

ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΑΠΟΝΕΡΩΝ ΤΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΖΥΜΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΖΥΓΟΜΥΚΗΤΑ *MORTIERELLA RAMANNIANA* ΩΣ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟ ΜΕΣΟ ΔΙΑΒΡΟΧΗΣ ΣΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ

Ε.-Μ. Μελανούρη^{1,2,*}, Π. Χρύσανθου², Σ. Παπανικολάου¹ Π. Διαμαντοπούλου²

¹ Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, ΓΠΑ, Αθήνα, Ελλάδα

² Ελληνικός Γεωργικός Οργανισμός ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, Ινστιτούτο Τεχνολογίας Αγροτικών Προϊόντων (ΙΤΑΠ), Εργαστήριο Εδώδιμων Μυκήτων, Λυκόβρυση, Ελλάδα

(*eimelanouri@aua.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αξιοποίηση των αγροτοβιομηχανικών υπολειμμάτων είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της περιβαλλοντικής ισορροπίας. Η καλλιέργεια μανιταριών θα μπορούσε να αποτελέσει μια εναλλακτική λύση για την οικολογική επεξεργασία τους, μετατρέποντας τα σε προϊόντα υψηλής διατροφικής/φαρμακευτικής αξίας. Επίσης, τα απόνερα των διεργασιών ζυμώσεων ζυγομυκήτων θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως μέσο διαβροχής αντί του νερού βρύσης, λειτουργώντας ως ένα επιπλέον μέσο διαχείρισης αποβλήτων και οικονομίας νερού. Στο πλαίσιο των αρχών της κυκλικής οικονομίας λοιπόν, αυτή η μελέτη είχε ως στόχο την αξιολόγηση της δυνατότητας αντικατάστασης του νερού με τα απόνερα των διεργασιών ζυμώσεων του *M. ramanniana* (AZ) που περιείχαν 1,5 g/L γλυκερόλη και άλατα στην καλλιέργεια μανιταριών *Agrocybe cylindracea* σε ζύμωση στερεής κατάστασης. Σε ροκανίδι οξιάς προστέθηκαν υπολείμματα καφέ εσπρέσο, πίτουρο και σογιάλευρο (λόγος C/N ~ 50) σχηματίζοντας τα εξής υποστρώματα: 1) ΟΞ (ροκανίδι οξιάς – 95%, πίτουρο - 3%, σογιάλευρο - 2%) και 2) ΟΞΚ (ροκανίδι οξιάς - 90%, καφές – 8%, πίτουρο - 1%, σογιάλευρο – 1%). Τα υποστρώματα ενυδατώθηκαν, είτε με AZ, είτε με νερό (μάρτυρας) και μελετήθηκε η επίδρασή τους στη βιολογική αποδοτικότητα του μύκητα [BA%: βάρος φρέσκων μανιταριών (g) / βάρος ξηρού υποστρώματος (g) × 100], καθώς και σε ορισμένες βασικές διατροφικές παραμέτρους (ενδο-πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες), αλλά και στο φαινολικό φορτίο. Όσον αφορά στην BA%, τα AZ δεν είχαν ιδιαίτερη επίδραση στο ΟΞ υπόστρωμα, εν αντιθέσει με το ΟΞΚ όπου κατεγράφη η υψηλότερη τιμή (49,36% κ.β.). Τα AZ αύξησαν την περιεκτικότητα των ενδο-πολυσακχαριτών των παραγόμενων μανιταριών (ΟΞ AZ: 35,53%, ΟΞΚ - AZ: 50,35%) σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες (ΟΞ: 32,88% ΟΞΚ: 46,85%), ενώ τα μανιτάρια που καλλιεργήθηκαν σε υποστρώματα με AZ εμφάνισαν χαμηλότερο ποσοστό πρωτεΐνης (ΟΞ: 14,64% κ.β., ΟΞΚ: 16,52%) σε σχέση με τους μάρτυρες (ΟΞ: 16,10%, ΟΞΚ: 17,46%). Τα AZ είχαν ιδιαίτερα θετική επίδραση στην περιεκτικότητα του φαινολικού φορτίου (mg GAE/g ξ.β.) των παραγόμενων μανιταριών του ΟΞ υποστρώματος (AZ: 25,76 mg GAE/g, μάρτυρας: 37,32 mg GAE/g) σε αντίθεση με το ΟΞΚ που δεν επηρέασε σημαντικά την περιεκτικότητά του (AZ: 23,54 mg GAE/g, μάρτυρας: 25,42 mg GAE/g). Συνεπώς, ο συνδυασμός των εναλλακτικών υποστρωμάτων ενυδατωμένων με AZ θα μπορούσαν να συμβάλλουν στην παραγωγή μανιταριών *A. cylindracea* υψηλής θρεπτικής αξίας.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Απόνερα διεργασιών ζυμώσεων ζυγομυκήτων, *Agrocybe cylindracea*, βιολογική αποδοτικότητα, διατροφικές παράμετροι, φαινολικό φορτίο

