

Ostronskivling + kaffesump = SANT?

- Om kaffesumpens lämplighet som odlingssubstrat till *Pleurotus ostreatus*

Oyster mushroom + spent coffee grounds = TRUE?

- use of spent coffee grounds for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*

Kajsa Nordström Nilsson



Ostronskivling + kaffesump = SANT?

- Om kaffesumpens lämplighet som odlingssubstrat till *Pleurotus ostreatus*

Oyster mushroom + used coffee grounds = TRUE?

- use of spent coffee grounds for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*

Kajsa Nordström Nilsson

Handledare: Malin Hultberg, SLU, Institutionen för biosystem och teknologi

Examinator: Helena Karlén, SLU, Institutionen för biosystem och teknologi

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i trädgårdsvetenskap, G2E

Kurskod: EX0844

Program/utbildning: Trädgårdsingenjör: odling – kandidatprogram

Utgivningsort: Alnarp

Utgivningsår: 2019

Omslagsbild: Kajsa Nordström Nilsson

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: *Kaffeindustrin, solid state fermentation, biologisk effektivitet, tanniner, koffein, matsvamp, svampodlingssubstrat, cirkulära system*

Sammanfattning

Under 2000-talet har den globala världskonsumtionen av svamp ökat med drygt 300% per capita. Matsvamparnas näringsvärde är jämförbart med animaliska produkter och blir i och med det ett intressant substitut till kött. Med en ökad efterfrågan ökar också produktionen. Största delen av det substrat som används för svampodling i Sverige är importerat och leder till onödiga koldioxidutsläpp. För att öka hållbarheten för svensk svampodling är det därför av intresse att undersöka den svenska marknaden för möjliga odlingssubstrat. Som det andra mest kaffedrickande landet i världen genererar vi stora mängder restavfall i form av kaffesump varje dag. Av kaffebönan är det mindre än 10% som hamnar i kaffekoppen, resten blir till problematiska restprodukter. Därför är syftet med den här studie att undersöka kaffesumpens lämplighet som odlingssubstrat till svampodling. Ostronskivling har valts ut på grund av sina tacksamma egenskaper som snabbväxande generalist som har möjlighet att växa på diverse olika organiska material. Studien består dels av en praktisk undersökning vars syfte är att mäta myceltillväxt och fruktkropps bildning i olika koncentrationer av kaffesump och dels av en litteraturstudie som behandlar svampens upptag av skadliga organiska ämnen från kaffesumpen. Studiens resultat visar att *P. ostreatus* har förmågan att producera ostronskivling i substrat med olika inblandningsgrader av kaffesump, även i ren form. Resultaten indikerar dock att kaffe har en tillväxthämmande effekt på svampkropps bildning. Behandlade forskningsrapporter konstaterar att ostronskivling absorberar både tanniner och koffein från kaffesubstraten, men det är endast halter av koffein som återfinns i de producerade fruktkropparna. Mängden uppmätt koffein i den odlade svampen svampen är 80mg per 100g torkad svamp, vilket är jämförbart med en stor kopp kaffe. Slutsatsen om kaffesumpens lämplighet som svamps substrat är utifrån den här studien att det krävs vidare arbete med utveckling av svamps substraten tillsammans med olika stammar av *Pleurotus* för att uppnå en lyckad och lönsam skörd i kaffesump. Med tanke på kaffesump som tillgänglig, innehållsrik och svensk restprodukt är det av intresse att undersöka dess potential som svamps substrat vidare.

Abstract

During the 21st century the consumption of edible mushrooms has increased with over 300% per capita. The nutritional value of mushrooms can be compared to those of animal origin which makes it interesting as a substitute to meat. With increasing demand, there will be need of increasing supply. Most of the substrate used for cultivation of edible mushrooms in Sweden are being imported from parts of Europe, leaving big amounts of carbon dioxide on the way. To increase the sustainability of Swedish mushroom cultivation we need to find an internal material for this use. As the most coffee drinking country in the world next to Finland Sweden generates big amounts of used coffee ground every day. Considering only 9,5% of the coffee bean ends up in the coffee cup and the remaining 90,5% of the coffee ground ends up as a problematic waste product there is high interest in finding a useful usage for this waste. That's why this study was carried out to evaluate the feasibility and suitability of using used coffee grounds for cultivation of edible mushrooms. Oyster mushroom were chosen due to its qualities as fast-growing generalist. The aim of this study is to evaluate both the growth of mycelia and fructification in different blends of used coffee grounds, but also to investigate the content of tannins and caffeine in the produced mushrooms. This study showed successful cultivation of oyster mushroom in coffee residues but the results indicated an inhibitory effect of used coffee ground on the growth of mycelia. Concerning contents of caffeine and tannins in the produced mushrooms the reports detected no signs of tannins but an amount of 80mg caffeine per 100g of dried mushrooms. This amount of caffeine is comparable to a big cup of coffee. The results of this study imply more investigation of different blends and strains to achieve a profitable yield in cultivation in used coffee ground. Due to the accessibility and rich content of this Swedish waste product it's interesting to keep investigating it's potential as substrate for mushroom cultivation.

Innehållsförteckning

1. Introduktion.....	1
2. Bakgrund.....	2
2.1 Ostronskivling, <i>Pleurotus ostreatus</i>	2
2.2 Odling av ostronskivling i Sverige.....	3
2.3 Kafferester som odlingssubstrat.....	5
3. Syfte och frågeställning.....	7
4. Avgränsning.....	8
5. Material och metod.....	8
5.1 Litteraturstudie.....	8
5.2 Praktisk studie.....	8
5.2.1 Utförande.....	9
5.2.2 Mätningmetoder.....	9
6. Resultat.....	10
6.1 Litteraturstudie.....	10
6.1.1 Upptag av organiska ämnen i svampen.....	11
6.2 Praktisk studie.....	12
7. Diskussion.....	15
8. Slutsats.....	18
9. Litteraturlista.....	20

1. Introduktion

Sedan 1978 har den internationella produktionen av matsvamp ökat från 1 miljon ton till över 27 miljoner ton per år (Royse, 2014). Den globala världskonsumtionen av svamp har under 2000-talet stigit med drygt 300 % per capita. Just ostronskivlingsproduktionen har ökat markant i Europa; mellan 1997 och 2010 ökade den europeiska produktionen med 400 %. Detta beror troligtvis på att de odlingstekniska framsteg av vednedbrytande svampar som gjorts i Ostasien har möjliggjort för mer exotiska sorter att göra entré på den västerländska marknaden.

Ur ett kommersiellt perspektiv betraktas produktion av svamp som den viktigaste mikrobiella teknologin efter jästproduktion (Pathak et al. 2009). Odling av matsvamp kan möjliggöra för en lokalproducerad, ekologisk och resurssnål råvara, som på grund av sin smak och förhållandevis höga proteininnehåll kan fungera som ett hållbart substitut till kött (Jordbruksverket, 2005; Oei, 2003).

