



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών στην
Επιστήμη Οίνου και Ζύθου
Κατεύθυνση: Ζύθος

Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία

«Καλλιέργεια του μύκητα *Pleurotus ostreatus* σε
αναλωμένους κόκκους ζυθοποιίας τύπου Pilsner»

Του Σιδερά Θεολόγη

Επιβλέπων: Νεραντζής Ηλίας

ΑΘΗΝΑ, 2021



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA
SCHOOL OF FOOD SCIENCES
DEPARTMENT OF WINE, VINE & BEVERAGE SCIENCES**

**Master of Science in
Wine and Beer Science
Option: Beer**

Master Thesis:

**«Cultivation of *Pleurotus ostreatus* fungi in spent brewery
grains, pilsner type»**

By Theologis Sideras

Supervisor: Nerantzis Elias

ATHENS, 2021

Διασαφήσεις

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία (master thesis) με τίτλο «**Καλλιέργεια του μύκητα *Pleurotus ostreatus* σε αναλωμένους κόκκους ζυθοποιίας τύπου Pilsner**» που παρουσιάστηκε από τον ΣΙΔΕΡΑ ΘΕΟΛΟΓΗ και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

The signatories declare that we have examined the postgraduate diploma thesis titled “**Cultivation of *Pleurotus ostreatus* fungi in spent brewery grains, pilsner type**” presented by **SIDERAS THEOLOGIS** and we affirm that it is accepted.

Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή 1ου Μέλους Επιτροπής
(Name and Signature of 1st Commission Member):

Χατζηλαζάρου Αρχοντούλα.....

Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή 2^{ου} Μέλους Επιτροπής
(Name and Signature of 2nd Commission Member):

Σεχάντε Αντνάν.....

Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή 3^{ου} Μέλους Επιτροπής
(Name and Signature of 3rd Commission Member):

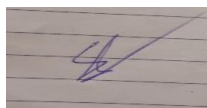
Ταταρίδης Παναγιώτης.....

Με την υποβολή αυτής της διατριβής, δηλώνω ότι το σύνολο των εργασιών που περιέχονται σε αυτή είναι το δικό μου, πρωτότυπο έργο, ότι εγώ είμαι ο μοναδικός δημιουργός τους (εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά), ότι η αναπαραγωγή και η δημοσίευσή της από το Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής δεν θα παραβιάζει οποιαδήποτε δικαιώματα τρίτων και ότι δεν έχω υποβάλει στο παρελθόν το σύνολο ή μέρος αυτής για την απόκτηση οποιουδήποτε τίτλου.

By submitting this thesis, I declare that the entirety of the work contained therein is my own, original work, that I am the sole author thereof (save to the extent explicitly otherwise stated), that reproduction and publication thereof by University of West Attica will not infringe any third party rights and that I have not previously in its entirety or in part submitted it for obtaining any qualification.

Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή Υποψηφίου
(Surname and first name of the candidate):

Σιδεράς Θεολόγης.....



Πνευματική ιδιοκτησία © 2021 Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

Όλα τα δικαιώματα διατηρούνται

Copyright © 2021 University of West Attica

All rights reserved

Περίληψη

Τα μανιτάρια ανήκουν στο βασίλειο των μυκήτων «fungi» και αποτελούν μετά τα έντομα τη δεύτερη πολυπληθέστερη ομάδα οργανισμών στη βιόσφαιρα. Η χρήση τους είναι γνωστή από την αρχαιότητα, καθώς χαρακτηρίζονται από υψηλή διατροφική αξία και σημαντικές φαρμακευτικές ιδιότητες. Συγκεκριμένα ανήκουν στους βασιδιομύκητες (ανώτεροι μύκητες) και έχουν την ικανότητα να αποικοδομούν μεγάλη ποικιλία από σύνθετα υποστρώματα με απώτερο σκοπό την ανάπτυξη τους. Τα σύνθετα αυτά υποστρώματα χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: υπολείμματα με βάση τη σοδειά (που παράγονται στον αγρό) και υπολείμματα με βάση τη μεταποίηση (που παράγονται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και της βιομηχανίας) (Mande, 2005).

Τα μανιτάρια του γένους *Pleurotus* έχουν μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό για την ικανότητα τους να μετατρέπουν σε σύντομο χρονικό διάστημα τα αγρο-βιομηχανικά απόβλητα σε χρήσιμα προϊόντα. Συγκεκριμένα μέσω της μεθόδου ζύμωσης στερεάς κατάστασης (solid state fermentation), η καλλιέργεια τους καθίσταται ένα σημαντικό πεδίο της βιοτεχνολογίας, παράγοντας εκτός από τον καλλιεργούμενο μύκητα και δευτερεύοντα προϊόντα προστιθέμενης θρεπτικής αξίας, αποσυνθέτοντας ταυτόχρονα τα σύνθετα αυτά υποστρώματα και καθιστώντας τα φιλικότερα προς το περιβάλλον.

Η παρούσα μελέτη αφορά την ανάπτυξη και καλλιέργεια του βασιδιομύκητα *Pleurotus ostreatus* (οστρεοειδές μανιτάρι) σε απόβλητα ζυθοποιίας και συγκεκριμένα σε υπολείμματα βύνης. Τα πείραμα πραγματοποιήθηκε σε ιδιωτικό χώρο, συνεπώς δεν υπήρχε θάλαμος νηματικής ροής και θάλαμος επώασης. Κάθε ενέργεια έλαβε χώρα σε ασηπτικές συνθήκες, με τη βοήθεια ενός λύχνου Bunsen και η επώαση πραγματοποιήθηκε σε ιδιοκατασκευή με ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας, ενώ οι αποστειρώσεις έγιναν σε χύτρα ταχύτητας. Η απολύμανση των μέσων και των επιφανειών που χρησιμοποιήθηκαν, γινόταν σχολαστικά πριν από κάθε ενέργεια.

Η ανάπτυξη του μυκηλίου πραγματοποιήθηκε σε τρυβλία petri με υπόστρωμα άγαρ δεξτρόζης πατάτας (PDA) και όταν το μυκήλιο κάλυψε όλη την επιφάνεια του τρυβλίου μεταφέρθηκε σε γυάλινα σκεύη με αποστειρωμένο υπόστρωμα σίτου για την παρασκευή του σπόρου (spawn). Στα γυάλινα σκεύη ο σπόρος επώαστηκε σε ελεγχόμενες θερμοκρασίες, απουσία φωτός και όταν καλύφθηκε εξ ολοκλήρου από το μυκήλιο, τα σκεύη ανοίχτηκαν και πραγματοποιήθηκε ο εμβολιασμός του αποστειρωμένου υποστρώματος σε γυάλινα βάζα. Ακολούθησε η επώαση του εμβολιασμένου υποστρώματος σε ελεγχόμενες θερμοκρασίες και απουσία φωτός, ενώ όταν το υπόστρωμα αποικίστηκε πλήρως, μεταφέρθηκε σε συνθήκες καλλιέργειας για την άνθηση των καρποφοριών. Η συμπεριφορά του μύκητα που καλλιεργήθηκε σε αναλωμένα σιτηρά ζυθοποιίας, αξιολογήθηκε μέσω της βιολογικής αποτελεσματικότητας (BE) των καρποφόρων σωμάτων, η οποία αποτελεί σημαντική παράμετρο στην καλλιέργεια μανιταριών.

Σκοπός του πειράματος ήταν να παρουσιάσει μια περαιτέρω χρήση της αναλωμένης βύνης, της οποίας η αξία δεν εξαντλείται με την παραγωγή του ζύθου, μελετώντας την σαν πλούσιο θρεπτικό υπόστρωμα για την παραγωγή δευτερευόντων προϊόντων.

Abstract

Mushrooms belong to the kingdom of «fungi» and are, after insects, the second most numerous group of organisms in the biosphere. Their use has been known since ancient times, as they are characterized by high nutritional value and important medicinal properties. Specifically, they belong to the basidiomycetes (higher fungi) and have the ability to degrade a wide variety of composite substrates with the ultimate goal of their growth. These composite substrates fall into two categories: crop residues (produced in the field) and processing-based residues (produced during processing and industry) (Mande, 2005).

Mushrooms of the genus *Pleurotus* have been extensively studied for their ability to convert agro-industrial waste into useful products in a short period of time. Specifically, through the solid state fermentation method, their cultivation becomes an important field of biotechnology, producing not only cultivated fungi but also by-products of added nutritional value while disintegrating these composite substrates and making them more environmentally friendly.

This study analyzes the growth and cultivation of the fungus *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) in brewing waste and specifically in malt residues. The experiment was performed in a private space, so there was no laminar flow cabinet and no forced air incubator. Each operation took place under aseptic conditions, with the help of a Bunsen burner and the incubation was performed in a self-constructed housing under controlled temperature conditions, while the sterilizations were performed in a pressure cooker. The media and surfaces used were disinfected thoroughly before each operation.

The mycelium was grown in petri plates with potato dextrose agar (PDA) substrate and when the mycelium covered the entire surface of the plate, it was transferred to glassware with sterile wheat substrate for seed preparation (spawn). Inside the glass jars the seed was incubated at controlled temperatures, in the absence of light and when it was completely covered by the mycelium, the vessels were opened and the sterile substrate was inoculated into glass jars. This was followed by incubation of the inoculated substrate at controlled temperatures and in the absence of light, and when the substrate was completely colonized, it was transferred to culture conditions for fruiting. The behavior of the fungus grown on spent brewing grains was evaluated through the biological efficiency (BE) of the fruiting bodies, which is an important parameter in the cultivation of mushrooms.

The purpose of the experiment was to present a further use of spent malt, whose value is not exhausted by the production of beer and also studying it as a rich nutrient substrate for the production of secondary products.

Βιβλιογραφικό CV

Πλήρες ονοματεπώνυμο

Σιδεράς Θεολόγης

Μεταπτυχιακός Τίτλος Σπουδών
«Επιστήμη Οίνου και Ζύθου», κατεύθυνση: Ζύθος

Τίτλος:	Μεταπτυχιακός Τίτλος Σπουδών
Επιστημονικό Πεδίο:	Φυτικής Παραγωγής
Βιογραφικά Στοιχεία:	Εργάστηκε στις παρακάτω επιχειρήσεις: <ol style="list-style-type: none">1. Οινοποιείο Κτήμα Άγγελου, Προσκυνητές, Ροδόπη, Ελλάδα, 2013-20142. Γεωπονικό κατάστημα Μολλάς Χρυσοβαλάντης, Σάπες, Ροδόπη, Ελλάδα, 2015-20163. Μαζική Σίτιση Αφοί Κομπατσιάρη Α.Ε, Αλεξανδρούπολη, Έβρος, Ελλάδα, 2017-20184. Ζυθοποιείο Αστική Μικροζυθοποιία ΙΚΕ, Ηλιούπολη, Αττική, Ελλάδα, 2020-2021
Προσωπικά Στοιχεία:	Ημερομηνία γέννησης: 29/01/1989 Τόπος γέννησης: Αλεξανδρούπολη Διεύθυνση κατοικίας: Δέσπως Σέχου 33 Αριθμός τηλεφώνου: 6976772019

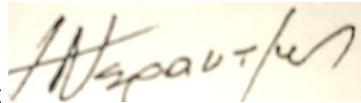
E-mail: akis89sdr@gmail.com

Εκπαίδευση:

Πτυχίο Τεχνολογίας Τροφίμων του τμήματος
Αγροτικής Ανάπτυξης, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο
Θράκης (2014)

Εκπλήρωσε τις απαιτήσεις για το Μεταπτυχιακό Τίτλο Σπουδών Επιστήμη Οίνου &
Ζύθου με κατεύθυνση: Ζύθος στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Τμήμα Επιστημών
Οίνου, Αμπέλου & Ποτών, τον Αύγουστο, 2021.

ΕΓΚΡΙΣΗ ΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΟΣ: Νεραντζής Ηλίας



Χωρίς φύλλα, χωρίς μπουμπούκια, χωρίς λουλούδια, όμως, σχηματίζουν φρούτα. Ως φαγητό, ως τονωτικό, ως φάρμακο, ολόκληρη η δημιουργία είναι πολύτιμη (Chang & Miles, 1989).



Περιεχόμενα

Βιβλιογραφικό CV	6
1. Θεωρητικό μέρος.....	14
1.1 Κριθάρι και βύνη.....	14
1.1.1 Βυνοποίηση	14
1.1.2 Χρήση βύνης στη ζυθοποιία.....	15
1.1.3 Σύσταση και συντήρηση υπολειμμάτων βύνης.....	16
1.1.4 Τρόποι επεξεργασίας υπολειμμάτων βύνης	19
1.1.5 Δομή της λιγνοκυτταρίνης.....	23
1.2 Μύκητες	26
1.2.1 Βασιδιομύκητες.....	26
1.2.2 Το μανιτάρι <i>Pleurotus ostreatus</i>	29
1.2.3 Διατροφική αξία του μύκητα <i>Pleurotus ostreatus</i>	30
1.2.4 Ζύμωση στερεάς κατάστασης	32
1.2.5 Χρήση του αναλωμένου υποστρώματος μανιταριών	33
1.3 Καλλιέργεια μύκητα.....	34
1.3.1 Στάδια και συνθήκες καλλιέργειας.....	34
1.3.2 Μετρήσεις καρποφοριών.....	34
1.3.3 Βιολογική αποτελεσματικότητα	35
1.3.4 Αλλαγές στη σύνθεση των υπολειμμάτων βύνης κατά την καλλιέργεια	37
1.4 Σκοπός της εργασίας	39
2. Πειραματικό μέρος.....	40
2.1 Προετοιμασία υποστρώματος	40
2.1.1 Παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος	40
2.1.2 Παρασκευή εμβολίου	41
2.1.3 Παρασκευή σπόρου	41
2.1.4 Παρασκευή υπολειμμάτων βύνης.....	42
2.2 Καλλιέργεια μύκητα.....	43
2.2.1 Καλλιέργεια μύκητα σε race tubes	43
2.2.2 Παρασκευή υποστρώματος και καλλιέργεια μύκητα σε βάζα	44
3. Αποτελέσματα	45
3.1 Παρασκευή εμβολίου	45
3.2 Παρασκευή σπόρου.....	46
3.3 Καλλιέργεια μύκητα σε race tubes	47
3.3.1 Προσδιορισμός γραμμικής αύξησης μυκηλίου	47
3.3.2 Επιλογή κατάλληλου υποστρώματος	48
3.4 Καλλιέργεια μύκητα και καρποφορία	49

4. Συζήτηση	50
4.1 Οικονομική και περιβαλλοντική καλλιέργεια	50
4.2 Οικονομοτεχνική προσέγγιση για επαγγελματική καλλιέργεια	51
4.3 Ερασιτεχνική καλλιέργεια.....	53
5. Συμπεράσματα.....	55
6 Βιβλιογραφία.....	56

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1 Διάγραμμα παραλαβής αναλωμένων σιτηρών ζυθοποιίας (Mussatto et al., 2006)	16
Εικόνα 2. Τυπική σύνθεση αναλωμένων σιτηρών ζυθοποιίας (Steiner et al., 2015)	18
Εικόνα 3. Καλλιέργεια μανιταριών σε βάζα (outsidethehops.wordpress.com)	21
Εικόνα 4. Χημική σύσταση μιας μονάδας γλυκόζης (Klemm et al., 2005)	24
Εικόνα 5. Σύνθεση ημικυτταρίνης (Klemm et al., 2005)	24
Εικόνα 6. Σύνθεση λιγνίνης (Stewart et al., 2009)	25
Εικόνα 7. Κύκλος ζωής μανιταριού (forestorigins.com)	27
Εικόνα 8. Μύκητας <i>Pleurotus ostreatus</i> (semanticscholar.org)	29
Εικόνα 9. Παραγωγή εμβολίου σε τρυβλία petri	45
Εικόνα 10. Παραγωγή σπόρου για τον εμβολιασμό του υποστρώματος	46
Εικόνα 11. Καλλιέργεια μύκητα σε δοκιμαστικούς σωλήνες και επιλογή υποστρώματος	47
Εικόνα 12. Εμφάνιση των πρώτων καρποφοριών	49

Κατάλογος διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1. Ανάπτυξη μυκηλίου σε υποστρώματα με 20%WB και διαφορετικές αναλογίες %BSG	35
Διάγραμμα 2. BA, ανάπτυξη μυκηλίου και αναλογία C/N με διαφορετικές αναλογίες %BSG	36
Διάγραμμα 3. Μεταβολή της BA σε διαφορετικές αναλογίες %WB	37
Διάγραμμα 4. Προσδιορισμός γραμμικής αύξησης μυκηλίου	47

Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 1. Συνολικά έξοδα ενός κύκλου καλλιέργειας	52
Πίνακας 2. Καθαρό κέρδος ενός κύκλου καλλιέργειας	53

Συντμήσεις, ακρωνύμια, σύμβολα και ορισμοί

BSG – Αναλωμένα σιτηρά ζυθοποιίας

C/N – Λόγος άνθρακα αζώτου

WRF – Μύκητες λευκής σήψης

BRF – Μύκητες φαιάς σήψης

SRF – Μύκητες μαλακής σήψης

SSF – Ζύμωση στερεάς κατάστασης

TDF – Συνολικές διαιτητικές ίνες

SDF – Διαλυτές διαιτητικές ίνες

IDF – Αδιάλυτες διαιτητικές ίνες

SMS – Αναλωμένο υπόστρωμα μανιταριών

PDA – Άγαρ δεξτρόζης πατάτας

BE – Βιολογική αποτελεσματικότητα

ΑΠ - Απόδοση

Εισαγωγή

Το μανιτάρι αποτελεί έναν μακρομύκητα με διακριτικό καρποφόρο σώμα και θεωρείται ο μοναδικός οργανισμός που συγκεντρώνει την τροφή του εκκρίνοντας υποβιβαστικά ένζυμα. Έχει την ικανότητα να αποσυνθέτει τα σύνθετα οργανικά υλικά στα οποία αναπτύσσεται (υπόστρωμα), παράγοντας απλούστερες ενώσεις για τη διατροφή και την ανάπτυξη του (Chang & Miles 1992). Τα υποστρώματα αυτά αποτελούν συνήθως υποπροϊόντα από τη βιομηχανία και τη γεωργία και θεωρούνται απόβλητα. Η απρόσεκτη απόρριψη αυτών των αποβλήτων στο περιβάλλον με ταφή ή καύση, οδηγούν σε περιβαλλοντική ρύπανση προκαλώντας κατά συνέπεια κινδύνους στην υγεία. Ένας τρόπος αξιοποίησης αυτών των πόρων (απόβλητα) είναι η καλλιέργεια μανιταριών, η οποία έχει αναφερθεί ότι αντιπροσωπεύει τη μόνη οικονομικά βιώσιμη διαδικασία βιοτεχνολογίας για τη μετατροπή αποβλήτων φυτικών υπολειμμάτων και είναι φιλική προς το περιβάλλον (Wood & Smith 1987).

Η ξηρή ύλη των αποβλήτων καλείται λιγνοκυτταρινικό υλικό ή βιομάζα, καθώς τα κύρια συστατικά της είναι η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη, οι οποίες είναι άρρηκτα συνδεδεμένες με τη λιγνίνη. Τα λιγνοκυτταρινικά υλικά είναι άφθονα στη γη με ετήσια παραγωγή περίπου 1,815 δισεκατομμύρια τόνους (Dahmen et al. 2019) και περιέχουν έως και 75% πολυσακχαρίτες (Marriot et al. 2016). Οι πολυσακχαρίτες αποτελούν μακρές αλυσίδες πολυμερών υδατανθράκων όπου οι μονάδες των μονοσακχαριτών τους συνδέονται μεταξύ τους με γλυκοζιτικούς δεσμούς. Τα λιγνοκυτταρινικά υλικά λαμβάνουν τεράστια προσοχή ως μια ανανεώσιμη και οικονομική εναλλακτική λύση για την παραγωγή διαφόρων προϊόντων προστιθέμενης αξίας, όπως βιοκαύσιμα, χημικά, ζωική και ανθρώπινη τροφή.

Η καλλιέργεια μανιταριών σε λιγνοκυτταρινούχα υλικά αποτελεί μια βιολογική επεξεργασία. Οι βιολογικές επεξεργασίες χρησιμοποιούν μικροοργανισμούς και τα ένζυμα αυτών επιλεκτικά για την αποσύνθεση των λιγνοκυτταρινικών υπολειμμάτων και έχουν τα πλεονεκτήματα της χαμηλής απαίτησης ενέργειας, της ελάχιστης παραγωγής αποβλήτων και της έλλειψης περιβαλλοντικών επιπτώσεων. Σε διαδικασίες βιολογικής επεξεργασίας, μικροοργανισμοί όπως μύκητες χρησιμοποιούνται για την αποικοδόμηση λιγνίνης και ημικυτταρίνης σε μεγάλη ποικιλία απορριμμάτων (Schurz, 1978). Ωστόσο, ο ρυθμός υδρόλυσης στις περισσότερες βιολογικές διαδικασίες επεξεργασίας είναι χαμηλός.

Στη βιομηχανία τροφίμων, η σημασία της μεταποίησης σχετίζεται με τη μετατροπή της αρχικής πρώτης ύλης σε ένα ασφαλές, θρεπτικό, και υψηλής ποιότητας προϊόν διατροφής. Ωστόσο, οι σύγχρονες κοινωνίες που έχουν μεγάλη ζήτηση για κατάλληλα διατροφικά πρότυπα, χαρακτηρίζονται από την αύξηση του κόστους και τη συχνά μείωση της διαθεσιμότητας των πρώτων υλών μαζί με μεγάλη ανησυχία για περιβαλλοντική ρύπανση (Laufenberg et al. 2003). Συνεπώς, η επεξεργασία τροφίμων θα πρέπει να παρέχει επιπλέον βιώσιμα εναλλακτικά μοντέλα που συνδυάζουν την παραγωγή τροφίμων με αξιοποίηση των αποβλήτων και την ελαχιστοποίηση της κατανάλωσης ενέργειας, προστατεύοντας το περιβάλλον (Lin et al., 2014).

Οι βιομηχανίες ζυθοποιίας παράγουν εκατομμύρια τόνους καταλοίπων, τα οποία αποτελούν ένα ζήτημα διαχείρισης τόσο από οικολογική, όσο και από οικονομική άποψη. Η συσσώρευση τεραστίων ποσοτήτων αυτής της βιομάζας κάθε χρόνο οδηγεί σε περιβαλλοντική υποβάθμιση και ταυτόχρονα σε απώλεια πολύτιμου υλικού, που διαφορετικά θα μπορούσε να αξιοποιηθεί σε μια μεγάλη ποικιλία προσθέτων. Η αξιοποίηση της βιομάζας αυτής μπορεί να επιτευχθεί μέσω της εξαγωγής συστατικών υψηλής αξίας, τα οποία μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν ως θρεπτικά και φαρμακολογικά λειτουργικά συστατικά (Del Rio et al., 2013, Socaci et al., 2017).

1. Θεωρητικό μέρος

1.1 Κριθάρι και βύνη

Από τα δημητριακά, το δίστιχο θερινό κριθάρι, αποδείχθηκε ως το σιτηρό με τις καλύτερες τεχνολογικές ιδιότητες για τη βυνοποίηση-ζυθοποίηση. Ο κόκκος του κριθαριού είναι πλούσιος σε άμυλο και πρωτεΐνες και αποτελείται από τρία κύρια μέρη: το φύτρο (έμβρυο), το ενδοσπέρμιο (που περιλαμβάνει την αλευρώνη και το ενδοσπέρμιο αμυλούχων) και τα καλύμματα των κόκκων (λέπυρα) (Kunze, 1996).

1.1.1 Βυνοποίηση

Η βυνοποίηση του κριθαριού περιλαμβάνει τρία στάδια: διαβροχή, βλάστηση και ξήρανση και τα πλεονεκτήματά της είναι η εύκολη ελεγχόμενη βλάστησή του και η ποσότητα των ενζύμων που σχηματίζονται κατ' αυτήν, η οποία είναι ευνοϊκή σε σχέση με τις ενζυμικές μετατροπές των ουσιών της βύνης που ακολουθούν.

1.1.1.1 Διαβροχή κριθαριού

Κατά τη διαβροχή, οι καθαρισμένοι κόκκοι κριθαριού τοποθετούνται σε δεξαμενές με νερό μεταξύ 5 και 18 ° C για περίπου 2 ημέρες. Το νερό εισέρχεται στο έμβρυο και τελικά η περιεκτικότητα σε υγρασία των κόκκων φθάνει μεταξύ 42 και 48%. Το νερό που βυθίζεται το κριθάρι αλλάζεται κάθε 6-8 ώρες και δεν ανακυκλώνεται. Η ενυδάτωση κατά τη διάρκεια της διαβροχής, αρχίζει τη βλάστηση και οδηγεί στην ενεργοποίηση του μεταβολισμού της αλευρώνης. Μετά από αυτή τη διόγκωση, το κριθάρι μεταφέρεται σε ένα δοχείο βλάστησης, όπου περιστρέφεται με τη βοήθεια ενός περιστρεφόμενο κοχλία και διατηρείται σε επαφή με ένα υγρό ρεύμα αέρα που ρέει διαμέσου του στρώματος κόκκων διατηρώντας τη θερμοκρασία μεταξύ 15 και 21° C (Mussatto & Roberto, 2004).