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ακάθαρτη-βιομηχανική γλυκερόλη αποτελεί ένα σημαντικό υπόλειμμα ποικίλων βιομηχανικών διεργασιών (όπως τούτων της παραγωγής βιολογικού πετρελαίου - βιοντήζελ, σαπώνων, αλκοολούχων ποτών, βιοαιθανόλης, κλπ), η παραγωγή του οποίου εμφανίζει συνεχή αύξηση τα τελευταία χρόνια. Ειδικώς δε για το βιοντήζελ, θα πρέπει να τονιστεί ότι για το έτος 2021, η παγκόσμια παραγωγή του από βρώσιμα φυτικά έλαια ήταν της τάξεως των 30×10⁶ t. (η αντίστοιχη

παγκόσμια παραγωγή βιοντήζελ για το 2008 ήταν της τάξεως των $11,5 \times 10^6$ t.), επομένως η αναμενόμενη αύξηση της παγκόσμιας παραγωγής βιοντήζελ θα έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή περίπου 3×10^6 t. γλυκερόλης ως υποπροϊόντος της διεργασίας, λαμβάνοντας υπόψη μόνο τη χρησιμοποίηση εδώδιμων φυτικών ελαίων ως υλικού εκκίνησης της παραγωγής βιοντήζελ ^[1]. Είναι γνωστό ότι για 10 μέρη βιοντήζελ, παράγεται 1 μέρος καθαρής γλυκερόλης, ως παράπλευρο προϊόν της διεργασίας. Καθίσταται προφανές και επιτακτικό, συνεπώς, να υπάρχει η δυνατότητα εξεύρεσης (πολλών και ποικίλων) λύσεων αναφορικά με την οικολογική και φιλική προς το περιβάλλον διαχείριση της ακάθαρτης γλυκερόλης, με τη μικροβιακή και τη χημική τεχνολογία να μπορούν να συνεισφέρουν πολλά προς την κατεύθυνση αυτή.

Η αύξηση της αγροτοβιομηχανικής δραστηριότητας έχει οδηγήσει στη συσσώρευση μεγάλων ποσοτήτων λιγνοκυτταρινούχων υπολειμμάτων και διαφόρων αποβλήτων, τα οποία αν και δεν είναι επικίνδυνα για το περιβάλλον, μπορεί να αποτελέσουν περιβαλλοντική επιβάρυνση εξαιτίας των αυξημένων ποσοτήτων παραγωγής τους και της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε οργανική ουσία. Επιπλέον, αξιοσημείωτος είναι ο αριθμός των υπολειμμάτων που καίγονται δημιουργώντας επιπρόσθετα περιβαλλοντικά προβλήματα. Συνεπώς, η κατάλληλη επεξεργασία των υπολειμμάτων αυτών είναι ζωτικής σημασίας, με τη βιολογική επεξεργασία τους μέσω της χρήσης μικροβίων ή/και ενζύμων να αποτελεί συνήθως μια μη τοξική και φιλική προς το περιβάλλον μέθοδο για τη βιοαποδόμηση της λιγνίνης. Για το λόγο αυτό, τα τελευταία χρόνια υπάρχει ενδιαφέρον για την αξιοποίηση των αγροτοβιομηχανικών υπολειμμάτων, όχι μόνο για να ελαχιστοποιηθούν οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις, αλλά και για την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας ^[2]. Η καλλιέργεια μανιταριών θα μπορούσε να αποτελέσει μια εναλλακτική λύση για την οικολογική επεξεργασία τους, μετατρέποντας τα σε προϊόντα υψηλής διατροφικής/φαρμακευτικής αξίας. Αντίστοιχα, οι υδάτινοι πόροι υφίστανται αυξανόμενη πίεση λόγω της εκβιομηχάνισης ^[3]. Συνεπώς καθίσταται αναγκαίο να αναζητηθούν και μελετηθούν νέες μέθοδοι για την διαφύλαξη αυτού του πολύτιμου πόρου.