Vedlevande matsvampar, som *Pleurotus*, har förmågan att omvandla lignin och cellulosa från organiska material till näringsrik föda. *Pleurotus ostreatus*, ostronskivling, är känd för att kunna växa på en mängd olika organiska substrat (Petre et al., 2016). Substrat är i det här fallet det medium som svampen lever i och växer av. Idag använder man sig i Sverige framför allt av vetehalm som substrat för odling av ostronskivling (Jordbruksverket, 2005). Dock importeras stor del av svampsubstraten som används från Holland, Tyskland och andra länder i Europa. Detta innebär långa transporter med onödiga koldioxidutsläpp som följd. Fungigården i Harplinge uppger sig vara den enda kommersiella svampodling som har sin egen substrattillverkning. De uppskattar att för varje ton svenskproducerad svamp, i andra företag, krävs det 3–4 ton substrat som fraktas med lastbil från Europa (Hansson & Hansson, 2014). Anledningen anses vara att det idag saknas storskalig tillverkning av substrat till ostronskivling i Sverige, vilket i sin tur troligen beror på låg efterfrågan då Sveriges svampproduktion till största delen består champinjoner.

Samtidigt genererar kaffeindustrin restavfall på flera miljoner ton per år i världen, som på grund av problem med hantering orsakar miljöproblem i odlingsländerna (Echeverria & Nuti, 2017). Kafferester i form av blad, fruktkött, skal och sump har stor

potential som odlingssubstrat för svamp. I Sverige bedrivs ingen odling av kaffe, men som det andra mest kaffedrickande landet i världen genererar vi stora mängder avfall i form av kaffesump (Starckman, 2017). För varje ton orostade kaffeböner bildas det runt 650 kg kaffesump (Murthy & Naidu, 2012). Bland annat Freitas et al. (2018) har konstaterat att kaffesump bör utredas vidare som substrat till matsvamp på grund av sina fördelar som oanvänd organisk restprodukt från en stor industri. Arter av *Pleurotus* absorberar dock lätt ämnen från materialet de växer på och det är därför av vikt att undersöka hur upptaget av de skadliga ämnena i kaffe, tanniner och koffein, ser ut i den framodlade svampen. Om kaffesump skulle visa sig lämplig för svampodling kan Sveriges produktion av svampproduktion bli ännu mer hållbar, ur både ett ekonomiskt- och resurssparande perspektiv.

Därför är avsikten med den här studien att kartlägga kaffesumpens lämplighet som odlingssubstrat till ostronskivling, både utifrån tillväxt och upptag av skadliga ämnen.

2. Bakgrund

2.1 Ostronskivling, *Pleurotus ostreatus*

Svampar är ett organismrike med runt 100 000 kända arter, varav 300 räknas som ätliga, 30 har blivit domesticerade och tio odlas för kommersiellt bruk (Sanchez, 2009). I naturen är svampar mycket viktiga för nedbrytningen av organiskt material. Matsvamparna delas vanligtvis in i tre huvudgrupper, beroende på sin livscykel och vilket material de önskar leva på. Dessa är kompostsvampar, vednedbrytande svampar och mykorrhizasvampar (Bååth, 2012). *Pleurotus ostreatus*, vanlig ostronskivling, tillhör kategorin vednedbrytare. Vednedbrytande svampar lever naturlig på trädens ved och koloniserar och bryter ner lignocellulosa.

Pleurotus ostreatus är den andra mest odlade matsvampen i världen efter *Agaricus bisporus*, trädgårdschampinjon (Sanchez, 2009). Den räknas som en värdefull matsvamp ur både ekonomiska, ekologiska och medicinska perspektiv. *P. ostreatus* är känd för att utvecklas fort jämfört med andra svampar, ge hög avkastning med stor andel ätbara fruktkroppar och vara mindre mottaglig för sjukdomar och skadedjur. Just *P. ostreatus* kräver därför inte heller sterilisering utan bara pastörisering av substratet, vilket innebär en mindre kostnad i produktionen. Pastörisering och sterilisering är två

olika hygieniseringsprocesser som sker genom uppvärmning. Pastörisering sker vid en temperatur under 100°C vilket endast tar bort patogena mikroorganismer som inte bildar sporer. Sterilisering sker däremot vid temperatur över 100°C, där all förmåga till fortplantning försvinner (Nationalencyklopedin, u.å.).

Vi människor har länge använt svamp som både föda och medicin. Arten ostronskivling är intressant som matsvamp på grund av sitt höga näringsvärde och källa till protein, kolhydrater, vitaminer, kalcium och järn (Mon & Lo, 2013). Näringsvärdet kan jämföras med animaliska produkter som ägg, mjölk och kött (Sanchez, 2009). Studier på råttor har också visat på ostronskivlingens medicinska funktioner; stimulering av immunsystemet och motverkande av tumörbildning (Sarangi et al., 2006).

Poppe (2000) har uppskattat att det finns runt 200 olika sorters organiska restmaterial som skulle vara möjligt som substrat för odling av matsvamp. *P. ostreatus* är en tacksam generalist som kan växa på en mängd olika substrat som innehåller lignin och cellulosa. Studier har visat lyckade försök på ibland annat sågspån, bomull från klädindustrin, jordnöt- och kokosnötskal, majscolvar, vetestrån, papper och kafferester (Sanchez, 2009). Eftersom svampar livnär sig på materialet de lever i har de också en förmåga att ta upp och i vissa fall bryta ner mer eller mindre önskvärda kemiska ämnen från substratet de växer i. På så sätt kan de bryta ner giftiga komponenter i restmaterial men även absorbera exempelvis vitaminer och mineraler som finns i hög koncentration i substratet. Substratets sammansättning påverkar svampens ämnessammansättning men även i viss utsträckning dess smak (Navarro Ramalho et al. 2018).

2.2 Odling av ostronskivling i Sverige

Ostronskivling har odlats i Sverige sedan 80-talet (Andreasson, 2005). Jordbruksverket saknar aktuell statistik för Sveriges svampodling men 2005 rapporterades det om totalt 20 svampföretag, varav fem odlade ostronskivling. Total svampproduktion låg då på 769 ton/år, där ostronskivling utgjorde 150 ton/år (Jordbruksverket, 2005).

För att svampen snabbt ska kolonisera substratet den växer på inokuleras mycel, ursprungligen isolerat från spor eller fruktkropp, in på spannmålskärnor (Andreasson, 2005). För att undvika kontaminering, genomförs detta inte av odlarna själva utan

utförs ofta av företag som specialiserat sig på detta. På engelska används ordet 'spawn' för vad som vanligtvis är inokulerade råg- eller vetekärnor.

Odling av svamp är i sig inte skadlig eller störande för miljön eftersom det sker i ett slutet system. I mindre skala krävs det inte heller någon användning av maskiner eller bekämpningsmedel för produktionen. Dock kan personer som jobbar med ostronskivlingsodling utveckla allergi mot de sporer som avges och i värsta fall kan symptomen av dessa bli kroniska, men sporfria sorter finns att köpa.

Följande faser går igenom vid produktion av ostronskivling: *förberedning och inokulering av substrat, inkubering, inducering, fruktifiering och skörd* (Sánchez, 2009).

