινολικές ενώσεις να εισέλθουν και να συνδεθούν με τις πρωτεΐνες φωσφολιπιδίων, αδρανοποιώντας τα τελικά. (Marteli *et. al*, 2018)

Οι αντιοξειδωτικές δυνατότητες των φαρμακευτικών φυτών και ειδικά της ρίγανης είναι αποδεδειγμένες αφού στα έλαια υπάρχουν ουσίες-σαρωτές ελεύθερων ριζών, ως αντιοξειδωτικά δηλαδή. Οξειδωτικές αντιδράσεις από καταστάσεις του εξωτερικού περιβάλλοντος προκαλούν καταστροφή λιπιδίων, πρωτεϊνών και του DNA, αλλοιώνοντας γενεαλογικά το ανθρώπινο είδος. (Morshedloo *et. al*, 2017) Επίσης, είναι αποδεδειγμένο (Ozkan *et. al*, 2010), πως τα έλαια της με την υψηλότερη καρβακρόλη είναι τα περισσότερο αντιοξειδωτικά, αντίστοιχα που λειτουργούν και κατά των μυκήτων, όπως αποδεικνύεται και εκ του πειράματος. Γενικά, η ρίγανη έχει δείξει ποικίλες φαρμακευτικές ιδιότητες και οφέλη που την καθιστούν ως ένα από τα σημαντικότερα φυτά στην υγεία του ανθρώπου. Έτσι, είναι αντικείμενο μελέτης και έρευνας από πληθώρα επιστημόνων.

A3. Αιθέρια Έλαια

Αιθέριο έλαιο ονομάζεται το μείγμα πτητικών λιπόφιλων οργανικών συστατικών που παραλαμβάνονται φυσικά δια αποστάξεως, εκπίεσεως ή και με εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες από φύλλα, κλαδιά, ρίζες, ριζώματα, σπόρους και γενικά από αρωματοφόρα τμήματα φυτών. Από τη βιβλιογραφία αναφέρονται ως πτητικά, χωρίς

μεγάλη ακρίβεια, αφού μερικών το σημείο ζέσεως ξεπερνάει τους 100° C, (Sadgrove & Jones, 2015).

Σημαντικό γεγονός είναι ότι τα αιθέρια έλαια ποικίλουν και διαφέρουν ποιοτικά και ποσοτικά σε σχέση με το μέρος του φυτού που επιλέγουμε. Για παράδειγμα, στο αιθέριο έλαιο που εξάγουμε από το φλοιό του *Cinnamomum verum* (κανέλα Σρι Λάνκα) υπερισχύει κινναμαλδεΐδη, ενώ στα φύλλα ευγενόλη. Τα μόριά των έχουν ικανότητα να διασκορπίζονται στην ατμόσφαιρα και να διεγείρουν τα όργανα όσφρησης, όπως και προσελκύουν τα έντομα, ελευθερώνοντας αρώματα χαρακτηριστικά για το κάθε είδος φυτού.

Στη ρίγανη, που είναι και το θέμα της έρευνάς μας, η εκατοστιαία περιεκτικότητα του ελαίου στο φυτό, αλλά και η σύστασή αυτού είναι δύο παράγοντες που παρουσιάζουν μεγάλη παραλλακτικότητα σε σχέση με το γονότυπο, το κλίμα και τη λίπανση. (D Antuono *et al.*, 2000; Novak *et al.*, 2003) Γενικά, στη ρίγανη ο γονότυπος έχει τον πρώτο λόγο και μετά οι κλιματικές συνθήκες στην ποσότητα και στα επιθυμητά τερπένια/ φαινόλες στο αιθέριό μας έλαιο,. (Novak *et al.*, 2003).

Συγκεκριμένα, το αιθέριο έλαιο περιέχει τερπένια και φαινόλες, με τα σημαντικότερα συστατικά να είναι τα εξής:

- carvacrol
- thymol
- γ-terpinene
- p-cymene
- α-terpinene
- β-bisabolene
- borneol
- cis-sabinene hydrate
- β-caryophyllene

A3.1. Ιδιότητες και ρόλοι αιθέριων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια είναι διαυγή, άχρωμα ή ελαχιστοκίτρινα, μπλε ή πράσινα πτητικά υγρά στους 25° C. Η πυκνότητά τους είναι συνήθως μικρότερη του νερού, με εξαιρέσεις βέβαια, και με υψηλό δείκτη διάθλασης ως οπτικά ενεργά. Είναι διαλυτά σε οργανικούς διαλύτες και με μικρή διαλυτότητα στο νερό, ενώ η υδατοδιαλυτότητα των μεμονομένων συστατικών ποικίλει σχετικά με την πολικότητα, με τις γενικά πολικότερες ενώσεις να είναι πιο διαλυτές στο νερό, αφού σχηματίζονται δεσμοί με το υδρογόνο. (Sadgrove *et. al.*,2015).

Πρέπει να τα φυλάμε σε σκούρα μπουκαλάκια που κλείνουν καλά σε χαμηλές θερμοκρασίες και εκτός φωτός γιατί οξειδώνονται, χάνουν τη μυρωδιά τους ή ρητινοποιούνται.



Εικόνα 3: Ενδεικτικά σκεύη αποθήκευσης

Τα φυτά παράγουν αιθέρια έλαια με σκοπό:

- ❖ Τη μείωση της διαπνοής
- ❖ Τη προσέλκυση εντόμων
- ❖ Τη προστασία από ζώα και ασθένειες

Και αυτά παράγονται:

- ❖ στα φύλλα
- ❖ στους καρπούς
- ❖ στα άνθη
- ❖ στο φλοιό
- ❖ στις ρίζες (Γιαννούλης, 2022)

A3.2. Παραγωγή αιθέριων ελαίων

Σε όλο το φυτό και περισσότερο στα φύλλα της ρίγανης υπάρχουν τριχίδια αδενώδη ή μη. Και οι δύο τύποι υπάρχουν παντού στο φυτό με τα μη αδενώδη να επικρατούν στο κάτω μέρος των φύλλων. Τα αδενώδη βρίσκονται σε φωτοσυνθετικά μέρη, στην επιδερμίδα των φύλλων, ανθοταξιών και στελεχών με πολύπλοκη δομή και όπως καταλαβαίνουμε και από τη λέξη φέρουν αδένες και είναι υπεύθυνα για τη δημιουργία των ελαίων και βέβαια μας ενδιαφέρει ο αριθμός τους.

Οι τρίχες αυτές έχουν σχήμα μανιταριού (Εικόνα 4), έχουν δηλαδή βάση, στέλεχος και κεφαλή και συνεισφέρουν κατά κάποιο τρόπο στη φωτοσύνθεση σε αλληλοβοήθεια με τα κύτταρα της επιδερμίδας. Η κεφαλή εκκρίνει τα αιθέρια έλαια ή και κολλώδεις ουσίες και όπως προείπαμε μας ενδιαφέρει το μέγεθος αυτών και η πυκνότητα στο φυτό. Αν ανατρέξουμε στις κλιματικές συνθήκες διαπιστώνουμε ότι οι ξηροθερμικές καλλιεργητικές συνθήκες ευνοούν την παραγωγή αιθέριων ελαίων από τα τριχίδια, ακόμη και περισσότερες τρίχες φαινοτυπικά. (Ασσαριωτάκης, 2018).

A3.3. Συστατικά αιθέριων ελαίων

Στη φύση υπάρχουν 2 μεταβολίτες οι πρωτογενείς, πρωτεΐνες/ υδατάνθρακες και οι δευτερογενείς από τους οποίους αποτελούνται και τα αιθέρια έλαια των φυτών. (Moghaddam & Mehdizadeh, 2017).



Εικόνα 4: Αδενώδης κεφαλωτή τρίχα που περιέχει αιθέριο έλαιο (πηγή Ασσανιωτάκης,2018)

Τα συστατικά των ελαίων μπορεί να είναι:

- Αλκοόλες
- Αιθέρες
- Αλδεΐδες
- Κετόνες
- Εστέρες
- Αμίνες
- Φαινόλες (θυμόλη, καρβακρόλη, ευγενόλη)
- Ετεροκυκλικές ενώσεις
- Τερπενοειδή

Στο ριγανέλαιο υπάρχει καρβακρόλη και θυμόλη ως κύρια συστατικά.

A3.4. Παραλαβή των αιθέριων ελαίων

Η μέθοδος που πρέπει να ακολουθηθεί χρειάζεται να εξασφαλίζει σταθερότητα της ποιότητας του ελαίου. Ακατάλληλες πιέσεις και θερμοκρασίες στην εκχύλιση, συνάμα με τη χρήση ακατάλληλων διαλυτών δρουν αρνητικά στη δομή ενώσεων (Li *et al.*, 2014). Έτσι, για να επιλέξουμε από την πληθώρα μεθόδων, έχουμε ως κριτήρια το είδος και μέρος του φυτού, την περιεκτικότητά του σε έλαιο, τη σύσταση και αξία του ελαίου. Οι επιλογές μας χωρίζονται σε 2 κατηγορίες, απόσταξη και εκχύλιση, βέβαια υπάρχει και ο τρόπος της σύνθλιψης (Ασσαριωτάκης, 2018 και Χατζημαυρούδης, 2018).

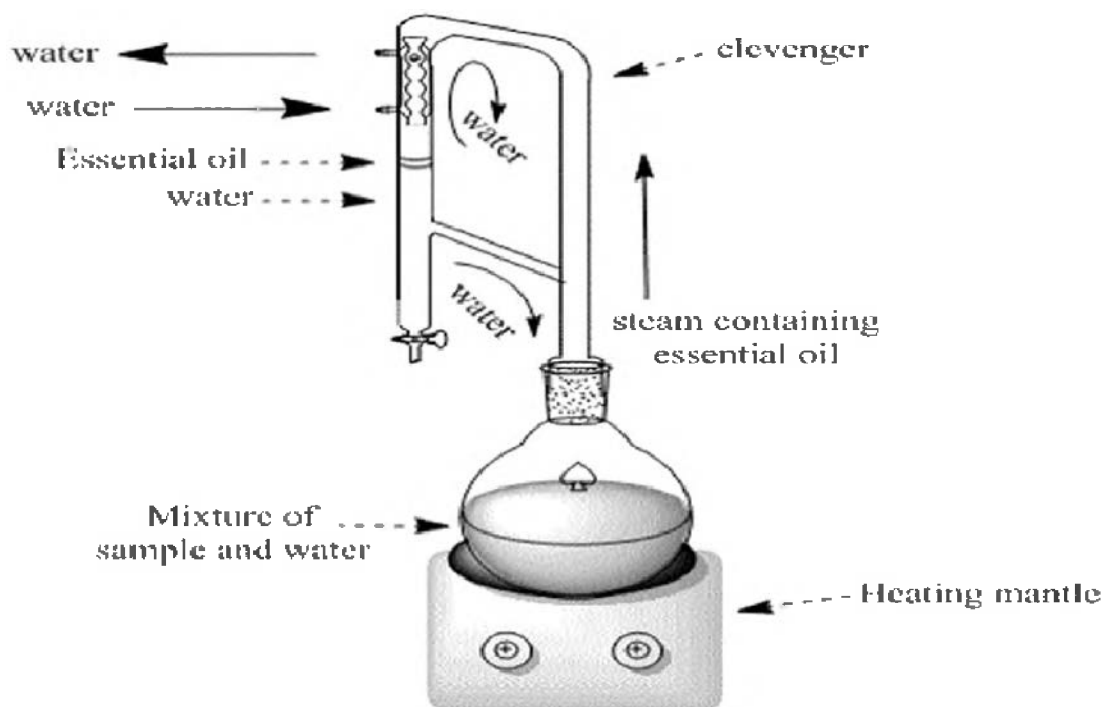
Απόσταξη: Ονομάζεται η μέθοδος απομόνωσης ενός υγρού συγκεκριμένου σημείου βρασμού από ένα μείγμα. Το μείγμα θερμαίνεται έως ότου το υγρό ξεκινήσει να βράζει οπότε παράγει ατμούς που διοχετεύονται στο «συμπυκνωτή» που τα ψύχει και επιστρέφουν σε υγρή μορφή. Μάλιστα είναι σε καθαρότερη ακόμα μορφή.

- ❖ Υδροαπόσταξη
- ❖ Υδρο-ατμοαπόσταξη με οργανικό διαλύτη
- ❖ Απόσταξη με υδρατμούς
- ❖ Απόσταξη με κενό
- ❖ Μικροκύματα
- **Εκχύλιση:** Πρόκειται για φυσική μέθοδο διαχωρισμού μειγμάτων. Στην υγρή φάση τοποθετούνται τμήματα στερεάς φάσης (δρόγη- φύλλα, άνθη) και οι ευδιάλυτες ουσίες διαλύονται στο διαλύτη.
- **υπερκρίσιμη**
- **ψυχρού λίπους (εκχύλιση)** που αποτελεί μέθοδο κατασκευής αρωματικών αλοιφών και βασίζεται στη φιλοσοφία ότι το λίπος έχει την ικανότητα να απορροφά και να συγκρατεί τις πτητικές ουσίες. Αυτή διαρκεί 24-30h, ενώ το λαμβανόμενο λίπος μαζί με το έλαιο χρησιμοποιούνται σαν αλοιφή ή επεξεργάζονται με ορισμένη αλκοόλη. (Ζωσιμίδου, 2018)
- **πτητικών διαλυτών**

Η ευκολότερη μέθοδος είναι αυτή της υδροαπόσταξης και η περισσότερο διαδεδομένη, βέβαια καλύτερη απ' όλες θεωρείται η Υδρο-ατμοαπόσταξη.

Στην υδροαπόσταξη λοιπόν, το φυτικό υλικό βρίσκεται σε φιάλη με νερό υπό βρασμό πάνω σε θερμαντικό μανδύα και στους ατμούς περιέχεται το αιθέριο έλαιο. Οι ατμοί φτάνουν στον ψυκτήρα, συμπυκνώνονται και επιστρέφουν στη φιάλη, χωρίς το έλαιο που μένει πίσω λόγω διαφορετικού ειδικού βάρους. Έπειτα, για παραλαβή του αιθέριου ελαίου χρησιμοποιούνται συγκεκριμένοι διαλύτες όπως πχ το εξάνιο για την απομάκρυνση του νερού, τοποθετείται σε ειδικά σκεύη και αφήνεται για μια μέρα στην ατμόσφαιρα για να εξατμιστεί ο διαλύτης.

Στη συνέχεια, αποθηκεύεται σε χαμηλή θερμοκρασία (λίγο πάνω από το 0 - συνθήκες ψύξης) και σε σκιά. (Χατζημαυρούδης, 2018) Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι ενδείκνυται για τους φυτικούς ιστούς που θέλουμε κοτσάνια, φύλλα, άνθη και είναι απλή στη χρήση. Επιπλέον, η συσκευή έχει μικρό κόστος και μεταφέρεται εύκολα. Τα μειονεκτήματά της είναι ότι συστατικά του ελαίου μπορούν να υδρολυθούν και έτσι η μέθοδος υδρο-ατμοαπόσταξης είναι καλύτερη γιατί δεν έρχεται το φυτικό υλικό σε επαφή με το νερό. Ουσίες όπως εστέρες και φαινόλες διαλύονται εύκολα στο νερό με αποτέλεσμα να μην περιέχονται στο έλαιο, όπως και πολλές ουσίες θερμοευαίσθητες που καταστρέφονται με την υψηλή θερμοκρασία. (Χατζημαυρούδης, 2018) Επίσης, είναι πιο χρονοβόρα από άλλες μεθόδους και δεν προορίζεται για μεγάλες ποσότητες φυτικού υλικού (Χατζημαυρούδης, 2018).



Εικόνα 5: Συσκευή υδροαπόσταξης (Hydrodistillation).