1.1.1.2 Βλάστηση-Ξήρανση κριθαριού

Το βήμα βλάστησης προάγει τη σύνθεση και την ενεργοποίηση των ενζύμων στην αλευρώνη και τη διάχυση τους στο ενδοσπέρμιο του κόκκου, συμπεριλαμβανομένων αμυλασών, πρωτεασών, β-γλυκανασών και άλλων ενζύμων. Η δράση αυτών των ενζύμων τροποποιεί τη δομή του αμυλούχου ενδοσπερμίου. Στο τέλος της διαδικασίας βλάστησης, η οποία κανονικά διαρκεί 6-7 ημέρες, το ενδοσπέρμιο τροποποιείται. Η βύνη ξηραίνεται αρχικά στους 40-60 ° C και τελικά σε περιεκτικότητα υγρασίας 4-5%, για να αποφευχθεί η μικροβιακή μόλυνση και να δημιουργηθούν συστατικά γεύσης, χωρίς να καταστραφούν τα ένζυμα. Μετά από αυτό το στάδιο, η ξηρή βύνη αποθηκεύεται για 3 ή 4 εβδομάδες, για να επιτευχθεί ομοιογένεια και ισορροπία (Kendal, 1994).

1.1.1.3 Στόχος βυνοποίησης

Η βύνη μπορεί να οριστεί ως η περιορισμένη βλάστηση των κόκκων δημητριακών σε υγρό αέρα υπό ελεγχόμενες συνθήκες. Ο πρωταρχικός στόχος της βύνης είναι η κινητοποίηση των υδρολυτικών ενζύμων ενδογενών σιτηρών του σπόρου έτσι ώστε να μπορούν να τροποποιήσουν τα χημικά συστατικά στους κόκκους. Αυτή η διαδικασία τροποποίησης επιτρέπει στα συστατικά των σιτηρών να διαλυτοποιούνται ταχέως κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ζυθοποίησης για να παράγουν ένα μέσο που περιέχει όλα τα θρεπτικά συστατικά

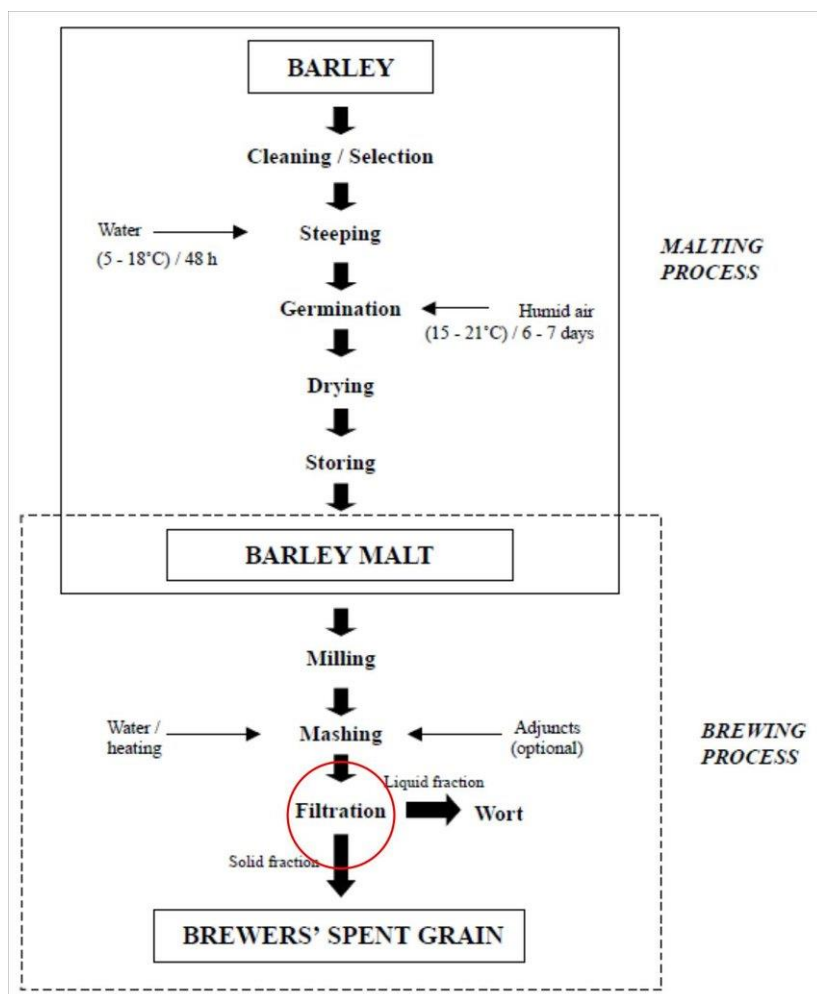
που απαιτούνται για να ζυμωθούν ταχέως από ζυμομύκητες για παραγωγή αιθανόλης και διοξειδίου του άνθρακα (Taylor & Duodu, 2019).

Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας βυνοποίησης, μεγιστοποιείται η απελευθέρωση των υδρολυτικών ενζύμων που οδηγούν σε αποικοδόμηση τοιχωμάτων και διαλυτοποίηση πρωτεϊνών με μικρή διάσπαση αμύλου. Προκειμένου να συμβεί αυτό, η βύνη αποσκοπεί τόσο στην παραγωγή ενζύμων όσο και στην επιβράδυνση της ανάπτυξης εμβρύων (ουσιαστικά αντιφατικές δραστηριότητες). Οποιαδήποτε βλάστηση ή ανάπτυξη ρίζας που παράγεται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας βυνοποίησης απομακρύνεται από το τελικό προϊόν πριν από την αποθήκευση του και συνεπώς η ελαχιστοποίηση της ανάπτυξης εμβρύου μειώνει τις απώλειες που υφίστανται στη διαδικασία. Το τελικό προϊόν της βύνης, μοιάζει φυσικά με το αρχικό κριθάρι, αλλά είναι εύθρυπτο όταν συνθλίβεται, αντανακλώντας τις πολύπλοκες βιοχημικές αλλαγές που έχουν συμβεί κατά τη διάρκεια της διαδικασίας βυνοποίησης (MacLeod & Evans, 2016).

1.1.2 Χρήση βύνης στη ζυθοποιία

Το πρώτο στάδιο στη διαδικασία της ζυθοποίησης αποτελεί η άλεση της βύνης. Η βύνη αλέθεται για να αυξηθεί η επιφάνειά της και να δοθεί η δυνατότητα δράσης στα ένζυμα, ώστε να αποικοδομηθούν και να εκχυλιστούν οι ουσίες που περιέχονται σ' αυτήν. Η αλεσμένη βύνη αναμιγνύεται με νερό στο δοχείο πολτοποίησης με αυξανόμενη θερμοκρασία (από 37°C σε 78°C) για την προώθηση της ενζυματικής υδρόλυσης των συστατικών της, κυρίως του αμύλου, αλλά και άλλων συστατικών όπως πρωτεΐνες, β-γλυκάνες και αραβινοξυλάνες και για τη διαλυτοποίηση των προϊόντων διάσπασης τους.

Στη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, το άμυλο μετατρέπεται σε ζυμώσιμα σάκχαρα (κυρίως μαλτόζη και μαλτοτριόζη) και μη ζυμώσιμα σάκχαρα (δεξτρίνες) και οι πρωτεΐνες αποικοδομούνται μερικώς σε πολυπεπίδια και αμινοξέα. Αυτό το στάδιο ενζυματικής μετατροπής ονομάζεται πολτοποίηση και παράγει ένα γλυκό μούστο. Το στερεό, υπολειπόμενο μέρος της βύνης αφήνεται να καθιζάνει για να σχηματίσει ένα στρώμα από το οποίο ο γλυκός αυτός μούστος θα φιλτραρισθεί για να μειωθεί η θολρότητα του (διήθηση). Το διηθημένο εκχύλισμα που περιέχει όλες τις διαλυτοποιημένες ουσίες της βύνης, ζυμώσιμες και μη ζυμώσιμες, ονομάζεται βυνογλεύκος και χρησιμοποιείται μετά από επιπλέον στάδια ως μέσο ζύμωσης για την παραγωγή μύρας (Linko et al., 1998). Το υπολειμματικό στερεό στρώμα αποτελεί απόβλητο, το οποίο θεωρείται υποπροϊόν με πολύ λίγες ή και καθόλου οικονομικά ενδιαφέρουσες περαιτέρω χρήσεις και είναι γνωστό ως «αναλωμένα σιτηρά ζυθοποιίας» (BSG).



Εικόνα 1 Διάγραμμα παραλαβής αναλωμένων σιτηρών ζυθοποιίας (Mussatto et al., 2006)

1.1.3 Σύσταση και συντήρηση υπολειμμάτων βύνης

1.1.3.1 Σύσταση υπολειμμάτων βύνης

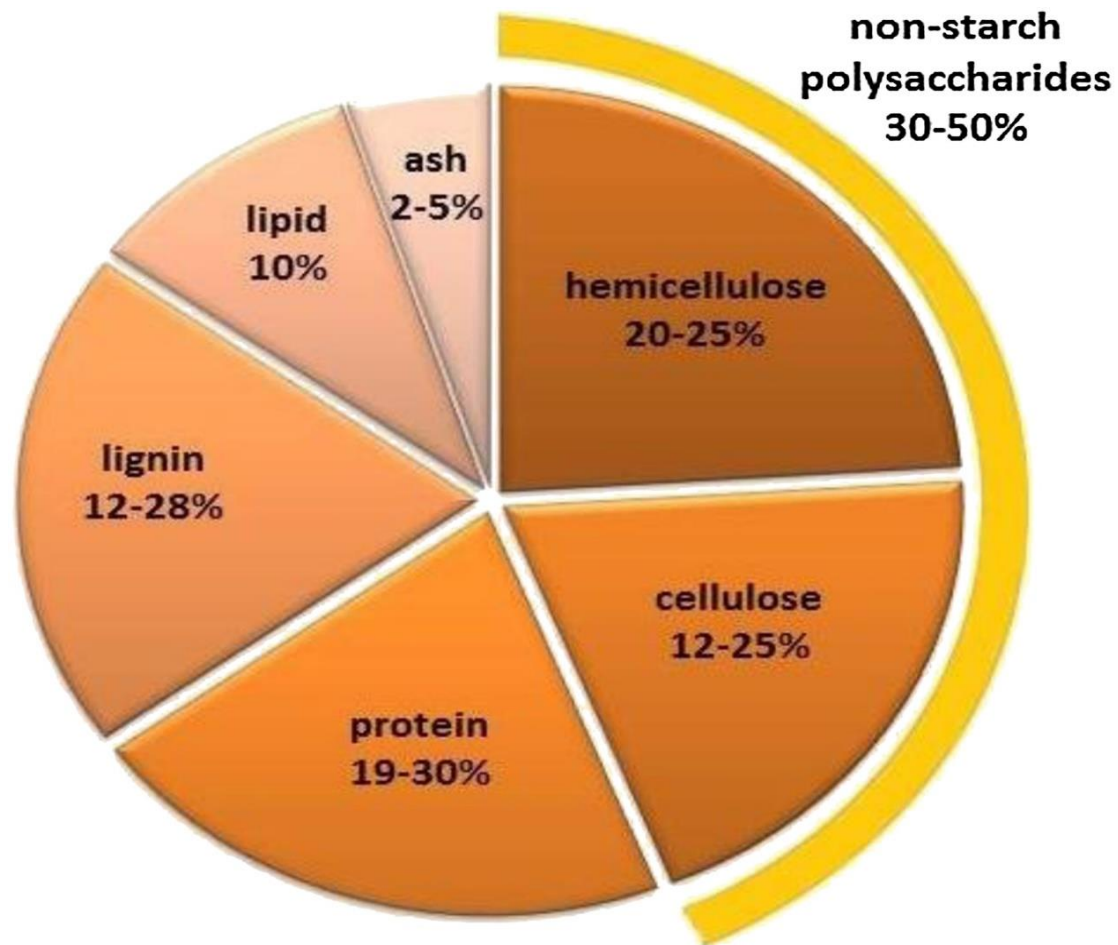
Τα αναλωμένα σιτηρά ζυθοποιίας παράγονται σε μεγάλες ποσότητες από τη βιομηχανία μύρας και προκύπτουν μετά το στάδιο της πολτοποίησης και του φιλτραρίσματος. Συσσωρεύονται παγκοσμίως σε περίπου 30 εκατομμύρια τόνους ετησίως (Niemi et al., 2012) και είναι το πιο άφθονο παραπροϊόν της ζυθοποιίας και αντιστοιχεί σε περίπου 85% των συνολικών υποπροϊόντων που παράγονται (Reinold, 1997). Περίπου 100 έως 130 kg φρέσκων BSG με υγρασία 70-80%, λαμβάνονται από 100 kg βύνης, το οποίο ισοδυναμεί επίσης με 21 έως 22 kg BSG ανά εκατόλιτρο μύρας που παρασκευάζεται (Kunze, 2004). Αυτό το αδιάλυτο υλικό αποτελείται από το φλοιό του κριθαριού στη μεγαλύτερη αναλογία, μικρά κλάσματα περικαρπίου, θραύσματα ενδοσπερμίου και άλλων υπολειμματικών ενώσεων που δε μετατρέπονται σε ζυμώσιμα σάκχαρα κατά τη διαδικασία της πολτοποίησης, καθώς και μικρό μέρος του εκχυλίσματος (Farcas et al., 2015, Vieira et al., 2014, Lynch et al., 2016).

Τα BSG ως ένα ετερογενές υλικό, περιέχουν 20-25% μη κυτταρινικό πολυσακχαρίτη (κυρίως αραβινοξυλάνη), 12-25% κυτταρίνη (συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος) και 12-28% λιγνίνη (πολύπλοκο αρωματικό πολυμερές το οποίο περιβάλλει την κυτταρίνη και η βιολογική και χημική του αποδόμηση καθίσταται πολύ δύσκολη). Ένας από τους κύριους λόγους που

παρεμποδίζεται η αποσύνθεση τους, οφείλεται στην σκληρότητα των τοιχωμάτων των φυτικών κυττάρων τους. Αυτό το λιγνοκυτταρινικό υλικό αποτελείται από πολλούς πολυσακχαρίτες, οι οποίοι μπορούν να αποικοδομηθούν στα αντίστοιχα συστατικά τους με υδρολυτικές διαδικασίες (υδροθερμική, ενζυματική ή όξινη). Κατά την υδρόλυση, η κυτταρίνη αποδίδει γλυκόζη, ενώ η ημικυτταρίνη αποδίδει ξυλόζη, αραβινόζη, μαννόζη, γαλακτόζη, καθώς και τα οξέα, οξική και υδροξυκιναμική (φουρουλική και ρ-κουμαρική) (Mussatto, 2009, Niemi et al., 2012). Οι απελευθερωμένοι πολυσακχαρίτες μπορούν να υποβληθούν σε διαδικασία ζύμωσης για την παραγωγή πολύτιμων προϊόντων (Mussatto & Roberto, 2005). Η περιεκτικότητα των BSG σε νερό όταν λαμβάνονται είναι 77-81% (Huige, 1994) και λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε υγρασία και σάκχαρα, είναι πιθανό να προσβληθούν ταχύτατα από μικροβιακή μόλυνση (Mathias et al., 2014).

Ενώ η χημική σύνθεση των BSG μεταβάλλεται ανάλογα με την ποικιλία του κριθαριού και το χρόνο συγκομιδής, τις συνθήκες πολτοποίησης, τον τύπο και την ποιότητα των πρόσθετων πρώτων υλών στη διαδικασία παρασκευής, περιέχει αξιόλογες ποσότητες πολύτιμων ενώσεων, όπως πρωτεΐνες, λιπίδια, υδατάνθρακες, πολυφαινόλες (κυρίως φουρουλικό οξύ και ρ-κουμαρικό οξύ), φλαβονοειδή και αντιοξειδωτικά, μέταλλα, καθώς επίσης και ορυκτά, βιταμίνες και αμινοξέα. (Del Rio et al., 2013, Mussatto, 2014, Farcas et al., 2015, Lynch et al., 2016). Σημαντικό μέρος των συνολικών λιπιδίων που υπάρχουν στα BSG είναι τριακυλγλυκερόλες, ακολουθούμενα από λιπαρά οξέα (κυρίως λινελαϊκά, παλμιτικά και ελαϊκά) (Mussatto et al., 2006). Τα ορυκτά στοιχεία περιλαμβάνουν ασβέστιο, κοβάλτιο, χαλκό, σίδηρο, μαγνήσιο, μαγγάνιο, φώσφορο, κάλιο, σελήνιο, νάτριο και θείο, όλα σε συγκεντρώσεις μικρότερες από 0,5% (Huige, 1994).

Τα BSG είναι πλούσια σε ίνες και άζωτο, αντιπροσωπεύοντας το 70% και το 20% ξηρού βάρους αντίστοιχα. Ο Townsley (1979), ανέφερε ότι οι αναλωμένοι κόκκοι, κατά μέσο όρο αντιπροσωπεύουν το 31% του αρχικού βάρους βύνης και έχουν το πλεονέκτημα ότι διατίθεται με χαμηλό ή μηδενικό κόστος καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, ενώ παράγονται σε μεγάλες ποσότητες όχι μόνο από μεγάλες αλλά και από μικρές ζυθοποιίες. Ωστόσο, η πλειοψηφία των χρησιμοποιημένων σιτηρών χρησιμοποιείται σε χώρους υγειονομικής ταφής ή ως ζωοτροφές (Nigam, 2017).



Εικόνα 2. Τυπική σύνθεση αναλωμένων σιτηρών ζυθοποιίας (Steiner et al., 2015)

1.1.3.2 Συντήρηση υπολειμμάτων βύνης

Η μικροβιακή σταθεροποίηση των BSG είναι αναγκαία και πραγματοποιείται σε συστήματα επεξεργασίας, προκειμένου να αποφευχθεί η ανάπτυξη μικροοργανισμών. Οι επιπτώσεις στη μικροβιακή αλλοίωση πιθανόν να επηρεάσουν τη δυνατότητα χρήσης των BSG ως αξιόπιστη βιομηχανική πρώτη ύλη τροφίμων για μεταγενέστερη επεξεργασία προστιθέμενης αξίας (Robertson et al., 2010).

Για τη συντήρηση των BSG, η ξήρανση αποτελεί μια από τις πιο κοινές και οικονομικά εφικτές μεθόδους, μειώνοντας την περιεκτικότητα σε νερό και την μικροβιολογική δραστηριότητα. Επιπλέον, έχει το πλεονέκτημα ότι μειώνει τον όγκο του προϊόντος και συνεπώς μειώνει το κόστος μεταφοράς και αποθήκευσης (Santos et al., 2003). Η ξήρανση του BSG σε φούρνο πρέπει να διεξάγεται σε θερμοκρασίες κάτω από 60 ° C, διότι σε υψηλότερες θερμοκρασίες δημιουργούνται δυσάρεστες γεύσεις. Ένα μειονέκτημα της ξήρανσης του φούρνου είναι ο κίνδυνος να αυξηθεί η θερμοκρασία των κόκκων κοντά στην έξοδο του στεγνωτηρίου, με αποτέλεσμα το ψήσιμο ή το κάψιμο των ξηρών κόκκων (Mussatto et al., 2006). Μια εναλλακτική μέθοδος ξήρανσης που θα μπορούσε να εξοικονομήσει ενέργεια είναι η χρήση υπέρθερμου ατμού με πρόσθετα πλεονεκτήματα, όπως μείωση περιβαλλοντικών επιπτώσεων, βελτιωμένη απόδοση ξήρανσης, εξάλειψη κινδύνου πυρκαγιάς ή έκρηξης και αυξημένη ανάκτηση πολύτιμων οργανικών ενώσεων (Tang et al., 2004).

1.1.4 Τρόποι επεξεργασίας υπολειμμάτων βύνης

Στις μέρες μας, υπάρχει μεγάλη πολιτική και κοινωνική πίεση για τη μείωση της ρύπανσης που προέρχεται από βιομηχανικές δραστηριότητες. Σχεδόν όλες οι ανεπτυγμένες, αλλά και υποανάπτυκτες χώρες προσπαθούν να προσαρμοστούν σε αυτήν την πολιτική τροποποιώντας τις διαδικασίες τους έτσι ώστε τα υπολείμματα τους να μπορούν να ανακυκλωθούν. Η βιομηχανία ζυθοποιίας παράγει σχετικά μεγάλα ποσά αποβλήτων (χρησιμοποιημένα σιτηρά, λυκίσκο και μαγιά), ενώ τα περισσότερα από αυτά αποτελούν γεωργικά προϊόντα και μπορούν εύκολα να ανακυκλωθούν και να ξαναχρησιμοποιηθούν. Συνεπώς, σε σύγκριση με άλλες βιομηχανίες, η βιομηχανία ζυθοποιίας δείχνει φιλικότερη προς το περιβάλλον (Ishiwaki et al., 2000).

1.1.4.1 Χρήση στη διατροφή των ζώων

Τα BSG χρησιμοποιούνται συνήθως ως ζωοτροφή (κυρίως για βοοειδή), λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε πρωτεΐνες και φυτικές ίνες, είτε ως υγρό κατάλοιπο λίγο μετά το διαχωρισμό από το βυνογλεύκος, είτε ως ξηρό υλικό (Townsend, 1979). Σύμφωνα με τον Huige (1994), το BSG αποτελεί για τα μηρυκαστικά ένα εξαιρετικό συστατικό τροφής, καθώς μπορεί να συνδυαστεί με φθηνές πηγές αζώτου, όπως η ουρία, για να παράσχει όλα τα απαραίτητα αμινοξέα. Επιπλέον, εκτός από την υψηλή θρεπτική αξία του, προωθεί την αυξημένη παραγωγή γάλακτος χωρίς να επηρεάζει τη γονιμότητα των ζώων (Mussatto et al., 2006).

Οι Kaur & Saxena (2004) αξιολόγησαν τα BSG ως υποκατάστατο μέρους του πίτουρου ρυζιού για τροφή σε ψάρια σε αναλογία 30% αναλωμένων κόκκων και 70% πίτουρο ρυζιού και παρατήρησαν ότι τα ψάρια που τράφηκαν με το μίγμα, είχαν υψηλότερο σωματικό βάρος σε σχέση με τα ψάρια που τράφηκαν μόνο με πίτουρο ρυζιού. Η καλύτερη απόδοση ανάπτυξης, πιθανόν να οφείλεται στην αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και απαραίτητα αμινοξέα των χρησιμοποιημένων κόκκων.

1.1.4.2 Παρασκευή αρτοσκευασμάτων

Οι ίνες και οι πρωτεΐνες των BSG καθιστούν το υλικό αυτό ελκυστικό για τη βελτίωση της θρεπτικής αξίας των τροφίμων. Επιπλέον, διάφορα συστατικά που περιέχονται σε αυτό, όπως αραβινοξυλάνες, β-γλυκάνες και φαινολικές ενώσεις (υδροξυκιναμικό οξύ), έχουν αποκτήσει αυξανόμενη προσοχή λόγω των πιθανών οφελών τους στη υγεία. Ο προσδιορισμός των ευεργετικών επιπτώσεων, των διαιτητικών ινών σε μία ευρεία ποικιλία προϊόντων διατροφής, καθιστά την ίνα ως «λειτουργικό» συστατικό, ενώ η κατανάλωση της μειώνει κινδύνους χρόνιων παθήσεων (Ozvural et al., 2009).

Τα BSG έχουν αξιολογηθεί για την παραγωγή flakes πρωινού, ψωμιού, μπισκότων και διάφορων σνακ καθώς έχουν χαμηλό κόστος και υψηλή θρεπτική αξία. Ωστόσο, οι μεγάλοι κόκκοι τους, αποτρέπουν την άμεση προσθήκη τους στα τρόφιμα, με αποτέλεσμα να πρέπει να μετατραπεί σε αλεύρι (Ozturk et al., 2002). Η προσθήκη των BSG βελτιώνει τη θρεπτική αξία των ψωμιών (Hassona, 1993) και η κατανάλωση των παράγωγων προϊόντων τους προσδίδει οφέλη για την υγεία, τα οποία συνδέονται με το αυξημένο βάρος των κοπράνων, την αυξημένη χοληστερόλη και την απέκκριση λίπους (Fastnaught, 2001). Ωστόσο, συνιστάται η εφαρμογή σε προϊόντα σε χαμηλά επίπεδα (<15%) για την αποφυγή αλλοιώσεων στη γεύση, την υφή και το χρώμα του τελικού προϊόντος (Mussatto, 2014).

1.1.4.3 Παραγωγή ενέργειας

Μια άλλη προτεινόμενη χρήση των BSG είναι η παραγωγή ενέργειας, είτε με απευθείας καύση, είτε με ζύμωση για την παραγωγή βιοαερίου (ένα μείγμα 60-70% μεθανίου, διοξειδίου του

άνθρακα και μικρών ποσοτήτων υδρογόνου, αζώτου και μονοξειδίου του άνθρακα) (Ezeonu & Okaka, 1996). Η διαδικασία καύσης απαιτεί προ-αποστράγγιση των χρησιμοποιημένων κόκκων σε υγρασία 55% , αλλά προκύπτουν προβλήματα από τις εκπομπές NOx και σωματιδίων σκόνης (Meyer-Pittroff, 1988). Τα τοξικά αέρια NOx που εκπέμπονται κατά την καύση του αποξηραμένου BSG περιέχουν άζωτο και SO₂ σε μεγάλες περιεκτικότητες.