Förberedning och inokulering av substrat: Ostronskivling odlas oftast i substrat bestående av värmebehandlad vetehalm med 30% tillskott av lusernhö för att uppnå rätt kväveinnehåll (Andreasson, 2005). Halmen mals ner i mindre bitar med exempelvis en kompostkvarn för att kunna packas och hålla vatten på rätt sätt. Substratet vattnas upp till sin dubbla vikt. Vid för låg porositet i substratet kan det interna gasutbytet störas genom ackumulerat koldioxid från svampens cellandning (Stamets, 2000). Det färdigblandade substratet måste genomgå en hygienisering för att reducera antalet konkurrerande svampar och mikroorganismer. Detta kan till exempel göras i 60 gradigt vatten under en timme. Härifrån krävs högsta hygien då substratet är mycket mottagligt för skadliga infektioner eftersom kolonisering av ostronskivlingsmyceliet inte tagit över än.

Substratet blandas sedan vanligtvis upp med färdigympat ostronskivlingsmycelium till en helt homogen blandning. Uppblandningen är viktig eftersom ansamling av mycel på vissa ställen kan orsaka en för häftig temperaturökning, orsakat av den mikrobiella processen, som kan påverka fruktsättningen medan en för liten mängd mycel innebär risk för kolonisering av konkurrerande svampar. Det inokulerade substratet fylls vanligtvis i plastsäckar med hål för genomväxt av fruktkroppar (Andreasson, 2005).

Inkubering innebär att man förvarar biologiskt material vid bestämda fysikaliska betingelser under en viss tid. Säckarna inkuberas under 12–14 dagar i en miljö där mycelet tillåts kolonisera hela substratvolymen. Utrymmet för inkubering bör vara

välisolerat med luftutbyte och hålla en temperatur på 18–20 grader under genomväxtfasen.

Inducering: Fruktkropps bildning induceras efter fullständig kolonisering av substratet genom förändring i temperatur. För vintersorter som *P. ostreatus* krävs en temperatursänkning från 25 plusgrader ner till 5–10 plusgrader för att fruktifikationen ska påbörjas.

Fruktifiering och skörd: Fruktifikationen följs av skörd runt en vecka senare. Utväxt av fruktkroppar sker genom hål i säckarna och vanligtvis kan odlarna skörda 1–3 omgångar, så kallade 'flushes', beroende på hygien. En acceptabel avkastning anses vara fruktkroppar som motsvarar 10–15% av substratets våtvikt (Andreasson, 2005).

Centrala parametrar vid odling av ostronskivling är fuktighet och temperatur i substratet, därför används oftast klimatstyrningsinstrument. Vid en relativ luftfuktighet under 70% torkar mycelet in och över 90% så skadas fruktifieringen, därför bör den relativa luftfuktigheten optimalt ligga på 80–90% (Andreasson, 2005). Eftersom svamp, likt människor, genererar koldioxid vid ämnesomsättning är det vid odling viktigt med internt gasutbyte som transporterar ut respirerat koldioxid och in syre, annars kan svampens utveckling hämmas (Stamets, 2000).

Fel ljusstyrka kan ge missformade svampar och bör enligt Jordbruksverket ligga på 100–200 lux (Andreasson, 2005). För stark belysning gör ostronskivlingens fot kort och tjock medan för svag belysning gör foten långsmal.

2.3 Kafferester som odlingssubstrat

2014 producerades över 5 miljoner ton *Coffea arabica* och 3,4 miljoner ton Robusta (*Coffea canephora*), vilket är de sorter som gemensamt står för 99 % av kaffeproduktionen i världen (ICO, 2015). Av det färska materialet som skördas från kaffeplantan är det endast 9,5 % som hamnar i koppen medan resterande blir problematiska restavfall (Murthy & Manonmani, 2008). Restprodukter från kaffeodlingen och -industrin består inte bara av sumpen som kvarstår efter de färdigbryggda börnorna utan av både blad, fröskal och fruktkött från hela

produktionskedjan. I de producerande länderna generas det restavfall på över tio miljoner ton per år i världen (Echeverria & Nuti, 2017).

För att utvinna bönorna ur kaffeplantans frukt används antingen en blötläggning- eller torkningsprocess (Fan et al., 2000). Beroende på produktionsmetod resulterar detta i två olika skalrester, så kallad 'husk' eller 'pulp'. Innehållsmässigt påminner dessa två om varandra och studier har gjorts på möjligheten till återbruk i form av kompost, biogas, bioetanol, pellets och näringsrikt mjöl för matlagning med varierande resultat (Blinová et al. 2017). Vid rostning av kaffebönorna skapas ytterligare en skalrest som brukar kallas 'silverskin'. Tillsammans utgör dessa tre skalrester 45% av den skördade frukten (Campos-Vega et al., 2015). Bladen från kaffeplantan är generellt sett inte en restprodukt, men samlas in under och efter skörd eftersom sjukdomar och skadedjur lätt sprids bland dessa blad (Fan et al., 2000).

Samtliga restprodukter innehåller ämnen som i höga koncentrationer är skadliga för både människan och naturen. Koffein, tanniner och andra polyfenoler finns naturligt i olika koncentrationer i restprodukterna från kaffe (Fan et al. 2000). På grund av dessa ämnen har man i produktionsländerna problem med att ta hand om restprodukterna, vars utsläpp leder till miljöföroreningar. Ämnen blir skadliga för miljön då de i höga koncentrationer har toxisk inverkan på ekosystemet och en hämmande effekt på växter. Det krävs också stora mängder syre för att bryta ner ämnena i jorden (Mussatto et al., 2011).

Som nämnts tidigare är det endast en mycket liten del av kaffefrukten som används för att framställa kaffedrycken. Av denna del avgår sedan mellan 45–50% som kaffesump vid tillagning av drycken (Campos-Vega et al. 2015). Kaffesump är det som bildas när kaffe bryggs från malda bönor och i världen produceras det totalt omkring 6 miljoner ton kaffesump (Ballesteros et al. 2014). I Sverige dricker vi över 19 miljoner koppar kaffe per dag utan att ta till vara på den innehållsrika kaffesumpen (WWF, u.å.). 2013 importerade Sverige 102 540 ton kaffebönor (ICO, 2017). Om det då för varje ton kaffebönor bildas runt 650 kg kaffesump skulle det i Sverige, om samtliga bönor bryggs, generera 66 651 ton kaffesump per år. Idag slängs i bästa fall kaffesumpen tillsammans med matavfall, vilket innebär att den används för att producera biogas,

biogödsel eller kompostjord (SRV, u.å.). Annars bränns den tillsammans med övriga restavfall och ger då upphov till utsläpp av växthusgaser.

Kaffesump har en naturligt hög andel vatten, uppåt 85 % (Mussato et al. 2011), och består i övrigt av organiskt material i form av cellulosa 12.4%, hemicellulosa 39.1%, lignin 23.9%, fett 2.29%, aska 1.3%, protein 17.44% samt 1.3% mineraler (Ballesteros et al., 2014). I USA är kaffe den vanligaste källan för intag av antioxidanter (Ahangari & Sargolzaei, 2012). Kaffesumpens naturligt höga innehåll av vatten, kväve och cellulosa gör det intressant som svampsubstrat. Ballesteros et al. (2014) rapporterar om en C/N-kvot på 17:1 för kaffesump.

En fördel som lyfts fram inom forskningen är att bryggandet av kaffet gör kaffesumpen tillräcklig hygieniserad för att kunna användas direkt till odling av matsvamp (Murthy & Naidu, 2012). Ur ett praktiskt perspektiv finns det dock risk för kontaminering av kaffesumpen under färd mellan tillverkningsplats och odlingsplats.