A3.5. Δράσεις Αιθέριων ελαίων

Τα έλαια χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία καλλυντικών, στην αρωματοποιία, στα τρόφιμα και στην υγεία/ιατρική. Στα τρόφιμα το αξιοποιούμε ως συντηρητικό και βελτιωτικό γεύσης, ενώ στην αρωματοθεραπεία για φροντίδες σώματος, προσώπου κλπ. Στον τομέα της υγείας παίζουν σημαντικό ρόλο αφού έπειτα από πολλές μελέτες επαληθεύθηκαν οι αντιβακτηριδιακές, αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις του. Η αντιβακτηριδιακή δράση σχετίζεται με τη **θυμόλη** και την **καρβακρόλη** που επιτυγχάνουν ζημιές στο κυτταρικό τοίχωμα του βακτηρίου. (Chandra, *et al*, 2011) Έλαια πλούσια σε αλδεΐδες και φαινόλες, όπως είναι η κινναμαλδεΐδη, η ευγενόλη, θυμόλη και καρβακρόλη, παρουσιάζουν τέτοιες ιδιότητες.

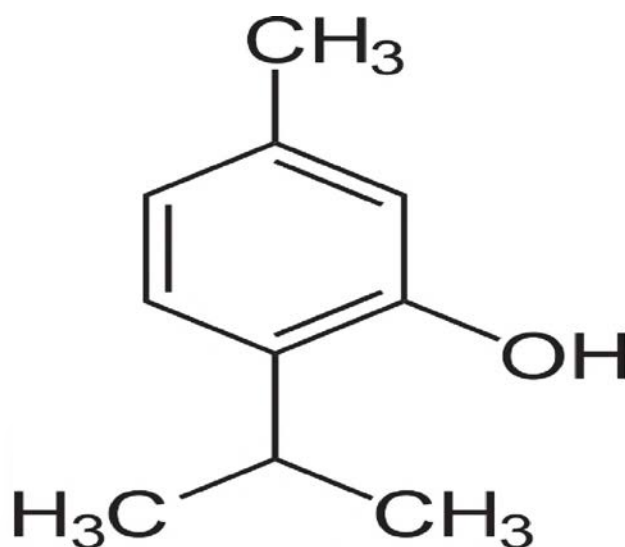
Η αντιοξειδωτική δράση οφείλεται στη χημική σύσταση των ελαίων και μάλιστα στα **φαινολικά τερπενοειδή**, όπως καρβακρόλη, θυμόλη που δείχνουν να έχουν την πρωτιά και τα βρίσκουμε στα φυτά του γένους *Origanum* και *Mentha*. Την αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών ενώσεων που παραδόξως παράγονται φυσικά από το μύκητα *Aspergillus fumigatus* διερεύνησαν οι επιστήμονες με τη μέθοδο της αλληλεπίδρασης με τη σταθερή ρίζα DPPH(1,1-διφαινυλο-2-πικρυλδραζιλίου) και έγινε καταγραφή ενθαρρυντικών δεδομένων για τις φαινόλες στην καταπολέμηση των

ελεύθερων ριζών που οδηγούν στην οξείδωση και γήρανση των κυττάρων του ανθρώπινου οργανισμού (Chandra, *et al*, 2011 και Χατζημαυρούδης, 2018)

Στον ανθρώπινο οργανισμό, η φλεγμονή πρόκειται για αντίδραση του ανοσοποιητικού σε κάποιο ερέθισμα ή βλάβη σε ιστό, και για αποκατάσταση της φυσιολογικής δομής πυροδοτείται κινητικότητα αίματος και πρήξιμο, ενώ παράλληλα αυξάνεται η διαπερατότητα μεμβρανών και των ενδοθηλιακών κυττάρων, απελευθερώνονται κυτοκίνες και διεγείρονται πολλά ένζυμα. Αιθέρια έλαια αντιφλεγμονώδους δράσεως που καταστέλλουν τις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες και ενισχύουν το ανοσοποιητικό είναι από θυμάρι, δεντρολίβανο, ευκάλυπτο, χαμομήλι, ελίγχρυσο, κουρκούμι, λεβάντα και γαρύφαλλο με πρωταγωνιστικό φαινολικό τερπενοειδές την **ευγενόλη** που είναι ισομερές με τις φαινόλες που ακολουθούν και εμφανίζουν παρόμοιες ιδιότητες.

A3.6. Θυμόλη

Η θυμόλη (2-ισοπροπυλ-5-μεθυλοφαινόλη) είναι ένα οξυγονωμένο μονοτερπένιο, άχρωμο, με χημικό τύπο $C_{10}H_{14}O$. Η χημική της δομή φαίνεται στην εικόνα 5α.



Εικόνα 5α: Χημική Δομή Μορίου Θυμόλης.

Είναι αρωματική ουσία με αντιμικροβιακές ιδιότητες που βρίσκεται και εξάγεται από το θυμάρι (*Thymus vulgaris*) κυρίως αλλά και από άλλα φυτά (*Ocimum*

gratissimum., είδη του γένους *Origanum*, *Carum copticum*, και χρησιμοποιείται για μαγειρικούς σκοπούς, λόγω της ιδιαίτερης γεύσης της, στην Ιατρική, στην οδοντιατρική, στην κτηνιατρική και στα γεωργικά φάρμακα. Εμφανίζει σύμφωνα με τους επιστήμονες δράσεις μόνο του ή συνδυαστικά με άλλα στοιχεία όπως και η καρβακρόλη που μειώνουν την αντίσταση των μικροοργανισμών σε κοινά φάρμακα σα και τη πενικιλίνη.

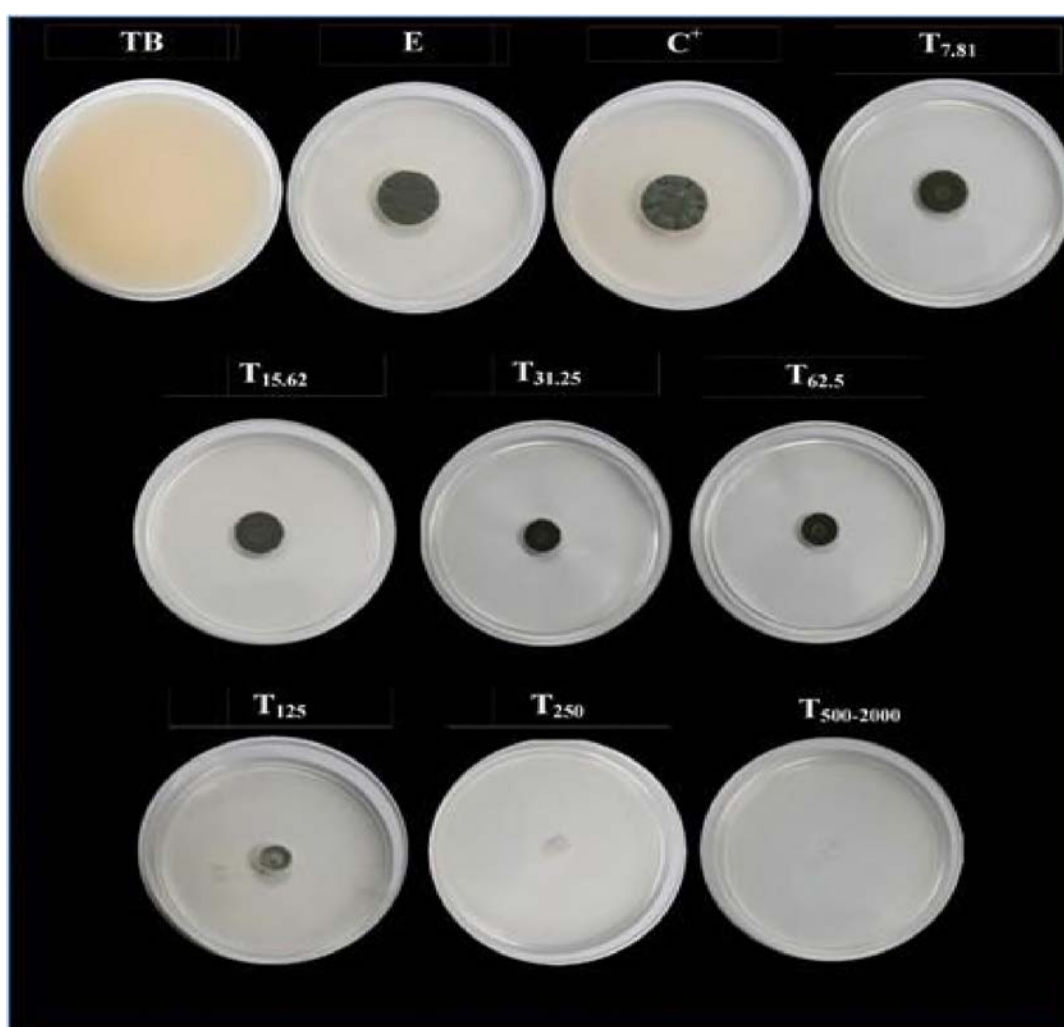
Επιπλέον, γίνεται αναφορά για δράση ως βιοκτόνο με αντιμικροβιακές ιδιότητες, μυκητοκτόνο, ακαρεοκτόνο, κατά του διαβήτη στον άνθρωπο, αντιφλεγμονώδες, αντιοξειδωτικό, αντικαρκινικό και κατά των αλλεργιών. Ο μοριακός μηχανισμός δράσης της θυμόλης δεν είναι γνωστός, όμως η βιοκτόνος δράση του μας παραπέμπει σε διαταραχή της κυτταρικής μεμβράνης του παθογόνου και αυτό είναι ένα θέμα προς διερεύνηση από την επιστημονική κοινότητα που εξετάζει τη δυνατότητα αξιοποίησης του ως φυσικό αγροχημικό, λίγο δύσκολα βέβαια λόγω του ότι είναι ακριβό στην παραγωγή του, ή ως συντηρητικό αφού προστατεύει τα τρόφιμα γενικά έναντι μικροοργανισμών που προκαλούν σήψεις, π.χ μύκητες του γένους *Penicillium*.

Σύμφωνα με έρευνες πανεπιστημίων της Βραζιλίας και Αργεντινής η θυμόλη βρέθηκε να μεταβάλλει το στρώμα λιπιδίων του κυτταροπλάσματος και να αντιδρά με το DNA των βακτηρίων του γένους *Staphylococcus aureus* ακόμη και σε μικρών συγκεντρώσεων σε αυτή διαλύματα. Συγκεκριμένα, η σύνθεση των λιπαρών οξέων της μεμβράνης επηρεάστηκε π.χ οι συγκεντρώσεις των 12-methyltetradecanoic acid και 14-methylhexadecanoic acid μειώθηκαν από 22.4% και 17.3% σε 7.9% and 10.3% αντίστοιχα. (Escobar, et al., 2020)

Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις η θυμόλη αλλάζει την ακεραιότητα των κυττάρων του βακτηρίου, ενώ σε διερεύνηση της αλληλεπίδρασής της με το DNA αυτού δε το αφήνει να δημιουργήσει συσσωμάτωμα (Wang *et al.*, 2017). Στην περίπτωση της σαλμονέλας *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* προσβάλλεται η κυτταρική μεμβράνη με αποτέλεσμα να διαχέονται ουσίες έξω από το κύτταρο που είναι εκτός ελέγχου, ανεξέλεγκτα, χρήσιμες όπως ιόντα καλίου (Chauhan and Kang, 2014). Αξιοσημείωτο είναι το κομμάτι της έρευνας που αναφέρεται στην αξιολόγηση μείγματος θυμόλης – ευγενόλης σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) στην προτροπή της αλλοίωσης του επιτραπέζιου σταφυλίου για 56 μέρες (Valero et al. ,2006). Το αποτέλεσμα ήταν ελάχιστη παρουσία μυκήτων και μικροοργανισμών, ενώ δεν υπήρξε

αλλοίωση στην υφή, στις θρεπτικές και λειτουργικές ιδιότητες των σταφυλιών καθιστώντας το μείγμα ικανό να αντικαταστήσει βλαβερότερα συντηρητικά.

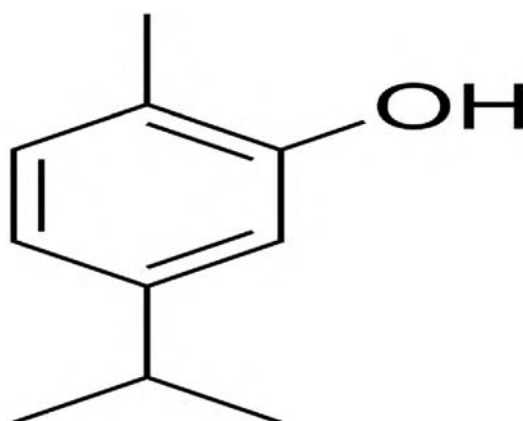
Εν κατακλείδι, το πόρισμα που προκύπτει είναι πως η θυμόλη αντιδρά με τις επιφάνειες των λιπιδίων των μικροοργανισμών, κάνοντας τες λιγότερο ελαστικές και αφαιρώντας τις φυσικο-χημικές τους ιδιότητες που μας ενδιαφέρει πολύ στην φυσική καταπολέμηση. Παράδειγμα έρευνας (Ferreira *et al.*, 2019) αποτελεί η μελέτη της αλληλεπίδρασης της θυμόλης με τη dipalmitoylphosphatidylcholine που είναι υπόδειγμα λιπιδίου με μικροβιακή και καρκινική δράση, επαληθεύοντας έτσι και την αντιοξειδωτική δράση της θυμόλης.



Εικόνα 6: Η διάμετρος της αποικίας *Penicillium commune* μετά από 168 h. Concentration 1500 $\mu\text{g MI}^{-1}$ thiabendazole (TB), ethanol 10% v/v E, positive control (C+) and different concentrations of thymol (T7.81 – T2000 $\mu\text{g MI}^{-1}$).

A3.7. Καρβακρόλη

Η καρβακρόλη είναι μονοτερπενική φαινόλη με χημικό όνομα 5-ισοπροπυλ-2-μεθυλφαινόλη, υγρό με σημείο ζέσεως 236-237 °C και πυκνότητα 0,976g/ml στους 20°C. Έχει χημικό τύπο $C_6H_3(CH_3)(OH)C_3H_7$ και είναι αδιάλυτο στο νερό ενώ διαλύεται πολύ εύκολα στην αιθανόλη, στο ασετόν και στον διαιθυλαιθέρα με χαρακτηριστική μυρωδιά ρίγανης. Η χημική της δομή φαίνεται στην εικόνα 6α.