Μια εναλλακτική δυνατότητα για παραγωγή ενέργειας από BSG είναι η αναερόβια ζύμωση, η οποία είναι αποτελεσματική μόνο εάν έχει προηγηθεί όξινη ή ενζυματική υδρόλυση. Η υδρόλυση του ινώδους υλικού στα BSG είναι το περιοριστικό βήμα για την πλήρη αποικοδόμηση του υλικού. Παρ'όλα αυτά, υπάρχουν πολλές διαφορετικές δυνατότητες προεπεξεργασίας για την αύξηση του ρυθμού ζύμωσης, όπως η χημική-θερμική επεξεργασία με 0.2 M NaOH στους 70 ° C με άλεση, καθώς και η ενζυματική επεξεργασία με μύκητες που αποσυνθέτουν την κυτταρίνη (Rieker et al., 1992). Στο μεθανογενικό στάδιο, οι όξινοι μικροοργανισμοί μετατρέπουν πολύπλοκα μακρομόρια σε πτητικά λιπαρά οξέα, οξικά, βουτυρικά και προπιονικά, ενώ στη συνέχεια τα βακτήρια μετατρέπουν αυτά τα πτητικά οξέα σε μεθάνιο (Ezeonu & Okaka 1996).

Η καύση των BSG και η παραγωγή βιοαερίου έχει αξιολογηθεί για επαναχρησιμοποίηση στο ζυθοποιείο. Οι Petricek & Fort (1998) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η τεχνολογία του βιοαερίου ήταν ιδιαίτερα κατάλληλη για την απόκτηση θερμικής ενέργειας στα ζυθοποιεία. Οι Zanker & Kerplinger (2002) αξιολόγησαν την καύση χρησιμοποιημένων κόκκων σε ένα ολοκληρωμένο σύστημα ζυθοποιίας. Τα BSG συμπυκνώθηκαν υπό πίεση και τα λύματα ανακυκλώθηκαν μετά τον καθαρισμό. Το συμπυκνωμένο BSG καίγεται και η θερμότητα που παράγεται εν μέρει στηρίζει την ενεργειακή ζήτηση της εγκατάστασης.

Λαμβάνοντας υπόψη τις ενεργειακές κρίσεις που αντιμετωπίζει η ανθρωπότητα, η παραγωγή ενέργειας από τα BSG παρέχει μια ενδιαφέρουσα εναλλακτική χρήση αυτού του βιομηχανικού υποπροϊόντος.

1.1.4.4 Καλλιέργεια μανιταριών

Η καλλιέργεια μανιταριών αποτελεί μια παραγωγική δραστηριότητα με μεγάλες δυνατότητες αξιοποίησης σημαντικών ποσοτήτων λιγνινοκυτταρινούχων υλικών. Η ενέργεια που έχουν ανάγκη τα μανιτάρια για την ανάπτυξη τους προσλαμβάνεται μέσω του άνθρακα, ενώ η μυκηλιακή αύξηση, ιδιαίτερα των ειδών *Pleurotus* συσχετίζεται θετικά με τον λόγο C/N (άνθρακα/άζωτο) (Philippoussis et al., 2001). Κύριες πηγές άνθρακα αποτελούν τα κυτταρινούχα υλικά, καθώς περιέχουν γλυκόζη, ενώ έχει αναφερθεί πως η αναλογία κυτταρίνης-λιγνίνης παίζει καθοριστικό ρόλο στις τελικές αποδόσεις των μανιταριών.

Τα BSG έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς ως υπόστρωμα για την καλλιέργεια μανιταριών *Pleurotus*, *Agrocybe* και *Lentinus* (Schilbach et al., 1992). Ιδιαίτερα όταν είχαν εκπλυθεί με νερό, απέδωσαν καλή βιολογική απόδοση και υψηλή θρεπτική αξία ως υπόστρωμα για το *Pleurotus ostreatus* (Wang et al., 2001). Σύμφωνα με τον Townsley (1979) τα BSG ευνοούν την ανάπτυξη των παραπάνω μανιταριών λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε πρωτεΐνες. Το 1988, ο Levanon πρόσθεσε ότι η υψηλή περιεκτικότητά τους σε υγρασία αλλά και οι φυσικές τους ιδιότητες (μέγεθος σωματιδίων, βάρος όγκου, ειδική πυκνότητα, πορώδες και ικανότητα ύδρευσης) ευνοούν την ανάπτυξή τους.



Εικόνα 3. Καλλιέργεια μανιταριών σε βάζα (outsidethehops.wordpress.com)

1.1.4.5 Παραγωγή ενζύμων

Λόγω της σύνθεσης των BSG, που είναι πλούσιο σε σάκχαρα και διατροφικούς παράγοντες, τα προϊόντα υδρόλυσης τους, μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε διεργασίες ζύμωσης για την παραγωγή αρκετών ενώσεων βιομηχανικού ενδιαφέροντος. Η βιομάζα BSG μπορεί επίσης να αξιοποιηθεί με μικροβιακή επεξεργασία, προκειμένου να ληφθούν πολύτιμα ένζυμα και οργανικά οξέα. Αυτές οι πολύτιμες χημικές ουσίες μπορούν να αξιοποιηθούν περαιτέρω ως πρώτες ύλες για άλλες διεργασίες ή ως λειτουργικά συστατικά για την ανάπτυξη νέων γενεών προϊόντων διατροφής προστιθέμενης αξίας. Μερικά παραδείγματα περιλαμβάνουν τη χρήση υδρόλυσης σακχάρων ως μέσο ζύμωσης για την παραγωγή αιθανόλης από *Saccharomyces cerevisiae*, ξυλιτόλη από *Candida guilliermondii*, αραβιτόλη, ξυλιτόλη, αιθανόλη και γλυκερόλη από *Debaryomyces hansenii* και γαλακτικό οξύ από *Lactobacillus delbrueckii, reutosus* ή *rhamnosus* (Mussatto, 2009).

Μύκητες όπως ο *P. Ostreatus* και άλλα είδη *Pleurotus*, τα οποία αναπτύσσονται σε BSG, έχουν την ικανότητα να χρησιμοποιούν τα λιγνινοκυτταρικά υλικά του για την παραγωγή σημαντικών βιομηχανικών λιγνινολυτικών και κυτταρολυτικών ενζύμων (Reddy et al., 2003). Έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα αναλωμένοι κόκκοι ως υποστρώματα για την παραγωγή ενζύμων εμπορίου στις λεγόμενες ζυμώσεις *koji* ή στερεάς κατάστασης. Σύμφωνα με τον Bhumibhamon (1978), το BSG είναι κατάλληλη πηγή αζώτου και ενέργειας για την παραγωγή ξυλανάσης από το μύκητα *Aspergillus awamori* και για την παραγωγή ξυλανάσης και φερουλοϋλ εστεράσης από τον *Streptomyces avermitilis* (Bartolome et al., 2003).

1.1.4.6 Πηγή φαινολικών ενώσεων

Η μύρα περιέχει μια μεγάλη ποικιλία φαινολικών συστατικών που προέρχονται από τη βύνη κριθαριού (70%) και λυκίσκου (30%), που είναι υπεύθυνα για τη συνολική αντιοξειδωτική δράση του ποτού. Αυτές οι ενώσεις παίζουν σημαντικό ρόλο στη γεύση, το χρώμα και τη διάρκεια ζωής της μύρας (Tatullo et al., 2016). Οι περισσότερες από τις φαινολικές ενώσεις του κριθαριού περιέχονται στο φλοιό, συσσωρεύονται στα κυτταρικά τοιχώματα και εστεροποιούνται σε υπολείμματα σακχάρου.

Το μεγαλύτερο μέρος των φαινολικών ενώσεων στα BSG αποτελούν τα υδροξυκιναμικά οξέα, με το φουρουλικό οξύ (1860-1948 mg/g) και το p-κουμαρικό οξύ (565-794 mg/g) να αποτελούν τα πιο άφθονα φαινολικά οξέα του BSG, ακολουθούμενα από sinaric, caffeic και syringic οξέα (Mussatto, 2014, Socaci et al., 2017, Lynch et al., 2016), με συνολικές φαινόλες από 2,14 έως 9,90 mg GAE/g και περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή μεταξύ 0,02 έως 4,61 mg QE/g (Meneses et al., 2013). Ωστόσο, δεδομένου ότι το φερούλικό οξύ συνδέεται με τη λιγνινοκυτταρίνη του BSG, έχει χαμηλή βιοπροσβασιμότητα. Η βιοεπεξεργασία μπορεί να βελτιώσει τη βιοπροσβασιμότητα φαινολικών ενώσεων από πλέγμα δημητριακών πλούσιων σε φυτικές ίνες.

1.1.4.7 Παραλαβή πρωτεϊνών

Κατά τη διάρκεια της βυνοποίησης, οι πρωτεΐνες του κριθαριού αποικοδομούνται μερικώς σε αμινοξέα και μικρά πεπτιδία, από τις ενδογενείς πεπτιδάσες του κριθαριού. Ωστόσο, οι περισσότερες πρωτεΐνες της βύνης δε διαλύονται κατά την πολτοποίηση, με το μεγαλύτερο ποσοστό να παραμένει αδιάλυτο στους εξαντλημένους κόκκους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, οι κόκκοι να έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες ποιότητας (18-35%) (Vieira et al., 2014).

Για να θεωρηθεί ένα υποπροϊόν πηγή πρωτεΐνης ποιότητας, πρέπει να περιέχει μια καλά ισορροπημένη βασική σύνθεση αμινοξέων (Socaci et al., 2017). Στα BSG τα απαραίτητα αμινοξέα αντιπροσωπεύουν περίπου το 30% της συνολικής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες. Η λυσίνη αποτελεί το περιοριστικό αμινοξύ στις τροφές που προέρχονται από δημητριακά και αντιπροσωπεύει το 14,3% της συνολικής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες του BSG. Άλλα αμινοξέα σε σημαντική ποσότητα είναι η λευκίνη, η φαινυλαλανίνη, η ισολευκίνη, η θρεονίνη και η τριπτοφάνη (Waters et al., 2012).

Η έλλειψη της διαλυτότητας των πρωτεϊνών του BSG, αποτελεί εμπόδιο για την εκτενέστερη χρήση τους σε διαδικασίες και προϊόντα τροφίμων. Ωστόσο, η βιοδραστικότητα τους υποστηρίζει την πιθανή χρήση τους ως λειτουργικά συστατικά τροφίμων. Για την επέκταση των πιθανών εφαρμογών των αδιάλυτων πρωτεϊνών, μπορεί να εφαρμοστεί χημική και ενζυματική υδρόλυση (Vieira et al., 2014).

Το κλάσμα πρωτεΐνης BSG μπορεί να είναι ένα πολύτιμο υπόστρωμα για ενζυμική υδρόλυση και παραγωγή προϊόντων με βιολογικές ιδιότητες, τα οποία ενσωματώνονται σε προϊόντα διατροφής. Η υδρόλυση των πρωτεϊνών μεταβάλλει το μοριακό βάρος, το φορτίο και την έκθεση των υδρόφοβων ομάδων και των πλευρικών αλυσίδων αμινοξέων, τα οποία μεταβάλλουν τη διαλυτότητα, το ιζώδες, τις αισθητηριακές ιδιότητες και τη συμπεριφορά γαλακτωματοποίησης και αφρισμού (Lynch et al., 2016, Waters et al., 2012, Vieira et al., 2016).

1.1.4.8 Παραλαβή λιπιδίων και λιπαρών οξέων

Ένα άλλο θρεπτικό συστατικό του BSG είναι τα λιπίδια και τα λιπαρά οξέα. Οι υψηλές ποσότητες λιπιδίων στο BSG, το καθιστούν μια ενδιαφέρουσα πρώτη ύλη για την παραγωγή λιπιδίων υψηλής προστιθέμενης αξίας στο πλαίσιο του βιοδωλιστηρίου λιγνοκυτταρίνης (Del Rio et al., 2013). Τα λιπίδια στο κριθάρι εντοπίζονται στο ενδοσπέρμιο και το έμβρυο, καθώς ο ρόλος τους είναι να παρέχουν θρεπτικά συστατικά και ενέργεια για το νέο φυτό κριθαριού που βλασταίνει. Παρ' όλο που το ενδοσπέρμιο διαλυτοποιείται σχεδόν εντελώς στην

πολτοποίηση, τα περισσότερα από τα λιπίδια παραμένουν στους αναλωμένους κόκκους και δεν μεταφέρονται στο γλεύκος (Becker, 2007).

Σύμφωνα με τον Farcas et al., 2015, το συνολικό επίπεδο λιπιδίων (TLS) των BSG, κυμαίνεται μεταξύ 5,4-11% σε ξηρό βάρος. Μόνο κάποιες μικρές αλλαγές συμβαίνουν στη σύνθεση λιπαρών οξέων κατά τη διάρκεια της βυνοποίησης και της πολτοποίησης, με αποτέλεσμα η σύνθεση λιπαρών οξέων των BSG να είναι παρόμοια με αυτήν του κριθαριού (Farcas et al., 2015, Becker, 2007). Οι κυρίαρχες κατηγορίες λιπιδίων που εντοπίζονται στα συνολικά λιπίδια των BSG είναι τριακυλογλυκερόλες (55-67%), ελεύθερα λιπαρά οξέα (18-30%), διακυλογλυκερόλες (7,7-5,7%), μονοακυλογλυκερόλες (1,7%), φωσφολιπίδια (9,1%) και στεροειδείς ενώσεις, όπως υδρογονάνθρακες, κετόνες, ελεύθερες στερόλες, εστέρες στερολών και γλυκοζίτες στερόλης (5%) (Del Rio et al., 2013, Niemi et al., 2012).

Η υψηλή ποσότητα ελεύθερων λιπαρών οξέων του BSG, μπορεί να αποδοθεί στην ενδογενή λιπάση, που είναι ικανή να απελευθερώσει τα ελεύθερα λιπαρά οξέα από τριακυλογλυκερόλες και πολικά λιπίδια κατά τη διάρκεια της βυνοποίησης και της πολτοποίησης (Del Rio et al., 2013, Niemi et al., 2012).

1.1.5 Δομή της λιγνοκυτταρίνης

Η λιγνοκυτταρίνη αποτελεί οργανική ένωση και λόγω της χαμηλής αποδοτικότητας αποδόμησης της, έχει καταστεί περιοριστικός παράγοντας στον παγκόσμιο κύκλο του άνθρακα. Για το λόγο αυτό συχνά τα λιγνοκυτταρικά υλικά υπόκεινται σε προκατεργασίες, με σκοπό τη βελτίωση των χαρακτηριστικών του υποστρώματος και την ευκολότερη διείσδυση των ενζύμων. Οι προκατεργασίες αυτές παράγουν απλούστερα σάκχαρα, ελαχιστοποιώντας τις απαιτήσεις θερμότητας και ισχύος για να είναι οικονομικά αποδοτική (Baig, 2020). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι βιολογικές προκατεργασίες, στις οποίες ανήκουν και οι μύκητες λευκής σήψης και αποτελούν μια μέθοδο ζωτικής σημασίας για τη βιομετατροπή πολλών τύπων λιγνοκυτταρινικών αποβλήτων χαμηλής αξίας (Choudhary et al., 2009).

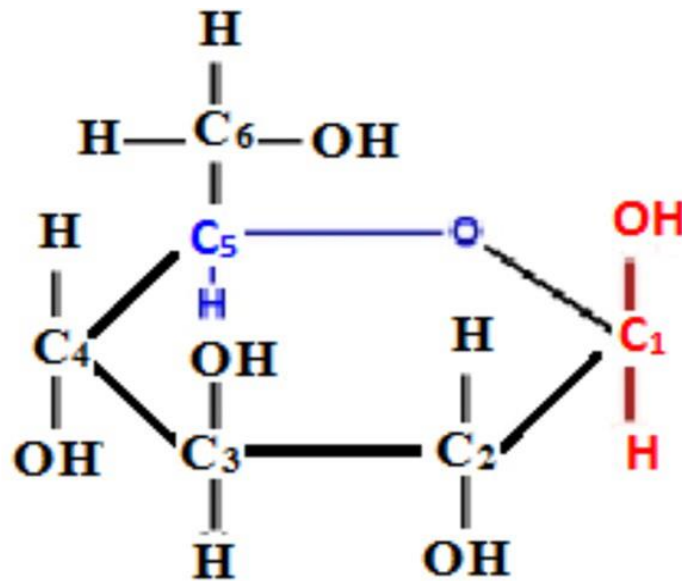
Καθώς η σύνθεση του υποστρώματος αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για τον αποικισμό και την ποσοτική και ποιοτική απόδοση των μυκήτων, συμπληρώματα που περιέχουν σάκχαρα και άμυλο (εύκολα διαθέσιμοι υδατάνθρακες), καθώς και λίπη (βραδύτερα αποικοδομήσιμες πηγές θρεπτικών ουσιών) προστίθενται στο βασικό συστατικό. Τα συμπληρώματα αυτά χρησιμοποιούνται για την αύξηση της περιεκτικότητας των θρεπτικών συστατικών, την επιτάχυνση της ανάπτυξης και την αύξηση της απόδοσης των μυκήτων (ειδικότερα στην καλλιέργεια των μυκήτων *Lentinula* και *Pleurotus*) (Naraian et al., 2008). Τέτοια βιολογικά συμπληρώματα περιλαμβάνουν μελάσσα, κόκκους ζυθοποιίας, χόρτα, απορρίμματα χαρτιού, απόβλητα βάμβακος και καφέ. Ωστόσο, τα δημητριακά και τα προϊόντα άλεσης είναι τα περισσότερο κοινά, καθώς περιέχουν αυξημένα επίπεδα πρωτεϊνών, λιπών και εύκολα μεταβολίσιμων υδατανθράκων.

1.1.5.1 Συστατικά λιγνοκυτταρίνης

Η λιγνοκυτταρίνη είναι ένα ανανεώσιμο οργανικό υλικό και κύριο δομικό συστατικό όλων των φυτών, που αποτελείται από τρία κύρια συστατικά:

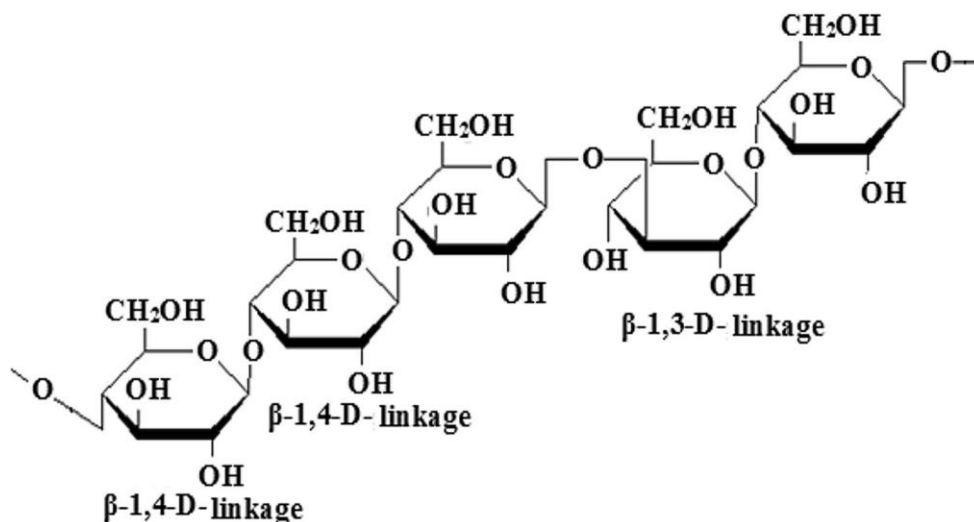
Την κυτταρίνη, η οποία αποτελεί το βασικό συστατικό όλων των φυτών και είναι το πιο άφθονο οργανικό μόριο στη γη. Πρόκειται για ένα γραμμικό πολυσακχαριδικό πολυμερές γλυκόζης, του οποίου τα μόρια συνδέονται με β-1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Οι αλυσίδες της κυτταρίνης

περιέχουν δεσμούς υδρογόνου στα «στοιχειώδη μικροϊνίδια», τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με ημικυτταρίνες, πηκτίνη και άλλα άμορφα πολυμερή σακχάρων, ενώ καλύπτονται από λιγνίνη. Η πολύπλοκη αυτή δομή καθιστά την κυτταρίνη ανθεκτική τόσο σε βιολογικές, όσο και σε χημικές θεραπείες (Delmer & Amor, 1995).



Εικόνα 4. Χημική σύσταση μιας μονάδας γλυκόζης (Klemm et al., 2005)

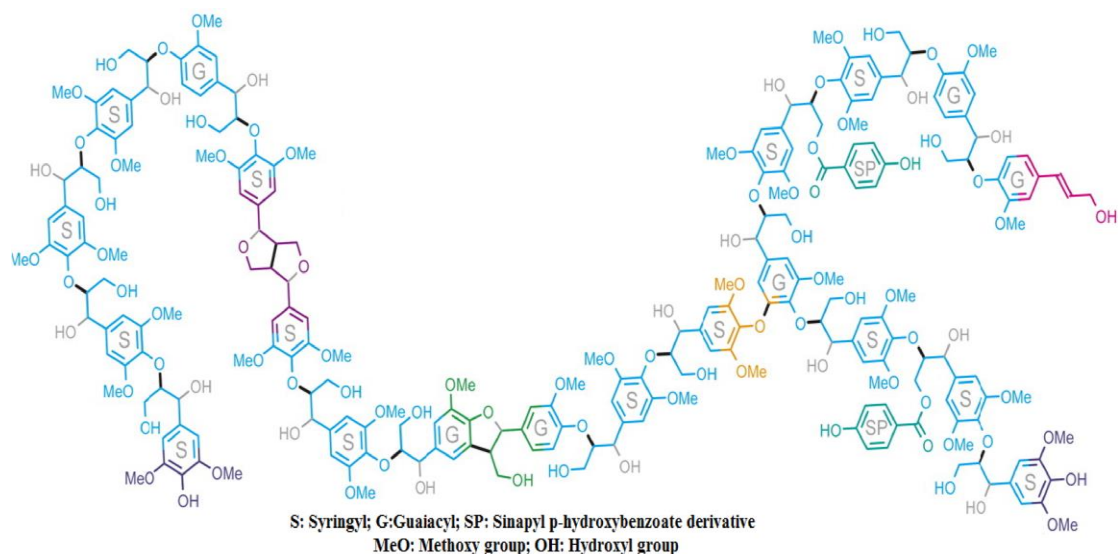
Την ημικυτταρίνη, ένα ετερογενές πολυμερές πεντόζης (ξυλόζης και αραβινόζης), εξόζης (μαννόζη, γλυκόζη και γαλακτόζη) και οξέα σακχάρου. Η συγκέντρωσή της στα λιγνοκυτταρινούχα υλικά κυμαίνεται από 25 έως 35% και υδρολύεται εύκολα σε ζυμώσιμα σάκχαρα (Saha et al., 2007). Σε αγροτικά και ξηρά ξυλώδη υπολείμματα, τα σάκχαρα που κυριαρχούν στις ημικυτταρίνες είναι η ξυλόζη, ενώ σε μαλακά ξυλώδη υποστρώματα, η μανόζη (Lavarack et al., 2002, Balan et al., 2009).



Εικόνα 5. Σύνθεση ημικυτταρίνης (Klemm et al., 2005)

Την λιγνίνη, το τρίτο κύριο ετερογενές πολυμερές των λιγνοκυτταρινούχων υλικών. Η λιγνίνη περιέχει τρεις αρωματικές αλκοόλες (την κωνοφερυλική, το σιναπύλ και το p-κουμαρύλιο). Βοηθά στην αντοχή των ινών της βιομάζας και αποτρέπει τη διείδυση λιγνοκυτταρολυτικών

ενζύμων στην εσωτερική λιγνοκυτταρική δομή. Θεωρείται το πιο ανθεκτικό συστατικό των λιγνοκυτταρινούχων υποστρωμάτων (Hamelinck et al., 2005).



Εικόνα 6. Σύνθεση λιγνίνης (Stewart et al., 2009)

Στα λιγνοκυτταρινούχα υπολείμματα, η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη αποτελούν τις κύριες πηγές υδατανθράκων και περιβάλλονται από τη λιγνίνη, η οποία σφραγίζει τα δύο αυτά συστατικά. Στη βιομάζα, η κυτταρίνη αποτελεί το 40-50% και έχει σάκχαρα 6-άνθρακα, ενώ η ημικυτταρίνη το 20-40% του υλικού κατά βάρος με σάκχαρα 5-άνθρακα (Brigham et al. 1996). Η λιγνίνη είναι μια άμορφη ένωση, η οποία έχει φαινυλοπροπάνια (δακτύλιος 6 ατόμων άνθρακα συνδεδεμένο με αλυσίδα 3-άνθρακα), αντιπροσωπεύει το 26-29% της λιγνοκυτταρίνης και συνδέεται έντονα με την κυτταρίνη και την ημικυτταρίνη, προσδίδοντας ακαμψία και προστατεύοντας την εύκολα αποικοδομήσιμη κυτταρίνη από την προσβολή της υδρολύσεως (Raimbault 1998).

1.1.5.2 Συστήματα αποδόμησης λιγνοκυτταρίνης

Τα στερεά λιγνοκυτταριχούχα υποστρώματα όντας ετερογενή αδιάλυτα στο νερό, η υποβάθμιση της μακρομοριακής δομής τους επιτελείται εξωκυτταρικά. Σύμφωνα με τον Lundell et al. (2010) δύο εξωκυτταρικά ενζυμικά συστήματα λειτουργούν για την αποικοδόμηση της λιγνοκυτταρίνης:

- Το υδρολυτικό, κατά το οποίο γίνεται η αποικοδόμηση της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης, μέσω παραγόμενων υδρολασών, απελευθερώνοντας γλυκόζη. Οι υδρολάσεις της κυτταρίνης (κυτταρινάσες) είναι ένζυμα όπως οι ενδογλυκανάσες, οι β-γλυκοζιδάσες και οι κυτταροβιοϋδρολάσες, ενώ τα υδρολυτικά ένζυμα της ημικυτταρίνης, είναι οι ενδοξυλανάσες και οι ενδομαννανάσες.
- Το οξειδωτικό, το οποίο αποπολυμερίζει τη λιγνίνη, διασπώντας τους φαινολικούς της δακτυλίους. Το οξειδωτικά ένζυμα είναι η υπεροξειδάση του μαγγανίου (MnP) και η υπεροξειδάση της λιγνίνης (LiP) που ανήκουν στις υπεροξειδάσες, καθώς και η λακκάση (Lac), η οποία ανήκει στις πολυφαινολοξειδάσες.