Generellt innehåller skalrester som pulp och husk högre koffeinhalt än kaffesump (Campos-Vega et al., 2015). Kaffesumpens exakta koffeinhalt har dock visat sig variera kraftigt beroende på ursprung och utvinningsmetod och värden mellan 0.7 mg – 41.3 mg per gram kaffesump har rapporterats (Andrade et al., 2012).

3. Syfte och frågeställning

Syftet med den praktiska studien är att undersöka möjligheten för ostronskivling att växa och bilda fruktkroppar i substrat baserat på kaffesump samt att mäta effekten av kaffesumpens inblandningsgrad i odlingssubstraten. Detta för att möjliggöra för odling av svamp i en lättillgänglig restprodukt, som en insats för en hållbar svampodling med en minskad import av odlingssubstrat.

Frågeställning: *kan kaffesump fungera som ett lämpligt odlingssubstrat för ostronskivling?*

På grund av kaffesumpens innehåll av tanniner och koffein, som i höga koncentrationer kan vara skadligt för människan, blir det av vikt att undersöka halten av dessa som

eventuellt absorberats i den framodlade ostronskivlingen. Därför är syftet med litteraturstudien att undersöka fruktkropparnas upptag och innehåll av koffein och tanniner producerade i substrat som innehåller restprodukter från kaffeindustrin.

4. Avgränsning

Ostronskivling har valts ut på grund av sina tacksamma egenskaper som snabbväxande generalist. Eftersom tiden för den praktiska studien inte möjliggör avläsning och undersökning av upptaget av framförallt koffein i ostronskivlingens svampkroppar kommer beräkningar baseras på publicerad forskning.

5. Material och metod

5.1 Litteraturstudie

Litteraturdelen baseras på publicerade forskningsrapporter och studier, inhämtade från databaser tillgängliga genom SLU:s bibliotek. Sökord som använts har varit 'coffee*' och '*Pleurotus*'.

5.2 Praktisk studie

Studiens praktiska del består dels av mätning av mycelltillväxt i petriskålar och dels av fruktkropps bildning i svampodlingsboxar. Ostronskivlingsstammen M2191 användes i båda fallen. Petriskålarna ympades med mycel-stans som växt på agar och svampinokulumet som användes för fruktkroppsproduktion var inokulerat på rågkärnor och producerat av det svenska företaget Ecofungi. Kaffesumpen som användes i studien samlades in från ett lokalt café och bestod av sump från bryggkaffe. Försöket bestod av tre olika blandningar av alsån och kaffesump. Kontrollsubstratet som användes baserades på Stamets (2000) recept för svampodling i sågspån. Varje bokstav motsvarade en behandling (mix) och varje behandling bestod av tre replikat:

- A. Kontroll: 74% alsågspån, 24% vetekli samt 2% kalciumsulfat
- B. 100% kaffesump
- C. 75% kaffesump samt 25% alsågspån
- D. 25% kaffesump samt 75% alsågspån

5.2.1 Utförande

Substrat: Kaffesumpen som användes frystes ner för att sedan genomgå en värmebehandling i torkskåp med en temperatur på 65 grader i 72 timmar. Efter torkning av kaffesumpen blandades den noggrant upp med sågspån av al i storleken 2–4 mm till sin rätta blandning. Till varje mix tillfördes sedan 400 ml avjoniserat vatten för att uppnå en vattenhalt i substraten på cirka 70%. För behandling B och C innebar detta ett för blött substrat med risk för dåligt gasgenomsläpp. Till dessa behandlingar tillfördes därför torrt substrat i en mängd som motsvarar en fuktighet på 61% för behandling B respektive 63% för behandling C.

Petriskålar: För uppmätning av myceltillväxt användes 20 gram substrat från varje replikat. Substraten autoklaverades, fördelades på petriskålar med respektive 45 gram från varje behandling, uppdelat i replikat (A1, A2, A3 osv.) och ympades med mycelstans (1,5 cm i diameter) som växt på en agarplatta. Petriskålarna stod i inkubationsmiljö på 25 plusgrader för att sedan avläsa mycelelets tillväxt efter 4 samt 8 dagar.

Odlingsboxar: För undersökning av fruktkropps bildning användes svampodlingsboxar av typen Microbox från företaget SACO₂, som tillåter gasutbyte men blockerar för kontaminering. Boxar fylldes med cirka 600 gram av respektive behandlingsmix och vägdes in för att sedan pastöriseras i åtta timmar i en temperatur på 65 plusgrader. Efter det inokulerades varje box med substrat med 40 gram mycelympade rågkärnor. Dessa förvarades i en inkubationsmiljö på 25 plusgrader under 16 dagar. Autoklaverat vatten tillfördes för att bibehålla vattenhalten under denna period. När substratet var genomväxt med mycel genomfördes en flytt till ett odlingsrum där en temperatursänkning ner till 7–10 plusgrader utfördes under fyra dagar för att sedan återgå till 24 grader fram till skörd.

För uppmätning av pH användes runt 1 gram från varje behandling som blandades upp med lika delar destillerat vatten och lästes med en pH-mätare.

5.2.2 Mätningmetoder

pH fastställs för samtliga substrat med hjälp av en pH-mätare och myceltillväxt i petriskålarna uppmäts med hjälp av en linjal. Fruktkropps bildning i boxarna granskas

framförallt visuellt, men i mån av tid ska även substratets BE (biological efficiency) räknas ut, vilket görs genom att ställa svampens färskvikt i förhållande till det använda substratets torrsvikt.

6. Resultat

6.1 Litteraturstudie

Nedan presenteras resultatet av den litteraturstudie som rör *Pleurotus* upptagningsförmåga av skadliga ämnen, med fokus på tanniner och koffein. Detta är av vikt att utreda för att kunna svara på frågan gällande huruvida ostronskivling som odlats i kaffesump är lämplig som föda för människan.

6.1.2 Upptag av organiska ämnen i svampen

Navarro Ramalho et al. (2018) undersökte koffeinupptaget i *Pleurotus ostreatus* som växt direkt i ren kaffesump. Studien visade att den ostronskivling som växt i kaffesump absorberade en stor mängd koffein. Detta förklaras genom svampens direktkontakt med kaffet som möjliggjort upptaget av koffein. Navarro Ramalho et al. (2018) konstaterar att mycelet absorberar koffeinet snarare än bryter ner det och analysen visar runt 80 mg koffein/100 g torrsvikt svamp.