Στο πλαίσιο των αρχών της κυκλικής οικονομίας λοιπόν, η παρούσα μελέτη είχε ως στόχο την αξιολόγηση της δυνατότητας αντικατάστασης του νερού με τα απόβλητα των διεργασιών ζυμώσεων του *M. ramanniana* (AZ) που περιείχαν 1,5 g/L γλυκερόλη στην καλλιέργεια μανιταριών *Agrocybe cylindracea* σε ζύμωση στερεής κατάστασης.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Στα πειράματα της συγκεκριμένης μελέτης χρησιμοποιήθηκε το αυτοφύες στέλεχος του είδους *A. cylindracea* (κωδ. AMRL 103) προερχόμενο από την τράπεζα βιολογικού υλικού του Εργαστηρίου Εδώδιμων Μυκήτων του ΙΤΑΠ. Η ζύμωση στερεής φάσης πραγματοποιήθηκε σε μίγματα αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων σε σάκους με σκοπό την παραγωγή καρποσωμάτων, σύμφωνα με τους ^[2,4,5]. Για αυτό το λόγο, στο ΕΕΜ παρήχθη 'σπόρος' του μανιταριού (καθαρή καλλιέργεια μυκηλίου σε κόκκους σιτηρών), που χρησιμοποιήθηκε ως εμβόλιο των καλλιεργειών (παραγωγή αξιόπιστου πολλαπλασιαστικού υλικού) σύμφωνα με τους Philippoussis et al. ^[6,7].

Καθώς αυτό το μανιτάρι συνήθως αναπτύσσεται σε κορμούς δέντρων και κλαδιά οξιάς, ιτιάς, λεύκας κα., χρησιμοποιήθηκε ως βασικό υπόστρωμα το ροκανίδι οξιάς ενώ το πίτουρο, το σογιάλευρο και ο καφές χρησιμοποιήθηκαν ως προσθετικά στις αναλογίες όπως φαίνονται στον **Πίνακα 1**. Η φυσικοχημική σύσταση των υποστρωμάτων προσδιορίστηκε μέσω του ολικού αζώτου και της οργανικής ύλης. Οι μετρήσεις αυτές συνέβαλαν στην τελική διαμόρφωση της σύστασης των υποστρωμάτων και του τελικού λόγου C/N των μιγμάτων.

Πίνακας 1 Σύνθεση υποστρωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την καλλιέργεια στερεής φάση (τελικά μίγματα, πριν από τον εμβολιασμό).

Υποστρώματα	Σύνθεση υποστρωμάτων (% w/w)	C/N
OΞ	οξιά	90
	πίτουρο	6
	σογιάλευρο	4
OΞΚ	οξιά	80
	καφές	15
	πίτουρο	3
	σογιάλευρο	2

Για την στερεή καλλιέργεια χρησιμοποιήθηκαν σακούλες πολυπροπυλενίου, οι οποίες πληρώθηκαν με 1 kg υποστρώματος (5 επαναλήψεις/υπόστρωμα) εμβαπτισμένο είτε σε H₂O (μάρτυρας), είτε σε AZ (απόνερα των διεργασιών ζυμώσεων του *M. ramanniana* με 1,5 g/L γλυκερόλη και άλατα) και αποστειρώθηκαν δύο ώρες στους 121±1 °C. Ακολούθησε εμβολιασμός με 'σπόρο' 3% κ.β. στον κεντρικό άξονα της σακούλας. Μετά τον εμβολιασμό τους, οι σακούλες μεταφέρθηκαν για επώαση σε σκοτεινό θάλαμο (ENTERLAB, mod. GROW-1300 HR) με σχ. υγρασία 85% και θερμοκρασία 26±0,5 °C. Στο τέλος της επώασης αφαιρέθηκαν οι σακούλες και τα αποικισμένα υποστρώματα μεταφέρθηκαν για καρποφορία σε θάλαμο με συνθήκες θερμοκρασίας 17,5±0,5°C, φωτισμού 700 Lux, 12 h/ημ, υγρασίας 90%, υδρονέφωση 3 δευτερόλεπτα/ώρα και καλό αερισμό, CO₂<1200ppm. Στο τέλος της καλλιέργειας, τα μανιτάρια συλλέχτηκαν, ζυγίστηκαν και προσδιορίστηκε η Βιολογική Αποδοτικότητα (BA%, το πηλίκιο του συνολικού νωπού βάρους των μανιταριών προς το ξηρό βάρος του υποστρώματος x100). Τέλος, τα μανιτάρια αποξηράθηκαν μέσω λυοφιλίωσης (Heto LyoLab 3000 freeze-dryer) και αλέστηκαν σε σκόνη.