Εκτός από το σύμπλοκο των λιγνοκυτταρινικών ενζύμων, οι μύκητες λευκής σήψης παράγουν και άλλα ένζυμα, όπως πηκτινάσες, πρωτεάσες, λιπάσες και φυτάσες.

1.2 Μύκητες

1.2.1 Βασιδιομύκητες

1.2.1.1 Χαρακτηριστικά βασιδιομυκήτων

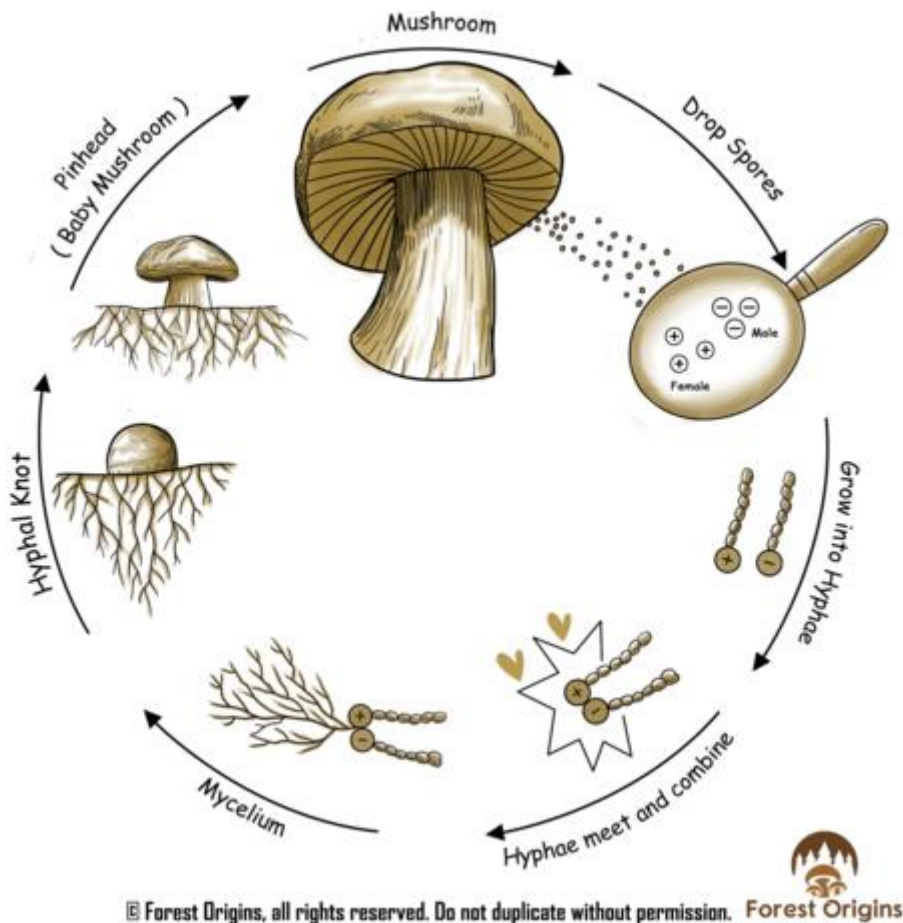
Οι βασιδιομύκητες ανήκουν μαζί με τους ασκομύκητες στους ανώτερους μύκητες και είναι γνωστοί ως μανιτάρια. Η διαφορά τους από τους υπόλοιπους μύκητες, είναι ότι παράγουν σπόρια (βασιδιοσπόρια), στο εξωτερικό ενός ειδικού εξωπαραγωγικού οργάνου που ονομάζεται βασίδιο. (Φραντζεσκάκης, 1990).

Το σώμα τους αποτελείται από λεπτά νημάτια που καλούνται υφές, ενώ το σύνολο των υφών ονομάζεται μυκήλιο και είναι είτε πολυκύτταρο, είτε μονοκύτταρο. Το πολυκύτταρο μυκήλιο διαφέρει από το μονοκύτταρο, καθώς παρουσιάζει διαφράγματα που καλούνται *septa*. Οι οργανισμοί αυτοί δεν έχουν χλωροφύλλη και έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται στο σκοτάδι, ενώ μια ομάδα από αυτούς χρειάζονται φως για να επιτελέσουν κάποιες λειτουργίες τους (Στεφανάκης, 1995).

Η αναπαραγωγή τους γίνεται είτε με αγενή είτε με εγγενή σπόρια, με την πλειοψηφία τους να αναπαράγονται και με τους δύο τρόπους. Η αγενής αναπαραγωγή πραγματοποιείται με αγενή σπόρια προερχόμενα από το μυκήλιο και τα όργανα στα οποία σχηματίζονται ονομάζονται καρποφορίες. Στην εγγενή αναπαραγωγή, γίνεται ένωση πυρήνων αντίθετου φύλου, δημιουργώντας νέα μυκήλια με νέο γενότυπο. (Alexopoulos et al., 1996).

Βοτανολογικά τα μανιτάρια είναι ετερότροφοι οργανισμοί, είτε παρασιτικοί (σε φυτά και ζώα), είτε σαπροφυτικοί (σε φυτικές ή ζωικές νεκρές ύλες) και συνεπώς είναι ανίκανοι να παράγουν υδατάνθρακες. Για το λόγο αυτό παίρνουν την απαραίτητη πηγή άνθρακα και ενέργειας για το μεταβολισμό τους από “ζωντανές” ή “μη ζωντανές ουσίες”. (Στεφανάκης, 1995).

Πρόκειται λοιπόν για βασιδιομύκητες λευκής σήψης, οι οποίοι τρέφονται από το υπόστρωμα στο οποίο αναπτύσσονται, εκκρίνοντας υποβιβαστικά ένζυμα, ενώ χωνεύουν την τροφή τους εξωτερικά και απορροφούν τα θρεπτικά συστατικά του υποστρώματος, δημιουργώντας μια πυκνή δικτυωτή αλυσίδα (μυκήλιο). Η πυκνή αυτή διακλάδωση, δίνει την ικανότητα στους μύκητες να διαπεράσουν οποιοδήποτε υπόστρωμα διεξοδικά. Ο ρυθμός διεΐσδυσης και διάσπασης του υποστρώματος αυξάνεται σύμφωνα με το πάχος του μυκηλίου, το οποίο οδηγεί σε υψηλότερο βαθμό πέψης της τροφής από τον μύκητα, μέσω της έκκρισης εξωκυτταρικών ενζύμων. Τα ένζυμα αυτά δρουν είτε συλλογικά, είτε μεμονομένα για τη διάσπαση τοξικών ουσιών και ρύπων (Hamman, 2004, Staments, 2005).



© Forest Origins, all rights reserved. Do not duplicate without permission. Forest Origins

Εικόνα 7. Κύκλος ζωής μανιταριού (forestorigins.com)

Ο κύκλος ζωής των μανιταριών περιλαμβάνει δύο στάδια, το μυκήλιο (βλαστικό-αποικιστικό στάδιο) και την καρποφορία (αναπαραγωγικό στάδιο). Το μυκήλιο αναπτύσσεται εντός του υποστρώματος, διασπώντας τα συστατικά του, ενώ ταυτόχρονα υποστηρίζει το σχηματισμό των καρποφοριών. Η διατροφή του μανιταριού ξεκινά από το βλαστικό στάδιο και στηρίζεται στις πηγές άνθρακα του υποστρώματος, παράγοντας μεγάλο αριθμό ενζύμων, των οποίων η ποσότητα και ο τύπος εξαρτάται από τη σύνθεση του υποστρώματος και τη συγκέντρωση πηγών αζώτου. Στο αναπαραγωγικό στάδιο είναι σημαντικό να διατηρηθεί μια ισορροπία μεταξύ των πηγών άνθρακα και αζώτου. Επιπλέον τα δύο στάδια του κύκλου ζωής των μανιταριών ρυθμίζονται από τη θερμοκρασία, το περιβάλλον, τη δραστηριότητα νερού και το φως, με τις περιβαλλοντικές συνθήκες να παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη του μυκηλίου και συνεπώς στην ολοκλήρωση της καλλιέργειας (Philippoussis, 2009).

1.2.1.2 Κατηγορίες βασιδιομυκήτων

Οι βασιδιομύκητες που έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται και να αποικοδομούν τη νεκρή οργανική ύλη διακρίνονται σε:

- Φαιάς σήψης
- Μαλακής σήψης
- Λευκής σήψης.

Οι τρεις τύποι σήψης διαφέρουν κυρίως στην ικανότητα και τη μεθοδολογία να ξεπεράσουν το φράγμα λιγνίνης καθώς και στη διάρκεια του χρόνου αποικοδόμησης μεταξύ της λιγνίνης και των πολυσακχαριτών (Hatakka & Hammel 2011). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχουν οι μύκητες

λευκής σήψης (WRF), οι οποίοι όπως προαναφέρθηκε είναι ικανοί να αποικοδομούν αποτελεσματικά και τις κυτταρίνες και τη λιγνίνη. Αρχικά διασπούν τη λιγνίνη όντας δυσκολότερη στην αποικοδόμηση της, ώστε να έχουν πρόσβαση στις κυτταρίνες και τις ημικυτταρίνες. Επιπλέον έχουν την ικανότητα να αποικοδομούν τις φαινολικές ενώσεις, εξαιτίας της ομοιότητας που παρουσιάζουν με τη λιγνίνη (Eriksson et al., 1990).

Αντιθέτως, οι μύκητες μαλακής σήψης (SRF) μειονεκτούν στο ρυθμό αποδόμησης και την αποτελεσματικότητα, ενώ αποικοδομούν κυρίως πολυσακχαρίτες. Οι μύκητες φαιάς σήψης (BRF) δεν εκκρίνουν υπεροξειδάσες, αλλά εφαρμόζουν έναν ειδικό μηχανισμό με ρίζα υδροξυλίου ως οξειδωτικό, που παράγεται από μία μη ενζυματική αντίδραση που καλείται Fenton. Συνεπώς, οι BRF δεν είναι σε θέση να μετατρέψουν τη λιγνίνη σε διοξείδιο του άνθρακα όπως οι WRF, καθώς η λιγνίνη τροποποιείται μόνο όταν η πολυμερής δομή διατηρείται ανέπαφη. Αντίθετα οι BRF προσβάλλουν αποτελεσματικά τις ημικυτταρίνες και την κυτταρίνη, γεγονός που οδηγεί σε σχετική αύξηση της λιγνίνης (Hatakka & Hammel 2011).

1.2.1.3 Μύκητες λευκής σήψης

Η βιομηχανία μεταποίησης τροφίμων παράγει ετησίως ένα μεγάλο αριθμό αποβλήτων παγκοσμίως, γεγονός που προκαλεί σοβαρό πρόβλημα διάθεσης. Η σύνθεση αυτών των αποβλήτων είναι συνήθως πλούσια σε σάκχαρα, τα οποία είναι αφομοιώσιμα από τους μικροοργανισμούς, λόγω της οργανικής τους φύσης. Αυτό τα καθιστά κατάλληλα ως πρώτη ύλη για την παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών βιομηχανικής σημασίας.

Οι WRF μπορούν να καλλιεργηθούν σε μια μεγάλη ποικιλία λιγνοκυτταρινούχων υποστρωμάτων μετατρέποντας τα σε ανθρώπινη ή ζωική τροφή. Μελέτες έχουν αναφέρει τη χρήση στελεχών *Pleurotus* για την παραγωγή βιομάζας (μυκήλιο) και βασιδιόματα (μανιτάρια), επιτυγχάνοντας παράλληλα σημαντική μείωση της συγκέντρωσης φαινολικών (Sanjust et al., 1991). Τα στελέχη αυτά αποτελούν έναν βρώσιμο μύκητα λευκής σήψης, ο οποίος είναι έντονα σαπροφυτικός και εξαιρετικά προσαρμόσιμος (Pant et al., 2006). Οι περισσότερες μελέτες έχουν εστιάσει σε τεχνικές προεπεξεργασίας για την αύξηση της επιφάνειας του υποστρώματος, τη διαλυτότητα της ημικυτταρίνης, την μείωση της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης και την υδρόλυση των διάφορων πολυμερών (Hendriks & Zeeman, 2009).

Οι WRF λειτουργούν εκκρίνοντας υδρολυτικά ένζυμα για την αποδόμηση της κυτταρίνης και λιγνινολυτικά ένζυμα για την αποδόμηση της λιγνίνης (Rani et al., 2008). Ωστόσο, ένα ιδανικό υπόστρωμα θα πρέπει να περιέχει άζωτο και υδατάνθρακες ως συμπλήρωμα για ταχεία ανάπτυξη μανιταριών (Khare et al., 2010). Η προσθήκη συμπληρωμάτων αυξάνει την περιεκτικότητα του υποστρώματος σε θρεπτικά συστατικά, ενώ επιταχύνει την ανάπτυξη και αυξάνει την απόδοση στα είδη *Pleurotus* (Philippoussis, 2009).

Τα λιγνοκυτταρολυτικά ένζυμα καταναλώνουν τους υδατάνθρακες του υποστρώματος και τους μεταβολίζουν. Η έκκριση λιγνοκυτταρολυτικών ενζύμων κατά τη ζύμωση αποτελεί απαραίτητη φυσιολογική λειτουργία για τον μετασχηματισμό του λιγνοκυτταρολυτικού υποστρώματος κατά τη διάρκεια μυκητιακής ανάπτυξης (Elisashvili et al., 2002). Συνεπώς, ο βαθμός αποσύνθεσης του υποστρώματος και η αποτελεσματικότητα των βρώσιμων μυκήτων ανιχνεύεται από τις δραστηριότητες των εξωκυτταρικών αυτών ενζύμων για την παραγωγή ενός γρήγορου και βελτιωμένου περιβάλλοντος για την ανάπτυξη του μυκηλίου και έπειτα των καρποφοριών.

1.2.2 Το μανιτάρι *Pleurotus ostreatus*



Εικόνα 8. Μύκητας *Pleurotus ostreatus* (semanticscholar.org)

Ταξινόμηση

Βασίλειο: *Fungi*

Φύλο: *Basidiomycota*

Κλάση: *Agaricomycetes*

Υποκλάση: *Agaricomycetidae*

Τάξη: *Agaricales*

Οικογένεια: *Pleurotaceae*

Γένος: *Pleurotus*

Είδος: *ostreatus*

1.2.2.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά *Pleurotus*

Μακροσκοπικά παρατηρείται ο πύλος (καπέλο), ο οποίος μπορεί να ξεκινά κατευθείαν από το υπόστρωμα στο οποίο αναπτύσσεται και έχει διάμετρο από 5 έως 15 εκατοστά, ενώ το χρώμα του εξαρτάται από τον φωτισμό, έχοντας αποχρώσεις από κίτρινο, υπόλευκο έως καφέ. Τα ελάσματα του είναι συνήθως υπόλευκα και μπορεί να αναστομώνονται ή και όχι. Διαθέτει στίπο (κορμό) με διάμετρο περίπου 1 εκατοστό και μήκος μικρότερο από 3-4 εκατοστά. Τα μανιτάρια αυτά παρουσιάζουν αρνητικό γεωτροπισμό, με τάση συνεπώς να αναζητούν το φως. Μικροσκοπικά παρατηρούνται τα βασίδια με 4 σπόρια το καθένα που είναι τεφρά, ιώδη και λευκά, ενώ υπάρχουν σε μεγάλες ποσότητες. Το μέγεθος των βασιδίων είναι 25x8 μm περίπου, ενώ των σπορίων περίπου 10x4 μm.

Βιολογικά διαθέτουν μεγάλη ικανότητα σαπροφυτικού χαρακτήρα και αποικούν τα κυτταριχούχα υποστρώματα όπου αναπτύσσονται με μεγάλη ταχύτητα. Οι μύκητες *Pleurotus* έχουν την ικανότητα να προσβάλλουν τη λιγνίνη και την κυτταρίνη. Την κυτταρίνη την χρησιμοποιούν σαν πηγή άνθρακα και ενέργειας, ενώ η αναλογία C/N στα υποστρώματα φτάνει από 50:1 έως 500:1. Πρόκειται λοιπόν για ένα μύκητα που έχει πολύ μικρή ανάγκη σε άζωτο καθώς δεσμεύει άζωτο από την ατμόσφαιρα (Στεφανάκης, 1995).

1.2.2.2 Καλλιέργεια *Pleurotus*

Η μυκηλιακή ανάπτυξη του *Pleurotus ostreatus* έχει βέλτιστη θερμοκρασία 25-30°C και επηρεάζεται λιγότερο από το pH σε σχέση με την καρποφορία, η οποία αναζητά ουδέτερες-ελαφρώς όξινες τιμές (6-7). Το φως δε συνίσταται για την ανάπτυξη του μυκηλίου, είναι όμως απαραίτητο για να σχηματιστούν οι καταβολές της καρποφορίας και η κανονική μορφολογία του μανιταριού. Κατά την εξάπλωση του μυκηλίου στο υπόστρωμα απαιτούνται μεγάλα ποσά υγρασίας και διοξειδίου του άνθρακα. Αυτό επιτυγχάνεται με την ανάπτυξη του μυκηλίου σε ημιαναερόβιες συνθήκες, οι οποίες όμως δεν αποκλείουν τη σημασία του οξυγόνου στην καλλιέργεια. Αντίθετα, οι ανάγκες της καλλιέργειας σε οξυγόνο κατά το σχηματισμό των καρποφοριών που γίνεται σε αερόβιες συνθήκες είναι μεγάλες. Η κανονική οξύτητα του *P. ostreatus* είναι μεταξύ 5-6,5. Το μυκήλιο παρεμποδίζεται κάτω από 4 και πάνω από 7. Με την ανάπτυξη του μυκηλίου η τιμή οξύτητας μεταβάλλεται, πράγμα που επηρεάζει τη δράση των ενζύμων.

Η καρποφορία ευνοείται συχνά από δραστική αλλαγή των περιβαλλοντικών παραμέτρων, με μείωση της θερμοκρασίας τουλάχιστον 5°C σε σχέση με τη μυκηλιακή φάση, έχοντας μέγιστη θερμοκρασία καρποφορίας 15°C. Το στάδιο της καρποφορίας και της ωρίμασης εξαρτάται επίσης από τη συγκέντρωση CO₂, την υγρασία, την αλατότητα και το pH. Η υγρασία του αέρα πρέπει να είναι υψηλή (90-95%), ενώ η περιεκτικότητα του υποστρώματος σε νερό μεταξύ 60-80%. Χαμηλότερες τιμές οδηγούν σε έλλειψη οξυγόνου του υποστρώματος. Η συγκέντρωση CO₂ πρέπει να είναι μικρότερη από 1% για την ισορροπημένη ανάπτυξη του μυκηλίου, το σχηματισμό καρπών και την ωρίμανση, η οποία επιτυγχάνεται με αυξημένο αερισμό (Philippoussis, 2009).

1.2.3 Διατροφική αξία του μύκητα *Pleurotus ostreatus*

Ο *P. ostreatus* αποτελεί το δεύτερο πιο σημαντικό μανιτάρι που καλλιεργείται για διατροφικούς σκοπούς σε όλο τον κόσμο (Chang, 1991). Διατροφικά, έχει μοναδική γεύση και αρωματικές ιδιότητες, ενώ θεωρείται πλούσιο σε πρωτεΐνες, φυτικές ίνες, υδατάνθρακες, μέταλλα και βιταμίνες, αλλά χαμηλές θερμίδες και χαμηλά λιπαρά. Η περιεκτικότητά του σε θρεπτικά συστατικά είναι τόσο μεγάλη, γεγονός που το καθιστά συγκρίσιμο με τα άγρια μανιτάρια. Ωστόσο, υπάρχουν ποιοτικές και ποσοτικές διαφορές στη χημική σύνθεση των

καρπών των *P. ostreatus* που εξαρτώνται από το στέλεχος, την προέλευση, τη διαδικασία εκχύλισης και τις συνθήκες καλλιέργειας (Wang et al., 2001).

1.2.3.1 Ενεργά συστατικά

Γενικά, το φρέσκο μανιτάρι *Pleurotus* περιέχει 85-95% υγρασία (Khan, 2010). Το καρποφόρο σώμα του *P. ostreatus* περιέχει περίπου 100 διαφορετικές βιοδραστικές ενώσεις, οι οποίες θεωρούνται κυρίως ως πιθανή πηγή διαιτητικών ινών. Το μυκητιακό κυτταρικό τοίχωμα είναι πλούσιο σε μη αμυλούχους πολυσακχαρίτες, από τους οποίους η πιο ενδιαφέρουσα είναι η β-γλυκάνη, καθώς και φαινολικές ενώσεις όπως το πρωτοκουκικό οξύ, το γαλλικό οξύ, η ρουτίνη, η μυρικτίνη, η χρυσίνη, η ναρρίνη, η τοκοφερόλη όπως η α-τοκοφερόλη και γ-τοκοφερόλη, ασκορβικό οξύ και β-καροτένιο όπου το καθένα έχει τις δικές του εξαιρετικές επιδράσεις στην υγεία (Wang et al., 2001).

1.2.3.2 Πρωτεΐνες

Τα μανιτάρια αποτελούν μια πλούσια πηγή διαφορετικών πρωτεϊνών, παρ' όλα αυτά, δεν έχουν αναγνωριστεί πολλές από αυτές. Έχει αναφερθεί ότι η περιεκτικότητα του *P. ostreatus* σε πρωτεΐνες ποικίλλει ανάλογα με τα στελέχη, τις φυσικές και χημικές διαφορές στο μέσο καλλιέργειας, τη σύνθεση του υποστρώματος και το χρόνο συγκομιδής (Akyuz & Kirbag, 2010). Γενικά, η περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες κυμαίνεται από 17 έως 42 g ανά 100 g ξηρών καρπών, σύμφωνα με τους Khan et al. (2008), ενώ σε 100 g βρώσιμου μέρους των καρπών υπάρχουν 7 mg αμινοξέων (Mattiala et al. 2001).

1.2.3.3 Λιπίδια

Το μανιτάρι *Pleurotus* έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, αλλά περιέχει ορισμένα απαραίτητα λιπαρά οξέα. Το ελαϊκό οξύ είναι το κύριο μονοακόρεστο λιπαρό οξύ και το λινελαϊκό οξύ είναι το κύριο πολυακόρεστο λιπαρό οξύ στο *P. ostreatus*. Οι Hossain et al. (2007) ανέφεραν ότι ο *P. ostreatus* στις υψηλότερες συγκεντρώσεις του, περιέχει 363 μg ελαϊκού οξέος / g αποξηραμένου μανιταριού και 533 μg λινελαϊκού οξέος / g αποξηραμένου μανιταριού.

1.2.3.4 Υδατάνθρακες

Γενικά οι υδατάνθρακες αποτελούν το κυρίαρχο συστατικό της ξηράς ουσίας μανιταριών, συνήθως 50-60%. Οι υδατάνθρακες που υπάρχουν στο *P. ostreatus* είναι κυρίως πολυσακχαρίτες, οι οποίοι αντιπροσωπεύονται από γλυκογόνο, διαιτητικές ίνες, κυτταρίνη, χιτίνη, α- και β-γλυκάνες και άλλες ημικυτταρίνες (Hossain et al. 2007, Manzi et al. 2001). Η σύνθεση αυτών των πολυσακχαριτών στις καρποφορίες ποικίλλει ανάλογα με τα στελέχη, ενώ κυμαίνονται από 37 έως 48 g / 100 g ξηρών καρπών (Synytsya et al. 2008).

1.2.3.5 Διαιτητικές ίνες

Η παρουσία μη αμυλούχων πολυσακχαριτών καθιστά τα μανιτάρια μια πιθανή πηγή διαιτητικών ινών. Η συνολική διαιτητική τους ίνα (TDF) είναι το άθροισμα των εγγενών, μη εύπεπτων υδατανθράκων κυρίως της χιτίνης και οι γλυκάνες των μανιταριών αποτελούν συστατικά διαλυτών (SDF) ή αδιάλυτων (IDF) διαιτητικών ινών. Ο Kalac (2009) ανέφερε ότι τα μανιτάρια κατέχουν περίπου 4-9% διαλυτές και 22-30% αδιάλυτες ίνες, ενώ σύμφωνα με τους Manzi et al. (2001), η περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες σε 100 g *P. ostreatus* είναι περίπου 4,1 g.

1.2.3.6 Βιταμίνες

Τα μανιτάρια είναι πλούσια σε βιταμίνες, κυρίως βιταμίνη-B1, βιταμίνη-B2, βιταμίνη-C και βιταμίνη-D2. Η βιταμίνη της ομάδας B είναι άφθονη, ιδίως θειαμίνη, ριβοφλαβίνη, πυριδοξίνη, παντοτένιο οξύ, νικοτινικό οξύ, νικοτιναμίδιο, φολικό οξύ και κοβαλαμίνη, καθώς και άλλες βιταμίνες όπως εργοστερόλη, βιοτίνη, φυτοχινόνη και τοκοφερόλες (Mattiala et al. 2001). Ο *P.*

ostreatus περιέχει περισσότερη φολίνη, βιταμίνη B1, βιταμίνη B3 αλλά λιγότερη βιταμίνη B12 από άλλα είδη μανιταριών.