Även Freitas et al (2018) har undersökt effekterna av kaffesump som ingrediens (50%) i kommersiellt svampodlingssubstrat. Undersökningen utfördes på två andra arter av ostronskivling: *Pleurotus citrinopileatus* och *Pleurotus salmoneo-stramineus*. För *P. citrinopileatus* visade studien ingen negativ effekt på avkastningen för den svamp som växt i kaffesump. Fruktkropparna skiljde sig inte heller i proteininnehåll eller sammansättning jämfört med kontrollen. Däremot uppmättes skillnader i svampens innehåll av fett, socker och koffein. Här var innehållet av koffein 80 mg /100 g torkad svamp. Kaffesumpens inblandning påverkade däremot *P. salmoneo-stramineus* förmåga att bilda fruktkroppar negativt och resulterade i mindre svampar som dessutom saknade sitt karaktäristiska utseende. Tester av *P. salmoneo-stramineus* visade också ett lägre proteininnehåll och högre sockerinnehåll än kontrollen samt ett koffeininnehåll på 60 mg koffein per 100 g torkad svamp. Av relevans är att det uppmätta innehållet av koffein i svamparna, oberoende av art, överensstämmer med koffeininnehållet i kaffesumpen som användes som substrat, vilket tyder på att

svampen inte bryter ner koffeinet utan snarare ackumulerar det precis som Navarro Ramalho et al. (2018) konstaterat.

2006 undersökte Fan et al. innehållet och påverkan av både tanniner och koffein på myceltillväxt av *P. ostreatus* som växt i kaffe-husk, det vill säga en skalrest från kaffeproduktionen. Koffeinkoncentrationen i den använda husken var 0,65 mg/g. De kom fram till att en stigande koncentration av koffein i substraten sänkte tillväxten av mycel. Vid en halt på 2500 mg koffein per liter substrat hämmades tillväxten helt. Tannininnehåll under 100 mg per liter substrat stimulerade tillväxten av mycelet, men gav negativa effekter vid en halt över 500 mg/L. Koffeininnehållet i husken reducerades ner till 60,7 % och tannininnehållet till 79,2 % efter svampkulturerna, vilket tyder på att svampen absorberar viss mängd av ämnena. Det upptäcktes dock spår av koffein men inte tannin i det kvarvarande mycelet, vilket tyder på att *P. ostreatus* har förmågan att helt bryta ner tannin men inte koffein i samma utsträckning. Vid analys av fruktkropparna uppmättes ett kvarvarande koffeininnehåll på cirka 20 mg/100 g av fruktkropparnas torrsvikt.

I Fan et al. (2000) tidigare undersökning av kaffe-huskens påverkan på *P. ostreatus* upptäcktes att koffeinmolekylerna inte bryts ner av svampen utan snarare tas upp vid fruktkropps bildning. Detta konstaterades efter att man uppmätt ett koncentrationsfall av koffein på cirka 61 % efter kolonisering och fruktifiering av *P. ostreatus* i substrat baserat på kaffe-husk och att halter av koffein fanns i fruktkropparna efter skörd. Tanninhalten sjönk likt koffeinet i kaffe-husken efter odling, men inga tanniner fanns kvar i svampen vilket tyder på att svampen i motsats till koffeinet helt lyckats bryta ner tanninerna.

I samtliga ovan nämnda studier konstateras att arter av *Pleurotus* absorberar både tanniner och koffein från substraten, men det är endast halter av koffein som återfinns i de producerade fruktkropparna.

Murthy & Manonmani (2008) undersökte arten *Pleurotus florida* i olika kombinationer av kafferester och kom fram till något annat. Både protein, fett, fiber, koffein och tannininnehållet i de kafferestbaserade substraten minskade efter odling av ostronskivling. Koffeinhalten minskade med 50% och tannininnehållet med 41% i substraten. Detta innebär, likt vad övriga studier kommit fram till, att svampen delvis

tar upp koffein och tanniner. Analys av fruktkropparna visade dock inga halter av varken tanniner eller koffein, vilket skiljer sig mot tidigare behandlade forskningsresultat. Eftersom en minskning i substratet kunde uppmätas indikerar detta resultat att *P. ostreatus* har förmågan att inte bara absorbera utan även helt bryta ner båda dessa giftiga ämnena. Dock presenteras inga siffror från denna del av studien vilket förhindrar en analys.

6.2 Praktisk studie

Petriskålar: I diagrammet nedan visas resultatet av myceltillväxten i petriskålarna för de olika behandlingarna, inklusive kontrollen. Mätningar utfördes dag fyra och åtta. Diagrammet visar behandlingarnas medelvärde baserat på tre replikat. Mycel som växt i kontrollsubstratet (beh. A) fick en snabbare start än övriga behandlingar och var det enda vars mycel hade sträckt sig över hela petriskålen vid studiens avslut. Tillväxten i substrat med olika volymprocent av kaffesump utvecklades i jämn takt fram till dag fyra. Därefter visade lägst koncentration av kaffesump (25%, beh. D) bäst resultat, dock tätt följt av behandling C innehållande 75% kaffesump. Efter dag fyra avtog

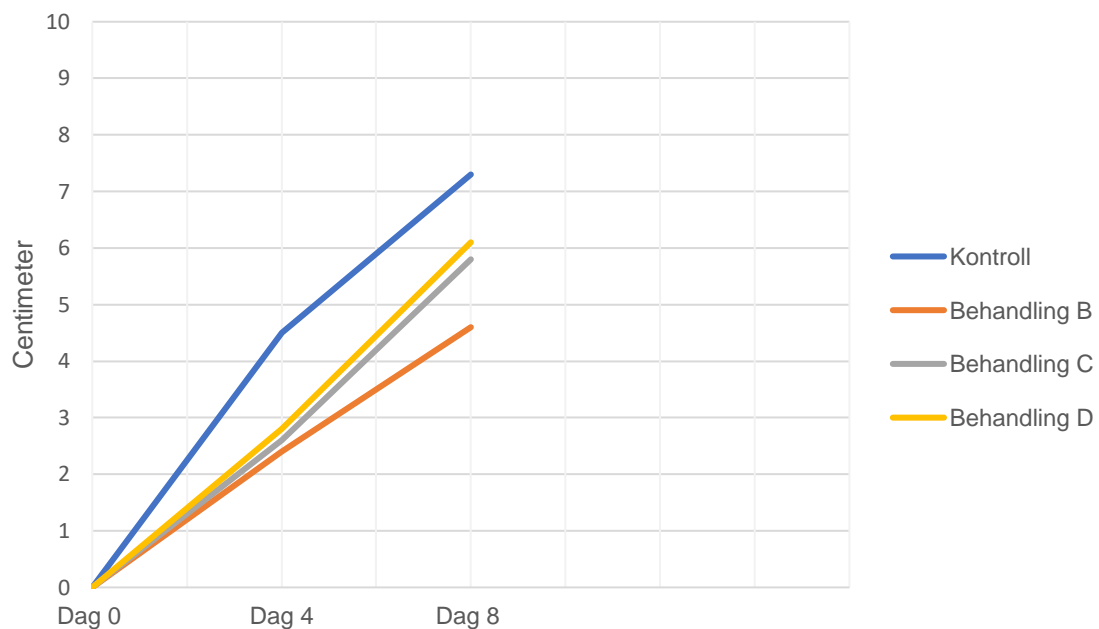


Diagram 1. Myceltillväxt, efter 4 respektive 8 dagar, för behandling B-D jämfört med kontrollen. Diagrammet visar medelvärdet från tre replikat.

tillväxthastigheten markant i substrat med endast kaffesump (beh. B) i jämförelse med resterande behandlingar och uppvisar i och med det sämst resultat gällande myceltillväxt.