Οι ολικοί πολυσακχαρίτες προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο DNS (3,5 δινιτροσαλικυλικό οξύ) ^[8] χρησιμοποιώντας ως πρότυπο τη D-γλυκόζη. Τα ανάγοντα σάκχαρα προσδιορίστηκαν μετρώντας την απορρόφηση στα 540 nm με χρήση φασματοφωτομέτρου UV/Vis V-530 (Jasco). Η ολική πρωτεΐνη των λυοφυλιωμένων μανιταριών προσδιορίστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο Bradford ^[9]. Η καμπύλη αναφοράς πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας BSA (0.1–1.5mg/mL) μετρώντας την απορρόφηση στα 620nm.

Σε 250mg από κάθε δείγμα προστέθηκε 10 mL μεθανόλης και τα μίγματα τοποθετήθηκαν σε λουτρό υπερήχων για 60 min, ακολούθησε ανάδευση (vortex) και φυγοκέντριση στα 5000rpm για 15min και τα υπερκείμενα εκχυλίσματα χρησιμοποιήθηκαν για περαιτέρω ανάλυση. Ακολούθως, ο προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu ^[10]. Η απορρόφηση μετρήθηκε στα 750 nm, χρησιμοποιώντας ως πρότυπο το γαλλικό οξύ και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg GAE/g ξηρού βάρους (ξ.β.).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

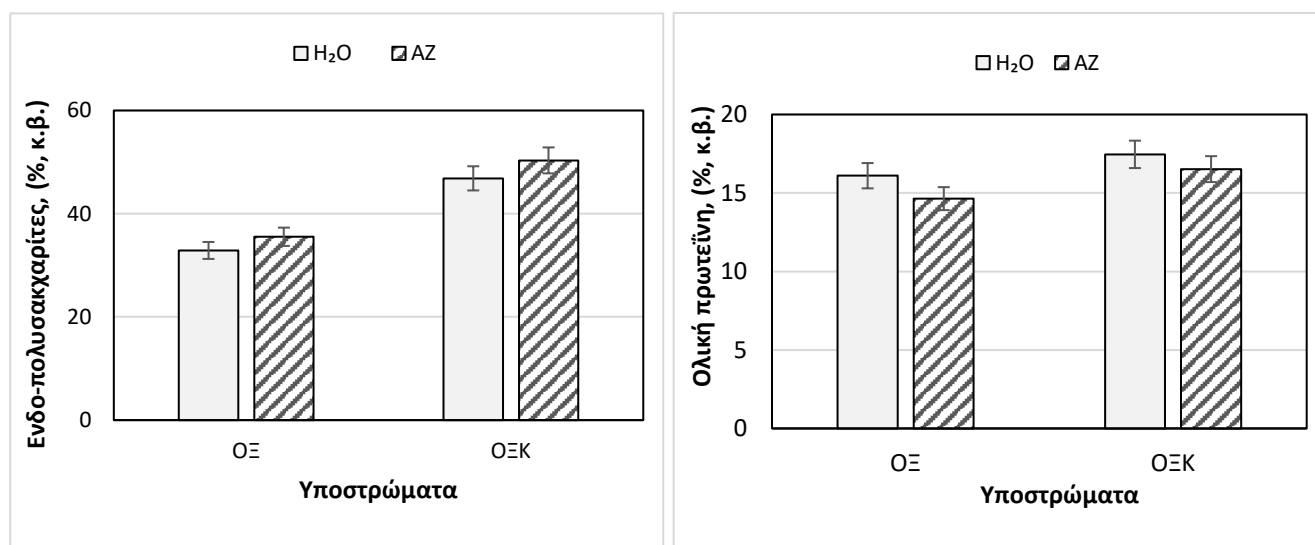
Ο *A. cylindracea* αναπτύχθηκε με επιτυχία και αποίκησε όλα τα εξεταζόμενα υποστρώματα με τις τιμές της BA να κυμαίνονται από 38,19 έως 49,36 % (**Πίνακας 2**). Η χρήση των AZ σε συνδυασμό με την προσθήκη καφέ έδρασαν θετικά στη BA γεγονός πολύ ενθαρρυντικό για την αξιοποίηση αυτών των υποστρωμάτων ακόμα και στην εμπορική καλλιέργεια των μανιταριών. Στην περίπτωση του υποστρώματος, OΞ η χρήση των AZ δεν είχε σημαντική επίδραση, καθώς παρατηρήθηκαν ελαφρώς