1.2.3.7 Ορυκτά συστατικά

Τα μανιτάρια *Pleurotus* χαρακτηρίζονται από υψηλό επίπεδο ορυκτών συστατικών. Ο στίπος του *P. ostreatus* έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε χαλκό, σίδηρο, κάλιο, μαγνήσιο, φώσφορο και ψευδάργυρο, ενώ ο πύλος εμφανίζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε νάτριο (Vetter, 1994).

1.2.3.8 Ένζυμα

Χαρακτηριστικό γνώρισμα της σύνθεσης των καρπών των μανιταριών είναι η εμφάνιση διαφόρων ενζύμων, τα οποία σπανίως εντοπίζονται σε άλλους οργανισμούς. Αποτελούνται από οξειδάσες, λιπάσες και πρωτεολυτικά ένζυμα, ενώ οι περισσότερες έρευνες επικεντρώνονται στις πολυφαινολοξειδάσες (Espin & Wichers 1999). Στον μύκητα *P. ostreatus*, η ενζυμική δραστηριότητα των πολυφαινολοξειδασών είναι μεγαλύτερη από άλλα είδη μανιταριών. Η επίδραση αυτού του ενζύμου οφείλεται στην κατάλυση της οξειδωσης της φαινόλης και προκαλεί σκούρο χρώμα στους καρπούς, μειώνοντας τις αισθητήριες και θρεπτικές τους ιδιότητες (Ratcliffe et al., 1994).

1.2.4 Ζύμωση στερεάς κατάστασης

Ζύμωση στερεάς κατάστασης (SSF) ορίζεται οι βιοτεχνολογικές διεργασίες, κατά τις οποίες οι οργανισμοί αναπτύσσονται σε μη διαλυτά υλικά ή στερεά υποστρώματα απουσία ή σχεδόν απουσία ελεύθερου ύδατος (Bhargan et al., 2008). Τα υποστρώματα που χρησιμοποιούνται συνήθως στην SSF είναι οι κόκκοι δημητριακών (ρύζι, σιτάρι, κριθάρι και καλαμπόκι), σπόροι οσπρίων, πίτουρο σίτου, σε συνδυασμό με υλικά λιγνοκυτταρίνης όπως άχυρα, πριονίδια ή ξύσματα ξύλου και ένα ευρύ φάσμα φυτικών και ζωικών υλικών. Οι ενώσεις αυτών των υποστρωμάτων είναι πολυμερείς και παραμένουν αδιάλυτες ή ελάχιστα διαλυτές στο νερό και αντιπροσωπεύουν μια συμπυκνωμένη πηγή θρεπτικών ουσιών για μικροβιακή ανάπτυξη.

Με την SSF επιτυγχάνεται η βιοαποσύνθεση των λιγνοκυτταρινούχων υποστρωμάτων, με τη βοήθεια των μικροοργανισμών, ενώ σκοπός της είναι αξιοποίηση του δυναμικού των λιγνοκυτταρινικών αποβλήτων, τα οποία μπορεί να περιέχουν σημαντικές συγκεντρώσεις διαλυτών υδατανθράκων και επαγωγέων που εξασφαλίζουν την αποτελεσματική παραγωγή λιγνολυτικών ενζύμων (Singhanian et al., 2009).

Η μέθοδος SSF αποτελεί μια εναλλακτική μέθοδος καλλιέργειας και έχει αρκετά πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών μεθόδων βυθισμένης καλλιέργειας, όπως υψηλότερες αποδόσεις ενζύμων. Οι Eriksson & Pettersson (1988) αποκάλυψαν την πιθανή εμπλοκή των WRF στην απελευθέρωση των λιγνολυτικών ενζύμων από το μυελό κυτταρικό τοίχωμα, ενώ ο Dosoretz et al., (1990), θεώρησε ότι μία από τις λειτουργίες των πρωτεασών που παράγονται από τους WRF είναι η ανακύκλωση του αζώτου με την διάσπαση των εκκρινόμενων πρωτεϊνών που απελευθερώνονται στο μέσο στην κυτταρική αυτόλυση.

Η διαθέσιμη περιεκτικότητα σε άζωτο των BSG ενισχύεται με τη χρήση της SSF των μυκήτων παράγοντας ένα νέο μέσο που τροφοδοτεί την πλήρη απαίτηση αζώτου για ανάπτυξη ζυμομύκητα με εκχύλιση θρεπτικών ουσιών από τα BSG (Cooray et al., 2017). Τα ένζυμα που παράγονται για την αποικοδόμηση της βιομάζας κατά τη διάρκεια της μικροβιακής ζύμωσης βοηθούν στην απελευθέρωση θρεπτικών ουσιών από τα BSG.

Η αξιοποίηση τέτοιων αποβλήτων μέσω της SSF δεν αναδεικνύεται μόνο ως ένας οικονομικός τρόπος για την παραγωγή ενζύμων, αλλά συμβάλλει επίσης στην προστασία του

περιβάλλοντος μέσω της ανακύκλωσης απορριμμάτων (Radhika et al., 2013). Η παραγωγήμανιταριών αποτελεί μια αποτελεσματική και σχετικά σύντομη βιολογική διαδικασία ανάκτησης πρωτεϊνών και τροφίμων από λιγνοκυτταρινούχα υλικά μηδενικής αξίας, αξιοποιώντας τις υποβαθμιστικές τους ικανότητες. Το μυκήλιο των μανιταριών μπορεί να παράγει σημαντικές ποσότητες πληθώρας ενζύμων, τα οποία είναι ικανά να αποικοδομήσουν τα λιγνοκυτταρινικά υπολείμματα και να τα χρησιμοποιήσουν ως θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη και την καρποφορία τους (Philippoussis, 2009).

1.2.5 Χρήση του αναλωμένου υποστρώματος μανιταριών

Σύμφωνα με τους Laufenberg et al. (2003), η καλλιέργεια μανιταριών θα πρέπει να ακολουθεί μια περισσότερο σφαιρική έννοια στην παραγωγή τροφίμων, συνδέοντας την υψηλή ποιότητα και ασφάλεια του προϊόντος με υψηλή απόδοση παραγωγής και ενσωμάτωση περιβαλλοντικών πτυχών στην ανάπτυξη προϊόντων. Ένα παράδειγμα ολοκληρωμένης πρακτικής διαχείρισης καλλιεργειών, είναι η χρήση του αναλωμένου υποστρώματος μετά την καλλιέργεια μανιταριών (SMS) ως:

- Ζωοτροφές, καθώς το μυκήλιο των μανιταριών αυξάνει την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (Adamovic et al., 1998).
- Εδαφοβελτιωτικό, καθώς εξακολουθεί να είναι πλούσιο σε θρεπτικά και πολυμερή συστατικά που ενισχύουν τη δομή του εδάφους, βελτιώνοντας την υγεία, την υφή, τη θρεπτική κατάσταση και την ικανότητα συγκράτησης νερού. Επιπλέον, μειώνει τη θερμική αγωγιμότητα, την πυκνότητα του όγκου και τα αδρανή υλικά (Kaddous & Morgans, 1986).
- Λίπασμα, καθώς η παραγωγή ορυκτών λιπασμάτων απαιτεί χρήση ενέργειας που ξεπερνά το 50% και έχει μεγάλες περιβαλλοντικές επιπτώσεις (Woods et al., 2010).
- Πηγή ενζύμων, καθώς τα ένζυμα που εκκρίνουν οι WRF για την αποικοδόμηση του υποστρώματος στο οποίο αναπτύσσονται, μπορούν να εξαχθούν από το SMS για εφαρμογές όπως παραγωγή βιοκαυσίμων και βιοαερίου (Wan & Li, 2012).
- Βιολογικός έλεγχος των παθογόνων οργανισμών των φυτών και βιοαποκατάσταση (Kaddous & Morgans, 1986).

Το αναλωμένο υπόστρωμα των μανιταριών (SMS), αν και αποτοξικοποιημένο μετά την καλλιέργεια του μύκητα, θεωρείται ακόμη απόβλητο και διατίθεται σε τεράστιες ποσότητες, γεγονός που προκύπτει από το ότι 1 κιλό φρέσκων μανιταριών οδηγεί σε 5 κιλά SMS, δηλαδή 2 κιλά SMS επί ξηρού βάρους (Finney et al., 2009). Σκοπός της πρακτικής αυτής είναι η πλήρης αποτοξικοποίηση των ρύπων, μέσω της πληθώρας μικροοργανισμών που περιέχονται σε αυτούς, οι οποίοι έχουν την ικανότητα να αφομοιώσουν τα φαινολικά συστατικά της λιγνίνης (Eggen 1999, Fermor et al. 2000). Η πρακτική αυτή, πέραν της μεθόδου παραγωγής μανιταριών για διατροφικούς σκοπούς, καθιστά τη ζύμωση στερεάς κατάστασης ως παράδειγμα ενός οργανικού συστήματος ενσωματωμένου στην επεξεργασία αποβλήτων που συμβάλλει στη βιωσιμότητα και ωφελεί τον ανθρώπινο πληθυσμό, την υγεία και το περιβάλλον.

1.3 Καλλιέργεια μύκητα

1.3.1 Στάδια και συνθήκες καλλιέργειας

Τα στάδια της καλλιέργειας των μανιταριών είναι η παραγωγή εμβολίου, η παρασκευή σπόρου (sprawη), η παρασκευή υποστρώματος και η ανάπτυξη μανιταριών, ενώ περιλαμβάνουν τον εμβολιασμό του υποστρώματος με μυκήλιο, τον αποικισμό του υποστρώματος από το μυκήλιο και την καρποφορία.

Όταν το βασικό υπόστρωμα της καλλιέργειας είναι το άχυρο σίτου, το υλικό τεμαχίζεται από 2 έως 6 cm, διαβρέχεται και προστίθενται συμπληρώματα για την παροχή θρεπτικών ουσιών και γύψος για την ρύθμιση του pH και του λόγου άνθρακα/αζώτου (C/N). Το υπόστρωμα πληρώνεται σε φιάλες, αποστειρώνεται (121°C για 2 ώρες) και εμβολιάζεται με μυκήλιο. Το εμβόλιο προστίθεται σε αναλογία 3-5% του νεπού βάρους του υποστρώματος και τα σκεύη τοποθετούνται σε σκοτεινό θάλαμο στους 25-30°C με υγρασία 80%. Ο πλήρης αποικισμός διαρκεί περίπου 20-25 ημέρες και έπειτα αφαιρούνται τα καπάκια για να βγουν οι καρποί από την επιφάνεια του υποστρώματος.

Μετά την πλήρη εξάπλωση του μυκηλίου στο υπόστρωμα και μόλις γίνουν εμφανείς οι πρώτες καταβολές των καρποφοριών, τα αποικισμένα υποστρώματα μεταφέρονται σε συνθήκες καρποφορίας. Οι συνθήκες αυτές περιλαμβάνουν τη μείωση της θερμοκρασίας του αέρα στους 12-15°C και την αύξηση της σχετικής υγρασίας στους 90-95%. Απαιτείται κύκλος φωτός 8-10 ωρών και επαρκής αερισμός για τη διατήρηση των επιπέδων CO₂ χαμηλότερα από 500 ppm. Η διάρκεια της καρποφορίας κυμαίνεται μεταξύ 3-4 εβδομάδων και η συγκομιδή πραγματοποιείται όταν οι καρποί φτάσουν στη μέγιστη ανάπτυξη τους, η οποία προκύπτει από τη στασιμότητα της ανάπτυξής τους. Ο συνολικός κύκλος ανάπτυξης διαρκεί περίπου 70 ημέρες (Philippoussis, 2009).

1.3.2 Μετρήσεις καρποφοριών

Η αποτελεσματικότητα της διαδικασίας βιομετατροπής και η παραγωγικότητα της καλλιέργειας αξιολογούνται από τη βιολογική αποτελεσματικότητα (BE), η οποία εκφράζει τη βιομετατροπή του ξηρού υποστρώματος σε καρπούς και δείχνει την ικανότητα καρποφορίας του μύκητα στο υπόστρωμα.

Η απόδοση (ΑΠ) αποτελεί επίσης μια σημαντική παράμετρο στην καλλιέργεια μανιταριών, καθώς υποστρώματα που δίνουν υψηλή ΑΠ, δίνουν και υψηλές τιμές BE. Σύμφωνα με τους Diamantopoulou et al., (2006), για να θεωρηθεί κερδοφόρα η καλλιέργεια *Pleurotus*, θα πρέπει η τιμή της BE να είναι μεγαλύτερη από 50%.

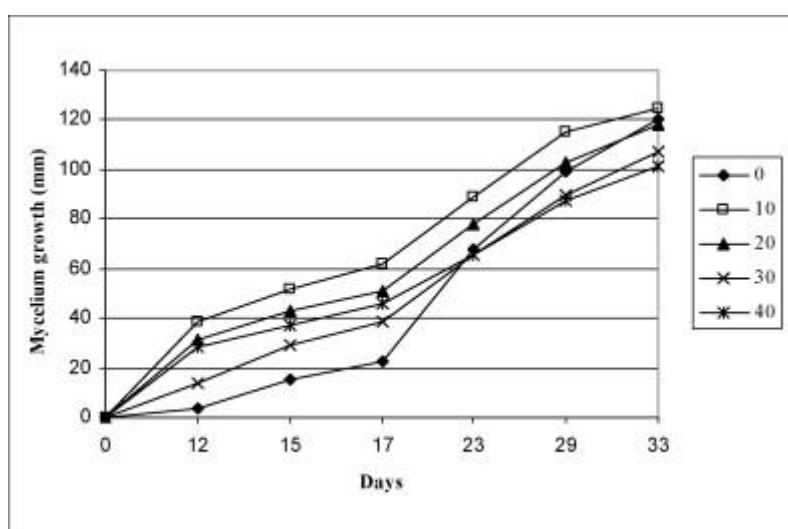
Για τις καρποφορίες μελετώνται:

1. Η διάρκεια επώασης (days)
ΔΕ=ο χρόνος από τον εμβολιασμό του υποστρώματος μέχρι την ολοκλήρωση του αποικισμού με μυκήλιο
2. Η πρωιμότητα (days)
Π=ο χρόνος από τον εμβολιασμό του υποστρώματος μέχρι την εμφάνιση της πρώτης καρποφορίας
3. Το συνολικό νεπό και ξηρό βάρος των καρπών (g)

4. Η απόδοση (g/kg νωπού βάρους υποστρώματος)
 $ΑΠ = \frac{\text{βάρους των νωπών καρπών που συγκομίζονται}}{\text{αρχικό βάρους του νωπού υποστρώματος}} \times 100\%$
5. Η βιολογική αποτελεσματικότητα (g/kg ξηρού βάρους υποστρώματος)
 $ΒΕ = \frac{\text{βάρους των νωπών καρπών που συγκομίζονται}}{\text{αρχικό βάρους του ξηρού υποστρώματος}} \times 100\%$ (Philippoussis, et al., 2001).

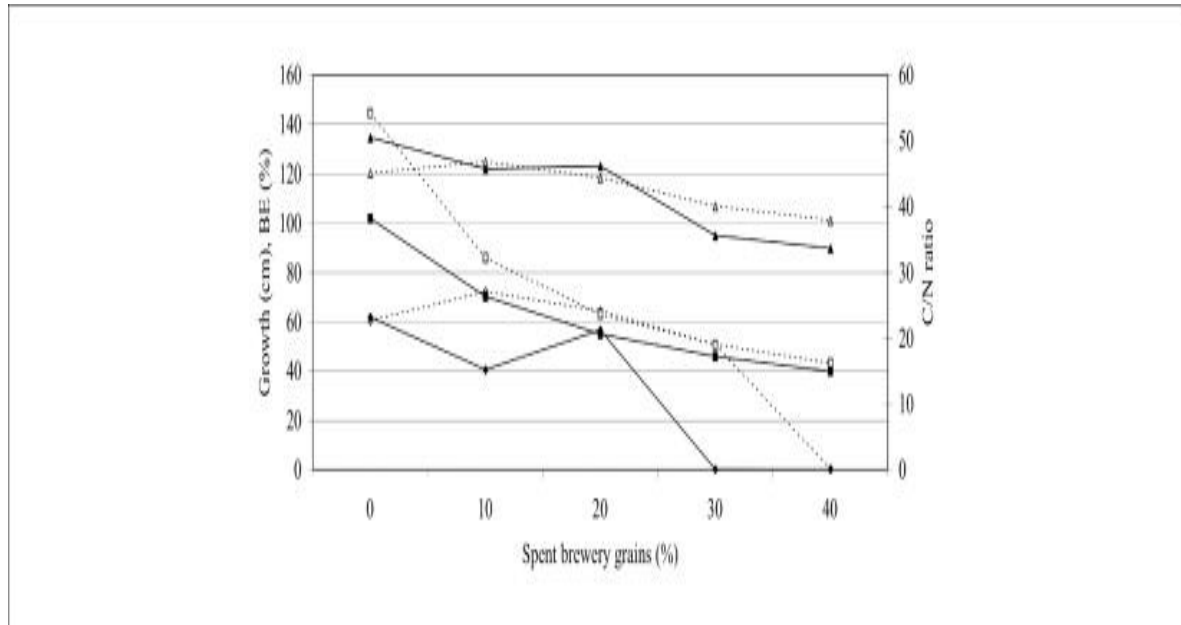
1.3.3 Βιολογική αποτελεσματικότητα

Διάφορες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί για τον *P. ostreatus*, με σκοπό τον προσδιορισμό της βέλτιστης σύνθεσης υποστρώματος για την καλλιέργεια του μύκητα. Οι Gregori et al. (2008) μελέτησαν υποστρώματα με διαφορετικές αναλογίες φρέσκου BSG, πίτουρο σίτου (WB), πριονίδι οξιάς (BS) και CaCO₃, αξιολογώντας τον ρυθμό ανάπτυξης του μυκηλίου και τη βιολογική αποτελεσματικότητα (BE) των καρποφοριών.



Διάγραμμα 1. Ανάπτυξη μυκηλίου σε υποστρώματα με 20% WB και διαφορετικές αναλογίες %BSG.

Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 2, η ταχύτερη ανάπτυξη μυκηλίου καταγράφηκε στο υπόστρωμα που περιείχε 10% BSG, 20% WB, 68% BS και 2% CaCO₃. Τα καρποφόρα σώματα που λήφθηκαν από αυτό το υπόστρωμα έδωσαν και τη μεγαλύτερη τιμή BE σε ποσοστό 51%. Στα υποστρώματα με περιεκτικότητα 30%WB, η υψηλότερη τιμή της BE ανιχνεύθηκε σε υπόστρωμα αποτελούμενο από 20%BSG, πριονίδι και CaCO₃. Υποστρώματα με 30%WB και 30 ή 40%BSG, καθώς και υποστρώματα με περιεκτικότητα 20%WB και 40%BSG κατέγραψαν πρωταρχικό σχηματισμό αλλά δεν υπήρξε ανάπτυξη καρπών. Σε όλα τα παραπάνω υποστρώματα, τα οποία δεν απέδωσαν καρπούς, καταγράφηκε λόγος C/N<17.

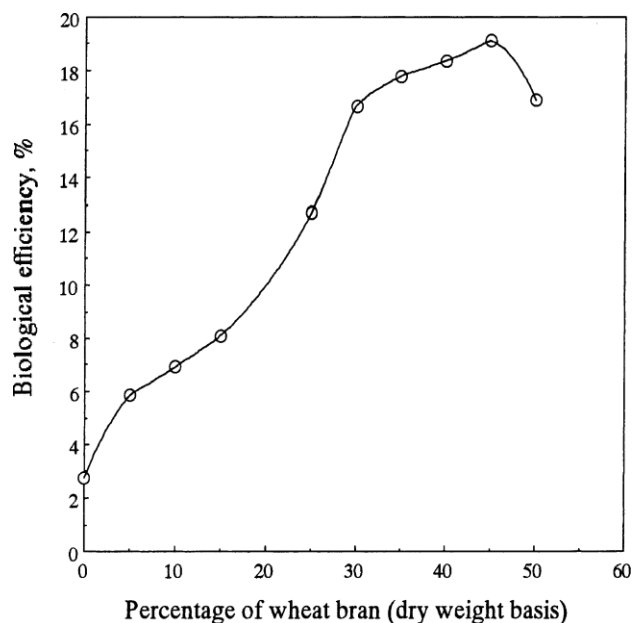


Διάγραμμα 2. BE (◆ και ◇) των καρπών, ανάπτυξη μυκηλίου (▲ και △) και αναλογία C/N (■ και □) σε υποστρώματα με διαφορετικές αναλογίες %BSG. Τα υποστρώματα με περιεκτικότητα 20% WB διαγράφονται με διακεκομμένες γραμμές και κενά σύμβολα, ενώ τα υποστρώματα με 30% WB με πλήρεις γραμμές και σύμβολα.

Οι Wang et al. (2001) χρησιμοποίησαν τα BSG ως βασικό υλικό για την καλλιέργεια του μύκητα *P. ostreatus*, μελετώντας τις επιδράσεις των τύπων BSG, τα πρόσθετα, την περιεκτικότητα του υποστρώματος σε υγρασία και την πυκνότητα συσκευασίας στην απόδοση και τη διατροφή των καρπών. Η υψηλότερη BE (19,1%) του μύκητα καταγράφηκε σε υπόστρωμα αποτελούμενο από 45% WB και 55% BSG, αναλογίες στις οποίες δεν υπήρξαν αποτελέσματα στην έρευνα των Gregori et al. (2008). Οι διακυμάνσεις αυτές στα αποτελέσματα των πειραμάτων, πιθανόν να οφείλονται είτε στη χημική σύνθεση των BSG, είτε στο στέλεχος του μύκητα που καλλιεργείται, είτε στον διαφορετικό ορισμό της BE από τους συγγραφείς.

Οι συγγραφείς κατέγραψαν ότι υπήρχε θετική συσχέτιση μεταξύ BE και αποικοδόμηση κυτταρίνης και ημικυτταρίνης και αρνητική σχέση μεταξύ BE και αποικοδόμηση λιγνίνης. Οι χημικές αναλύσεις των καρποφόρων σωμάτων έδειξαν ότι ο μύκητας που καλλιεργήθηκε σε BSG είχε υψηλότερη θρεπτική αξία σε σχέση με τους άλλους τύπους υποστρωμάτων, με συνολική περιεκτικότητα αμινοξέων 347.5 mg/g επί ξ.β. και ακατέργαστες πρωτεΐνες 53.3% επί ξ.β., με αποτέλεσμα ο *P. ostreatus* να αυξήσει την ακατέργαστη πρωτεΐνη των καρπών, μειώνοντας ταυτόχρονα την αναλογία λιγνίνης προς κυτταρίνη του υποστρώματος.

Η μεγαλύτερη BE καταγράφηκε στον τύπο A των BSG, έναντι των άλλων δύο τύπων, ξεπερνώντας ακόμα και τον μάρτυρα. Για το υπόστρωμα που επιλέχθηκε, μελετήθηκε το ποσοστό WB που προστέθηκε στα BSG μέσω της BE, λαμβάνοντας τη μέγιστη BE σε ποσοστό 45% WB.



Διάγραμμα 3. Μεταβολή της BE σε διαφορετικές αναλογίες %WB (τύπος A των BSG).

1.3.4 Αλλαγές στη σύνθεση των υπολειμμάτων βύνης κατά την καλλιέργεια

Από τις βιβλιογραφικές αναφορές συμπεραίνουμε πως η ανάπτυξη στελεχών βασιδιομυκήτων προκαλεί μείωση του pH του υποστρώματος, στο οποίο καλλιεργούνται. Για τον *P. ostreatus* το βέλτιστο pH για μυκηλιακή ανάπτυξη και επακόλουθη καρποφόρα ανάπτυξη σώματος, κυμαίνεται μεταξύ 6.5-7, μετά την προσθήκη βελτιωτικών. Με τον αποικισμό των μυκήτων, το pH του υποστρώματος μειώνεται σε τιμές κοντά στο 4, (Kalmis et al., 2008).

Για την ορθή ανάπτυξη των μυκήτων, θα πρέπει να υπάρχει μια ισορροπία στο υπόστρωμα, μεταξύ άνθρακα και αζώτου. Η τιμή του άνθρακα στην αναλογία C/N, αντιπροσωπεύει το συνολικό άνθρακα που περιέχεται στο υπόστρωμα, συμπεριλαμβανομένων της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης (Ryu et al., 2015). Επιπλέον, η προσθήκη συμπληρωμάτων μπορεί να αυξήσει τις τιμές της παραγωγικότητας και της βιολογικής αποτελεσματικότητας του μύκητα, καθώς προωθεί την ανάπτυξη του μυκηλίου, μέσω της προσαρμογής της αναλογίας C/N του υποστρώματος που χρησιμοποιείται (Donini et al., 2009).

Ο λόγος C/N κατά την ανάπτυξη βασιδιομυκήτων σε λιγνοκυτταρινούχα υλικά είναι επαρκής σε αναλογία 50/1 και για δύο στάδια (Block et al., 1958). Έχει αποδειχθεί ότι το άχυρο αποτελεί το απλούστερο θρεπτικό υπόστρωμα (Zadrazil, 1978) με χαμηλό επίπεδο αζώτου και χαμηλή περιεκτικότητα σε λιγνίνη (Philippoussis et al., 2001). Ως εκ τούτου, η προσθήκη συμπληρωμάτων και βελτιωτικών αυξάνει την περιεκτικότητα του υποστρώματος σε άζωτο, με αποτέλεσμα τον μεγαλύτερο και πιο έντονο αποικισμό από το μύκητα.