Utöver tillväxten observerades även variation i mycelets tjocklek. Visuella skillnader mellan kontrollen och resterande behandlingar kunde registreras. Som man kan avläsa av bild 1 och 2 har samtliga behandlingar med kaffesump en tunnare och glesare mycelyta jämfört med kontrollen som visar på en tätare tillväxt.



Bild 1. Myceltillväxt i samtliga behandlingar efter åtta dagar. Kontroll (A) högst upp i bild följt av behandling B, C och D från vänster.



Bild 2. Bäst tillväxtnresultat (beh. D) i jämförelse med kontrollen (beh. A).

Odlingsboxar: Efter 16 dagar i inkubationsmiljö visade behandlingarna i odlingsboxarna, inklusive kontrollen, en likvärdig kolonisering av substraten (Bild 3). På bild 3 syns också en gulaktig ansamling i framförallt behandling C.



Bild 3. Efter 16 dagar i inkubationsmiljö hade samtliga behandlingar en likvärdig kolonisering av substraten. Från vänster behandling A, B, C, D.

Efter totalt 25 dagar kunde första omgången eller s.k. 'flushen' svamp skördas från kontrollboxarna. Behandlingarna B, C och D visade då ingen tendens till fruktsättning men däremot en väletablerad kolonisering av svampmycel.



Bild 4. Efter 31 dagar visade behandlingar med kaffesump ingen tendens till fruktsättning medan kontrollen skördats redan dag 25–27. Från vänster behandling A, B, C, D.

Efter totalt 42 respektive 45 dagar kunde en skörd plockas ut även från substraten som innehöll kaffe. I tabellen nedan (Tabell 1) visas dagen för skörd, skördens färskvikt, substratens torrsvikt och den biologiska effektiviteten för samtliga behandlingar inklusive kontrollen (A).

Behandlingar	Skördedag	Svamparnas färskvikt (g)	Substrat torrsvikt (g)	BE (%)
A1	27	69.5	180	38.6
A2	25	88.7	180	48.8
A3	27	83.4	180	46.3
B1	42	31.4	255	12.3
B2	45	26.4	255	10.4
B3	45	17.3	255	6.8
C1	45	22.6	230	9.8
C2	45	32.9	230	14.3
C3	45	49.5	230	21.5
D1	42	18.1	180	10.1
D2	42	35.3	180	19.6
D3	42	33.4	180	18.5

Tabell 1. Skörderesultat för samtliga behandlingar, inklusive kontrollen (A).

Behandlingar inkl. kontroll	pH
A: kontroll	5,46
B: 100% kaffesump	5,28
C: 75% kaffesump / 25% sågspån	5,38
D: 25% kaffesump / 75% sågspån	5,38

Tabell 2. Uppmätt pH-värde i de olika substratblandningarna.

7. Diskussion

Som man kan avläsa från diagram 1 var tillväxten av mycel långsammare i starten vid odlingssubstrat baserade på kaffesump. En möjlig förklaring skulle kunna vara behov av acklimatisering i nytt substrat. Hogg (2013) benämner första fasen i en mikrobiell tillväxt som 'lag phase' och beskriver den som en tillvänjningsperiod där inokulumet vänjer sig vid sin nya omgivning. Hogg (2013) konstaterar också att denna period blir

längre desto mindre bekant inokulumet är med substratet. Möjligt är alltså att mycelet som användes i denna studie är mer van vid näringsammansättningen i kontrollsubstratet än i kaffesump.

Utöver den långsamma starten skiljde sig behandlingarna med kaffesump mot kontrollen genom ett överlag tunnare och glesare mycel i petriskålarna. Högre koncentration kaffesump resulterade också i sämre slutresultat i centimeter. Detta skulle kunna förklaras genom koffeinets och tanninernas hämmande effekt på tillväxt. Dock var detta ingen effekt som kunde noteras vid myceltillväxten i odlingsboxarna, som i stället växte och koloniserade substraten mycket bra under inkubationstiden.

Myceltillväxten i petriskålarna visar på att lägre koncentrationer av kaffesump är att föredra för optimal myceltillväxt. Sannolikt är att detta också har sin förklaring i kaffesumpens koncentration av hämmande ämne och att mycelet i högre utsträckning är bekant med sågspånen. Med en nästan omärkbar skillnad på 0,18 i pH mellan kontrollsubstrat och övriga behandlingar (Tabell 2) skulle man kunna dra slutsatsen att pH-värdet inte påverkat resultatet i denna studie. Dock visar andra studier på att pH-värdet i odlingssubstraten i hög grad påverkar myceltillväxten av *Pleurotus* (Sardar et al., 2015). Mycel kan överleva i ett pH-spann mellan 4,2 och 7,5, men slutar växa vid 4 (Mukherjee & Nandi, 2004). Enligt Kalmis et al. (2008) är pH-optimumet för myceltillväxt och efterföljande fruktkroppsutveckling för *Pleurotus* mellan 6,5 och 7, men enligt Mukherjee et al. (2004) och Chang & Miles (2004) skiljer det sig mellan 5–6,5 för myceltillväxt och 5–5,5 för fruktkropps bildning. I en studie av Sardar et al. (2015) observerades maximal tillväxt av *Pleurotus* spp. vid pH på 6 och minimum vid pH 4. Med bakgrund i dessa studier kan det konstateras att kaffesumpen som använts i det här experimentet har ett naturligt lämpligt pH för odling av svamp.

Vikten av rätt fukthalt i odlingssubstraten är stor vid användning av fasta material för odling av mikrober, som i detta experimentet. Andreasson (2005) rekommenderar en fukthalt i substratet på mellan 70–80% för optimal fruktsättning där under 70% medför att mycelet torkar in. För behandling B och C som båda höll en fuktighet på strax över 60% kan detta vara förklaringen till den knappa fruktsättningen. Fan et al. (2000) rapporterar i motsats till Andreasson (2005) om en optimal fuktighet på 60–65% för just ostronskivlingsodling i kaffesump vilket indikerar att fuktigheten borde fungerat

även i behandling B och C. Vad gäller gasutbytet i odlingsboxarna så har detta reglerats genom filter i boxarna, rekommenderad partikelstorlek och ventilerade inkubation- och odlingsrum.

Trots att studien visar på lyckad fruktkroppsbildning i samtliga inblandningsgrader av kaffesump är tiden på 42–45 dagar anmärkningsvärt lång. En möjlig förklaring till den sena fruktkroppsbildningen skulle kunna ligga i kaffesumpens relativt låga C/N-kvot på 17:1. Ett överskott av kväve är känt för att fördröja uppkomsten av fruktkroppar (Yang et al., 2016). Fan et al. (2000) kunde å andra sidan, sin jämförelsebara studie, plocka ut en skörd i ren kaffesump efter 23 dagar. I den studien valdes stammen *Pleurotus ostreatus* LDB09 ut efter jämförelse i myceltillväxt och biomassproduktion med tio andra stammar.

Medelvärdet för den biologiska effektiviteten (BE) låg i kontrollsubstratet på 44.6% medan behandling B med 100% kaffesump hade en BE på 9.8%. För behandling C med 75% kaffesump låg BE på 15.2% och behandling D med 25% kaffesump på 16.1%. Utifrån dessa resultat skulle det vara möjligt att dra slutsatsen att svampstammen som använts i denna studie, M2191, inte är optimal för fruktkroppsbildning i kaffesump.