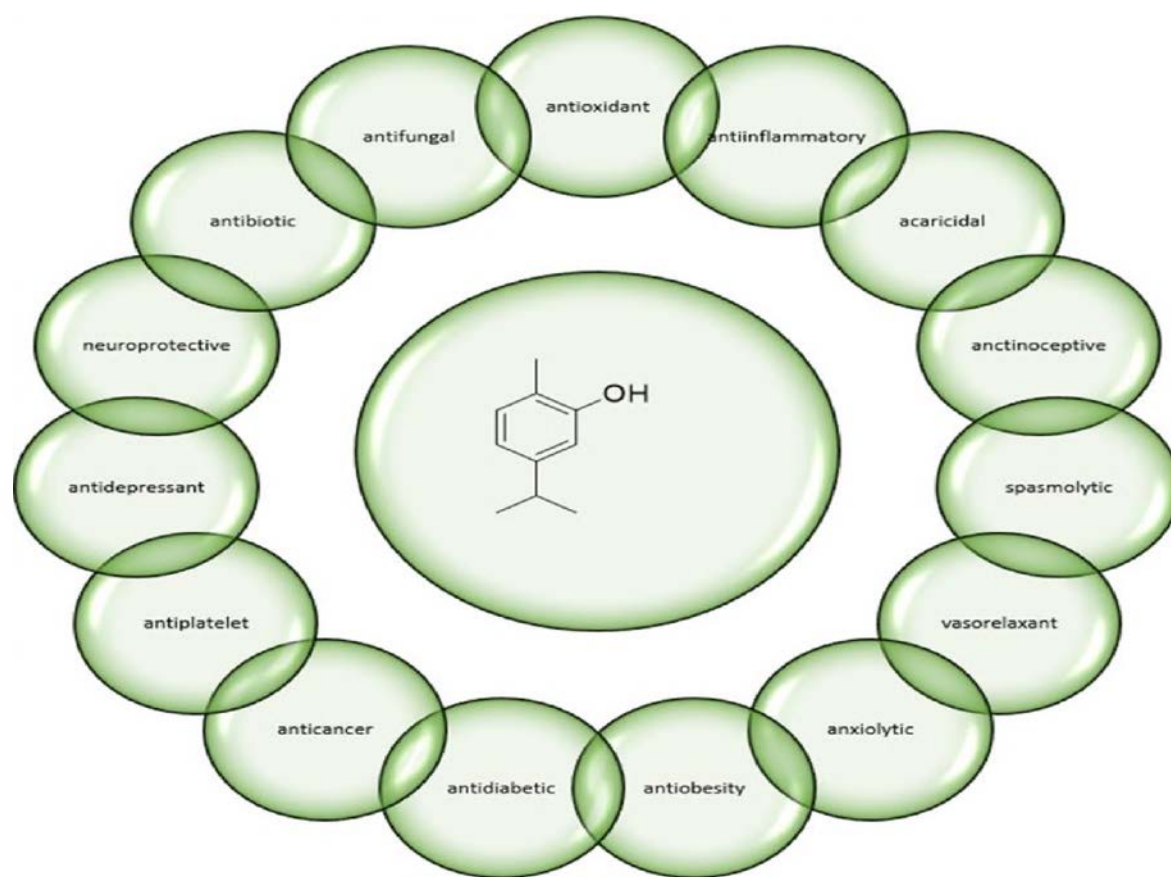


Εικόνα 6α: Χημική Δομή Μορίου Καρβακρόλης.

Πρόκειται για συστατικό των αιθέριων ελαίων, ισομερές με τη θυμόλη, που εξάγεται από πληθώρα φυτών όπως θυμάρι, διάφορα είδη ρίγανης, κεφαλοθύμαρο, θύμβρα, σατουρέγια, λίπια, μελάνθιον το ήμερον (ή Νιγέλα) και άγριο περγαμόντο ή βάλσαμο μέλισσας, με το κάθε μέρος του κάθε φυτού να περιέχει διαφορετικές σε αυτή συγκεντρώσεις. Στη ρίγανη η περισσότερη καρβακρόλη βρίσκεται στα άνθη, στα βράκτια (φύλλα του άνθους), γενικά δηλαδή σε όλη την ταξιανθία μαζί αν μπορούμε να το πούμε, και στα φύλλα, ενώ πολύ λίγο στα κοτσάνια (Mączka, Twardawska *et. al*, 2023).

Στα φυτά, η καρβακρόλη συντίθεται από το γ-τερπινένιο, αλλά μπορεί να συντεθεί και οργανικά με σουλφονίωση του κυμενίου (p-cymene) ακολουθούμενη από αλκαλική αντίδραση, ή με χλωρίωση του α-πινενίου (α-pinene) με tert-butyl hypochlorite, ή σαν αποτέλεσμα της αρωματοποίησης του Carvone (πρόκειται για τερπενοειδές). Η καρβακρόλη έχει εγκριθεί από το FDA (Food and Drug administration) για χρήση στη βιομηχανία τροφίμων και έχει καταταχθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση ως βελτιωτικό γεύσης κατηγορίας B που μπορεί να προστεθεί σε

τρόφιμα σε επίπεδο 2ppm σε ποτά/ αναψυκτικά, 5ppm σε δημητριακά (νιφάδες) και 25ppm σε γλυκά. Λόγω της γεύσης της (μυρωδιά ρίγανης και γεύση αίσθησης «πίτσας») και της αντιμικροβιακής της ιδιότητας χρησιμοποιείται ως φυσικό συντηρητικό στα τρόφιμα, ενώ έρευνες για βιολογικές και φαρμακευτικές ιδιότητες μας φανέρωσαν πως είναι αντιοξειδωτικό- αντικαρκινικό, αντι- μεταλλαξιογόνο, αντι-γονιδιοτοξικό, αναλγητικό, καταπραΰνει σπασμούς, αντιφλεγμονώδες, αντιπαρασιτικό, αντιδιαβητικό, κατά της παχυσαρκίας, βοηθάει την καρδιά, το νευρικό και ανοσοποιητικό σύστημα. Για παράδειγμα, στην οδοντιατρική χρησιμοποιείται σαν υποκατάστατο της Φαινόλης για τον πονόδοντο, την ευαισθησία αλλά και σαν αντισηπτικό, ενώ αποτελεί και καλό αποθητικό κουνουπιών ή και καλύτερο σε σχέση με αυτά του εμπορίου (Mączka, Twardawska *et. al*, 2023).



Εικόνα 7: Δράσεις καρβακρόλης.

Περίληπτικά, θα αναφερθούμε σε κάποιες από τις ιδιότητες της καρβακρόλης, πολλές συμπίπτουν με αυτές της θυμόλης, όπως η αντιβακτηριδιακή της φύση κατά βακτηρίων σα και τη σαλμονέλα (*Salmonella typhimurium*). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον προκαλεί η δομή της αφού στην παρουσία υδροξυλομάδας και στα μετατοπισμένα

ηλεκτρόνια οφείλεται η αντιμικροβιακή δράση της με αποτέλεσμα τη διαταραχή και αποδιοργάνωση της πλασματικής μεμβράνης οδηγώντας σε ανταλλαγή πρωτονίων και μείωση του Ph στο κυτταρόπλασμα και τέλος σε θάνατο (Mohammedi *et. al*, 2017).

Πιο συγκεκριμένα, η καρβακρόλη συσσωρεύεται σε υδρόφοβα μέρη και καταλαμβάνει περισσότερο χώρο από αυτόν που υπάρχει μεταξύ των αλυσίδων των λιπαρών οξέων και έτσι διαμορφώνει το διπλό στρώμα φωσφολιπιδίου ανορθόδοξα. Σε ό,τι αφορά την υδροξυλομάδα αυτή δρα σα διαμεμβρανικός φορέας μονοσθενών κατιόντων ανταλλάσσοντας το πρωτόνιο της ομάδας για άλλο ιόν, μάλλον ιόν καλίου. Το σύμπλοκο καρβακρόλης- ιόντος περνά την κυτταρική μεμβράνη και απελευθερώνει το ιόν στο κυτταρόπλασμα και εξέρχεται έχοντας ιόν καλίου ή άλλο με αρνητική επίδραση στο κύτταρο που ταρασσεται (Mohammedi *et. al*, 2017).

Αναφορικά με την αντιμυκητιακή δράση, αυτή πρόκειται για προσβολή του κυτταρικού τοιχώματος του μύκητα, την έκχυση του κυτταροπλάσματος μαζί με ιόντα καλίου που οδηγούν στην εξάντληση της εργοστερόλης. Γενικά, στους μύκητες αυτό ισχύει, αναστέλλεται η βιοσύνθεση της εργοστερόλης (5,7-diene oxysterol) στα μυκήλια παρουσία καρβακρόλης. Η εργοστερόλη συντίθεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο από δραστηριότητα 25 διαφορετικών ενζύμων και η λειτουργία της σχετίζεται με τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης, πράγμα σημαντικό για τη ζωή του κυττάρου.

Όπως και με τα βακτήρια, οι μύκητες προσβάλλονται και αυτοί στα λιπίδια εμφανίζοντας στοιχεία αποδιοργάνωσης και κακού μεταβολισμού. Τα άρθρα της Αλγερίας και Πολωνίας που χρησιμοποιήθηκαν ως βιβλιογραφία αναφέρουν πως η καρβακρόλη είναι αποτελεσματική έναντι πολλών μυκήτων όπως *Aspergillus flavus* με ισχυρή καταστολή, μύκητες του γένους *Penicillium* με όχι και τόσο καλά αποτελέσματα σε σχέση με το προηγούμενο παθογόνο στις ίδιες μικρές δοσολογίες αλλά μιλάμε για δυσκολότερο μύκητα, έναντι αρκετών εδαφικών παθογόνων μυκήτες/βακτήρια, του μύκητα *Botrytis cinerea* που προσβάλλει τα σταφύλια και άλλων πολλών (Mączka, Twardawska *et. al*, 2023 και Mohammedi *et. al*, 2017).

Όπως η ευγενόλη και η θυμόλη, έτσι και η καρβακρόλη συμβάλλει στην ευζωία του ανθρώπου αφού αποδεδειγμένα παρουσιάζει αντικαρκινικό ρόλο καταπολεμώντας τις ελεύθερες ρίζες που υπάρχουν στον οργανισμό που προκαλούν φλεγμονές και γήρανση (Mohammedi *et. al*, 2017).

Συνοψίζοντας, η καρβακρόλη είναι στοιχείο μεγάλης σημασίας με φυσική προέλευση που αποτελεί κυρίως φυσικό συντηρητικό αφού καταπολεμεί ιούς, βακτήρια, μύκητες, ενώ παράλληλα εμφανίζει χίλιες δυο χρησιμότητες. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η χαρακτηριστική αυτή του δομή με την ύπαρξη της υδροξυλομάδας και την χαρακτηριστική κατανομή των ηλεκτρονίων του προσδίδουν τις ιδιότητες, ενώ η θέση του υδροξυλίου δε μας απασχολεί και τόσο για όσους ενδιαφέρονται μιας και δε διαφέρει και τόσο από την ισομερή ουσία θυμόλη, ευγενόλη σε ιδιότητες.

Σημαντικά είναι επίσης όσα αναφέρθηκαν για τα κύτταρα, τα λιπίδιά των και η αλλαγή μορφής, τη διακοπή παραγωγής εργοστερόλης, την ομοιόσταση του κυττάρου και τη μεταφορά ιόντων και τέλος την έκχυση του κυτταροπλάσματος που οδηγεί στο θάνατο. Επίσης, η καρβακρόλη προλαμβάνει την υπεροξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, μειώνει τις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, ρυθμίζει το ανοσοποιητικό έτσι ώστε να αντιδρά καλύτερα παρουσία λιποσαχαριτών (LPS) και πρωτεϊνών θερμότητας (Hsp) που παράγονται κατά την αύξηση θερμοκρασίας του ανθρώπινου οργανισμού όταν κάπου υπάρχει φλεγμονής (Mączka, Twardawska *et. al*, 2023).

A4. Μύκητες (*Penicillium* spp.)

Οι μύκητες, φυτοπαθογόνοι ή μη είναι ετερότροφοι, μικροσκοπικοί μικροοργανισμοί που δε διαθέτουν χλωροφύλλη ούτε άμυλο αλλά συνθέτουν γλυκογόνο. Συνήθως σχηματίζουν νηματοειδής διακλαδιζόμενες υφές που ονομάζονται μυκήλια, διαθέτουν οργανωμένους πυρήνες (ευκαρυωτικοί) και παράγουν διαφόρων ειδών σπόρια (Τζάμος, 2017).

Οι μύκητες φημίζονται για την ικανότητά τους να παράγουν αντιβιοτικά και άλλες ουσίες χρήσιμες στη βιοχημεία και βιομηχανία τροφίμων , όπως οργανικά οξέα και βιταμίνες αλλά και ένζυμα που είναι απαραίτητα για την αποδόμηση της οργανικής ύλης στη φύση. Επίσης, τους αξιοποιούμε σε έρευνες για την ανάπτυξη σκευασμάτων βιολογικής καταπολεμήσεως ασθενειών και εχθρών των καλλιεργούμενων φυτών. Τέλος, πολλοί εδώδιμοι βασιδιομύκητες καλλιεργούνται για νωπή κατανάλωση όπως τα μανιτάρια (Τζάμος, 2017).

Πολλοί μύκητες που προσβάλλουν καρπούς σιτηρών, ψυχανθών ή ακρόδρυων αλλά και νωπά φρούτα, όπως μηλοειδή, εσπεριδοειδή και σταφύλια, παράγουν τοξικές ουσίες γνωστές ως μυκοτοξίνες που προκαλούν σημαντικά προβλήματα δηλητηριάσεων στα θηλαστικά και στον άνθρωπο. Οι ουσίες αυτές είναι γλυκοαλκαλοειδή, στην περίπτωση του *Claviceps purpurea*, η πατουλίνη στην περίπτωση των μυκήτων του γένους *Penicillium* sp. και του *Aspergillus terreus*, η αφλατοξίνη στην περίπτωση του μύκητα *Aspergillus flavus* ή η ωχρατοξίνη Α στην περίπτωση των μυκητών *Aspergillus carbonarius* και *Aspergillus niger*.

Δεν προκαλούν όλοι οι μύκητες ασθένειες στα φυτά, ενώ υπάρχουν πάνω από 70.000 είδη μυκήτων που ζούν ως σαπρόφυτα σε νεκρά οργανικά υποστρώματα και συμβάλλουν στην αποδόμησή τους (Τζάμος, 2017).

Περίπου 50 είδη μυκήτων προκαλούν ασθένειες στον άνθρωπο και άλλα τόσα στα ζώα, ενώ υπάρχουν πάνω από 10.000 είδη που προκαλούν σοβαρές ασθένειες στα φυτά και συνήθως όλα τα φυτά προσβάλλονται από ένα ή περισσότερους μύκητες. Αξίζει να σημειωθεί πως ο μεγαλύτερος αριθμός των καλλιεργούμενων και αυτοφυών φυτών προσβάλλεται από ωομύκητες ή μύκητες που προκαλούν ασθένειες γνωστές ως περονόσποροι, ωίδια ή και σκωριάσεις (Τζάμος, 2017).

A4.1. *Penicillium* sp.

Πρόκειται για Ασκομύκητες (Κλάση: Euascomycetes, Οικογένεια: Trichomaceae) που κατατάσσονται στους Eurotiales και προκαλούν μετασυσυλλεκτικές σήψεις των καρπών των εσπεριδοειδών και των μηλοειδών. Με τα σύγχρονα μυκητολογικά δεδομένα το γένος *Penicillium* διαιρείται στα υπογένη *Biverticillium* που συνδέεται με τέλειες μορφές του γένους *Talaromyces* όπου ανήκει και ο ανταγωνιστικός βιολογικός παράγοντας *Talaromyces flavus* (συν. *Penicillium vermiculatum*) και το υπογένος *Penicillium* που χαρακτηρίζεται από την απουσία σχηματισμού τέλειας μορφής (Τζάμος, 2017).

Οι μύκητες του γένους *Penicillium* σχηματίζουν χαρακτηριστικούς κονιδιοφόρους με διακλαδώσεις μορφής χρωστήρα. Τα άκρα των διακλαδώσεων καταλήγουν σε φιαλίδια εκ των οποίων σχηματίζονται μονοκύτταρα, σφαιρικά ή ωοειδή, υαλώδη κονίδια σε αλυσίδες τα οποία λειτουργούν ως ξηροσπόρια. Οι μύκητες

Penicillium digitatum και *Penicillium italicum* που προσβάλλουν τα εσπεριδοειδή σχηματίζουν κονιδιοφόρους σε πυκνές μάζες στους προσβεβλημένους καρπούς και μαζί με τα πολυάριθμα κονίδια που σχηματίζουν προσδίδουν χαρακτηριστικό πράσινο ή μπλε χρώμα ανάλογα με το μύκητα της εξανθήσεως (Τζάμος, 2017).