Προηγούμενες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί, υποδεικνύουν τη θετική επίδραση του αζώτου σε χαμηλότερες αναλογίες C/N κατά την καρποφορία του *P. ostreatus* (Belletini et al., 2016), γεγονός που συμβαίνει καθώς ο μύκητας έχει καταναλώσει μέρος του άνθρακα και του αζώτου από το υπόστρωμα κατά την μυκηλιακή του ανάπτυξη. Σύμφωνα με τους Eira & Bueno (2005), η αναλογία C/N υποστρωμάτων με άχυρο και αγροβιομηχανικά απόβλητα, συνήθως

κυμαίνεται μεταξύ 25-50/1 πριν την καλλιέργεια του μύκητα, ενώ μετά τη συγκομιδή περιορίζονται σε αναλογίες 16-17/1.

Οι Wang et al. (2001) ανέφεραν ότι στα καρποφόρα σώματα *P. ostreatus* που παράχθηκαν, η περιεκτικότητα λιγνίνης και κυτταρίνης ήταν αυξημένη σε σχέση με την περιεκτικότητα του υποστρώματος πριν την καλλιέργεια, ενώ ο λόγος της λιγνίνης προς την κυτταρίνη του υποστρώματος μειώθηκε μετά την καλλιέργεια. Σε άλλες μελέτες παρατηρήθηκε αύξηση της ακατέργαστης πρωτεΐνης στους καρπούς, μετά την καλλιέργεια του *P. ostreatus*, αποδίδοντας τη συσσώρευση αυτή ως αποτέλεσμα της μεταβολικής δραστηριότητας του αναπτυσσόμενου μυκηλίου και της αποσύνθεσης του υποστρώματος σε CO₂ και H₂O (Zadrzazil & Dube, 1992).

Σημαντικό ρόλο στην καλλιέργεια του *P. ostreatus* κατέχει η απώλεια βάρους του υποστρώματος. Όταν οι τιμές της απώλειας βάρους είναι υψηλές (~50%), σημαίνει πως ο μύκητας δε χρησιμοποίησε σχεδόν καθόλου την κυτταρίνη για την ανάπτυξη του. Σε ακόμα μεγαλύτερες τιμές απώλειας βάρους, πιθανόν ο μύκητας να μην αποικοδόμησε ούτε τη λιγνίνη, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στην ύπαρξη επαρκούς πηγής άνθρακα στο υπόστρωμα. Τέτοιες περιπτώσεις αποτελούν λόγο για υψηλότερη βιολογική αποτελεσματικότητα των καρποφοριών (Wang et al., 2000).

Στο βιβλιογραφικό υλικό, υπάρχουν ελάχιστες αναφορές σχετικά με τον προσδιορισμό της μείωσης της περιεκτικότητας σε σάκχαρα στα υπολείμματα βύνης. Ως επί των πλείστων, καθορίζεται, η συνολική περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες. Οι Gencheva et al. (2012), καθόρισαν το περιεχόμενο της μείωσης των σακχάρων που υπάρχουν σε αναλωμένη βύνη με τη μέθοδο DNS, λαμβάνοντας ως αποτέλεσμα 24 mg/g ξηράς ύλης. Επιπλέον, ανέφεραν ότι η υπερβολική πλύση αυτού του υπολείμματος προκειμένου να αυξηθεί το εκχύλισμα μούστου, μειώνει στο ελάχιστο την περιεκτικότητα αναγωγικών σακχάρων σε αυτά τα απόβλητα. Σύμφωνα με τους White et al. (2008), τα ολικά σάκχαρα των αναλωμένων σιτηρών ζυθοποιίας καλύπτουν περίπου το 50% του ξηρού βάρους του υποστρώματος, ενώ μια αποτελεσματική υδρόλυση, μπορεί να αποφέρει μείωση πάνω από 50 g/100 g υποστρώματος.

Οι Ergun et al. (2017), ερεύνησαν την καλλιέργεια του μύκητα *P. ostreatus* σε φλούδες πατάτας και ανέφεραν ότι η μείωση της περιεκτικότητας σε σάκχαρα, γλυκόζη και άζωτο, πραγματοποιήθηκε απότομα την 3^η ημέρα και έγινε σχεδόν σταθερή τις επόμενες ημέρες. Συνεπώς, η SSF έφτασε στην περιορισμένη παραγωγή άνθρακα και αζώτου, η οποία είναι ιδανική κατάσταση για την παραγωγή ενζύμων. Σύμφωνα με τα δεδομένα αυτά, επεξηγείται ότι ο *P. ostreatus* είναι σε θέση να μεταβολίζει τα υπάρχοντα σάκχαρα στο φρέσκο υπόστρωμα.

Η παρουσία των μεταβολιζόμενων σακχάρων, θα μπορούσε να προκαλέσει στο μύκητα την παραγωγή λιγνολυτικών ενζύμων, λαμβάνοντας την πηγή άνθρακα και έχοντας τους επαγωγείς της σύνθεσης ενζύμων (Akpinar et al., 2014). Οι περίοδοι παραγωγής των λιγνολυτικών ενζύμων εμφανίζονται μετά τον περιορισμό των θρεπτικών ουσιών, ιδιαίτερα του άνθρακα και του αζώτου.

Έχει αποδεχθεί ότι ο *P. ostreatus* είναι ικανός να μεταβολίζει τα σάκχαρα του υποστρώματος, οδηγώντας σε γρήγορη κατανάλωση ζάχαρης, ακολουθούμενη από αύξηση των επιπέδων ενεργότητας των ενζύμων λακκάσης και υπεροξειδάσης του μαγγανίου. Συνεπώς, ο μύκητας φαίνεται να αντιδρά με την εξάντληση του σακχάρου, παράγοντας ένζυμα που εμπλέκονται στην υδρόλυση των πολυσακχαριτών (Landolo et al., 2011).

1.4 Σκοπός της εργασίας

Πρωταρχικός στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η συγκέντρωση και ανάλυση της βιβλιογραφίας για τη χρήση βιολογικών παραγωγών στην παραγωγή μανιταριών και η αξιολόγηση της γραμμικής αύξησης μυκηλίου του μύκητα *Pleurotus ostreatus* σε διαφορετικές αναλογίες άχυρου σίτου και αναλωμένων σιτηρών ζυθοποιίας, με σκοπό την διαλογή του περισσότερο ευνοϊκού περιβάλλοντος για την καλλιέργεια του μύκητα. Επιχειρήθηκε και μια δοκιμή παραγωγής, λόγω όμως των μέτρων εν μέσω πανδημίας και της απαγόρευσης μετακινήσεων δεν ήταν δυνατή η προσέλευση στο ίδρυμα και έτσι έγινε σε ιδιωτικό χώρο, χωρίς τη δυνατότητα ρύθμισης της υγρασίας, γεγονός το οποίο δεν επέτρεψε την πλήρη καρποφορία.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε μια σύντομη οικονομοτεχνική προσέγγιση που αφορά μια επιχείρηση καλλιέργειας μανιταριών, συστεγασμένη σε ήδη υπάρχον ζυθοποιείο. Στόχος της προσέγγισης αυτής ήταν η εξαγωγή συμπερασμάτων για τη βιωσιμότητα και την ικανότητα κερδοφορίας μια τέτοιας παράλληλης επιχείρησης, διαμέσου των μέσων τιμών της τρέχουσας αγοράς.

2. Πειραματικό μέρος

2.1 Προετοιμασία υποστρώματος

Η προετοιμασία του υποστρώματος περιλαμβάνει την παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος PDA, κατάλληλου για την δημιουργία του εμβολίου μέσα σε τρυβλία, την μετέπειτα παρασκευή σπόρου για τον εμβολιασμό και την καλλιέργεια του μύκητα, καθώς και την επιλογή του κατάλληλου υποστρώματος για την καλλιέργεια του μύκητα.

2.1.1 Παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος

Για την απομόνωση και ανάπτυξη του μύκητα *P. ostreatus* χρησιμοποιήθηκε το θρεπτικό υλικό Potato Dextrose Agar (PDA). Πρόκειται για έναν σύνθετο πολυσακχαρίτη που λαμβάνεται από ερυθροφύκη. Έχει το πλεονέκτημα να τίκεται στους 100°C, δηλαδή διατηρείται στερεό σε όλες τις περιοχές θερμοκρασίας που καλλιεργούνται τα μικρόβια και όταν υγροποιείται, στερεοποιείται στους 44°C.

Υλικά και όργανα

- 300 gr πατάτες
- 20 gr δεξτρόζη
- 15 gr άγαρ
- 0.1 gr CaCO₃
- 1L απιονισμένο νερό
- Πλαστικός αναδευτήρας
- Γυάλινες φιάλες
- Βαμβάκι
- Αλουμινόχαρτο
- Λύχνος Bunsen
- Χύτρα ταχύτητας
- Parafilm
- Τρυβλία Petri

Εκτέλεση

300 gr καθαρισμένης και πλυμένης πατάτας τεμαχίστηκαν σε μικρούς κύβους και έβρασαν σε 1L απιονισμένο νερό για 25 λεπτά. Παραλήφθηκε το εκχύλισμα της πατάτας με διήθηση, το οποίο συμπληρώθηκε με απιονισμένο νερό μέχρι ο όγκος του να φτάσει το 1L. Το εκχύλισμα, αραιωμένο πλέον, αναμίχθηκε με τα υπόλοιπα υλικά (20 gr δεξτρόζης, 15 gr άγαρ και 0.1 gr CaCO₃) μέσα σε γυάλινο σκεύος σε χαμηλή θερμοκρασία με απαλή ανάδευση, μέχρι να προκύψει ένα ομοιογενές διάλυμα. Στη συνέχεια πληρώθηκε σε γυάλινες φιάλες, πωματίστηκε με υδρόφοβο βαμβάκι (για ανταλλαγή αερίων και προφύλαξη από παθογόνους παράγοντες) και αλουμινόχαρτο και αποστειρώθηκε στους 121 °C με πίεση 1.1 atm. σε χύτρα ταχύτητας για 20 λεπτά. Το μίγμα αφέθηκε να κρυώσει και η μέτρηση του pH ήταν 6.5. Όταν το μίγμα κρύωσε, το θρεπτικό υλικό μοιράστηκε σε τρυβλία Petri ασηπτικά, τα οποία σφραγίστηκαν με παραφίλμ για την αποφυγή εξωτερικών μολύνσεων.

2.1.2 Παρασκευή εμβολίου

Για την παρασκευή του εμβολίου χρησιμοποιήθηκε κομμάτι από το εσωτερικό του μανιταριού *P. ostreatus*.

Υλικά και όργανα

- Τυβλία petri
- Μανιτάρι *P. ostreatus*
- Νυστέρι
- Parafilm
- Καθαρό οινόπνευμα
- Λύχνος Bunsen

Εκτέλεση

Φρέσκο μανιτάρι εμπορίου *P. ostreatus* αφού απολυμάνθηκε με καθαρό οινόπνευμα, τεμαχίστηκε με τη βοήθεια νυστεριού. Λήφθηκαν κομμάτια από το εσωτερικό μέρος του καρπού ασηπτικά, με τα οποία εμβολιάστηκαν τα τρυβλία με το θρεπτικό υλικό. Τα τρυβλία επανασφραγίστηκαν με παραφίλμ και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο επώασης με σταθερή θερμοκρασία ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$) μέχρι να καλυφθεί όλο το θρεπτικό υλικό με μυκήλιο.

Πραγματοποιήθηκε έλεγχος των τρυβλίων τις πρώτες 3-6 ημέρες για μολύνσεις από βακτήρια, ζύμες και άλλους μύκητες. Το αρχικό καθαρό μυκήλιο που δημιουργήθηκε από φρέσκο μανιτάρι, ανακαλλιεργήθηκε σε νέο τρυβλίο με τη βοήθεια νυστεριού σε σχήμα κύβου ξεκινώντας από την περιφέρεια του τρυβλίου (νεαρότερο μυκήλιο), πριν την τελική φύλαξη του μυκηλίου του μανιταριού σε ψυγείο στους 4°C .

2.1.3 Παρασκευή σπόρου

Για την καλλιέργεια του μύκητα είναι απαραίτητη η παραγωγή σπόρου (συνήθως σιτάρι), αποικισμένου με το συγκεκριμένο στέλεχος. Για την παρασκευή του σπόρου (grain spawn) χρησιμοποιήθηκαν 2 γυάλινα βάζα, σιτάρι και το εμβόλιο από τα τρυβλία petri.

Υλικά και όργανα

- Γυάλινα βάζα (485gr)
- Ηλεκτρικό τρυπάνι
- Νυστέρι
- Χύτρα ταχύτητας
- Τρυβλία Petri με εμβόλιο
- Σιτάρι
- Βαμβάκι
- Αλουμινόχαρτο
- Ανθρακικό ασβέστιο CaCO_3
- Θειϊκό ασβέστιο CaSO_4

Εκτέλεση

Με το ηλεκτρικό τρυπάνι δημιουργήθηκε μία τρύπα 9 mm στο πόμα του κάθε βάζου, όπου διοχετεύτηκε βαμβάκι για να μπορεί να περνάει οξυγόνο στο υπόστρωμα και ταυτόχρονα να το προφυλάσσει από τοξικούς παράγοντες. Έπειτα ακολούθησε μούλιασμα του σίτου για 12 ώρες και βρασμός για 15 λεπτά. Αφού στραγγίστηκε, αφέθηκε για περίπου μία ώρα και πληρώθηκε στα βάζα καλύπτοντας τα 3/4 του όγκου των βάζων και προστέθηκε 4% CaCO₃ (w/w) και 2% CaSO₄ (w/w). Ακολούθησε πωματισμός και τοποθετήθηκε αλουμινόχαρτο καλύπτοντας το πόμα και αποστείρωση στους 121 °C με πίεση 1.1 atm σε χύτρα ταχύτητας για 90 λεπτά. Στη συνέχεια, όταν το περιεχόμενο των βάζων έφτασε σε θερμοκρασία δωματίου (περίπου 25°C), εμβολιάστηκαν ασηπτικά με τα στελέχη. Το εμβόλιο παραλήφθηκε από τρυβλίο με PDA, με τη βοήθεια νυστεριού, ξεκινώντας από την περιφέρεια του τρυβλίου (νεαρότερο μυκήλιο) και ο σπόρος επωάστηκε σε σκοτεινό θάλαμο με σταθερή θερμοκρασία (27±2°C) για περίπου 1 μήνα, μέχρι να αποικιστεί πλήρως. Κάθε 3 μέρες πραγματοποιούνταν έλεγχος των βάζων για τυχόν μολύνσεις (Philippoussis, et al., 2001).

2.1.4 Παρασκευή υπολειμμάτων βύνης

Για την παρασκευή των υπολειμμάτων χρησιμοποιήθηκε βύνη Βεργίνα Blonde, η οποία αλέστηκε σε μύλο άλεσης ρυθμισμένο στα 9 mm και ακολουθήθηκε η διαδικασία παραγωγής μύρας μέχρι το στάδιο της διήθησης για την παραλαβή των αποβλήτων. Η Βεργίνα Blonde είναι μία βύνη που χρησιμοποιείται κατά κόρον από πολλά μικρά ζυθοποιεία σε όλη την Ελλάδα καθώς και από την ίδια ζυθοποιία που την παράγει, σε όλες τις μύρες της. Πρόκειται για μία βύνη βάσης (τύπου Pilsner), συνεπώς χρησιμοποιείται σε μεγάλες ποσότητες στην παραγωγική διαδικασία και ο λόγος της εκτεταμένης χρήσης της είναι η υψηλή ποιότητα της, η μειωμένη τιμή της σε σχέση με άλλα εισαγόμενα προϊόντα, ενώ σαν εγχώριο προϊόν, είναι διαρκώς και άμεσα διαθέσιμο.

Υλικά και όργανα

- Βύνη Βεργίνα Blonde 5 kg
- Σύστημα ζυθοποίησης BIAB
- Επιτραπέζιο νερό 30 L
- Πλαστικός αναδευτήρας
- Ανθρακικό ασβέστιο CaCO₃

Εκτέλεση

Τοποθετήθηκαν 20 L νερού στο σύστημα ζυθοποίησης και πραγματοποιήθηκε αύξηση θερμοκρασίας στους 65°C. Όταν η θερμοκρασία έφτασε στο επιθυμητό όριο, έγινε η προσθήκη της αλεσμένης βύνης σταδιακά, με απαλή ανάδευση και ανακυκλοφορία του μίγματος μέχρι να ομογενοποιηθεί. Η διαδικασία της πολτοποίησης διήρκησε 2 ώρες και στη συνέχεια έλαβαν χώρα η ανακυκλοφορία του γλεύκους, για τη δημιουργία του στρώματος των υπολειμμάτων, η διήθηση του γλεύκους (φιλτράρισμα) μέσω του στρώματος για τη μείωση της θολερότητας του, καθώς και η έκπλυση των υπολειμμάτων με νερό (10 L) για την παραλαβή όσο το δυνατόν περισσότερων στοιχείων από τη βύνη. Από τα υπολείμματα αφαιρέθηκε η περίσσεια υγρασίας και αφέθηκαν να κρυσώσουν, ενώ προστέθηκε 4% CaCO₃ (w/w) για τη ρύθμιση του pH.

2.2 Καλλιέργεια μύκητα

2.2.1 Καλλιέργεια μύκητα σε race tubes

Για την επιλογή του κατάλληλου υποστρώματος, δημιουργήθηκαν υποστρώματα με διαφορετικές αναλογίες άχρου και υπολείμμάτων βύνης σε ποσοστά:

1. 75% άχρο-25% υπολείμματα
2. 50% άχρο-50% υπολείμματα
3. 25% άχρο-75% υπολείμματα
4. 100% άχρο

Το υπόστρωμα με 100% άχρο χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας, καθώς αποτελεί το πιο συνηθισμένο υπόστρωμα καλλιέργειας του συγκεκριμένου στελέχους.

Υλικά και όργανα

- Υπολείμματα βύνης
- Άχρο
- Γυάλινοι σωλήνες (race tubes)
- Ανθρακικό ασβέστιο
- Βαμβάκι
- Χύτρα ταχύτητας
- Νυστέρι
- Τρυβλία petri με εμβόλιο

Εκτέλεση

Αρχικά το άχρο τεμαχίστηκε σε 2-5 cm και ακολούθησε η διαβροχή του για 24 ώρες. Έπειτα πραγματοποιήθηκε η στράγγιση της περίσσειας νερού μέχρι η υγρασία να φτάσει στο 60-80 % και αναμείχθηκε με τα υπολείμματα βύνης στις 3 διαφορετικές αναλογίες, ενώ προστέθηκαν συμπληρώματα (10% πίτουρου σίτου για να ρυθμιστεί ο λόγος άνθρακα/αζώτου (C/N) και να εμπλουτιστεί το υπόστρωμα με θρεπτικά συστατικά, καθώς και 1% CaCO₃ για να ρυθμιστεί το pH σε ικανοποιητικό επίπεδο ανάπτυξης). Τα υλικά πληρώθηκαν σε γυάλινους σωλήνες (race tubes) διαμέτρου 15.5 mm και μήκους 150 mm (2 σε κάθε αναλογία) και πωματίστηκαν με βαμβάκι. Ακολούθησε αποστείρωση σε χύτρα ταχύτητας στους 121 °C και πίεση 1,1 atm για 1 ώρα. Έπειτα αφέθηκε να φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου και πραγματοποιήθηκε ο εμβολιασμός με γόνο σε σχήμα κύβου, με τη βοήθεια νυστεριού σε ασηπτικές συνθήκες από τρυβλία με PDA. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες επώαστηκαν στους 27±2°C για 30 ημέρες, ενώ κάθε δύο ημέρες γινόταν μετρήσεις (mm/day) της γραμμικής ταχύτητας αύξησης μυκηλίου σε 4 αντιδιαμετρικά σημεία κάθε σωλήνα. Η τελική τιμή αποτελεί το μέσο όρο των 2 σωλήνων σε κάθε αναλογία. Έπειτα, πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση του ρυθμού ανάπτυξης του μυκηλίου στους δοκιμαστικούς σωλήνες και επιλέχθηκε το καταλληλότερο υπόστρωμα για τον μύκητα *P. ostreatus* (Philippoussis et al., 2001).

2.2.2 Παρασκευή υποστρώματος και καλλιέργεια μύκητα σε βάζα

Για την παρασκευή του υποστρώματος χρησιμοποιήθηκαν τα υπολείμματα βύνης, καθώς και άχυρο ψιλοκομμένο σε 2-5 cm.

Υλικά και όργανα

- Άχυρο
- Υπολείμματα βύνης
- Πίτουρο σίτου
- Ανθρακικό ασβέστιο (CaCO_3)
- Γυάλινα βάζα
- Σπόρος *Pleurotus*
- Χύτρα ταχύτητας

Εκτέλεση

Η παρασκευή του υποστρώματος περιλαμβάνει τη διαβροχή του αχύρου για 24 ώρες και έπειτα τη στράγγιση της περίσσειας νερού μέχρι η υγρασία να φτάσει στο 70%. Ακολουθεί η ανάμειξη του αχύρου με τα υπολείμματα βύνης και η προσθήκη των βελτιωτικών (10% (w/w) πίτουρο σίτου και 1% (w/w) CaCO_3). Έπειτα το υπόστρωμα πληρώθηκε σε βάζα, με πυκνότητα συσκευασίας 60% του όγκου του βάζου και αποστειρώθηκε στους 121 °C με πίεση 1.1 atm σε χύτρα ταχύτητας για 120 λεπτά (Wang et al., 2000). Ακολούθησε η ψύξη των βάζων και όταν απέκτησαν θερμοκρασία δωματίου (25°C), εμβολιάστηκαν με grain spawn, σε ποσοστό 3-5% (w/w) του συνολικού όγκου του υποστρώματος. Τα εμβολιασμένα υποστρώματα επωάστηκαν σε σκοτεινό θάλαμο στους 27±2°C, μέχρι να αποικιστεί πλήρως το υπόστρωμα.

3. Αποτελέσματα

3.1 Παρασκευή εμβολίου

Για την παρασκευή του εμβολίου χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία petri με θρεπτικό υλικό PDA, στα οποία αναπτύχθηκε ο μύκητας *P. ostreatus*. Μετά τον πλήρη αποικισμό του πρώτου τρυβλίου, πραγματοποιήθηκε ανακαλλιέργεια σε νέο τρυβλίο για την παραλαβή του τελικού εμβολίου.



Εικόνα 9. Παραγωγή εμβολίου σε τρυβλία petri

3.2 Παρασκευή σπόρου

Το επόμενο στάδιο της καλλιέργειας αφορά την παρασκευή του grain spawn, για τον εμβολιασμό του υποστρώματος καλλιέργειας. Για την παρασκευή του grain spawn επιλέχθηκε το υπόστρωμα σίτου, καθώς αποτελεί ένα από τα συνηθέστερα υποστρώματα για παραγωγή σπόρου ωτοκίας. Η επώαση είχε διάρκεια περίπου 30 ημέρες, έως ότου το στέλεχος να αποικίσει πλήρως το υπόστρωμα.



Εικόνα 10. Παραγωγή σπόρου για τον εμβολιασμό του υποστρώματος

3.3 Καλλιέργεια μύκητα σε race tubes

3.3.1 Προσδιορισμός γραμμικής αύξησης μυκηλίου

Ο μύκητας *Pleurotus ostreatus* χρησιμοποιήθηκε για ανάπτυξη σε υποστρώματα αχύρου-υπολείμματων βύνης με διαφορετικές αναλογίες (75% άχυρο-25% υπολείμματα, 50% άχυρο-50% υπολείμματα, 25% άχυρο-75% υπολείμματα), με σκοπό να μελετηθεί ο ρυθμός της μυκηλιακής ανάπτυξης του μύκητα σε κάθε υπόστρωμα και να εντοπιστεί το καταλληλότερο υπόστρωμα για καλλιέργεια. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το υπόστρωμα 100% αχύρου, καθώς αποτελεί το πιο συνηθισμένο μέσο καλλιέργειας του συγκεκριμένου μύκητα και χρησιμοποιείται και σε εμπορική κλίμακα.



Εικόνα 11. Καλλιέργεια μύκητα σε δοκιμαστικούς σωλήνες και επιλογή υποστρώματος

Αξιόλογο ρυθμό ανάπτυξης (0,581 mm/day) ανέδειξε το στέλεχος του *P. ostreatus* στο υπόστρωμα 50% άχυρο-50% υπολείμματα, το οποίο είχε τη μικρότερη διαφορά από τον μάρτυρα (0,975 mm/day). Έπειτα ακολούθησε το υπόστρωμα 75% άχυρο-25% υπολείμματα, στο οποίο ο μύκητας παρουσίασε ρυθμό ανάπτυξης 0,484 mm/day, ενώ ο βραδύτερος ρυθμός

ανάπτυξης ανιχνεύτηκε από τον *P. ostreatus* στο υπόστρωμα 25% άχυρο-75% υπολείμματα με γραμμική αύξηση μυκηλίου 0,290 mm/day, όπως φαίνεται και στο Διάγραμμα 4.