Resultaten från odlingsboxarna visar på en hämmande inverkan av kaffesump även för fruktkroppsbildning. Substratet med 100% kaffesump gav lägst avkastning i form av skördad svamp, följt av substratet med 75% kaffesump. Högst avkastning efter kontrollen gav substratet med lägst del kaffesump.

Med den potentiella tillgången på runt 66 000 ton kaffesump per år skulle det i Sverige tekniskt sätt, vid odling i ren kaffesump, kunna produceras 60 000 ton ostronskivling per år. För att skapa ett cirkulärt system där kretslopp för sumpen sluts kan substratet efter skörd av ostronskivling användas som jordförbättring och gödning till odling.

Man kan jämföra mängden koffein man får i sig av att äta svamp som växt i kaffesump med andra koffeinnehållande livsmedel. 100g av den torkade svampen är till exempel jämförbart med en kopp kaffe. En kopp vanligt bryggkaffe, 15 cl, innehåller enligt Livsmedelsverket (2018) cirka 100 mg koffein. En burk energidryck på 25 cl

innehåller runt 80 mg och en coca-cola på 33 cl ungefär 30–50 mg koffein. Jämförelsevis har bryggkaffe en halt på 67 mg koffein per 100 g kaffedryck mot svampens 80 mg per 100 g torkad svamp. Enligt Svenska Svampodlarföreningen (2018) ligger den svenska konsumtionen av ostronskivling idag på cirka 20 g per person och år, vilket innebär att vi kan tiodubbla vår konsumtion utan att få i oss mer koffein än en stor kopp kaffe.

Utöver att man vid intag av stora mängder koffein kan uppleva obehagliga symptom som hjärklappning och magont är det enligt Livsmedelsverket (2018) endast barn och gravida som rekommenderas begränsa sitt koffeinintag. I en utredning av EFSA, den europeiska livsmedelsmyndigheten, från 2015 fastställdes att ett intag av 200 mg koffein (motsvarande två koppar kaffe) per dag inte innebär något säkerhetsproblem vid graviditet. När koffein används som aromämne i livsmedel finns gränsvärden på mellan 70–150 mg per kg (ibid.).

Under studiens praktiska del fanns god kontroll av samtliga parametrar som är av vikt vid odling av mycel. Skiftande förhållande i slutskedet, som svårigheter med kondens och varierande luftfuktighet i odlingsrummet kan ha haft påverkan på resultatet av fruktkroppsbildningen. En bättre styrning av förhållandena hade kunnat ge bättre förutsättningar för utveckling av svampkroppar. Brist på hygien med övertag av andra patogener som följd är ett vanligt problem i svampodling men detta var inget som påträffades i någon av behandlingarna.

I behandling C, innehållandes 75% kaffesump, uppmärksammades ansamlingar av vad som skulle kunna vara kväve. Detta behandlas inte vidare i denna studie men det skulle vara av intresse att undersöka anledningen till dess uppkomst och eventuella påverkan på fruktkroppsbildning.

8. Slutsats

Som det andra mest kaffedrickande landet i världen genererar Sverige stora mängder restavfall i form av kaffesump varje dag. Kaffesumpens naturligt höga innehåll av både vatten, kväve och cellulosa gör det tänkbart som svampsubstrat, men dess höga

koffein- och tannininnehåll kan verka negativt på människors hälsa om det tas upp av svampen.

Utifrån studiens resultat kan slutsatsen dras att det är möjligt att odla ostronskivling på substrat bestående av kaffesump. Dock visar den praktiska studien på en tillväxthämmande effekt av kaffesump i substraten under både tillväxten av mycel och fruktkropps bildning. På grund av detta bedöms lägst inblandningsgrad av kaffesump vara mest fördelaktigt för odling av ostronskivling. Litteraturstudien styrker att *P. ostreatus* har förmågan att producera ostronskivling på substrat baserat på kaffesump. Det är dock viktigt att vara medveten om att den svamp som producerats med kaffesump som substrat troligtvis innehåller koffein. Flera studier bekräftar att arten *Pleurotus* helt lyckas bryta ner tanniner från substratet men snarare absorberar ämnet koffein än att bryta ner det. Denna slutsats kan dras eftersom halter på mellan 20–80 mg koffein per 100 gram torkad svamp har uppmätts i de framodlade fruktkropparna.

Ett entydigt svar på frågan om kaffesump kan fungera som lämpligt odlingssubstrat för ostronskivling är svårt att ge då det framförallt krävs vidare arbete med utveckling av substratmixerna tillsammans med olika stammar av *Pleurotus* för att uppnå en lönsam skörd. Det krävs även mer forskning kring den mest effektiva inblandningsgraden av kaffesump och säkerställning av halten koffein som svampen innehåller. Begränsningen för kaffesump som svamps substrat är hantering mellan producenter och svampodlingar. Risken för kontaminering under insamling och färd måste minimeras för att inte äventyra kvalitet eller innehåll i kaffesumpen.

Med tanke på kaffesumpens tillgänglighet och innehåll som svensk restprodukt är det av intresse att undersöka dess potential som svamps substrat vidare. Detta kan öppna dörrar för en miljövänlig, mer effektiv användning av kaffesump som kan möjliggöra en mer hållbar och kostnadseffektiv produktion av ostronskivling.

9. Litteraturlista

- Ahngari, B. & Sargolzaei, J. (2013). *Extraction of Lipids from Spent Coffee Grounds Using Organic Solvents and Supercritical Carbon Dioxide*. Journal of Food Processing and Preservation.
- Andreasson, P-O. (2005). *Ekologisk odling av ostronskivling*. Jordbruksinformation: 10. Jordbruksverket. Tillgänglig: <http://www.vaxteko.nu/html/sll/sjv/jordbruksinfo/JIN05-10/JIN05-10META.HTM> [2019-02-25]
- Ballesteros, L.F., Teixeira, J.A. & Mussatto, S.I. (2014). *Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin*. Food Bioprocess Technology, 7: 3493–3503.
- Blinová, L., Sirotiak, M., Bartosová, A., Soldán, M. (2017). *Review: utilization of waste from coffee production*. Research Papers Faculty of Materials Science and Technology Slovak University of Technology, 25: 91-101. Tillgänglig: <https://content.sciendo.com/view/journals/rput/25/40/article-p91.xml> [2019-03-02].
- Bååth, E. (2012). *Svampodling från mycel till fruktkropp*. Partnerskap Alnarp. Tillgänglig: <http://194.47.52.113/janlars/partnerskapalnarp/ekonf/20120614/baathElisabeth.pdf> [2019-02-25].
- Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., Vergara-Castañeda, H., Oomah, B-D. (2015). *Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects*. Trends in Food Science & Technology: 44, 24-36. Tillgänglig: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224415001193> [2019-03-02].
- Miles, P.G & Chang, S.-T. (2004). *Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact*. 2nd Edition. Florida: CRC Press.
- Echeverria, M.C. & Nuti, M. (2017). *Valorization of residues of coffee agro-industry: perspectives and limitations*. Open Waste Management Journal, 10: 13–22.
- Fan, L., Thomaz Soccol, A., Pandey, A., Porto de Souza Vandenberghe, L. & Ricardo Soccol, C. (2006). *Effect of caffeine and tannins on cultivation and fructification of Pleurotus on coffee husks*. Brazilian Journal of Microbiology, 37:4, 420-424. Tillgänglig: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822006000400003&lng=en&nrm=iso [2019-02-25]
- Fan, L., Pandey, A., Mohan, R. & Soccol, C.R. (2000). *Use of Various Coffee Industry Residues for the Cultivation of Pleurotus ostreatus in Solid State Fermentation*. Acta Biotechnologica, 20: 41-52. Tillgänglig: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/abio.370200108> [2019-02-25]
- Freitas, A. C., Antunes, M. B., Rodrigues, D., Sousa, S., Amorim, M., Barroso, M. F., Carvalho, A., Ferrador, S. M. & Gomes, A. M. (2018). *Use of coffee by-products for*

the cultivation of Pleurotus citrinopileatus and Pleurotus salmoneo-stramineus and its impact on biological properties of extracts thereof. Institute of Food Science and Technology, 53: 1914-1924.