χαμηλότερες τιμές χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές εν συγκρίσει με τον αντίστοιχο μάρτυρα. Τα διαφορετικά είδη του ξύλου όσο και η μορφή του (πριονίδι, ροκανίδι) επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση των παραγόμενων καρποσωμάτων και κατ' επέκταση τη ΒΑ, αλλά και τον ρυθμό ανάπτυξης του μυκηλίου [5,11,12]. Παραδείγματος χάρη, σε μελέτη που εξετάστηκαν διάφορα στελέχη του *A. cylindracea* σε ποικίλα υποστρώματα διαπιστώθηκε ότι το άχυρο σίτου εμπλουτισμένο με σογιάλευρο είχε μεγαλύτερη ΒΑ σε σχέση με το πριονίδι ιτιάς, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις δεν μπορούσε να επιτευχθεί ο πλήρης αποικισμός του μυκηλίου στο υπόστρωμα αυτό [13]. Παρεμφερείς τιμές ΒΑ έχουν καταγραφεί σε διαφορετικά στελέχη του συγκεκριμένου είδους προηγούμενες πειραματικές μελέτες κατά την ανάπτυξη τους σε άχυρο σίτου, ενώ ο φλοιός φιστικιού είχε αρνητική επίδραση στην συγκεκριμένη παράμετρο [2].

Πίνακας 2 Αξιολόγηση της ΒΑ (%) κατά την καλλιέργεια του *A. cylindracea* σε μίγματα οξιάς εμβαπτισμένα σε H₂O (μάρτυρας) και σε ΑΖ (απόνερα των διεργασιών ζυμώσεων του *M. ramanniana*).

Υποστρώματα	ΒΑ (%)	
	H ₂ O	AZ
ΟΞ	40,67±3,32	38,19±3,72
ΟΞΚ	44,25±5,42	49,36±3,95

Καθώς τα μανιτάρια του είδους *A. cylindracea* αποτελούν καλές πηγές υδατανθράκων, διαιτητικών ινών, βιταμινών του συμπλέγματος Β, απαραίτητων αμινοξέων και μετάλλων, όπως και βιοδραστικών ενώσεων συμπεριλαμβανομένων των αντιοξειδωτικών, των β-γλυκανών και των λεκτινών [14,15] προσδιορίστηκαν ακολούθως η περιεκτικότητά τους σε ενδο-πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και φαινολικό φορτίο. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα από τις αναλύσεις των ενδο-πολυσακχαριτών και των πρωτεϊνών ανάμεσα στα εξεταζόμενα υποστρώματα, φαίνεται πως τα ΑΖ και ιδιαίτερα το υπόλειμμα του καφέ είχαν θετική επίδραση αυξάνοντας το ποσοστό περιεκτικότητας στην περίπτωση των ενδο-πολυσακχαριτών (μέγιστη τιμή: 50,33% κ.β. στο ΟΞΚ, ΑΖ) (Σχήμα 1α,β) και αρνητική ή ελαφρώς αρνητική επίδραση στην περίπτωση της ολικής πρωτεΐνης (μέγιστη τιμή: 17,46 % κ.β., στο ΟΞΚ, H₂O).