Διάγραμμα 5. Προσδιορισμός γραμμικής αύξησης μυκηλίου

3.3.2 Επιλογή κατάλληλου υποστρώματος

Σύμφωνα με τα παραπάνω δεδομένα, το υπόστρωμα που επιλέχθηκε για την καλλιέργεια του *P. ostreatus* ήταν το 50% άχυρο-50% υπολείμματα βύνης, καθώς σε αυτό ο μύκητας κατείχε τον ταχύτερο ρυθμό ανάπτυξης. Η καλλιέργεια διήρκησε 17 ημέρες στο υπόστρωμα 50% άχυρο-50% υπολείμματα βύνης, μέχρι ο μύκητας να αποικίσει όλο το υπόστρωμα, 3 ημέρες περισσότερο από το μάρτυρα. Στο υπόστρωμα 75% άχυρο-25% υπολείμματα βύνης η διάρκεια επώασης ήταν 19 ημέρες, ενώ στο υπόστρωμα 25% άχυρο-75% υπολείμματα βύνης παρατηρήσαμε τη βραδύτερη διάρκεια επώασης 22 ημέρες.

3.4 Καλλιέργεια μύκητα και καρποφορία

Η δοκιμή καλλιέργειας του μύκητα *P. ostreatus* πραγματοποιήθηκε σε υπόστρωμα 50% άχυρο-50% υπολείμματα βύνης. Το συγκεκριμένο υπόστρωμα επιλέχθηκε, καθώς η γραμμική αύξηση μυκηλίου του μύκητα, ήταν γρηγορότερη από τα υπόλοιπα υποστρώματα. Κατά την καλλιέργεια του μύκητα η επώαση διήρκησε περίπου 20 ημέρες, ενώ η πρωιμότητα είχε διάρκεια 25 ημέρες.



Εικόνα 12. Εμφάνιση των πρώτων καρποφοριών

Το παρών πείραμα πραγματοποιήθηκε εν μέσω πανδημίας και λόγω των μέτρων και της απαγόρευσης δεν ήταν δυνατή η προσέλευση στο ίδρυμα. Συνεπώς, έλαβε χώρα σε ιδιωτικό χώρο, με τις επιτρεπτές συνθήκες καρποφορίας να διαφέρουν πολύ από τις επιθυμητές. Ως εκ τούτου, τα καρποφόρα σώματα που δημιουργήθηκαν δεν κατάφεραν να αναπτυχθούν, με αποτέλεσμα το πείραμα να μην ολοκληρωθεί πλήρως. Το σημαντικότερο πρόβλημα αποτέλεσε η διατήρηση της υγρασίας σε υψηλά επίπεδα.

4. Συζήτηση

4.1 Οικονομική και περιβαλλοντική καλλιέργεια

Τα τελευταία χρόνια παρατηρούνται αυξανόμενες προσπάθειες προς την επαναχρησιμοποίηση αγρο-βιομηχανικών υποπροϊόντων και οι λόγοι είναι τόσο οικονομικοί, όσο και περιβαλλοντικοί. Η τεχνολογία της μετατροπής υποπροϊόντων, βιομηχανικών και αγροτικών, σε λειτουργικά συστατικά, είναι ένας τομέας έρευνας με μεγάλες δυνατότητες και ευκαιρίες. Η βιοτεχνολογία εξελίσσεται ραγδαία, διασφαλίζοντας ότι τα υποπροϊόντα των βιομηχανιών δεν αποτελούν πλέον απόβλητα, αλλά μία πρώτη ύλη για την παραγωγή νέων προϊόντων προστιθέμενης αξίας. Μέσα σε αυτά τα υποπροϊόντα, κατατάσσονται και τα υπολείμματα βύνης ζυθοποιίας, τα οποία έχουν τις δικές τους δυνατότητες για βιώσιμη επαναχρησιμοποίηση μέσω βιοτεχνολογικών διεργασιών. Παρ' όλη αυτή την εξέλιξη όμως, τα BSG δεν κατέχουν υψηλή θέση στην βιοτεχνολογία και εξακολουθεί να υπάρχει άμεση ανάγκη για ανάπτυξη, μέσω της προσαρμογής σύγχρονων και αποτελεσματικών μεθόδων εκμετάλλευσης.

Από οικονομική άποψη, τα BSG είναι μια βιομάζα χαμηλής αξίας, με υψηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά, η οποία έχει τη δυνατότητα να ενισχύσει το οικονομικό επίπεδο των ζυθοποιείων, παράγοντας νέα, βελτιωμένα διατροφικά, ανθρώπινη και ζωική τροφή. Από κοινωνική άποψη, αποτελούν μια αποτελεσματική και ταυτόχρονα προσιτή εναλλακτική λύση για όλη την κοινωνία, μέσω της ανάκτησης βιοδραστικών ενώσεων και νέων λειτουργικών συστατικών, προωθώντας σημαντικά διατροφικά πρότυπα, με σεβασμό στο ανθρώπινο είδος, το ζωικό βασίλειο και το περιβάλλον.

Η καλλιέργεια μανιταριών αποτελεί μια γεωργική δραστηριότητα πρωτογενούς τομέα και ταυτόχρονα μια υψηλή τεχνολογική βιομηχανία, ενώ για μια επιτυχημένη καλλιέργεια απαιτείται τόσο πρακτική εμπειρία όσο και επιστημονικές γνώσεις. Πέραν της ενίσχυσης στο οικονομικό επίπεδο των ζυθοποιείων, η αγρο-βιομηχανική αυτή δραστηριότητα μπορεί να συμβάλει στη δημιουργία εισοδήματος και απασχόλησης και σε άλλα μέλη μιας κοινωνίας, όπως τα κατώτερα στρώματα και οι άνεργοι νέοι στις αναπτυσσόμενες χώρες.

Η διαθεσιμότητα γης δεν καθίσταται περιοριστικός παράγοντας στην καλλιέργεια μανιταριών, όπως στους περισσότερους τύπους πρωτογενούς παραγωγής, καθώς απαιτεί μικρό χώρο και χρησιμοποιεί συστήματα καλλιέργειας στοιβαγμένα σε ράφια. Ως εκ τούτου, η καλλιέργεια μανιταριών, μπορεί να πραγματοποιηθεί σε αστικό περιβάλλον και δεν απαιτεί αυξημένο κεφάλαιο, καθώς ένας μικρός χώρος, κατάλληλα διαμορφωμένος με ελεγχόμενες συνθήκες καλλιέργειας, θα μπορούσε να προσαρμοστεί πλήρως σε μια παραγωγική μονάδα.

Σε συνδυασμό λοιπόν με ένα υπόστρωμα που καθίσταται κατάλληλο για την καλλιέργειά τους και είναι άφθονο στην αγορά, με την αγοραστική του αξία είναι τόσο χαμηλή έως μηδενική, το όραμα μιας μονάδας καλλιέργειας μανιταριών μοιάζει εφικτό. Ιδίως, όταν τα τελευταία χρόνια, υπάρχει πίεση από όλα τα αναπτυσσόμενα κράτη προς τις βιομηχανίες για μείωση των ρύπων τους και ανακύκλωση των αποβλήτων τους, ενώ η Ευρωπαϊκή Ένωση επιδοτεί με σημαντικά ποσά τέτοιες προσπάθειες που ενισχύουν την βιωσιμότητα και την πράσινη επανάσταση, μέσω ολοκληρωμένων προγραμμάτων αγροτικής ανάπτυξης που στοχεύουν στην αντιμετώπιση της έλλειψης τροφίμων, την αύξηση της ποιότητας της ανθρώπινης υγείας και τη μείωση της ρύπανσης του περιβάλλοντος.

Τα προβλήματα αυτά οφείλονται στην κρίση που βιώνει η κοινωνία μας, καθώς ο πληθυσμός της γης αυξάνεται και ο πρωτογενής και δευτερογενής τομέας αδυνατεί να καλύψει τις ανάγκες του. Παράλληλα, η συνεχής καύση και ταφή των αγροτικών και βιομηχανικών αποβλήτων προκαλεί ολοένα και μεγαλύτερη μόλυνση του περιβάλλοντος, με αποτέλεσμα τη συνεχόμενη αύξηση των κινδύνων για την υγεία των ανθρώπων. Βλέποντας λοιπόν από μια άλλη οπτική γωνία τα υπολείμματα πρωτογενούς και δευτερογενούς παραγωγής, όχι σαν ένα απόβλητο, αλλά σαν έναν πόρο για την παραγωγή ανθρώπινης και ζωικής τροφής, θα μπορούσαν να ανοίξουν νέοι δρόμοι για τις μονάδες παραγωγής προϊόντων, τη βιοτεχνολογία, αλλά και ολόκληρη την κοινωνία.

Από την άλλη πλευρά, τόσο στη χώρα μας όσο και στο εξωτερικό, παρατηρείται τελευταία μια μεγάλη στροφή των καταναλωτών προς την αναζήτηση τοπικών προϊόντων, προϊόντων από μικρούς παραγωγούς, προϊόντων που δεν έχουν δεχτεί μεγάλη επεξεργασία, βιολογικών προϊόντων και προϊόντων με σύντομη ημερομηνία λήξης. Η τάση αυτή έχει να κάνει με την υποβάθμιση που δέχτηκαν τα προϊόντα λόγω της ανταγωνιστικής αγοράς, με τους παραγωγούς να μειώνουν την ποιότητα για να καταφέρουν τα προϊόντα τους να είναι προσιτά και ανταγωνιστικά. Ο λόγος αυτός, οδήγησε στη στροφή του καταναλωτικού κοινού στο χειροποίητο, στο ποιοτικό, στο εντόπιο. Συνεπώς, μια μικρή μονάδα παραγωγήςμανιταριών, θα μπορούσε να προσεγγίσει διάφορα καταστήματα τοπικών προϊόντων που στηρίζουν μικρούς παραγωγούς, καταστήματα βιολογικών προϊόντων, τοπικά market, καθώς και εκλεπτυσμένα εστιατόρια που δίνουν βάση στην πρώτη ύλη, με καταναλωτικό κοινό που αναζητά κάτι περισσότερο ποιοτικό.

4.2 Οικονομοτεχνική προσέγγιση για επαγγελματική καλλιέργεια

Ας υποθέσουμε ότι ένα ζυθοποιείο μπορεί να παράγει 1.000 λίτρα μύρα ανά παρτίδα και έχει 4 δοχεία ζύμωσης στη διάθεσή του. Συνεπώς, αν η διάρκεια παραγωγής είναι 30 ημέρες, μέχρι το προϊόν να είναι έτοιμο για κατανάλωση, σε ένα μήνα το ζυθοποιείο μπορεί να παράγει 4.000 λίτρα μύρα, το οποίο ισοδυναμεί με περίπου 1.000 κιλά υπολείμματα βύνης.

Σύμφωνα με το πείραμα μας, το ιδανικό υπόστρωμα για την καλλιέργεια του *P. ostreatus* αποδείχθηκε το 50% άχυρο σίτου – 50% υπολείμματα βύνης, με προσθήκη βελτιωτικών (10% πίτουρο σίτου και 1% ανθρακικό ασβέστιο) για την αύξηση απόδοσης της καλλιέργειας. Ως εκ τούτου, για 1.000 κιλά υπολείμματα βύνης, θα πρέπει να προστεθούν 1.000 κιλά άχυρο σίτου, 200 κιλά πίτουρο σίτου και 20 κιλά ανθρακικό ασβέστιο, δημιουργώντας ένα υπόστρωμα 2.220 κιλών. Από τα παραπάνω προκύπτει πως μια μονάδα παραγωγής που καλλιεργείμανιτάρια σε σάκους προπυλενίου 1 κιλού, θα χρειαστεί 2.220 σάκους.

Αν δεχτούμε ότι η μέση παραγωγή ανά καρποφόρο σάκο είναι 30% του βάρους του υποστρώματος, η παραγωγήμανιταριών θα φτάνει τα 0,33 κιλά ανά σάκο, ενώ η συνολική παραγωγή της καλλιέργειας, τα 732,6 κιλά. Θεωρητικά, κάθε κύκλος καλλιέργειαςμανιταριών διαρκεί 45-55 ημέρες, ενώ κατά τη διάρκεια ενός κύκλου καλλιέργειας, θα προστίθεται ένας δεύτερος κύκλος, εφόσον η παραγωγή μύρας πραγματοποιείται κάθε 30 ημέρες. Ως εκ τούτου, θα μπορούν να υπάρχουν 11 καλλιέργειες ετησίως.

Παράλληλα, η παραγωγή του grain spawn καθιστά αγορά σίτου, η οποία για ένα κύκλο καλλιέργειας 2.220 σάκων, υπολογίζεται περίπου στα 30 κιλά. Στην περίπτωση που ο καλλιεργητής αναλαμβάνει και τη διάθεση του προϊόντος, θα πρέπει να συμπεριλάβει και τα έξοδα μεταφορικών, με μέσο όρο 2 δρομολόγια την εβδομάδα για την κάλυψη των συνεργαζόμενων καταστημάτων.

Η παραπάνω προσέγγιση αφορά μια παράλληλη επιχείρηση, η οποία θα είναι ενσωματωμένη και στεγασμένη στην ήδη υπάρχουσα (ζυθοποιείο) και συνεπώς λειτουργικά και πάγια έξοδα όπως ρεύμα, ενοίκιο και εργατικά δε θα συμπεριληφθούν, καθώς θα είναι σχεδόν κοινά και για τις δυο επιχειρήσεις. Σε περίπτωση όπου η μονάδα παραγωγής είναι αυτόνομη, θα πρέπει να πραγματοποιηθεί διαφορετική προσέγγιση, καθώς θα χρειαστούν μεγαλύτερες εγκαταστάσεις και μεγαλύτερη ποσότητα παραγωγής για να καλυφθεί η μισθοδοσία 2-3 υπαλλήλων.

Επιπλέον, πιθανόν να υπάρχουν έξοδα για τα υπολείμματα βύνης και για τη μεταφορά αυτών και να απαιτείται συνεργασία με πολλαπλά διαφορετικά ζυθοποιεία για να καλυφθούν οι ανάγκες σε υπόστρωμα. Τέλος, θα πρέπει να λάβουμε υπόψιν και τα λειτουργικά και πάγια έξοδα που δε συμπεριλαμβάνονται στην παρούσα προσέγγιση, καθώς και το ύψος της επένδυσης για την εγκατάσταση της μονάδας, όπως ράφια για την τοποθέτηση των σάκων, σύστημα θέρμανσης-ψύξης ανάλογα με τις απαιτήσεις της εποχής και πιθανόν έναν κλίβανο υγρής αποστείρωσης.

Πίνακας 1. Συνολικά έξοδα ενός κύκλου καλλιέργειας

ΕΞΟΔΑ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ	ΤΙΜΗ
ΥΛΙΚΑ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ	2.220 (ΤΕΜΑΧΙΑ)	88 EUR
ΣΑΚΟΙ ΠΡΟΠΥΛΕΝΙΟΥ	2.220 (ΤΕΜΑΧΙΑ)	66 EUR
ΑΧΥΡΟ ΣΙΤΟΥ	1.000 (ΚΙΛΑ)	90 EUR
ΠΙΤΟΥΡΟ ΣΙΤΟΥ	200 (ΚΙΛΑ)	400 EUR
ΑΝΘΡΑΚΙΚΟ ΑΣΒΕΣΤΙΟ	20 (ΚΙΛΑ)	400 EUR
ΣΠΟΡΟΣ ΣΙΤΑΡΙΟΥ	30 (ΚΙΛΑ)	15 EUR
ΜΕΤΑΦΟΡΙΚΑ	50 (ΧΙΛΙΟΜΕΤΡΑ)	50 EUR
ΣΥΝΟΛΟ		1.109 EUR

Με παραγωγή 732,6 κιλά μανιτάρια ανά κύκλο καλλιέργειας και με μία μέση τιμή αγοράς 3 ευρώ ανά συσκευασία κιλού, προκύπτει ότι από έναν κύκλο καλλιέργειας, τα έσοδα της επιχείρησης υπολογίζονται περί τα 2.197,8 ευρώ. Αν από τα έσοδα της επιχείρησης, αφαιρέσουμε τα έξοδα, προκύπτει το μεικτό κέρδος EBITDA (κέρδος προ φόρων, προ προβλέψεων, προ αποσβέσεων), το οποίο αναλογεί σε 1.088,8 ευρώ, ενώ αν από το μεικτό κέρδος αφαιρέσουμε το φόρο, προκύπτει το καθαρό κέρδος της επιχείρησης, το οποίο αντιστοιχεί σε 947,2 ευρώ.

Πίνακας 2. Καθαρό κέρδος ενός κύκλου καλλιέργειας

ΕΣΟΔΑ	2.197,8 EUR
ΕΞΟΔΑ	1.109 EUR
ΜΕΙΚΤΟ ΚΕΡΔΟΣ (EBITDA)	1.088,8 EUR
ΚΑΘΑΡΟ ΚΕΡΔΟΣ	947,2 EUR

Συνεπώς, για ένα ζυθοποιείο με δυνατότητα παραγωγής 48.000 λίτρων μύρας ετησίως και αξιοποιήσιμο χώρο εντός του ζυθοποιείου για επέκταση της επιχείρησης, προκύπτει ότι το συνολικό καθαρό κέρδος της επιχείρησης μπορεί να αυξηθεί κατά 10.419,8 ευρώ ετησίως, μέσω της χρησιμοποίησης των υπολειμμάτων βύνης για την καλλιέργεια μανιταριών *Pleurotus*, έπειτα από 11 κύκλους καλλιέργειας.

4.3 Ερασιτεχνική καλλιέργεια

Σε περίπτωση όπου ένα ζυθοποιείο επιθυμεί να συμβάλει στην πράσινη επανάσταση, μέσω της αποτοξικοποίησης των αποβλήτων του, αλλά δεν διατίθεται να ακολουθήσει τη διαδικασία επαγγελματικής καλλιέργειας, δεν απαιτούνται τα έξοδα που προαναφέρθηκαν, καθώς και τα έξοδα για τις εγκαταστάσεις. Σε τέτοιες περιπτώσεις, η καλλιέργεια μπορεί να πραγματοποιηθεί σε υπαίθριο χώρο με ημιελεγχόμενες συνθήκες καλλιέργειας, χωρίς τη χρήση συμπληρωμάτων και βελτιωτικών.

Οι αποδόσεις φυσικά θα είναι μειωμένες και δε θα μπορούν να συναγωνιστούν αποδόσεις επαγγελματικής καλλιέργειας, εφόσον η παραγωγή είναι δευτερεύουσας σημασίας. Ακόμη και σε τέτοιου είδους καλλιέργειες ερασιτεχνικής κλίμακας, υπάρχουν δυνατότητες αύξησης των κερδών της επιχείρησης, μέσω της διάθεσης είτε των καρπών, είτε εκχυλισμάτων των καρπών, είτε ακόμα και των καρπών μαζί με το αναλωμένο υπόστρωμα ως ζωοτροφή σε μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας, πτηνοτροφίας, χοιροτροφίας, καθώς και εκτροφής βοοειδών.

Αρκετές μελέτες αναφέρουν τη χρήση μανιταριών ή εκχυλισμάτων μανιταριών ως ζωοτροφή σε ψάρια. Συμπληρώματα προστέθηκαν στη διατροφή των *Labeo rohita* και *Hemigrammus caudovittatus*, τα οποία τράφηκαν με 9% ιχθυάλευρο και 9% μανιτάρι, 9% ιχθυάλευρα και 9% σκουλήκι. Ο μάρτυρας που χρησιμοποιήθηκε ήταν 18% ιχθυάλευρο. Η διατροφή με γήινο σκουλήκι έδειξε περίπου 2 φορές υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης σε σύγκριση με το μάρτυρα, ενώ η διατροφή με μανιτάρι παρουσίασε αύξηση 1,2-1,7 φορές. Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ότι τόσο η διατροφή με γαιοσκώληκα όσο και με μανιτάρι μπορούν να αποτελέσουν ένα καλό συμπλήρωμα στη διατροφή ψαριών, μειώνοντας την ανάγκη για ιχθυάλευρο (Paripuram et al., 2011). Αντίθετα, εκχυλίσματα *L. edodes* και *P. ostreatus*, ενώ είχαν θετικές επιπτώσεις στις παραμέτρους της υγείας του κοτόπουλου, δεν προήγαγαν την ανάπτυξή του (Willis et al., 2004).

Συμπλήρωμα τροφής χοίρων ζυμωμένου μίγματος *P. Ostreatus* SMS με πίτουρο ρυζιού και κριθαριού έδειξε αρνητικές επιπτώσεις στην αύξηση βάρους σε ποσοστό μεγαλύτερο ή ίσο του 5%, ενώ το συμπλήρωμα 3% δεν είχε καμία επίδραση (Song et al., 2007). Αντίθετα, τα βοοειδή καταναλώνουν μόνο ένα μείγμα με 17% *P. ostreatus* SMS με βάση το άχυρο, το οποίο αυξάνει το βάρος τους, σε σύγκριση με άλλες αναλογίες SMS. Αυτό συμβαίνει γιατί όπως έχουν

αναφέρει διάφορα πειραματικά αποτελέσματα, οι μύκητες του γένους *Pleurotus* βελτιώνουν την πεπτικότητα του αχύρου λόγω της υποβάθμισης της λιγνίνης και της κυτταρίνης (Adamovic et al., 1998). Επιπλέον, η βελτιωμένη πεπτικότητα του αχύρου μπορεί να αντισταθμιστεί από την παρουσία μυκηλίου.

5. Συμπεράσματα

Το παρών πείραμα, λόγω της κατάστασης απαγόρευσης και περιοριστικών μέτρων εν μέσω πανδημίας, δεν κατάφερε να ολοκληρωθεί πλήρως. Συνεπώς, χημικές αναλύσεις υποστρώματος για την αξιολόγηση της αποτοξικοποίησής του από τον μύκητα *P. ostreatus* δεν πραγματοποιήθηκαν, όπως επίσης και μετρήσεις για τις καρποφορίες, καθώς παρά την εμφάνισή τους, δεν κατάφεραν να αναπτυχθούν. Οι μοναδικές μετρήσεις που καταγράφηκαν ήταν η διάρκεια επώασης (20 ημέρες) και η πρωιμότητα (25 ημέρες), οι οποίες ήταν αρκετά κοντά στις αναμενόμενες, σύμφωνα με τον Philippoussis (2009). Από τα αποτελέσματα αυτά προκύπτει το συμπέρασμα ότι η προσθήκη των BSG στο υπόστρωμα άχυρου δεν επηρέασε σημαντικά την ανάπτυξη του μύκητα. Τούτου λεχθέντος, πιθανόν και οι λοιπές παράμετροι (απόδοση και βιολογική αποτελεσματικότητα) που αφορούν τα καρποφόρα σώματα του *P. ostreatus*, να ήταν κοντά στις αναμενόμενες τιμές.

Από τα αποτελέσματα του πειράματος προκύπτει ότι το σιτάρι αποτελεί ένα αξιόλογο υπόστρωμα για την παρασκευή του grain spawn και τον μετέπειτα εμβολιασμό του κύριου υποστρώματος. Η καλλιέργεια του μύκητα σε race tubes και η μέτρηση της γραμμικής αύξησης μυκηλίου, υπέδειξαν ότι η αναλογία 50% άχυρο και 50% υπολείμματα βύνης αποτελεί ένα θρεπτικό υπόστρωμα για το στέλεχος *P. ostreatus* και την ανάπτυξή του.

Σύμφωνα με την οικονομοτεχνική προσέγγιση που παρουσιάστηκε παραπάνω, προκύπτει πως ένα ζυθοποιείο, με δυνατότητα παραγωγής 1.000 λίτρων ανά παρτίδα, μπορεί να αυξήσει την κερδοφορία του κατά περισσότερο από 10.000 ευρώ ετησίως, μέσω της αξιοποίησης των αποβλήτων του για την καλλιέργεια μανιταριών. Η προσέγγιση αυτή αφορά μια επιχείρηση καλλιέργειας μανιταριών και αξιοποίησης αποβλήτων ζυθοποιείου, ενσωματωμένη στην ήδη υπάρχουσα επιχείρηση παραγωγής ζύθου και ο λόγος που γίνεται με αυτόν τον τρόπο είναι για να παρακινήσει μικρά ζυθοποιεία, τα οποία αποτελούν αναπτυσσόμενο κλάδο στην Ελλάδα και ο όγκος των αποβλήτων τους είναι διαχειρίσιμος, να γίνουν φιλικότερα προς το περιβάλλον και να αυξήσουν την κερδοφορία τους.

Από την άλλη πλευρά, μια ξεχωριστή μονάδα αξιοποίησης αποβλήτων ζυθοποιείου για την παραγωγή και την προώθηση μανιταριών, απαιτεί κεφάλαιο για ενοικίαση χώρου, πρόσληψη υπαλλήλων, χώρο αποθήκευσης και επεξεργασίας υποστρώματος, μεταφορικά, αγορά υποστρώματος και αγορά οχήματος μεταφοράς υποστρώματος. Συνεπώς, όταν η επιχείρηση καλλιέργειας μανιταριών συνυπάρχει μέσα στο ίδιο το ζυθοποιείο από το οποίο προμηθεύεται σχεδόν το 50% των υλικών της, αποδεδειγμένα από πολλαπλά προβλήματα και έξοδα που θα δημιουργούνταν εάν επρόκειτο για ξεχωριστή μονάδα.

Ωστόσο, η δημιουργία ξεχωριστής μονάδας θα μπορούσε να δημιουργήσει υποδομές για μεγαλύτερη παραγωγή, εφόσον υπάρχει ο απαιτούμενος χώρος και διαμορφωθεί κατάλληλα. Σε μια τέτοια περίπτωση, η επιχείρηση μπορεί να απευθύνεται σε περισσότερα ζυθοποιεία για την κάλυψη των αναγκών της σε υπόστρωμα και πιθανόν με σωστή διαχείριση να μπορεί να αποσβέσει το αρχικό κεφάλαιο επένδυσής της σε σύντομο χρονικό διάστημα. Για μια ξεχωριστή μονάδα παραγωγής μανιταριών, θα πρέπει να πραγματοποιηθεί διαφορετική οικονομοτεχνική προσέγγιση για την εξαγωγή συμπερασμάτων που αφορούν τη βιωσιμότητα και την ικανότητα κερδοφορίας της.