Hansson, G. & Hansson, L. (2014). *Information om Ostronskivling*. Fungigården. Tillgänglig: https://fungigarden.files.wordpress.com/2016/03/fungi_broschyr_web1.pdf. [2019-02-25].

Hogg, S. (2013). *Essential Microbiology*. Chichester: Wiley-blackwell.

ICO (2015), International Coffee Organization. *Total production by all exporting countries*.

Tillgänglig: <http://www.ico.org/prices/po-production.pdf> [2019-02-25]

ICO (2017), International Coffee Organization. *Imports by selected importing countries*. Tillgänglig: http://www.ico.org/new_historical.asp [2019-03-24]

Jordbruksverket. (2005). *Trädgårdsproduktion 2005*. Statistiska meddelanden: JO 33 SM 060. Tillgänglig: www.jordbruksverket.se/webdav/files/SJV/Amnesomraden/Statistik.../JO33SM0601.pdf [2019-02-25]

Kalmis, E., Azbar, N., Yıldız, H., Kalyoncu, F. (2008). *Feasibility of using olive mill effluent (OME) as a wetting agent during the cultivation of oyster mushroom, Pleurotus ostreatus, on wheat straw*. Bioresources Technology, 99: 164–169.

Livsmedelsverket. (2018). *Koffein*. Tillgänglig: <https://www.livsmedelsverket.se/livsmedel-och-innehall/oonskade-amnen/vaxtgifter/koffein> [2019-03-06]

Moon, B. & Lo, Y.M. (2013). *Conventional and novel applications of edible mushrooms in today's food industry*. Journal Food Processing & Preservation, 38: 2146–2153.

Mukherjee, R. & Nandi, B. (2004). *Improvement of in vitro digestibility through biological treatment of water hyacinth biomass by two Pleurotus species*. International Biodeterioration and Biodegradation, 53: 7-12.

Murthy, P.S & Naidu, M. (2012). *Sustainable Management of Coffee Industry By-products and Value Addition- A Review*. Resources, Conservation and Recycling, 66: 45-58.

Murthy, P.S & Manonmani, H.K. (2008). *Bioconversion of Coffee Industry Wastes with White Rot Fungus Pleurotus florida*. Research Journal of Environmental Sciences, 2: 145–150.

Mussatto, S. I., Machado, E. M. S. Martins, S. & Teixeira, J. A. (2011). *Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues*. Food Bioprocess Technology.

Nationalencyklopedin (u.å.). Pastörisering. Tillgänglig:
<http://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/lång/pastörisering> [2019-03-20].

Navarro Ramalho, A., Wrobel Kultz, T., Malherbi Byczkovskia, G., Ballmann Groff, D., Stutz Dalla Santa, H. & Reyes Torres, Y. (2018). *Content of Caffeine in the Edible Mushroom Pleurotus ostreatus Grown in Coffee Residues*. The Electronic Journal of Chemistry, North America. Tillgänglig:
<http://www.orbital.ufms.br/index.php/Chemistry/article/view/1096> [2019-02-25]

Oei, P. (2003). *Manual on mushroom cultivation: techniques species and opportunities for commercial application in developing countries*. TOOL Publications, Amsterdam, Netherlands.

Pathak, R., Joshi, N. & Dwivedi, R.R. (2009). *Eco-friendly production of Agaricus bisporus (lange) imbach (white button mushroom)*. Pant Institute of Himalayan Environment and Development, Almora, UK, India.

Petre, M., Florin, P. & Teodorescu, R.I. (2016). *Controlled cultivation of mushrooms on winery and vineyard wastes*. Mushroom Biotechnology: Academic Press, 3: 31-47.

Poppe, J. (2000). *Use of the agricultural waste materials in the cultivation of mushrooms*. Mushroom Sci, 15: 3–23.

Royse, D.J. (2014). *A global perspective on the high five: Agaricus, Pleurotus, Lentinula, Auricularia & Flammulina*. Från 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, New Delhi, India. Tillgänglig:
<http://wsmbmp.org/1/01.pdf> [2019-02-25].

Sánchez, C. (2009). *Cultivation of Pleurotus ostreatus and other edible mushrooms*. Applied Microbiology and Biotechnology, 85: 1321–1337. Springer-Verlag, Tyskland.

Saranghi, I., Ghosh, D., Bhutia, S. K., Mallick, S. K., & Maiti, T. K. (2006). *Anti-tumor immunomodulating effects of Pleurotus ostreatus mycelia-derived proteoglycans*. International Immunopharmacology, 6: 1287–1297.

Sardar, H., Ali, M., Ayyub, C., & Ahmed, R. (2015). *Effects of different culture media, temperature and pH levels on the growth of wild and exotic pleurotus species*. Pakistan Journal of Phytopathology, 27: 139-145. Tillgänglig:
<http://www.pjp.pakps.com/index.php/PJP/article/view/187> [2019-02-25].

SRV (u.å.). *Matavfall*. Tillgänglig: <https://www.srvatervinning.se/om-matavfall> [2019-03-24].

Stamets, P. (2000). *Growing gourmet and medical mushrooms*. Ten Speed Press, CA, USA.

Starckman, A. (2017). *Finländarna dricker fortfarande mest kaffe i hela världen*. Sveriges Television. 11 april 2017. Tillgänglig:

<https://www.svt.se/nyheter/utiset/finlandarna-fortfarande-varldens-kaffealskare>
[2019-02-25].

Svenska Svampodlarföreningen (2018). *Ljus framtid för svensk matsvamp*.
Tillgänglig: <http://www.svampodlarna.org/organisation/odlade-svampar-oversikt-omarknad/> [2019-03-07].

WWF. (u.å.). *Fakta Kaffekuppen*. [Broschyr]. Världsnaturfonden, Solna. Tillgänglig:
www.wwf.se/naturvaktarna/spn/sid%20kaffe/pdf%20kaffe/KAFFE_fakta.pdf [2019-02-15].

Zhang, X., Wang, L., Ma, F., Yang, J. & Su, M. (2016). *Effects of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on carbon and nitrogen distribution and grain yield and nutritional quality in rice (Oryza sativa L.)*. J. Sci. Food Agric. Tillgänglig:
<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.8129>. [2019-03-25].