Σχήμα 1 Περιεκτικότητα ενδο-πολυσακχαριτών (α) και της ολικής πρωτεΐνης (β) (% κ.β.) κατά την καλλιέργεια του *A. cylindracea* σε μίγματα οξιάς εμβαπτισμένα σε H₂O (μάρτυρας) και σε ΑΖ (απόνερα των διεργασιών ζυμώσεων του *M. ramanniana*).

Στην υπάρχουσα βιβλιογραφία έχει καταγραφεί μια σχετικά μεγάλη διακύμανση στις τιμές των πολυσακχαριτών και πρωτεϊνών αυτού του είδους μανιταριού. Όσον αφορά στην περίπτωση των πρωτεϊνών, υψηλότερες περιεκτικότητες πρωτεϊνών είναι ασυνήθιστες και προέρχονται κυρίως από υποστρώματα πλούσια σε άζωτο [14,16]. Οι διαφοροποιήσεις αυτές θα μπορούσαν να αποδοθούν στις αναλυτικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν, αλλά και στα στελέχη των μανιταριών.

Ιδιαίτερα θετική επίδραση είχαν τα AZ στην περιεκτικότητα του φαινολικού φορτίου (mg GAE/g ξ.β.) των παραγόμενων μανιταριών του ΟΞ υποστρώματος (AZ: 25,76 mg GAE/g ξ.β., μάρτυρας: 37,32 mg GAE/g ξ.β.), σε αντίθεση με το ΟΞΚ (AZ: 23,54 mg GAE/g ξ.β., μάρτυρας: 25,42 mg GAE/g ξ.β.) που δεν παρατηρήθηκε κάποια επίδραση (**Πίνακας 3**). Το είδος του υποστρώματος σε συνδυασμό με το είδος του μανιταριού έχουν καθοριστικό ρόλο στην περιεκτικότητα του φαινολικού φορτίου, ενώ οι λειτουργικές φαρμακευτικές ενώσεις που περιέχονται σε αυτά εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από το υπόστρωμα στο οποίο αναπτύσσονται οι μύκητες. Για παράδειγμα, αν το υπόστρωμα είναι πλούσιο σε ανθοκυανιδίνες, β-γλυκάνες, σελήνιο, τριτερπένια τότε είναι πιθανό οι αντιοξειδωτικές ουσίες στα παραγόμενα μανιτάρια να αυξηθούν [17].

Πίνακας 3 Περιεκτικότητα φαινολικού φορτίου (mg GAE/g ξ.β.) κατά την καλλιέργεια του *A. cylindracea* σε μίγματα οξιάς εμβαπτισμένα σε H₂O (μάρτυρας) και σε AZ (απόνερα των διεργασιών ζυμώσεων του *M. ramanniana*).

Φαινολικό φορτίο (mg GAE/g ξ.β.)		
Υποστρώματα	H ₂ O	AZ
ΟΞ	25,76± 1,56	37,32±2,95
ΟΞΚ	25,42±2,27	23,54±1,90

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποστηρίζουν την αντικατάσταση του νερού βρύσης με AZ στις καλλιέργειες μανιταριών στερεής κατάστασης στα μελετηθέντα μίγματα υποστρωμάτων για το *A. cylindracea*. Συνεπώς, όχι μόνο κατάλληλη αλλά και ωφέλιμη τόσο στην παραγωγική διαδικασία όσο και στα διατροφικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων μανιταριών κρίνεται αυτή η αντικατάσταση, παρέχοντας ταυτόχρονα νέες επιλογές για την προστασία του περιβάλλοντος στο πλαίσιο των αρχών της κυκλικής οικονομίας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία υλοποιήθηκε στα πλαίσια του ερευνητικού έργου “Biotransformation of glycerol into high pharmaceutical-value poly-unsaturated fatty acids (PUFAs)” (Acronym: Glycerol2PUFAs, project code HFRI-FM17-1839) που χρηματοδοτήθηκε από το Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας και Καινοτομίας (ΕΛ.ΙΔ.Ε.Κ.) στο πλαίσιο της δράσης “1st Call for H.F.R.I. Research Projects to Support Faculty Members & Researchers and Procure High-Value Research Equipment”.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Aggelis, G.; Iconomou, D.; Christou, M.; Bokas, D.; Kotzailias, S.; Christou, G.; Tzagou, V.; Papanikolaou, S. Phenolic Removal in a Model Olive Oil Mill Wastewater Using *Pleurotus ostreatus* in Bioreactor Cultures and Biological Evaluation of the Process. *Water Research* **2003**, *37* (16), 3897–3904.
- [2] Philippoussis, A.; Zervakis, G.; Diamantopoulou, P. Bioconversion of Agricultural Lignocellulosic Wastes through the Cultivation of the Edible Mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, *17* (2), 191–200.