Γενικά, υπάρχουν πάνω από 200 είδη του γένους *Penicillium* εκ των οποίων 20 αναφέρονται συχνά ως μύκητες εσωτερικών χώρων που αναπτύσσονται και υπάρχουν κοινά και μέσα στα σπίτια μας. Να σημειώσουμε ότι είδη του *Penicillium* υπάρχουν παντού και διασπείρονται και στον αέρα και ότι οι προσβολές στους καρπούς μπορεί να είναι και προσυλλεκτικές, στο δένδροκομείο δηλαδή. Τα ποιο κοινά είδη αναφέρονται παρακάτω:

- <i>P. albocoremium</i>	- <i>P. aurantiogriseum</i>
- <i>P. bilaiae</i>	- <i>P. camemberti</i>
- <i>P. candidum</i>	- <i>P. chrysogenum</i>
- <i>P. claviforme</i>	- <i>P. commune</i>
- <i>P. crustosum</i>	- <i>P. digitatum</i>
- <i>P. echinulatum</i>	- <i>P. expansum</i>
- <i>P. glabrum</i>	- <i>P. imranianum</i>
- <i>P. italicum</i>	- <i>P. lacussarmientei</i>
- <i>P. lusitanum</i>	- <i>P. purpurogenum</i>
- <i>P. roqueforti</i>	- <i>P. stoloniferum</i>

Το γένος *Penicillium* περιλαμβάνει τους πιο γνωστούς μύκητες που αντιμετωπίζουμε στην καθημερινότητα, υπάρχει στο χώμα, στον αέρα, στα τρόφιμα και παίζει σημαντικό ρόλο στην οικονομία και στη βιομηχανία τροφίμων. Η κύρια λειτουργία του στη φύση είναι η αποικοδόμηση της οργανικών στοιχείων, όπου κάποια είδη του προκαλούν προ- και μετασυλλεκτικές σήψεις με σοβαρές επιπτώσεις στις καλλιέργειες (Frisvad & Samson 2004, Pitt & Hocking 2009, Samson *et al.*, 2010) αλλά και παράγουν εύρος μυκοτοξινών (Frisvad *et al.* 2004).

Μερικά είδη είναι για καλό αφού τα αξιοποιούμε για παραγωγή τροφίμων, όπως για παράδειγμα τα τυριά Camembert ή Roquefort (Thom 1906, Nelson 1970, Karahadian *et al.* 1985, Giraud *et al.* 2010), ή και για την ικανότητα αποικοδόμησης

των με σκοπό την παραγωγή καινοτόμων ενζύμων (Raper & Thom, 1949, Li *et al.*, 2007, Adsul *et al.*, 2007, Terrasan *et al.*, 2010).

Αυτό όμως που κάνει το γένος *Penicillium* γνωστό είναι η χρησιμότητά του για την παραγωγή της πενικιλίνης που ήρθε να αλλάξει τα δεδομένα σε ότι αφορά την προσέγγιση της Ιατρικής στις βακτηριακές ασθένειες (Fleming 1929, Chain *et al.*, 1940, Abraham *et al.*, 1941, Thom, 1945). Γενικά, οι εφαρμογές των μυκήτων αυτών είναι πολλές και φαίνεται να επηρεάζουν την καθημερινότητα κάθε ανθρώπου (Visagie, Houbraeken, *et al.*, 2014).

Σε ότι αφορά την καλλιέργεια του μύκητα, το περιβάλλον επηρεάζει τη μορφολογία του και παίζει ρόλο στην αναγνώριση των ειδών/ποικιλιών. Η μορφολογία του μύκητα προσαρμόζεται κάθε φορά στις συνθήκες του περιβάλλοντος, δηλαδή μια ποικιλία μπορεί να εμφανίζεται αλλιώς σε διαφορετικά θρεπτικά, θερμοκρασία, φωτισμό και υγρασία. Για να μην αντιμετωπίσουμε σύγχυση στην αναγνώριση και ταξινόμηση, έχουν οριστεί συγκεκριμένα βήματα και οδηγίες για προετοιμασία του θρεπτικού μέσου, του τρυβλίου και τις συνθήκες επώασης (Samson & Pitt 1985, Okuda 1994, Okuda *et al.*, (2000) και Visagie, Houbraeken, 2014).

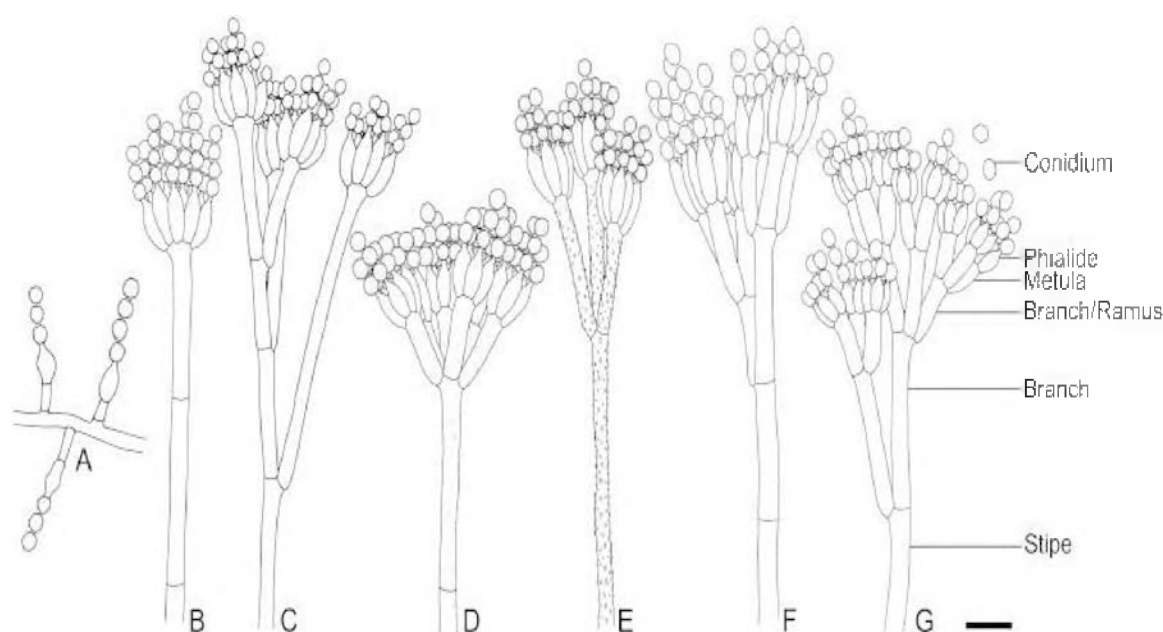
Οι διαστάσεις και τα χαρακτηριστικά της αποικίας σε συγκεκριμένο υπόστρωμα/ θρεπτικό μέσο μας βοηθούν στην αναγνώριση του είδους γιαυτό προτείνονται τα Czapek Yeast Autolysate agar (CYA) και Malt Extract agar (MEA, Oxoid) σαν ιδανικά θρεπτικά μέσα για το *Penicillium*. Τα δυο υποστρώματα αυτά θεωρούνται τα πιο σωστά για βέλτιστη αναγνώριση/ ταξινόμηση των ειδών, όμως για χάρη περαιτέρω έρευνας χρησιμοποιούνται και τα: Czapek's agar (CZ), Yeast Extract Sucrose agar (YES), Oatmeal agar (OA), Creatine Sucrose agar (CREA), Dichloran 18 % Glycerol agar (DG18), Blakeslee's MEA and CYA with 5 % NaCl (CYAS) με διαφορετικά γνωρίσματα το κάθε ένα επηρεάζοντας κάθε φορά το φαινότυπο της ποικιλίας.

Τα θρεπτικά ετοιμάζονται σε τρυβλία 90mm όγκου 20ml συνήθως γυάλινα, αλλά προτείνονται και από πολυστυρένιο. Στα περισσότερα εργαστήρια, και έτσι προτείνεται, η εναπόθεση τω μυκήτω γίνεται σε διάλυμα 30g γλυκερόλης, 0,05g άγαρ (ζελατίνη φυκών) και 0,05g Tween80 (γαλακτοματοποιητής) στο λίτρο νερό και με πιπέτο σε μορφή τριάδας μέσα στο τρυβλίο και κλείνουμε με Parafilm.

Ακολουθεί επώαση όλων των μέσων με ρυθμισμένη θερμοκρασία στους 25° C και για 7 ημέρες, τα τρυβλία CYA στους 30-37° C, με σχολαστικό έλεγχο στη

θερμοκρασία που μπορεί να επιδράσει σημαντικά στην εξέλιξη της αποικίας. Μετά από 7 μέρες λαμβάνονται μετρήσεις της διαμέτρου των αποικιών και παρατηρήσεις υφής, χρώματος κονιδίων, χρώματος μυκηλίων και παραγωγής οξέων ή βάσεων (Visagie, Houbraken, *et al* 2014). Αξιοσημείωτο χαρακτήρα δείχνουν να εμφανίζουν οι κονιδιοφόροι και τα κλειστοθήκια του γένους *Penicillium* με τις διακλαδώσεις των κονιδιοφόρων να εμφανίζουν εύρος περιπλοκότητας από σκέτα φιαλίδια (κυστίδια) μέχρι μεγαλομόρια συμμετρικά/ ασύμμετρα, με κλάδους που ξεκινούν από κάτω με μορφή «χριστουγεννιάτικου δέντρου» ή που βρίσκονται στην άκρη του κορμού με διογκωμένα φυαλίδια ή μη, με τριχίδια στον κορμό και κλάδους, ή όχι, και κάποια που δεν έχουν καθόλου κλάδους και με τα φιαλίδια να ξεκινούν από το κύριο στέλεχος στην άκρη του σα «τούφα» ή πλευρικά στο κύριο στέλεχος μεμονομένα σε αλυσίδες.

Σε αποικίες πολλών ειδών του γένους εμφανίζεται μεγάλη ποικιλία φαινοτύπων και αποτελεί πρόκληση για το ποιος είναι ο επικρατέστερος (Visagie, Houbraken, *et al.*, 2014). Παρατίθεται εικόνα με αντίστοιχη επεξήγηση και ταξινόμηση των τύπων κονιδιοφόρων:



Εικόνα 8: Κονιδιοφόροι του γένους *Penicillium*. Conidiophore branching patterns observed in *Penicillium*. A. Conidiophores with solitary phialides. B. Monoverticillate. C. Divaricate. D, E. Biverticillate. F. Terverticillate. G. Quaterverticillate, terms used for describing parts of conidiophores are given. Scale bar = 10 μ m.

A4.2. Διαχείριση του γένους *Penicillium* με αιθέρια έλαια

Τα καρυκεύματα με τα αιθέρια έλαια τους αποτελούν τους κατεξοχήν αντιμικροβιακούς παράγοντες φυτικής προέλευσης. Τα καρυκεύματα (spices) είναι τα κάθε είδους αφυδατωμένα αρωματικά ή καυτερά φυτά ή μέρη φυτών, όπως σπόροι, καρποί, άνθη, μπουμπούκια, ρίζες, φλούδες, φύλλα κ.α, ακέραια, τεμαχισμένα ή αλεσμένα, τα οποία προστίθενται στα τρόφιμα και σε ορισμένα ποτά για ιδιαίτερο άρωμα, χωρίς ιδιαίτερη θρεπτική αξία (Μπλούκας,2017).

Ορισμένα καρυκεύματα παρουσιάζουν και αντιμικροβιακή ιδιότητα αφού παρεμποδίζουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Σε πολλές περιπτώσεις οι ποσότητες που απαιτούνται για τη μικροβιακή δράση είναι πολύ μεγαλύτερες από τις συνήθεις ποσότητες που προσθέτουμε στα τρόφιμα, ξεπερνώντας τα όρια και με πιθανή αλλοίωση της γεύσεως, ωστόσο έχει μεγάλο ενδιαφέρον η διερεύνηση των ιδιοτήτων τους ως φυσικά πρόσθετα συστατικά (Μπλούκας,2017).

Ούτως ή άλλως οι φαρμακευτικές ιδιότητες είναι αποδεδειγμένες (αντιοξειδωτική/αντικαρκινική δράση) των περισσότερων γι' αυτό έχουν την προτίμηση των καταναλωτών. Τα καρυκεύματα χρησιμοποιούνται είτε αυτούσια με βαρύτερη δράση είτε τα εκχυλίσματα αυτών αντίστοιχα:

-Ισχυρή δράση: Κανέλα, Γαρίφαλο, Μουστάρδα

-Μέτρια: Δάφνη, Κολιάνδρος, Κύμινο, Ρίγανη, Δενδρολίβανο, Φασκομηλιά, Θυμάρι

-Ασθενής: Πιπέρι μαύρο, πάπρικα, πιπερόριζα

Η αντιμικροβιακή δράση οφείλεται στα **αιθέρια έλαια** (essential oils) που περιέχουν. Τα αιθέρια έλαια αποτελούν ομάδα από αρωματικές ουσίες, διαλυτές στην αλκοόλη και ελάχιστα στο νερό, οι οποίες αποτελούνται από εστέρες, αλδεΐδες, κετόνες και τερπένια.

Τα πτητικά συστατικά των αιθέριων ελαίων με αντιμικροβιακή δράση που ξεχωρίζουν είναι: η **αλλισίνη** στο σκόρδο, το κρεμμύδι και το πράσο, η **θυμόλη** στο θυμάρι, τη ρίγανη, τη θρούμπη, τη φασκομηλιά και τη ματζουράνα, η **καρβακρόλη** στη ρίγανη, τη ματζουράνα και το δίκταμο, η **κινναμωμική αλδεΐδη** στην κανέλα, η **ευγενόλη** στο γαρίφαλο, η **καφεΐνη** στον καφέ, το μαύρο τσάι και το κακάο, η **βανιλίνη** στη βανίλια και η **ανηθόλη** στο γλυκάνισο, η **d-λιναλοόλη** στον κολιάνδρο

και το βασιλικό. Γίνεται αναφορά στο γαρίφαλο που περιέχει 17% αιθέρια έλαια αποτελούμενα κατά 93-95% από ευγενόλη. Το θυμάρι και η ρίγανη περιέχουν θυμόλη σε ποσοστό 43% και 50%, αντίστοιχα. (Μπλουκας , 2017).

Από άρθρα που έχουν δημοσιευθεί από πανεπιστήμια του Μεξικό, της Βραζιλίας και της Αργεντινής, και τα οποία θα παραθέσουμε στη βιβλιογραφία, υπάρχουν μελέτες της αντιμυκητιακής δράσης των αιθέριων ελαίων στα τρόφιμα και συμβάλλουν στην υγεία του ανθρώπου.

Πιο συγκεκριμένα, γίνεται αναφορά για τη χρήση του Ριγανέλαιου ,ως κύριο έλαιο που αποτελεί και θέμα της εργασίας μας, του ελαίου της Μέντας (*Mentha arvensis*), του Δενδρολίβανου, του φασκόμηλου, του γαρύφαλλου και της πρόπολης (έλαιο που παράγεται με τη βοήθεια των μέλισσών) για την καταπολέμηση κυανών σήψεων (*Penicillium/Aspergillus*), σήψεων των *Cladosporium*, *Alternaria*, και *Aspergillus* στα διάφορα τρόφιμα, από τα οποία πάρθηκαν 21 είδη μυκήτων ,όπως παραδοσιακά τυριά και αλλαντικά και σκόρδα (Portillo-Ruiz, et al., (2005), Bedoya-Serna, et al., (2018), Almeida, et al., (2022), Cenci, et al., (2015), Cibanal, et al., (2021)).

Να σημειωθεί πως οι έρευνες που διεξήχθησαν είχαν ως σκοπό να δοκιμάσουν την αποτελεσματικότητα των ελαίων έναντι της ανάπτυξης των μυκήτων ως βιολογικά συντηρητικά και καταλύτες ωρίμανσης (τυρί, σαλάμι) προς αντικατάσταση ή λογική και ισορροπημένη συνύπαρξη με τα συνθετικά συντηρητικά. Οι μύκητες πάρθηκαν από τα τρόφιμα και εξετάστηκαν δια ταξινόμησης μακροσκοπικά και μικροσκοπικά και καλλιεργήθηκαν ακριβώς σε και παραπάνω (με τα αντίστοιχα θρεπτικά μέσα, συνθήκες, θερμοκρασίες επώασης κ. λ. π.) (Portillo-Ruiz, et al., (2005), Bedoya-Serna, et al., (2018), Almeida, et al., (2022), Cenci, et al., (2015), Cibanal, et al., (2021)).