6 Βιβλιογραφία

- Adamovic M, Grubic G, Protic R, Sretenovic L (1998). The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding. *Anim feed Sci Technol* 71:357-362
- Aknipar M, Ozturk Urek R. Extracellular ligninolytic enzymes production by *Pleurotus eryngii* on agroindustrial wastes. *Prep Biochem Biotech.* 2014;44:772-781. doi: 10.1080/10826068.2013.867870
- Akyuz M., Kirbag S. (2010). Nutritive value of wild edible and cultured mushrooms. *Turk J Biol* 34: 97-102
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W. & Blackwell, M. (1996). *Introductory Mycology* (4th ed.)
- Baig K.S., (2020) Interaction of enzymes with lignocellulosic materials: causes, mechanism and influencing factors. *Bioresources and bioprocessing* vol. 7:21
- Balan V, Sousa LDC, Chundawat SPS, Marshall D, Sharma LN, Chambliss CK, Dale BE: Enzymatic digestibility and pretreatment degradation products of AFEX-treated hardwoods (*Populus nigra*). *Biotechnol Prog* 2009, 25: 365-375
- Bartolome, B., Gomez-Cordoves, C., Sancho, A.I., Diez, N., Ferreira, P., Soliveri, J., Copapatino, J.L., 2003. Growth and release of hydroxycinnamic acids from brewers' spent grain by *Streptomyces avermitilis* CECT 3339. *Enzyme and Microbial Technology* 32, 140-144
- Becker, R. (2007). Fatty acids in food cereal grains and grain products. In: Chow, C.K. (Ed.), *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications*, third ed. CRC Press, pp: 303-316
- Bellettini, M.B.; Fiorda, F.A.; Maieves, H.A.; Teixeira, G.L.; Ávila, S.; Hornung, P.S.; Maccari, A.; Ribania, R.H. 2016. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi J Biol Sci* 26: 636-646. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005>
- Bhargav S, Panda BP, Ali M, Javed S. Solid-state fermentation: an overview. *Chem Biochem Eng.* 2008;22(1):49-70
- Bhumibhamon, O., 1978. Production of acid protease and carbohydrate degrading enzyme by *Aspergillus awamori*. *Thai Journal of Agricultural Science* 11, 209-222
- Block, S.; Tsao, G.; Han, L. 1958. Production of mushrooms from sawdust. *Agricultural and Food Chemistry* 6(12): 923-927
- Brigham JS, Adney WS, Himmel ME (1996) Hemicelluloses: Diversity and applications. In: Wyman CE (ed) *Handbook on bioethanol: Production and utilization*. Taylor and Francis, Washington, DC, pp 119-142.
- Chang, S. T. and Miles, P. G. (1989). *Edible Mushrooms and Their Cultivation*. Boca Raton, FL: CRC Press, p. 345
- Chang ST. (1991) In Arora DK, Mukerji KG, Marth EH. (Eds.), *Handbook of Applied Mycology*. Marcel Dekker Inc., New York 221-240
- Chang ST, Miles PG (1992) Mushroom biology-a new discipline. *Mycol* 6:64-65

Choudhary M, Dhanda S, Soni G (2009). Lignocellulolytic enzyme activities and substrate degradation by *Volvarellaria volvacea*, the paddy straw mushroom/Chinese mushroom. *Indian J Agric Res.* 43(3):223-226

Cooray, S.T., Lee, J.J.L., Chen, W.N. (2017). Evaluation of brewers' spent grain as a novel media for yeast growth. *AMB Express*, 7(1), 117

Dahmen N, Lewandowski I, Zibek S, Weltdmann A (2019). Intergrated lignocellulosic value chains in a growing bioeconomy: Status quo and perspectives. *GCB Bioenergy.* 11:107-117

Del Rio, J.C.; Prinsen, P.; Gutierrez, A. Chemical composition of lipids in brewers' spent grain: A promising source of valuable phytochemicals. *J. Cereal Sci.* 2013, 58, 248-254

Delmer DP, Amor Y: Cellulose biosynthesis. *Plant Cell* 1995, 7: 987-1000

Diamantopoulou P, Philippoussis A, Kastanias MA (2006). Effect of famoxadone, tebuconazole and trifloxystrobin on *Agaricus bisporus* productivity and quality. *Sci Horti* 109: 190-195

Donini L.P., Bernardi E., Minotto E., Nascimento J.S. Growing Shimeji on elephant grass substrate supplemented with different types of sharps. *Sci. Agraria.* 2009;1:67-74

Dosoretz C.G., Chen H.C., Grethlein H.E. Effect of environmental conditions on extracellular protease activity in ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (1990) 395-400

Eggen T. (1999) Application of fungal substrate from commercial mushroom production-*Pleurotus ostreatus*-for bioremediation of creosote contaminated soil. *Int Biodeterior Biodegrad* 44:117-126

Eira A.A., Bueno F.S. first ed. CPT; Viçosa: 2005. Cultivo de cogumelo Shimeji e Hiratake

Elisahvili V, Kachlishvili E, Tsiklauri N, Khardziani T, Bakradze M (2002) Physiological regulation of edible and medicinal higher basidiomycetes lignocellulolytic enzyme activity. *Int J Med Mushroom* 4(2):159-166

Ergun, S.O., Urek, R.O.: Production of ligninolytic enzymes by solid state fermentation using *Pleurotus ostreatus*. *Ann. Agrar. Sci.* 15, 273-277 (2017).

Eriksson K.E., Pettersson B., Acid proteases from *Sporotrichum pulverulentum*, *Methods Enzymol.* 160 (1988) 500-508

Eriksson, K., Ander, B., & Ander, P. (1990). Microbial and enzymatic degradation of wood and wood componenets. Springer-Verlag, p.407

Espin JC and Wichers HJ. (1999) Activation of a latent mushroom (*Agaricus bisporus*) tysoinase isoform by sodium dodecyl sulfate (SDS) kinetic properties of the SDS-activated isoform. *J Agric Food Chem* 47(9): 3518-3525

Ezeonu, F.C., Okaka, A.N.C., 1996. Process kinetics and digestion efficiency of anaerobic batch fermentation of brewers' spent grains (BSG). *Process Biochemistry* 31, 7-12

Farcas, A.C., Socaci, S.A., Dulf, F.V., Tofana, M., Mudura, E., & Diaconeasa, Z. (2015). Volatile profile, fatty acids composition and total phenolics content of brewers' spent grain by-product with potential use in the development of new functional foods. *Journal of Cereal Science*, 64(Suppl. C), 34-42

- Fastnaught, C.E., 2001. Barley fiber, in: Cho, S., Dreher, M.L., Cho, S.S. (Eds.), Handbook of Dietary Fiber. Marcel Dekker, New York, pp. 519-542
- Fermor, T., Lincoln, S., Noble, R., Dodrovin-Pennington, A., Colauto, N., 2000. Microbiological properties of casing. *Mushroom Science* 15, 447-454
- Finney KN, Ryu C, Sharifi VN, Swithenbank J (2009) The reuse of spent mushroom compost and coal tailings for energy recovery: comparison of thermal treatment technologies. *Bioresour Technol* 100:310-315
- Gencheva P, Dimitrov D, Dobrev G, Ivanona V (2012). Hydrolisates from malt spent grain with potential application in the bioethanol production. *J. BioSci. Biotechnol.* P. 135-141
- Gregori A, Svagelj M, Pahor B, Berovic M, Pohleven F (2008). The use of spent brewery grains for *Pleurotus ostreatus* cultivation and enzyme production. *New. Biotechnol.* 25(2/3): 157-161
- Hamman, S. "Bioremediation capability of white rot fungi". B-1570, Review article, spring 2004
- Hamelinck CN, Hooijdonk GV, Faaji APC: Ethanol from lignocellulosic biomass: Techno-economic performance in short-, middle- and long-term. *Biomass Bioenergy* 2005, 28: 384-410
- Hassona, H.Z., 1993. High fibre bread containing brewers' spent grains and its effect on lipid metabolism in rats. *Die Nahrung* 37, 576-582
- Hatakka A, Hammel KE (2011). Fungal biodegradation of lignocelluloses. In: Hofrichter M (ed) *Industrial applications*, vol 10. *The Mycota*. Springer, Berlin, pp 319-340
- Hendricks, A.T. and Zeeman, G. (2009) Pretreatments to Enhance the Digestibility of Lignocellulosic Biomass. *Bioresource Technology*, 100, 10-18
- Hossain MS, Alam N, Amin SMR, Basunia MA, Rahman A. (2007) Essential fatty acids content of *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum* and *Agaricus bisporus*. *Bangladesh J Mushroom* 1:1-7
- Huige, N.J., 1994. Brewery by-products and effluents, in: Hardwick, W.A. (Ed.), Handbook of brewing. Marcel Dekker, New York, pp. 501-550
- Ishiwaki, N., Murayama, H., Awayama, H., Kanauchi, O., Sato, T., 2000. Development of high value uses of spent grain by fractionation technology. *MBAA Technical Quarterly* 37, 261-265
- Kaddous, F.G.A. and Morgans, A.S. 1986. Spent mushroom compost and deep litter fowl manure as a soil ameliorant for vegetables. In: *Proc. Of Surface Soil Management Rotorua*, New Zealand: 138-147
- Kalac P. (2009) Chemical composition and nutritional values of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chem* 113: 9-16
- Kalmis E., Azbar N., Yıldız H., Kalyoncu F. Feasibility of using olive mill effluent (OME) as a wetting agent during the cultivation of oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on wheat straw. *Bioresour. Technol.* 2008;99:164-169
- Kaur, V.I., Saxena, P.K., 2004. Incorporation of brewery waste in supplementary feed and its impact on growth in some carps. *Bioresource Technology* 91, 101-104
- Kendal, N.T., 1994. Barley and malt. In: Hardwick, W.A. (Ed.), Handbook of Brewing. Marcel Dekker, New York, pp. 109-120

- Khan MA, Amin SMR, Uddin MN, Tania M, Alarm N. (2008) Comparative study of the nutritional composition of oyster mushrooms cultivated in Bangladesh. *Bangladesh J Mushroom* 2: 9-14
- Khan MA. (2010) Nutritional composition and Hypocholesterolemic effect of mushroom: *Pleurotus sajor-caju* and *Pleurotus florida*: LAP Lambert Academic publishing GmbH & co. KG: Saarbrücken, Germany 1-11
- Khare KB, Mutuku JM, Achwania OS, Otake DO (2010) Production of two oyster mushrooms, *Pleurotus sajor-caju* and *P. florida* on supplemented substrates. *Int J Agric Appl Sci* 6:4-11
- Klemm D, Heublein B, Finl H, Bohn A (2005) Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angew Chem Int Ed* 44:3358-3393
- Kunze, W., 1996. In: Mieth, H.O. (Ed.), *Technology Brewing and Malting-International Edition*. VLB, Berlin. 726 p.
- Kunze, W. (2004). *Technology brewing and malting*. Berlin, Germany: Versuchs und Lehranstalt für Brauerei
- Landolo, D., Piscitelli, A., Sannia, G., Faraco, V., 2011. Enzyme production by solid substrate fermentation of *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor* on tomato pomace. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 163 (1), 40-51
- Laufenberg G., Kunz B. and Nystroem M., 2003, Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations, *Bioresource Technol.* 87, 167-198
- Lavarack BP, Giffin GJ, Rodman D: The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products. *Biomass Bioenerg* 2002, 23: 367-380
- Levanon, D., 1988. Chemical and physical parameters in recycling organic wastes for mushroom production. *Biological Wastes* 26: 341-348
- Lin X, Dang Q and Konar M 2014. A network analysis of food flows within the United States of America *Environ. Sci. Technol.* 48 5439-47
- Linko, M., Haikara, A., Ritara, A., Penttilä, M., 1998. Recent advances in the malting and brewing industry. *Journal of Biotechnology* 65, 85-98
- Lundell TK, Makela MR, Hilden K (2010) Lignin-modifying enzymes in filamentous basidiomycetes-ecological, functional and phylogenetic review. *J Basic Microbiol* 50:5-20
- Lynch, K.M.; Steffen, E.J.; Arendt, E.K. Brewers' spent grain: A review with an emphasis on food and health. *J. Inst. Brew.* 2016, 122, 553-568
- Macleod L., Evans E., 2016. Malting. In *Reference Module in Food Science*
- Mande S (2005) Biomass gasifier-based power plants: potential, problems, and research needs for decentralized rural electrification. In: Lal B, Reddy MRVP (eds) *Wealth from Waste: Trends and Technologies*, New Delhi
- Manzi P, Aguzzi A, Pizzoferrato L. (2001) Nutritional values of mushrooms widely consumed in Italy. *Food chem* 73(3): 321-325
- Marriot PE, Gomez LD, McQueen Mason SJ (2016) Unlocking the potential of lignocellulosic biomass through plant science. *New Phytol* 209:1366-1381

- Mathias, T. R. S., Mello, P. P. M., and Servulo, E. F. C. (2014) Solid wastes in brewing process: A review, *J. Brew. Distill.* 5, 1-9
- Mattiala P, Konko K, Eurola M, Pihlava JM, Aatola J, Vahteristo L, Hietaniemi V, Kumpulainen J, Valtonen M, Piironeenn V. (2001) Content of Vitamins , minerals elements and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *J Agric Food Chem* 49(5): 2343-2348
- Meneses, N. G. T., Martins, S., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2013). Influence of extraction solvents on the recovery of antioxidant phenolic compounds from brewers' spent grains. *Separation and Purification Technology*, 108, 152-158. doi:10.1016/j.seppur.2013.02.015
- Meyer-Pittroff, R., 1988. Utilization of spent brewers' grain for energy production. *Brauwelt* 128, 1156-1158
- Mussatto, S.I., Roberto, I.C., 2004. Alternatives for detoxification of dilute acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative processes: a review. *Bioresource Technology* 93, 1-10
- Mussatto SI, Roberto IC (2005). Acid hydrolysis and fermentation of brewers' spent grains to produce xylitol. *J SciFood Agric* 85:2453-2460
- Mussatto S.I., Dragone G., Roberto I.C., 2006. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. *J Cereal Sci.* 43, 1-14
- Mussatto S.I. (2009). Biotechnological Potential of Brewing Industry ByProducts. In: Singh nee' Nigam P, Pandey A (eds.). *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilization*, Springer, 313-326. doi: 10.1007/978-1-4020-9942-7 16
- Mussatto S.I. Brewers' spent grain: A valuable feedstock for industrial applications. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94 (7) (2014), pp. 1264-1275, 10.1002/jsfa.6486
- Naraian, R., Sahu, R.K., Kumar, S., Garg, S.K., Singh, C.S. & Kanaujia, R.S. (2008). Influence of different nitrogen rich supplements during cultivation of *Pleurotus florida* on maize cobs substrate. *The Environmentalist*, 29(1), 1-7. dx.doi.org/10.1007/s10669-008-9174-4
- Niemi, P., Tamminen, T., Smeds, A., Viljanen, K., Ohra-aho, T., Holopainen-Mantila, U., Buchert, J. (2012). Characterization of lipids and lignans in brewers' spent grain and its enzymatically extracted fraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(39), 9910-9917
- Nigam, P.S. (2017). An overview: Recycling of solid barley waste generated as a byproduct in distillery and brewery. *Waste Management*, 62(Suppl. C), 255-261
- Ozturk S., Ozboy O., Cavidoglu I., Koksel H., 2002. Effects of brewers' spent grain on the quality and dietary fibre content of cookies. *Journal of the Institute of Brewing* 108, 23-27. doi: 10.1002/j.2050-0416.2002.tb00116.x.
- Ozvural EB, Vural H, Gokbulut I, Ozboy-Ozbas O. Utilization of brewers' spent grain in the production of Frankfurters. *International Journal of Food Science & Technology*. 2009;44: 1093-1099. Doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.01921.x.
- Pant D., Reddy U.G., Adholeya A. Cultivation of oyster mushroom on wheat straw and bagasse substrate amended with distillery effluent *World J. Microbiol. Biotechnol.*, pp. 267-275 (2006)
- Paripuram TD, Divya VV, Ulaganathan P, Balamurugan V, Umamaheswari S (2011). Replacing fish meal with earthworm and mushroom meals in practical diets of *Labeo rohita* and *Hemigrammus caudovittatus* fingerlings. *Indian J Anim Res* 45: 115-119

- Patricek, L., Fort, V., 1998. Process for manufacture of biogas by anaerobic digestion of raw material of organic origin, Patent Number 96-3441 283228, Accession Number AN 1988: 635917, Czech Republic 1998. 5 pp
- Philippoussis, A., Zervakis, G., Diamantopoulou, P. (2001). Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus spp.* World Journal of Microbiology and Biotechnology, 17(2), pp. 191-200
- Philippoussis A. (2009). Production of Mushrooms Using Agro-Industrial Residues as Substrates
- Radhika R., Jebapriya G.R., Gnanadoss, J.J., Production of cellulose and laccase using *Pleurotus sp.* under submerged and solid-state fermentation, Int. J. Curr. Sci 6E (2013) 7-13
- Raimbault M., General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. Electronic Journal of Biotechnology, 1, 3-45 (1998)
- Rani P, Kalyani N, Prathiba K (2008). Evaluation of lignocellulosic wastes for production of edible mushrooms. Appl Biochem Biotech 151:151-159
- Ratcliffe B, Flurkey WH, Kuglin J, Dawley R. (1994) Tyrosinase, laccase and peroxidase in mushrooms (*Agaricus*, *Crimini*, *Oyster* and *Shiitake*). J Food Sci 59(4): 824-827
- Reddy, N.S.; Nimmagadda, A. and Sambasiva Rao, K.R.S. (2003), An overview of the microbial α -amylase family. Afr. J. Biotechnol., 2, 645-648.
- Reinold, M.R. 1997. Manual Practico de Cervejaria. 1.ed. Sao Paulo: Aden
- Rieker, C., Moeller, M., Sommer, K., 1992. Anaerobic degradation of beer spent grains for biogas production. Brauwelt 132, 716-721
- Robertson, J.A., I'Anson, K. J. A., Treimo, J., Faulds, C. B., Brocklehurst, T. F., Eijsink, V. G. H., et al. (2010). Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. LWT – Food Science and Technology, 43(6), 890-896. doi:10.1016/j.lwt.2010.01.019
- Ryu J., Kim M.K., Im C.H., Shin P. Development of cultivation media for extending the shelf-life and improving yield of king oyster mushrooms (*Pleurotus eryngii*) *Sci. Hortic.* 2015;193:121–126
- Saha BC, Cotta MA: Enzymatic saccharification and fermentation of alkaline peroxide pretreated rice hulls to ethanol. Enzyme Microbiol Technol 2007, 41: 528-532
- Sanjust, E., Pompei, R., Rescigno, A. et al. (1991). Olive milling waste water as a medium for growth of four *Pleurotus* species. Appl Biochem Biotechnol 31, 223-235
- Santos M, Jimenez JJ, Bartolome B, Gomez-Cordoves C, Del Nozal MJ (2003). Variability of brewers' spent grain within a brewery. Food Chem. 80: 17-21. DOI: 10.1016/S0308-8146(02)00229-7
- Schildbach, R., Ritter, W., Schmithals, K., Burbidge, M., 1992. New developments in the environmentally safe disposal of spent grains and waste kieselguhr from breweries, Proceedings of the Convention – Institute of Brewing (Asia Pacific Section), vol. 22 1992 pp. 139-143
- Schurz J: Bioconversion of cellulosic substances into energy chemicals and microbial protein symposium proceedings. Edited by: Ghose TK. IIT, New Dehli; 1978:37

- Singhania RR, Patel AK, Soccol CR, Pandey A. (2009). Recent advances in solid-state fermentation. *Biochem. Eng. J.* 2009; 44: 13-18
- Socaci S.A., Rugina D.O., Diaconeasa Z.M., Pop O.L., Farcas A.C., Paucean A., Tofana M., Pintea A. (2017). Antioxidant compounds recovered from food wastes. In: Chavarri M. (ed). *Functional food-improve health through adequate food*, DOI: 10.5772/intechopen.69124
- Song YM, Lee SD, Chowdappa R, Kim HY, Jin SK, Kim IS (2007) Effects of fermented oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) by-product supplementation on growth performance, blood parameters and meat quality in finishing Berkshire pigs. *Animal* 1:301-307
- Steiner, J., Procopio, S. and Becker, T. (2015) Brewers' spent grain: Source of value-added polysaccharides for the food industry in reference to the health claims, *Eur. Food Res. Technol.* 241, 303-315
- Stamets, P. "Mycelium Running. How mushroom can help save the world" Ten speed Press, Berkeley/Toronto. 1st Edition. 339pp. 2005
- Stewart JJ, Akiyama T, Chapple C, Ralph J, Mansfield SD (2009) The effects on lignin structure of overexpression of ferulate 5-hydroxylase in hybrid poplar. *Plant Physiol* 150:621-635
- Synysya A., Mickova K., Jablonsky I., Slukova M., Copikova J., 2008. Mushrooms of genus *Pleurotus* as a source of dietary fibres and glucans for food supplements. *Czech J. Food Sci.* 26(6), 441-446
- Tang, Z., Cenkowski, S., Muir, W.E., 2004. Modelling the superheated steam drying of a fixed bed of brewers' spent grain. *Biosystems Engineering* 87, 67-77
- Tatullo, M., Simone, G., Tarullo, F. et al. Antioxidant and Antitumor Activity of a Bioactive Polyphenolic Fraction Isolated from the Brewing Process. *Sci Rep* 6, 36042 (2016). doi.org/10.1038/srep36042
- Taylor R.N. John, Duodu W. Kwaku, 2019. Sorghum and Millets, *Chemistry Technology and Nutritional Attributes* (2nd Edition)
- Townsley, P.M., 1979. Preparation of commercial products from brewers' waste grain and trub. *MBA Technical Quarterly* 16, 130-134
- Vetter J. (1994) Mineral elements in the important cultivated mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*. *Food chem* 50(3): 277-27
- Vieira, E.; Rocha, M.A.M.; Coelho, E.; Pinho, O.; Saraiva, J.A.; Ferreira, I.M.P.L.V.O.; Coimbra, M.A. Valuation of brewers' spent grain using a fully recyclable integrated process for extraction of proteins and arabinoxylans. *Ind. Crops Prod.* 2014, 52, 136-143
- Vieira, E., Teixeira, J., & Ferreira, I. M. (2016). Valorization of brewers' spent grain and spent yeast through protein hydrolysates with antioxidant properties. *European Food Research and Technology*, 242(11), 1975-1984
- Wan C, Li Y (2012) Fungal pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biotechnol Adv* 30:1447-1457
- Wang H, Gao J, Ng TB. (2000) A new lectin with highly potent antiheptoma and antisarcoma activities from the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Biochem Biophys Res Commun* 275:810-816

- Wang, D., Sakoda, A., Suzuki, M., 2001. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. *Bioresource Technology* 78, 293-300
- Waters, D. M., Jacob, F., Titze, J., Arendt, E. K., and Zannini, E. (2012) Fibre, protein and mineral fortification of wheat bread through milled and fermented brewers' spent grain enrichment, *Eur. Food Res. Technol.* 235, 767-778
- White S. Jane, Yohannan K. Biju, Walker M. Graeme. Bioconversion of Brewer's spent grain to bioethanol. *FEMS Yeast Research*, Volume 8, Issue 7, November 2008, Pages 1175-1184. doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00390.x
- Willis WL, Isikhuemhen OS, Ibrahim SA (2004) Performance assessment of broiler chickens given mushroom extract alone or in combination with probiotics. *Poult Sci* 86:1856-1860
- Wood DA, Smith JF (1987) The Cultivation of Mushroom. In: Norris JR, Pettipher GL (eds) *Essays in agricultural and food*. Wiley, London, pp 310-343
- Woods J, Williams A, Hughes JK, Black M, Murphy R (2010) Energy and the food system. *Philos Trans R Soc B* 365:2991-3006
- Zadrazil, F. 1978. Cultivation of *Pleurotus*. In *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*: 521-557. doi.org/10.1016/b978-0-12-168050-3.50031-1
- Zadrazil, F., Dube, H.C., 1992. The oyster mushroom. Importance and prospects. *Mushroom Res.* 1(1), 25-32
- Zanker, G., Kepplinger, W.L., 2002. The utilization of spent grains in the brewery integrated system. *Brauwelt* 142, 1742-1747
- Στεφανάκης, K.Z. 1995. Τα μανιτάρια. Εκδόσεις Σταμούλη
- Φραντζεσκάκης, Ι.Α. 1990. Βιολογία και καλλιέργεια των βρώσιμων μανιταριών. Εκδόσεις Γαρταγάκη
- Outsidethehops (2014). <https://outsidethehops.wordpress.com/2014/04/18/oyster-mushrooms-spent-brewery-grains/> (accessed 22 July 2021)
- Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivation on corrugated wax-coated cardboard waste (2019). [https://www.semanticscholar.org/paper/Oyster-mushroom-\(-Pleurotus-ostreatus\)-cultivation-Prokesch/583b298ca7c6f4e48ce741375a14c9e3fb2af15f](https://www.semanticscholar.org/paper/Oyster-mushroom-(-Pleurotus-ostreatus)-cultivation-Prokesch/583b298ca7c6f4e48ce741375a14c9e3fb2af15f) (accessed 25 July 2021)
- The mushroom life cycle (2019) <https://forestorigins.com/blogs/mushroom-blog-posts/the-mushroom-life-cycle> (accessed 24 July 2021)