- [3] Fernandes, E.; Cunha Marques, R. Review of Water Reuse from a Circular Economy Perspective. *Water* **2023**, *15* (5), 848.
- [4] Dedousi, M.; Melanouri, E.-M.; Diamantopoulou, P. Carposome Productivity of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* Growing on Agro-Industrial Residues Enriched with Nitrogen, Calcium Salts and Oils. *Carbon Resour. Convers.* **2023**, *6* (2), 150–165.
- [5] Melanouri, E.-M.; Dedousi, M.; Diamantopoulou, P. Cultivating *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* Mushroom Strains on Agro-Industrial Residues in Solid-State Fermentation. Part II: Effect on Productivity and Quality of Carposomes. *Carbon Resour. Convers.* **2022**, *5* (1), 52–60.
- [6] Philippoussis, A.; Diamantopoulou, P.; Israilides, C. Productivity of Agricultural Residues Used for the Cultivation of the Medicinal Fungus *Lentinula edodes*. *Int. Biodeterior. Biodegradation* **2007**, *59* (3), 216–219.
- [7] Philippoussis, A.; Diamantopoulou, P.; Papadopoulou, K.; Lakhtar, H.; Roussos, S.; Parissopoulos, G.; Papanikolaou, S. Biomass, Laccase and Endoglucanase Production by *Lentinula edodes* during Solid State Fermentation of Reed Grass, Bean Stalks and Wheat Straw Residues. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *27* (2), 285–297.
- [8] Miller, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal. Chem.* **1959**, *31* (3), 426–428.
- [9] Bradford, M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* **1976**, *72* (1), 248–254.
- [10] Singleton, V. L.; Rossi, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **1965**, *16* (3), 144–158.
- [11] Azizi, M.; Tavana, M.; Farsi, M.; Oroojalian, F. Yield Performance of Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom, *Ganoderma lucidum* (W.Curt.:Fr.) P. Karst. (Higher Basidiomycetes), Using Different Waste Materials as Substrates. *Int. J. Med. Mushr.* **2012**, *14* (5), 521–527.
- [12] Melanouri, E.-M.; Dedousi, M.; Diamantopoulou, P. Cultivating *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* Mushroom Strains on Agro-Industrial Residues in Solid-State Fermentation. Part I: Screening for Growth, Endoglucanase, Laccase and Biomass Production in the Colonization Phase. *Carbon Resour. Convers.* **2022**, *5* (1), 61–70.
- [13] Uhart, M.; Piscera, J. M.; Albertó, E. Utilization of New Naturally Occurring Strains and Supplementation to Improve the Biological Efficiency of the Edible Mushroom *Agrocybe cylindracea*. *J. Ind Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *35* (6), 595–602.
- [14] Manzi, P.; Gambelli, L.; Marconi, S.; Vivanti, V.; Pizzoferrato, L. Nutrients in Edible Mushrooms: An Inter-Species Comparative Study. *Food Chem.* **1999**, *65* (4), 477–482.
- [15] Wasser, S. Medicinal Mushrooms as a Source of Antitumor and Immunomodulating Polysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2002**, *60* (3), 258–274.
- [16] Wang, D.; Sakoda, A.; Suzuki, M. Biological Efficiency and Nutritional Value of *Pleurotus ostreatus* Cultivated on Spent Beer Grain. *Bioresour. Technol.* **2001**, *78* (3), 293–300.
- [17] Sharma, S. K.; Gautam, N. Chemical, Bioactive, and Antioxidant Potential of Twenty Wild Culinary Mushroom Species. *Biomed Res. Int.* **2015**, *2015*, 1–12.