Στα άρθρα παρατίθενται όλα τα δεδομένα αναλυτικά για τα έλαια που χρησιμοποιούνται και για τους μύκητες, εμείς εστιάζουμε στο ριγανέλαιο και στην καταπολέμηση των ειδών του γένους του *Penicillium*. Έτσι, όπως γνωρίζουμε οι ουσίες που μας ενδιαφέρουν στο έλαιο είναι η καρβακρόλη, η θυμόλη, γ-τερπινένιο, p-κυμένιο που αλληλεπιδρούν με το μύκητα, κυρίως η καρβακρόλη, εμπόδισαν την αποικία να εξαπλωθεί στην ίδια διάμετρο με αντίστοιχες αποικίες σε τρυβλία που δεν εφαρμόστηκε καρβακρόλη μετά την 7ήμερη επώασή τους. Έτσι, μετά από πολλές επαναλήψεις και στατιστική επεξεργασία με το ANOVA, οι ερευνητές της

βιβλιογραφίας είναι πεπεισμένοι πως το ριγανέλαιο έχει κατασταλτική δράση απέναντι στις σήψεις (Portillo-Ruiz, et al., (2005), Bedoya-Serna, et al., (2018), Almeida, et al., (2022), Cenci, et al., (2015), Cibanal, et al., (2021)).

Έπειτα, ακολουθεί παραγωγή των αντίστοιχων τροφίμων (σαλάμι, Minas Padrao cheese) και στο σημείο της ωρίμανσης όλα τα συνθετικά συντηρητικά αντικαθίστανται με τα έλαια και παρακολουθούνται. Μετά από διάστημα 15 ημερών παίρνονται τα πρώτα δείγματα ωρίμανσης (curing age values) και αναλύονται με τη μέθοδο ANOVA και συγκρίνονται με τιμές από γνωστά δείγματα σε σχέση με τις υφές των τροφίμων και τις γεύσεις.

Τα αποτελέσματα αποδείχθηκαν ενθαρρυντικά αφού τα τρόφιμα με τα έλαια δεν έδειξαν παρουσία μύκητα, ή και με τον ψεκασμό ελαίων σε προσβεβλημένα παρατηρήθηκε αντίσταση, όμως σε μεγάλες δοσολογίες παρατηρήθηκε αλλοίωση στη γεύση από το ριγανέλαιο, ευτυχώς σε υποφερτά όρια.

Τα πλέον αποτελεσματικά αιθέρια έλαια ήτω το ριγανέλαιο και του γαρυφάλλου, ενώ τα έλαια του δενδρολιβάνου και του τσαγιού όχι και τόσο. Έτσι, οι ερευνητές κατέληξαν σε ρίγανη-γαρύφαλλο συνδυασμό με αναλογίες 1:1, με την καρβακρόλη (κύριο συστατικό της ρίγανης και το ισχυρότερο συστατικό) και την ευγενόλη να συνεργάζονται (Portillo-Ruiz, et al., (2005), Bedoya-Serna, et al., (2018), Almeida, et al., (2022), Cenci, et al., (2015), Cibanal, et al., (2021)).

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B1. Σκοπός πειράματος

Ο σκοπός του πειράματος ήταν η διερεύνηση της αποτελεσματικότητας του Ριγανέλαιου στην καταπολέμηση μυκήτων του γένους *Penicillium* συλλέγοντας καθημερινά δεδομένα, μετρήσεις του μεγέθους των αποικιών στις καλλιέργειες στα τρυβλία με τις ανάλογα εφαρμοσμένες περιεκτικότητες ριγανελαίου με καρβακρόλη 0% (όχι ριγανέλαιο), 50% και 75% στις ανάλογες αποικίες για αρκετές επαναλήψεις. Θα αναφερθούμε αναλυτικότερα στις μεθόδους παρακάτω που χρησιμοποιήσαμε για να πετύχουμε το στόχο μας που είναι να μετριάσουμε την κατασταλτική δράση του ελαίου ποιοτικά και ποσοτικά και τη διάρκεια δράσης και να επαληθεύσουμε τις υπόλοιπες έρευνες.

B2. Υλικά και Μέθοδοι

Υλικά

- Θρεπτικό μέσο καλλιέργειας μύκητα- **Potato Dextrose Agar (PDA) NCM0018A 500g της NEOGEN-** που χρησιμοποιείται για καλλιέργεια μυκήτων και ενδείκνυται για την προετοιμασία του μύκητα *Aspergillus brasiliensis*.
- **Κλίβανος υγρής αποστείρωσης (Αυτόκαυστο) της RALYPA** (εμπορικό όνομα)
- **Τρυβλία Petri** πλαστικά (μιας χρήσης)
- **2 τύπους ριγανέλαιου** με 50 και 75% περιεκτικότητα σε **καρβακρόλη** αντίστοιχα
- Επωαστήρας**- incubator για επώαση των μυκήτων
- **Θάλαμος / καμπίνα νηματικής ροής** για αποστειρωμένο περιβάλλον όσο κάνουμε τις εργασίες στα τρυβλία
- **Φελλοτρυπιτής, βελόνες, πιπέτα προσαρμοσμένου όγκου** όλα τα εργαλεία αποστειρωμένα
- Γκαζάκι, αναπτήρας και οινόπνευμα** για αποστείρωση
- Parafilm** για απομονωμένο κλείσιμο τρυβλίων

- Μύκητα του γένους *Penicillium* από μανταρίνι (*P. italicum*) σε τρυβλίο που προμηθευτήκαμε από το εργαστήριο Φυτοπαθολογίας

B3. Πειραματική διαδικασία

Το πείραμα έγινε στο χώρο του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο Τμήμα Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος και στο εργαστήριο μοριακής βιολογίας. Ξεκίνησε, με την προετοιμασία του τρυβλίου φτιάχνοντας το θρεπτικό μέσο για την καλλιέργεια του μύκητα *Penicillium italicum* στο πρώτο πείραμα και στη συνέχεια με την ίδια διαδικασία που ακολουθεί, αφού πέρασαν 7 μέρες επώασης και αποκτήσαμε το μύκητα, αποσπάσαμε μυκηλιακό δίσκο περιμετρικά για να δημιουργήσουμε τα δείγματα.

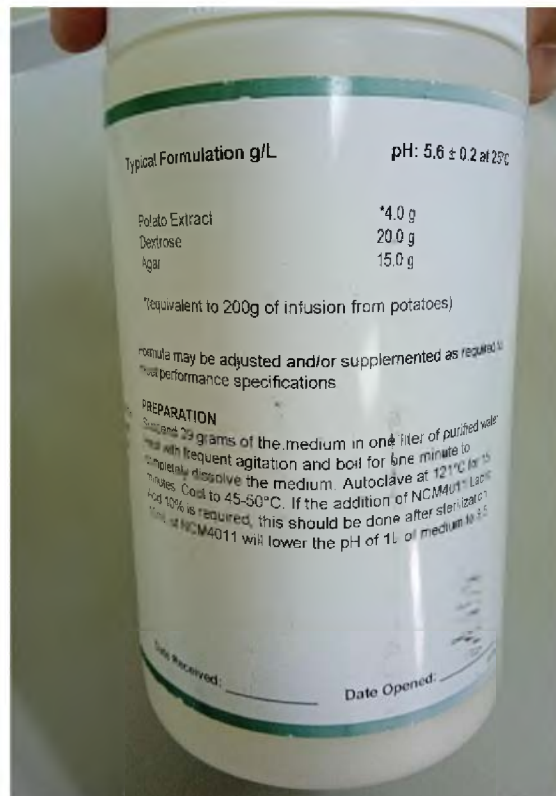
Υπολογίσαμε ότι θα χρειαστούμε περίπου 250ml υγρό θρεπτικό μέσο PDA για τα 9 τρυβλία μας. Σε κάθε τρυβλίο έχουμε τρεις τελείες ως σημεία τοποθέτησης μύκητα που σχηματίζουν τρίγωνο μεταξύ τους.

Στο καπάκι του κάθε τρυβλίου αναγράφεται η περιεκτικότητα του ριγανελαίου σε καρβακρόλη που του ρίξαμε αφού προσθέσαμε το μύκητα για να εξετάσουμε πόσο θα επηρεαστεί η καλλιέργεια πρώτον από την παρουσία ή μη καρβακρόλης και δεύτερον από τις διαφορετικές περιεκτικότητες.

Έτσι, έχουμε στη διάθεσή μας 3 τρυβλία με το νούμερο 0 απέξω, με τρία δείγματα το καθένα μέσα, 3 με το νούμερο 50 και άλλα 3 με 75 (0%, 50% και 75%). Σύνολο 27 αποικίες.

B3.1. Προετοιμασία θρεπτικού μέσου

Όπως ακριβώς αναγράφεται και στο μπουκάλι του **Potato Dextrose Agar (PDA)**, η αναλογία είναι 39 γραμμάρια στο λίτρο (39g/L), εμείς για τα τρυβλία μας χρειαστήκαμε 250ml οπότε αποσπάσαμε $39/4 = 9,75$ γραμμάρια άγαρ από το μπουκάλι και τα αραιώσαμε σε 250ml νερό σε ογκομετρικό σκεύος θερμαίνοντας στο γκαζάκι ελαφρά και ανακατεύοντας σύμφωνα με τις οδηγίες. Στη συνέχεια, το διάλυμα πήγε για αποστείρωση στον κλίβανο υγρής αποστείρωσης (Αυτόκαυστο) για 20min στους 121° C.

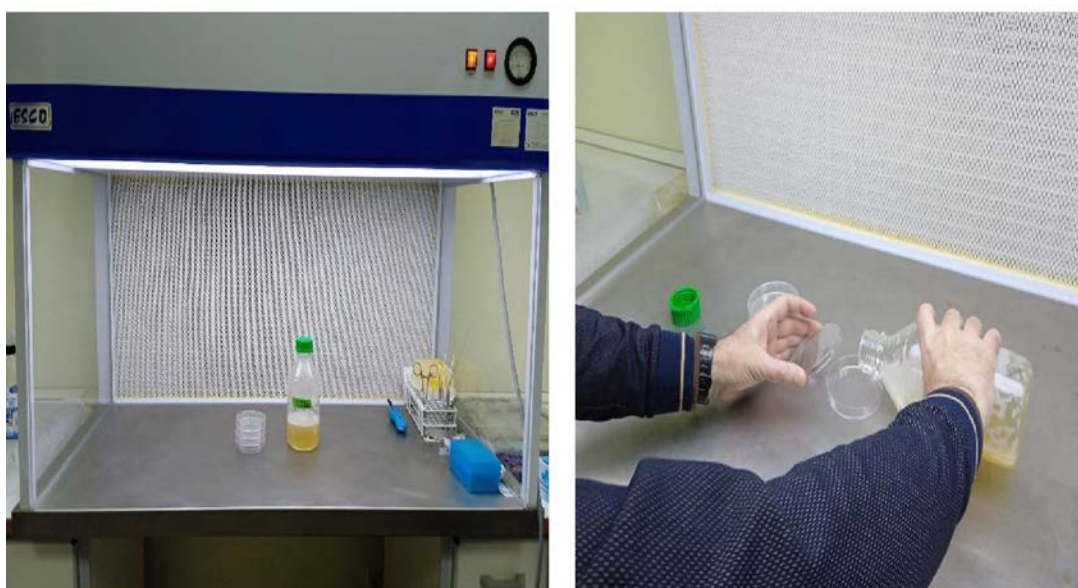


Εικόνα 9: Θρεπτικό μέσο καλλιέργειας μυκήτων PDA (Potato Dextrose Agar).



Εικόνα 10: Κλίβανος υγρής αποστείρωσης και το αποστειρωμένο διάλυμα στα δεξιά.

Με το διάλυμά μας αποστειρωμένο, το αφήσαμε να κρυώσει για να μπορέσουμε να το διαχειριστούμε. Στη συνέχεια, μεταφέραμε τα υλικά μας (τρυβλία, διάλυμα PDA) στο θάλαμο νηματικής ροής, όπου γεμίσαμε τα τρυβλία σχεδόν μέχρι τη μέση με το θρεπτικό μέσο, προς αποφυγή μολύνσεων από την ατμόσφαιρα καθώς περιχύνουμε το υγρό στο τρυβλίο. Στη συνέχεια, όλα τα τρυβλία τα σκεπάσαμε και τα αφήσαμε για 3 ώρες μέσα στο θάλαμο νηματικής ροής μέχρι να πήξει το υγρό και να γίνει ζελέ και να είναι έτοιμο να υποδεχτεί το μύκητα.

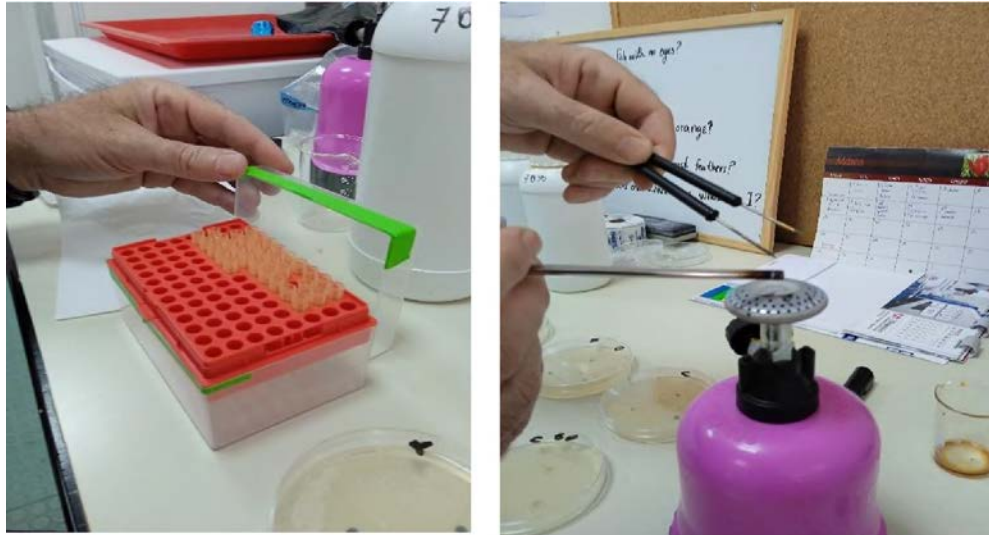


Εικόνα 11: Θάλαμος νηματικής ροής για εργασία σε αποστειρωμένο περιβάλλον.

B3.2. Καλλιέργεια του μύκητα *Penicillium italicum*

Την πρώτη βδομάδα του πειράματος, με την ίδια διαδικασία προετοιμασίας του θρεπτικού μέσου PDA που περιγράψαμε, ετοιμάσαμε το τρυβλίο για την καλλιέργεια του μύκητα. Αφού λοιπόν έχουμε την τροφή του μύκητα έτοιμη αποστειρώσαμε τα εργαλεία μας (βελόνες), αποσπάσαμε μυκήλιο μύκητα του γένους *Penicillium* από τις διαθέσιμες καλλιέργειες του εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας και τις εναποθέσαμε σε τριάδα πάνω στο θρεπτικό μέσο. Καπακώσαμε το τρυβλίο και τυλίξαμε με Parafilm για καλύτερη απομόνωση και επωάσαμε στον επωαστήρα στους 28° C για 7 ημέρες.

Έτσι, καταλήξαμε με όμορφη και καθαρή αποικία με αρκετή παρουσία μυκηλίου που μας έδωσε τη δυνατότητα για πολλαπλή κλωνοποίηση περισσότερων αποικιών για δοκιμές.



Εικόνα 12: Καλλιέργειες μυκήτων του εργαστηρίου και απολύμανση εργαλείων δεξιά.



Εικόνα 13: Καλλιέργεια του μύκητα *Penicillium italicum* μετά από 5 μέρες επώασης στους 28°C. Συγκεκριμένα, βλέπουμε στο κέντρο τα σπόρια του μύκητα και γύρω το μυκηλιακό δίσκο.

B3.3. Πολλαπλασιασμός της αποικίας και καταπολέμηση με ριγανέλαιο

Τη δεύτερη βδομάδα, αφού έχουμε στα χέρια μας το μύκητα, τον πολλαπλασιάσαμε στα 9 τρυβλία με 3 αποικίες ανά τρυβλίο και 27 στο σύνολο. Ξεκινήσαμε αναγράφοντας τις περιεκτικότητες καρβακρόλης που θα ρίχναμε στα καπάκια, 3 τρυβλία με 0% (μάρτυρες), 3 με 50% και 3 με 75% με προσοχή μη μπερδευτούν στην πορεία.

Κατόπιν, στα σημεία που θα ξεκινούσαμε τις αποικίες εναποθέσαμε 30μl ριγανέλαιου (μιάμιση σταγόνα αν μπορούμε να το πούμε) με τις περιεκτικότητες καρβακρόλης που αναλογούσαν σε κάθε τρυβλίο πάνω στο έτοιμο θρεπτικό μέσο χρησιμοποιώντας πιπέτα προσαρμοσμένου όγκου και με προσοχή από το αντίστοιχο ριγανέλαιο 50 και 75%.

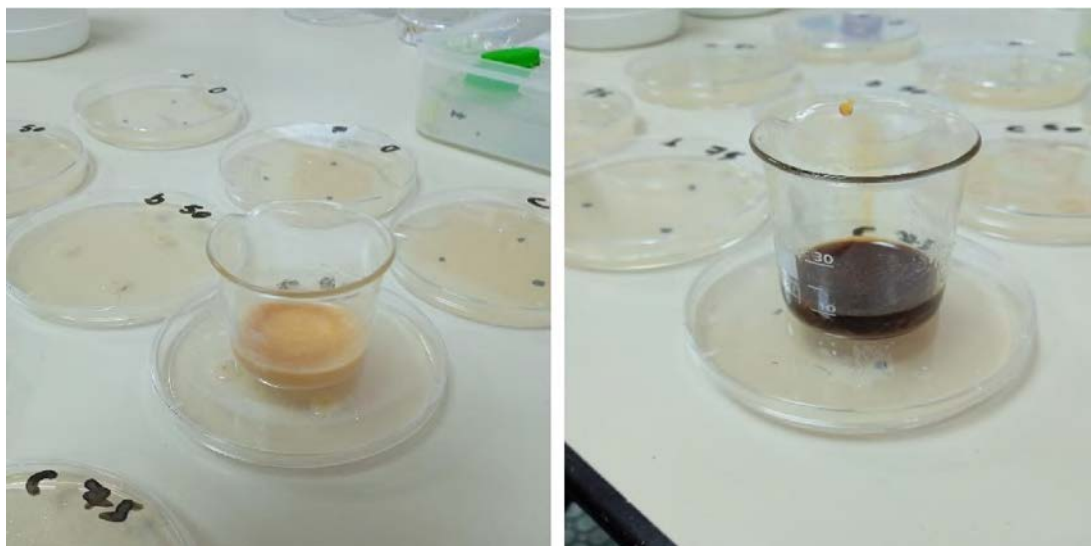


Εικόνα 14: Ριγανέλαιο με 50% καρβακρόλη αριστερά και δεξιά η ένδειξη των 30 μl.



Εικόνα 15: Εναπόθεση ριγανελαιίου (50%) στα 3 σημεία της προσεχούς αποικίας του μύκητα *Penicillium* μέσα σε τρυβλίο πάνω ακριβώς στο θρεπτικό μέσο PDA.

Η ίδια διαδικασία της φωτογραφίας ακολουθήθηκε για όλα τα τρυβλία που ήταν να δοκιμαστούν με ριγανέλαιο, ενώ στα τρυβλία – μάρτυρες δεν προσθέσαμε ριγανέλαιο (0%).



Εικόνα 16: Ριγανέλαιο με 50% καρβακρόλη (αριστερά) και με 75% (δεξιά).

Αφού προσθέσαμε το ριγανέλαιο στα τρυβλία ακολούθησε εγκατάσταση της αποικίας του μύκητα του γένους *Penicillium*. Αυτό που κάναμε ήταν να αποσπάσουμε κομμάτι μυκηλιακού δίσκου από την αρχική καλλιέργεια μύκητα (μάννα) με τη βοήθεια φελλοτρυπιτή περιμετρικά της αποικίας και το εναποθέσαμε στα σημεία που έχουμε ορίσει.

Αρχίσαμε αποστειρώνοντας το φελλοτρυπιτή στο γκαζάκι, ακολούθησε μια μικρή παύση για να μειωθεί η θερμοκρασία και ασκώντας ελαφρά πίεση στο θρεπτικό μέσο και στρίβοντας το φελλοτρυπιτή δεξιά κι αριστερά αποσπάσαμε κομμάτι θρεπτικού μέσου με μυκήλιο.



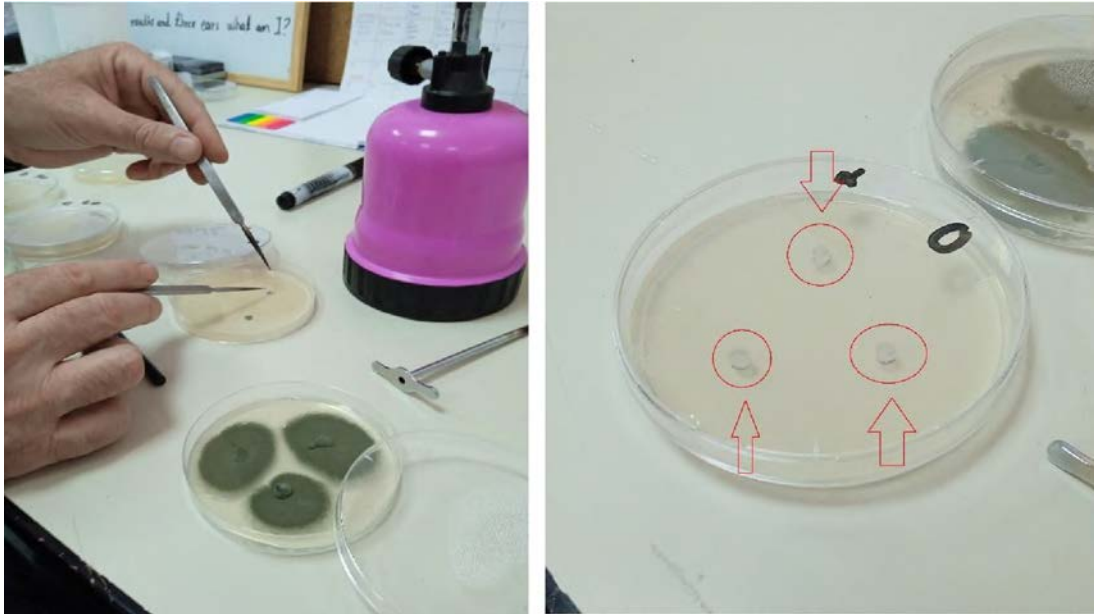
Εικόνα 17: Απόσπαση θρεπτικού με μυκήλιο με το φελλοτρυπιτή.

Τώρα, επειδή το κομμάτι που αποσπάσαμε με τον φελλοτρυπιτή είχε σχήμα κυλινδρικό, του καλουπιού που βλέπουμε, με την πάνω επιφάνεια να έχει τα μυκήλια και την κάτω το θρεπτικό μέσο αναγκαστήκαμε να χρησιμοποιήσουμε τις βελόνες για να το αντιστρέψουμε.

Έτσι, αφού αποστειρώσαμε τις βελόνες, ελευθερώσαμε το κομματάκι θρεπτικού μέσου από το φελλοτρυπιτή και το αντιστρέψαμε με την πλευρά του μυκηλίου να κοιτάει και να εφάπτεται στο θρεπτικό μέσο, στην τελεία, όταν επρόκειτο για τρυβλίο-μάρτυρα (0%) και πάνω στη σταγόνα ριγανέλαιου στα υπόλοιπα τρυβλία. Τέλος κλείσαμε τα τρυβλία και τα σφίξαμε με Parafilm για να τα απομονώσουμε και στη συνέχεια τα τοποθετήσαμε όλα ,και τα 9, στον επωαστήρα στους 28° C.

Ο πρώτος έλεγχος που πραγματοποιήθηκε έγινε σε διάστημα 48 ωρών για να πάρουμε μετρήσεις, αλλά κανονικά, μια καλλιέργεια αποικίας μύκητα σε τρυβλίο πρέπει να αφεθεί 5 μέρες για τουλάχιστον για επώαση χωρίς να την ενοχλήσουμε.

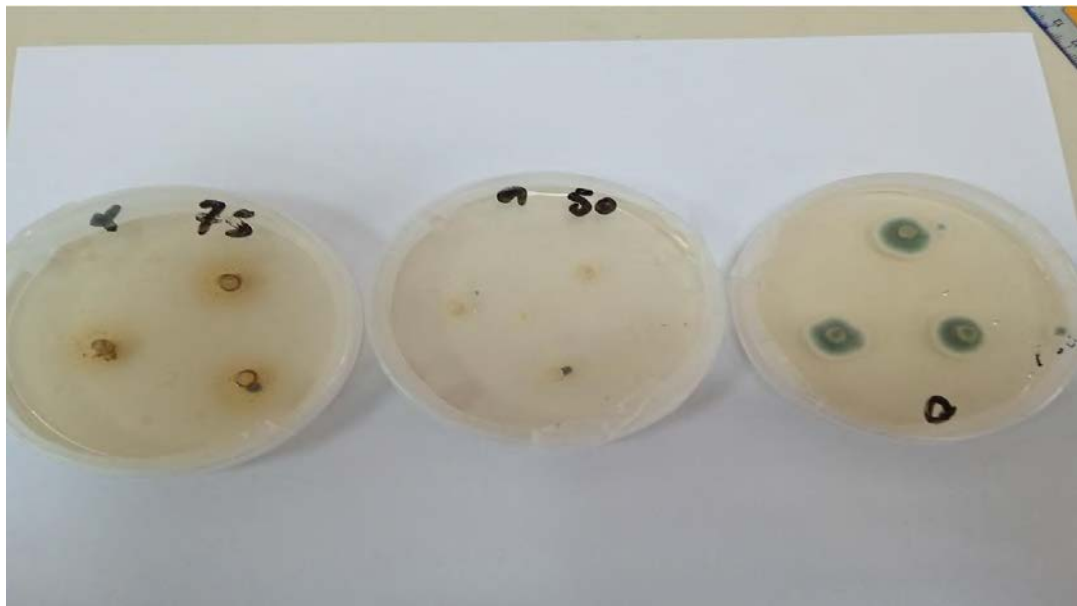
Σκοπός της πρώτης παρατήρησης/ μέτρησης ήταν να δούμε πόσο προχώρησε η καλλιέργεια με ή χωρίς την παρουσία ριγανελαίου (**καρβακρόλης**). Το αποτέλεσμα που περιμέναμε ήταν καθόλου ή έστω μειωμένη ανάπτυξη των μυκήτων μέσα στη σταγόνα σε σχέση με το μάρτυρα.



Εικόνα 18: Τοποθέτηση του κομματιού μυκηλίου με το μύκητα προς τα κάτω, δηλαδή σε επαφή με το θρεπτικό μέσο στα σημεία όπως φαίνεται δεξιά.

B3.4. Συλλογή και καταγραφή δεδομένων

Πράγματι, μετά από 48 ώρες επώασης οι παρατηρήσεις ήταν οι αναμενόμενες, δηλαδή στα τρυβλία χωρίς ριγανέλαιο, 0%, (δεξιά) η αποικία ξεκίνησε να δημιουργείται και να εξαπλώνεται κανονικά με εμφανείς μυκηλιακούς δίσκους, ενώ στα τρυβλία με τα ριγανέλαια δεν είχαμε καμία παρουσία μυκηλίου. Η εικόνα του συνόλου των τρυβλίων ήταν η εξής για όλες τις επαναλήψεις.



Εικόνα 19: Τρία αντιπροσωπευτικά τρυβλία καλλιέργειας του μύκητα μετά από 48 ώρες.

Σε σύντομο χρονικό διάστημα, συγκεντρώσαμε και καταγράψαμε τις διαστάσεις της αποικίας (διάμετρο) για όλα τα τρυβλία που μόνο στα χωρίς ριγανέλαιο είχαμε φυσικούς αριθμούς, τα υπόλοιπα καταχωρήθηκαν με 0 και τα ξαναβάλαμε στον επωαστήρα με νέο Parafilm στις ίδιες συνθήκες.

Την επόμενη μέρα (72 ώρες) τα ξαναβγάλαμε πάλι για παρατήρηση/ μέτρηση. Η εικόνα δεν άλλαξε σχεδόν καθόλου μιας και παρουσία ριγανέλαιου σε κανένα τρυβλίο δεν κατάφερε ο μύκητας να εξαπλωθεί και έτσι πάλι το 2/3 των τιμών ήταν καταχωρημένες με 0. Στα τρυβλία μάρτυρες η μεγαλύτερη αύξηση που παρατηρήθηκε ήταν της τάξεως των 0,8cm (κάποια αποικία από διάμετρο 1,4 έφτασε στα 2,2cm, ενώ βέβαια είχαμε και αποικίες που άγγιζαν τα 2,5cm χωρίς όμως ιδιαίτερη μεταβολή).

Την τέταρτη και τελευταία μέρα (96 ώρες) που τα είδαμε, υπήρξε σχετική αλλαγή στην εικόνα αφού τα τρυβλία με το ριγανέλαιο και την καρβακρόλη στο 50% άρχισαν να αναπτύσσουν μυκήλιο που έφτασε στη μεγαλύτερη τιμή του τα 0,6cm σε διάμετρο από το τίποτα. Τα τρυβλία μάρτυρες συνέχισαν να αναπτύσσονται με τη μεγαλύτερη αύξηση να είναι στα 1,3cm και τη μεγαλύτερη διάμετρο που βρέθηκε να είναι στα 3,5cm. Η κατάσταση στα τρυβλια των 75% ήταν ότι δεν εμφάνισαν καμία παρουσία μυκηλιακού δίσκου και πάλι καταχωρήθηκαν με 0.



Εικόνα 20: Επωαστήρας όπου τοποθετούνται οι μύκητες για να αναπτυχθούν στο ιδανικό περιβάλλον.

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Επεξεργασία δεδομένων

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων του πειράματος έγινε με τη βοήθεια του προγράμματος στατιστικής ανάλυσης JASP (0.18.1.0) που αφορά δωρεάν λογισμικό που αναπτύχθηκε από ομάδα ερευνητών του Πανεπιστημίου του Άμστερνταμ. Είναι πρόγραμμα με βασικές αλλά και πιο εξειδικευμένες στατιστικές δυνατότητες και είναι εύκολο στη χρήση του. Αφού τέλειωσε η διαδικασία καταγραφής των μετρήσεων, αυτές καταγράφηκαν στο πρόγραμμα excel κι από το JASP έγινε η ανάλυσή τους.

Η ανάλυση των δεδομένων του excel έγινε στο JASP με την εξής σειρά. Πραγματοποιήθηκε πρώτα η ανάλυση των δεδομένων με βάση την περιγραφική στατιστική και ο πίνακας της δίνεται παρακάτω. Επιπλέον, για την καλύτερη κατανόηση του πίνακα παρατίθεται και το σχετικό θηκόγραμμα που αφορά τις μεταχειρίσεις. Το θηκόγραμμα εμπεριέχει το χρόνο (time), ο οποίος αναλύεται περαιτέρω, και εμφανίζεται στην ανάλυση της παραλλακτικότητας (ANOVA) και στην αντίστοιχη γραφική της παράσταση.

Πίνακας 1: Descriptive Statistics (Περιγραφική Στατιστική)

	Data		
	0-Carvacrol	50-Carvacrol	75-Carvacrol
Valid	27	27	27
Missing	0	0	0
Mean	2.389	0.167	0.000
Std. Deviation	0.702	0.245	0.000
Minimum	1.400	0.000	0.000
Maximum	3.500	0.600	0.000

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα (πίνακα 1), ο αριθμός των παρατηρήσεων ήταν στο σύνολο 27 για κάθε μεταχείριση 0-50-75 Carvacrol (πίνακας 1), που επρόκειτο για 3 τρυβλία με 3 καλλιέργειες (μυκηλιακούς δίσκους) το καθένα μέσα, άρα καταγράφηκαν 9 μετρήσεις (αποικίες) τη φορά, σε κάθε μεταχείριση (0-50-75), για 3 φορές τις ώρες 48-72 και 96, σύνολο 27 μετρήσεις για κάθε μεταχείριση.

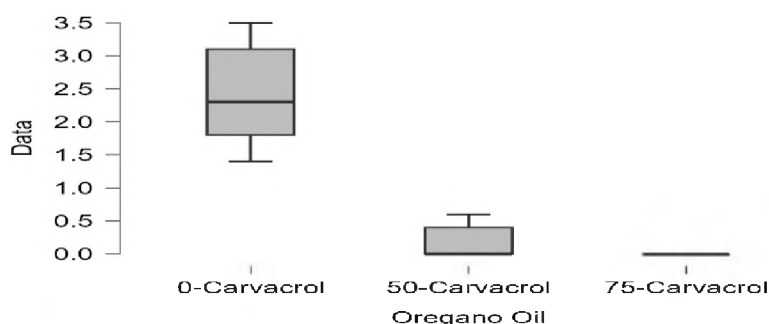
Ο πίνακας αυτός συνδυάζει τις διαστάσεις των αποικιών αναφορικά με το **χρόνο** 48-96 ώρες σε αυτές τις 3 μεταχειρίσεις, γιατί αν κάποιος ανατρέξει στις μετρήσεις που πήραμε (μετά την ενότητα ΣΥΖΗΤΗΣΗ) θα παρατηρήσει πως καμία τιμή από τις αποικίες με καρβακρόλη στο 50% τη στιγμή της μετρήσεως δεν υπήρξε κάτω από 0,4cm. Αυτό αναφέρεται για αποφυγή παρεξηγήσεων στην περίπτωση που κάποιος αναρωτηθεί για το πώς ο μέσος όρος των διαστάσεων (διαμέτρου) των αποικιών με 50 καρβακρόλη είναι της τάξεως των 0,167.

Το πρόγραμμα JASP δηλαδή δίνει τη δυνατότητα ουσιαστικά για πολύ μεγαλύτερο αριθμό μετρήσεων εντάσσοντας και τον παράγοντα χρόνο στην εξίσωση. Έτσι, αντίστοιχα εάν δούμε το μέσο όρο του εύρους των διαστάσεων των αποικιών-μάρτυρες (με τη μηδενική καρβακρόλη) για την ίδια χρονική περίοδο, αυτός διαφέρει κατά 1331% από αυτόν της 50-Carvacrol μεταχείρισης και με τιμή που κυμαίνεται στο 2,389cm, αντιλαμβανόμαστε τη ζημιά που έχει προκληθεί στις αποικίες με το ριγανέλαιο.

Οι παρατηρήσεις δε με την 75% περιεκτικότητα σε καρβακρόλη να βρίσκονται στο 0 καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος επαληθεύουν την κατασταλτική δράση του ελαίου ποιοτικά και ποσοτικά, αφού ο μύκητας δείχνει ότι θανατώθηκε. Επίσης, στον πίνακα 1 έχουμε διακυμάνσεις από το μέσο όρο των τιμών μέχρι και τις τάξεως του 0,702 στις διαστάσεις των μαρτύρων και 0,245 στα τρυβλία 50-Carvacrol, που διαφέρουν σε ποσοστό περίπου 187%. Οι μέγιστες τιμές των διαστάσεων των αποικιών, όπως βλέπουμε, ήταν 3,5cm για τα τρυβλία δίχως έλαιο και 0,6cm διάμετρο για τις επαναλήψεις με ριγανέλαιο 50% καρβακρόλης.

Boxplots

Data



Διάγραμμα 1: Θηκόγραμμα (boxplot) του εύρους των τιμών των διαστάσεων των αποικιών (διάμετρος) και του μέσου όρου τους (που απεικονίζεται ως η οριζόντια γραμμή μέσα στο ορθογώνιο) στο χρόνο 48-96 ώρες επώασης.

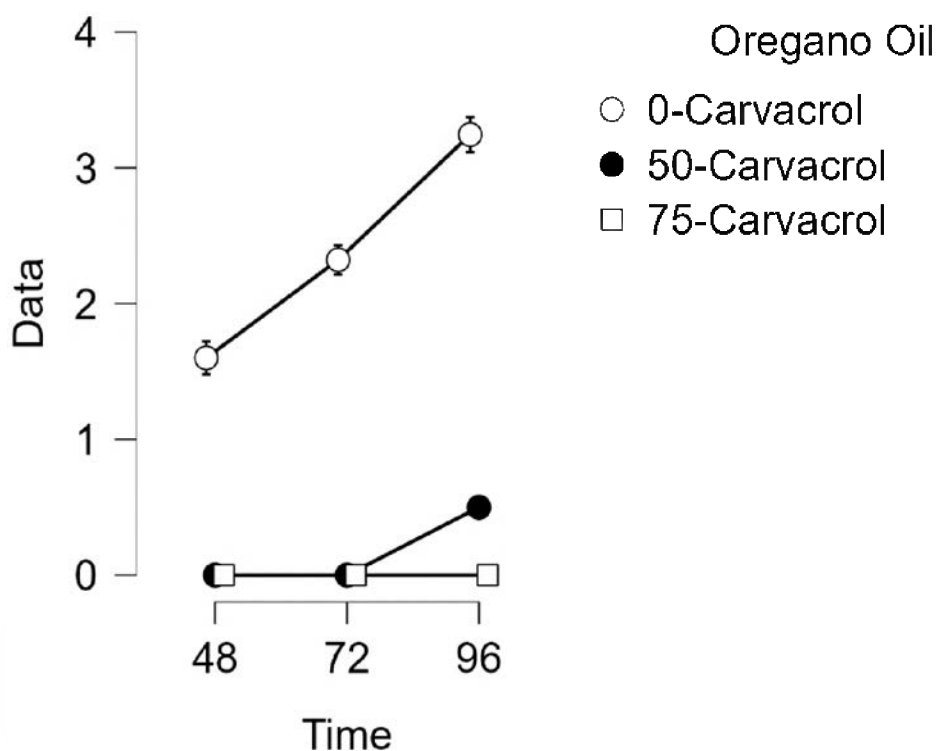
Ανάλυση ANOVA (Analysis of Variance)

ANOVA – Data

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Oregano Oil	96.056	2	48.028	5421.951	< .001
Time	7.143	2	3.571	403.192	< .001
Oregano Oil * Time	6.586	4	1.646	185.875	< .001
Residuals	0.638	72	0.009		

Note. Type III Sum of Squares

Descriptives plots



Διάγραμμα 2: Γραφική παράσταση διαστάσεων αποικιών σε συνάρτηση με το χρόνο.

Ο δεύτερος πίνακας **ανάλυσης της παραλλακτικότητας (ANOVA)** στο πείραμα καταπολέμησης του μύκητα *Penicillium* έδειξε στατιστικές διαφορές μεταξύ των

μεταχειρίσεων αφού $p < 0,001$. Ο δείκτης p όταν είναι μικρής τιμής φανερώνει ότι οι διαφορές στα αποτελέσματα που βλέπουμε δεν είναι τυχαίες, αλλά οφείλονται σε κάποιο παράγοντα. Αντιθέτως, όταν η τιμή p είναι μεγάλης τιμής $p > 0,005$ τότε δεν υπάρχει παράγοντας που να επηρεάζει τα αποτελέσματα προς κάποια κατεύθυνση. Ακόμη κι αν βλέπουμε σημαντική στατιστική διαφορά σε κάποια μεταχείριση δεν έχουμε απόδειξη ότι αυτή δεν είναι τυχαία. Συγκεκριμένα, ο παράγοντας του ριγανέλαιου είναι αυτός που ασκεί την περισσότερη επιρροή στην έκβαση των μεταχειρίσεων με άθροισμα τετραγώνων 96,056, τιμή πολύ μεγάλη που επαληθεύει την καταστολή του μύκητα ποιοτικά.

Τα δεδομένα για την περιεκτικότητα της καρβακρόλης δεν εμφανίζουν τόση απόκλιση μεταξύ τους για τις δύο τιμές 50 και 75% για το χρόνο 48, 72 και 96 ώρες σε σχέση με την απόκλιση που εμφανίζουν τα ίδια με τα δεδομένα των μαρτύρων. Ποσοτικά δηλαδή για την καρβακρόλη δε μπορούμε να πούμε ότι αυτή δεν έχει επίδραση, αφού οι μεταχειρίσεις με την 75% καρβακρόλη δεν εμφάνισαν καθόλου ανάπτυξη σε όλο το πείραμα, αλλά είναι μικρή σε σχέση με την επίδραση γενικά της ύπαρξης ριγανέλαιου (Oregano oil) ως παράγοντα και δεν έχουμε ισχυρή απόδειξη ότι με το χρόνο το αποτέλεσμα θα αλλάξει.

Γενικά, ως **άθροισμα τετραγώνων** ονομάζουμε το άθροισμα των τετραγώνων των αποκλίσεων των παρατηρήσεων από το γενικό μέσο. Όσον αφορά τον παράγοντα χρόνο, η τιμή του αθροίσματος τετραγώνων του είναι μικρή οπότε δεν δείχνει να αποτελεί σοβαρό παράγοντα επίδρασης στην εξίσωση της καταπολέμησης αφού μετά από κάποιο χρόνο η αποικία μπορεί και να ανακάμψει, μιας και οι φαινολικές ενώσεις εξασθενούν ή εξατμίζονται, και οι διαστάσεις των αποικιών αυξάνονται. Βέβαια, ακόμη και με καθυστερημένη ανάπτυξη των αποικιών, υπάρχει μόνιμη **σοβαρή ζημιά** σε σχέση με τους μάρτυρες και η ανακαμπτώμενη αποικία δε θα μπορέσει ποτέ να τους αγγίξει δεδομένων των όμοιων συνθηκών και ρυθμών ανάπτυξης. Σχετικά με την τελευταία μεταχείριση, σε κανένα τρυβλίο με 75% δεν είδαμε ανάκαμψη σε καμία αποικία και μάλλον ο μύκητας θανατώθηκε, τουλάχιστον στο χρόνο διάρκειας του πειράματος.

Συνοψίζοντας, τα αποτελέσματα της ανάλυσης των δεδομένων τόσο από την περιγραφική στατιστική όσο και από την ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA)

επαλήθευσαν την ποιοτική και ποσοτική επίδραση του **ριγανελαίου** στο πεδίο καταστολής του μύκητα του γένους *Penicillium*.

Παρατηρώντας τη γραφική παράσταση στο Διάγραμμα 2, είναι ακόμη πιο ξεκάθαρο πόσο διαφέρουν οι διασπορές των μαρτύρων (χωρίς έλαιο) με τις διασπορές των διαφορετικών περιεκτικοτήτων καρβακρόλης, που αυτές έχουν μικρή διαφορά μεταξύ τους.

Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει κινητοποίηση για βελτίωση της ποιότητας των τροφίμων και στροφή στα βιολογικά προϊόντα με επιδοτήσεις στις βιολογικές καλλιέργειες από την ευρωπαϊκή ένωση, αλλαγές στη νομοθεσία και στον τρόπο χρήσης χημικών αγροτικών σκευασμάτων που είναι επιβλαβή, πιστοποιήσεις από το κράτος για τις βιολογικές καλλιέργειες με καλύτερα έσοδα για τον παραγωγό.

Φαίνεται να υπάρχει ροπή προς τα βιολογικά προϊόντα γιατί σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η ανησυχία των καταναλωτών για τα συνθετικά πρόσθετα έχει οδηγήσει τη βιομηχανία τροφίμων σε έρευνα για εναλλακτικές μορφές επεξεργασίας τροφίμων. Σ' αυτό το εννοιολογικό πλαίσιο η χρήση φυσικών συντηρητικών είναι πολλά υποσχόμενη εναλλακτική για εξασφάλιση της ποιότητας του τρόφιμου, αύξηση του χρόνου διάθεσής του στα ράφια και παράλληλα να συμβαδίζει με τις προσδοκίες του καταναλωτή (Cenci, Ugalde, *et al.*, 2015).

Σαν **συντήρηση τροφίμων** (food preservation) ορίζεται η λήψη μέτρων για την καταπολέμηση των παραγόντων που υποβαθμίζουν και αλλοιώνουν ποιοτικά τα τρόφιμα, έτσι ώστε αυτά να είναι αποδεκτά και ασφαλή για την ανθρώπινη υγεία για καθορισμένο χρονικό διάστημα και υπό συγκεκριμένες συνθήκες (Μπλούκας, 2017). Στόχος της συντήρησης είναι:

- α) η επιμήκυνση του χρόνου ζωής του τρόφιμου για περισσότερο χρόνο διάθεσης στο εμπόριο ή και μεταφορά σε μεγαλύτερες αποστάσεις
- β) η βελτίωση του γεωργικού εισοδήματος
- γ) ο εφοδιασμός των μεγάλων αστικών κέντρων με τρόφιμα

δ) η «κατάργηση» της εποχικής παραγωγής και η διάθεση ορισμένων τροφίμων σε όλη τη διάρκεια του έτους

ε) η δυνατότητα αποθέματος τροφίμων για ώρα ανάγκης (Μπλούκας, 2017)

Στις μέρες μας στα τρόφιμα προστίθενται πάνω από 2500 χημικές ουσίες για να τους προσδώσουμε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά (Μπλούκας, 2017). Αυτές οι ουσίες χαρακτηρίζονται ως **πρόσθετα** (additives). Πιο συγκεκριμένα, πρόσθετο ονομάζουμε την ουσία ή μείγμα ουσιών που η ίδια δεν καταναλώνεται ως τρόφιμο και σκόπιμα προστίθεται στα τρόφιμα για τους παρακάτω σκοπούς:

-ως συντηρητικό (preservative) (Μπλούκας, 2017)

- για βελτίωση της θρεπτικής αξίας (nutritional additive) (Μπλούκας, 2017)

-ως ενισχυτικό της οσμής και γεύσης (flavouring agent) (Μπλούκας, 2017)

-για βελτίωση του χρώματος (colouring agent) (Μπλούκας, 2017)

-για έλεγχο της υφής (texturizing agent) (Μπλούκας, 2017)

Ως **συντηρητικά** (preservatives) χαρακτηρίζονται τα πρόσθετα που συμβάλλουν στην προστασία των τροφίμων από μικροοργανισμούς και ενζυμικές και χημικές αντιδράσεις (Μπλούκας, 2017). Τα **αιθέρια έλαια** κατατάσσονται στα συντηρητικά αντιμικροβιακών παραγόντων και είναι τα κατεξοχήν συντηρητικά **φυτικής προέλευσης** (Μπλούκας, 2017).

Στο εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του τμήματος Φυτικής Παραγωγής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας πραγματοποιήθηκε η έρευνα για τη διερεύνηση της αποτελεσματικότητας του ριγανέλαιου ως συντηρητικό και ακολουθήθηκαν οι διαδικασίες για την καταπολέμηση των κοινότερων μυκήτων, αυτών του γένους *Penicillium*.

Μετά το πέρας της πειραματικής διαδικασίας, τα αποτελέσματα επαλήθευσαν τις όσες μέχρι τώρα γνωστές έρευνες που παραθέσαμε για την αντιμικροβιακή ιδιότητα του ριγανέλαιου αναφορικά με το χρόνο. Η ανάλυση των δεδομένων έδειξε αντίσταση στον πολλαπλασιασμό του μύκητα παρουσία ριγανελαίου στο πρώτο 48ωρο που καμία αποικία δεν κατάφερε να αντισταθμίσει τη δράση της καρβακρόλης.

Αντιθέτως όσα τρυβλία- μάρτυρες καλλιεργήθηκαν χωρίς έλαιο είχαν ομαλή αύξηση στις ίδιες συνθήκες θρεπτικού μέσου και θερμοκρασίας. Την αμέσως επόμενη μέρα, στις 72 ώρες, οι παρατηρήσεις για το ριγανέλαιο ήταν οι ίδιες που και πάλι στα τρυβλία δεν εμφανίστηκε καμία αποικία, ενώ στα τρυβλία χωρίς ριγανέλαιο είδαμε την συνέχιση της αύξησης των τιμών των διαστάσεων των αποικιών που στα κέντρα των οποίων είχαμε εμφάνιση σπορίων.

Η ανάλυση της τέταρτης μέρας καλλιέργειας του μύκητα *Penicillium italicum*, στις 96 ώρες, είχε ενδιαφέρον αφού μέχρι τότε υπήρχε και η υπόθεση για τη βιοκτόνο δράση της καρβακρόλης έναντι του μύκητα, όμως δυστυχώς το ριγανέλαιο μάλλον εμφανίζει καταστολή παρά καταστροφή. Να σημειωθεί ότι σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, μύκητες του γένους *Penicillium* πρόβαλλαν περισσότερη αντίσταση στην εφαρμογή ριγανελαίου από άλλους μύκητες, για παράδειγμα του γένους *Aspergillus*, που υπάρχουν κι αυτοί κατά πάσα πιθανότητα στα ίδια τρόφιμα πιθανώς και μαζί ταυτόχρονα. Έτσι μύκητες του γένους *Penicillium* αποτέλεσαν αντιπροσωπευτικό δείγμα στην έρευνα της αντιμικροβιακής δράσης του ελαίου.

Συνεχίζοντας, παρατηρήθηκε αύξηση των διαστάσεων των αποικιών των τρυβλίων με ριγανέλαιο καρβακρόλης 50%, όπου υπήρξε παρουσία αποικίας για πρώτη φορά κατά τη διάρκεια του πειράματος. Σε περίπτωση που η καρβακρόλη εμφάνιζε μυκητοκτόνο δράση η τιμή των επαναλήψεων θα παρέμενε στο 0 και ο μύκητας θα ήταν νεκρός, όμως βλέπουμε ότι μετά και από 4 μέρες ο μύκητας κατάφερε να αντισταθμίσει την αντιξοότητα της καρβακρόλης και να εμφανίσει κάποια ανάπτυξη.

Η κατάσταση στα τρυβλία – μάρτυρες συνεχίζει κανονικά με εξάπλωση της αποικίας εκθετικά εμφανίζοντας τη μεγαλύτερη αύξηση έως τώρα της τάξεως διαμέτρου 1,3cm, ενώ στα τρυβλία με την καρβακρόλη στο 75% ο μύκητας δεν έχει δείξει κανένα σημείο ζωής. Για αυτού του είδους τα δείγματα (75%) δεν μπορούμε να ξέρουμε τι θα συμβεί μελλοντικά με σίγουριά, όμως το σίγουρο είναι ότι οι αποικίες και σε περίπτωση που ανακάμψουν δε θα έχουν την ευχέρεια εξάπλωσης ποτέ στο μέγεθος των μαρτύρων γιατί η ζημιά που έχουν υποστεί είναι πολύ μεγάλη και μάλλον φαίνεται να έχουν καταστραφεί.

Η μελέτη των υπόλοιπων ερευνών και σε συνδυασμό με τα δεδομένα του δικού μας πειράματος οδηγούν στην δεύτερη υπόθεση ότι ίσως μετά από μερικές μέρες θα υπήρχε μηδαμινή παρουσία και στις επαναλήψεις του ριγανελαίου με 75%

περιεκτικότητα καρβακρόλης. Και αυτό γιατί γνωρίζουμε από τις έρευνες πως η καρβακρόλη δρα ως καταστολέας της εργοστερόλης ,συγκεκριμένα, και δεν έχει τη δυνατότητα να καταστρέψει το παθογόνο εντελώς (Mohammedi *et. al*, 2017).

Όπως φαίνεται και στην περιγραφική στατιστική των αποτελεσμάτων και συγκεκριμένα στον πρώτο πίνακα, ο μύκητας του ριγανέλαιου αποδυναμωμένος πλέον δεν έχει δυνατότητα ανάπτυξης/ προσβολής του τρόφιμου που έχει ο μύκητας- μάρτυρας. Αυτό φαίνεται από το μέσο όρο και τη διακύμανση που διαφέρουν κατά πολύ με το δείγμα- μάρτυρα, περιγράφοντας χαρακτήρα ασθενικό και βραδείας ανάπτυξης που στην περίπτωση αποθήκευσης ενός τρόφιμου σε ιδανικές συνθήκες χαμηλής σχετικά θερμοκρασίας και υγρασίας έχουμε αποδεκτή καταπολέμηση του παθογόνου.

Συμπεραίνουμε λοιπόν πως το ριγανέλαιο θα μπορούσε να λειτουργήσει ευεργετικά μόνο ως καλό **φυσικό συντηρητικό** προστατεύοντας τις υφές των τροφίμων και καθυστερώντας τις σήψεις, **αυξάνοντας έτσι το χρόνο διάθεσης για κατανάλωση**. Επίσης, συμβάλλει στην ωρίμανση ορισμένων τροφίμων και αποτελεί αντιμικροβιακό συντηρητικό με ιδιαίτερο χαρακτήρα και συνδυασμό γεύσης σε πολλά παραδείγματα που αναφέραμε όπως ειδών τυριών και σαλαμιών ή και στην ελιά. Μεγάλο ενδιαφέρον θα παρουσίαζε πάντως η χρήση του στην καταπολέμηση μετασυλλεκτικών παθογενειών στους καρπούς, ίσως συνδυαστικά και με άλλα χημικά σκευάσματα που αποκτώνται με μικρότερο κόστος.

Επεξηγήσεις των πινάκων

Analysis of Variance:	Ανάλυση παραλλακτικότητας
Mean:	Μέσος όρος
Std. Deviation:	Διακύμανση
Sum of Squares:	Άθροισμα τετραγώνων
Df:	Βαθμοί ελευθερίας
p:	πιθανότητα βάση πινάκων
Mean Square:	Μέσο άθροισμα τετραγώνων
F:	Κατανομή F
Minimum:	Ελάχιστη τιμή
Maximum:	Μέγιστη τιμή
Residuals:	Εκτιμημένα σφάλματα

Μετρήσεις

Oregano Oil	repls	Time	Data
0-Carvacrol	1	48	1,8
0-Carvacrol	2	48	1,8
0-Carvacrol	3	48	1,8
0-Carvacrol	4	48	1,5
0-Carvacrol	5	48	1,5
0-Carvacrol	6	48	1,6
0-Carvacrol	7	48	1,5
0-Carvacrol	8	48	1,4
0-Carvacrol	9	48	1,5
50-Carvacrol	1	48	0
50-Carvacrol	2	48	0
50-Carvacrol	3	48	0
50-Carvacrol	4	48	0
50-Carvacrol	5	48	0
50-Carvacrol	6	48	0
50-Carvacrol	7	48	0
50-Carvacrol	8	48	0
50-Carvacrol	9	48	0
75-Carvacrol	1	48	0
75-Carvacrol	2	48	0
75-Carvacrol	3	48	0
75-Carvacrol	4	48	0
75-Carvacrol	5	48	0
75-Carvacrol	6	48	0
75-Carvacrol	7	48	0

Oregano Oil	repls	Time	Data
75-Carvacrol	8	48	0
75-Carvacrol	9	48	0
0-Carvacrol	1	72	2,4
0-Carvacrol	2	72	2,5
0-Carvacrol	3	72	2,3
0-Carvacrol	4	72	2,3
0-Carvacrol	5	72	2,4
0-Carvacrol	6	72	2,5
0-Carvacrol	7	72	2,1
0-Carvacrol	8	72	2,2
0-Carvacrol	9	72	2,2
50-Carvacrol	1	72	0
50-Carvacrol	2	72	0
50-Carvacrol	3	72	0
50-Carvacrol	4	72	0
50-Carvacrol	5	72	0
50-Carvacrol	6	72	0
50-Carvacrol	7	72	0
50-Carvacrol	8	72	0
50-Carvacrol	9	72	0
75-Carvacrol	1	72	0
75-Carvacrol	2	72	0
75-Carvacrol	3	72	0
75-Carvacrol	4	72	0
75-Carvacrol	5	72	0
75-Carvacrol	6	72	0
75-Carvacrol	7	72	0
75-Carvacrol	8	72	0
75-Carvacrol	9	72	0

Oregano Oil	repls	Time	Data
0-Carvacrol	1	96	3,1
0-Carvacrol	2	96	3,2
0-Carvacrol	3	96	3,2
0-Carvacrol	4	96	3
0-Carvacrol	5	96	3,3
0-Carvacrol	6	96	3,1
0-Carvacrol	7	96	3,4
0-Carvacrol	8	96	3,4
0-Carvacrol	9	96	3,5
50-Carvacrol	1	96	0,4
50-Carvacrol	2	96	0,6
50-Carvacrol	3	96	0,5
50-Carvacrol	4	96	0,6
50-Carvacrol	5	96	0,4
50-Carvacrol	6	96	0,5
50-Carvacrol	7	96	0,6
50-Carvacrol	8	96	0,4
50-Carvacrol	9	96	0,5
75-Carvacrol	1	96	0
75-Carvacrol	2	96	0
75-Carvacrol	3	96	0
75-Carvacrol	4	96	0
75-Carvacrol	5	96	0
75-Carvacrol	6	96	0
75-Carvacrol	7	96	0
75-Carvacrol	8	96	0
75-Carvacrol	9	96	0

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική

Ασσαριωτάκης Α. (2018) «Παραλλακτικότητα των Φαρμακευτικών και Αρωματικών ειδών, *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* L., *Origanum onites* L. και *Origanum xintercedens*, σε συνθήκες καλλιέργειας ως προς τα μορφολογικά, αποδοτικά και χημειοτυπικά τους χαρακτηριστικά.», Μεταπτυχιακή Διατριβή.

Ζωσιμίδου Σ., (2018) Παρασκευή καλλυντικών γαλακτωμάτων από έλαιο.

Ιπποφαούς που παρήχθη με διάφορες μεθόδους. Μελέτη αντιοξειδωτικών, αντιηλιακών και χημικών ιδιοτήτων. Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία.

Καδογλίδου Κ. (2009) Επίδραση δευτερογενών μεταβολιτών αρωματικών φυτών στη φυσιολογία τομάτας, καλλιεργούμενης με βιολογικό τρόπο και σε παράγοντες εδαφικού περιβάλλοντος, Διδακτορική διατριβή.

Καζή Μ. (2016) Χρήση Όζοντος ως Απολυμαντικό Μέσο σε Δρόγες Αρωματικών Φυτών, Μεταπτυχιακή διατριβή ειδίκευσης.

Κουτσός, Θ. (2019). Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά, Εκδόσεις ΖΗΤΗ, Θεσσαλονίκη, σελ. 11-12 ,σελ. 249-258.

Μπλούκας, Ι. (2017). Επεξεργασία και συντήρηση τροφίμων, Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα, σελ. 31, σελ.447-448, σελ.455-457.

Τζάμος, Ε. (2017). Φυτοπαθολογία, Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα, σελ.161-162, 204,240.

Χατζημαυρούδης Χ. (2018) Ανάλυση Αιθέριων Ελαίων και μελέτη αντιοξειδωτικής δράσης καλλιεργούμενης ρίγανης, Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης.

Ξενόγλωσση

Almeida, P.D., BLANCO-PASCUAL, N., Rosolen, D., Cisilotto, J., Creczynski-Pasa, T.B., & Laurindo, J.B. (2022). Antioxidant and antifungal properties of essential oils of oregano (*Origanum vulgare*) and mint (*Mentha arvensis*) against *Aspergillus*

flavus and *Penicillium commune* for use in food preservation. *Food Science and Technology*. DOI:10.1590/fst.64921.

Arora, D.S., & Chandra, P. (2011). Antioxidant Activity of *Aspergillus fumigatus*. *ISRN Pharmacology*, 2011. DOI:10.5402/2011/619395.

Bedoya-Serna, C.M., Dacanal, G.C., Fernandes, A.M., & Pinho, S.C. (2018). Antifungal activity of nanoemulsions encapsulating oregano (*Origanum vulgare*) essential oil: in vitro study and application in Minas Padrão cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49, 929 - 935. DOI:10.1016/j.bjm.2018.05.004.

Cenci, A.M., Ugalde, M.L., Steffens, J., Valduga, E., Cansian, R.L., & Toniazzi, G. (2015). Control of *Penicillium* sp. on the Surface of Italian Salami Using Essential Oils. *Food technology and biotechnology*, 53 3, 342-347. DOI:10.17113/FTB.53.03.15.3877.

Cibanal, I.L., Fernández, L.A., Murray, A.P., Pellegrini, C.N., & Gallez, L.M. (2021). Propolis extract and oregano essential oil as biofungicides for garlic seed cloves: in vitro assays and synergistic interaction against *Penicillium allii*. *Journal of Applied Microbiology*, 131. DOI:10.1111/jam.15081.

Escobar, A.M., Pérez, M., Romanelli, G.P., & Blustein, G. (2020). Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. *Arabian Journal of Chemistry*. DOI:10.1016/j.arabjc.2020.11.009.

Ferreira, J.V., Capello, T.M., Siqueira, L.J., Lago, J.H., & Caseli, L. (2016). Mechanism of Action of Thymol on Cell Membranes Investigated through Lipid Langmuir Monolayers at the Air-Water Interface and Molecular Simulation. *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*, 32 13, 3234-41 . DOI:10.1021/acs.langmuir.6b00600.

Cenci, A.M., Ugalde, M.L., Steffens, J., Valduga, E., Cansian, R.L., & Toniazzi, G. (2015). Control of *Penicillium* sp. on the Surface of Italian Salami Using Essential Oils. *Food technology and biotechnology*, 53 3, 342-347 . DOI:10.17113/FTB.53.03.15.3877

Portillo-Ruiz, M.C., Viramontes-Ramos, S., Muñoz-Castellanos, L.N., Gastélum-Franco, M.G., & Nevárez-Moorillón, G.V. (2005). Antifungal activity of Mexican

oregano (*Lippia berlandieri* Shauer). *Journal of food protection*, 68 12, 2713-7.
DOI:10.4315/0362-028X-68.12.2713.

Ranjbar, A., Ramezani, A., Shekarforoush, S., Niakosari, M., & Eshghi, S. (2022). Antifungal activity of thymol against the main fungi causing pomegranate fruit rot by suppressing the activity of cell wall degrading enzymes. *LWT*.
DOI:10.1016/j.lwt.2022.113303.

Visagie, C.M., Houbraken, J., Frisvad, J.C., Hong, S., Klaassen, C.H., Perrone, G., Seifert, K.A., Varga, J., Yaguchi, T., & Samson, R.A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 78, 343 - 371.
DOI:10.1016/j.simyco.2014.09.001.

Z., Mohammedi. (2017). Carvacrol: An Update of Biological Activities and Mechanism of Action. *Open Access Journal of Chemistry*. DOI:10.22259/2637-5834.0101008.