

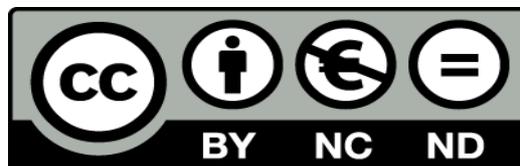


UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

TESIS DOCTORAL

| |
|--|
| Título |
| Producción sostenible del champiñón de La Rioja y mejora de la protección ambiental, a través de la investigación de ecoindicadores del análisis de ciclo de vida (ACV) |
| Autor/es |
| Francisco Javier Leiva Lázaro |
| Director/es |
| Julio Blanco Fernández y Emilio Jiménez Macías |
| Facultad |
| Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial |
| Titulación |
| |
| Departamento |
| Ingeniería Mecánica |
| Curso Académico |
| |

Tesis presentada como compendio de publicaciones. La edición en abierto de la misma NO incluye las partes afectadas por cesión de derechos



Producción sostenible del champiñón de La Rioja y mejora de la protección ambiental, a través de la investigación de ecoindicadores del análisis de ciclo de vida (ACV), tesis doctoral

de Francisco Javier Leiva Lázaro, dirigida por Julio Blanco Fernández y Emilio Jiménez Macías (publicada por la Universidad de La Rioja), se difunde bajo una Licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported. Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los titulares del copyright.

- © El autor
- © Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones, 2016
publicaciones.unirioja.es
E-mail: publicaciones@unirioja.es



**PRODUCCIÓN SOSTENIBLE DEL CHAMPIÑÓN DE LA RIOJA Y
MEJORA DE LA PROTECCIÓN AMBIENTAL, A TRAVÉS DE LA
INVESTIGACIÓN DE ECOINDICADORES DEL ANÁLISIS DE
CICLO DE VIDA (ACV)**

Francisco Javier Leiva Lázaro

Tesis doctoral

**Escuela Técnica Superior
de Ingeniería Industrial**



**UNIVERSIDAD
DE LA RIOJA**



Marzo 2016

**Directores.
Julio Blanco Fernández
Emilio Jiménez Macías**

Dedicación.

A la memoria de mi padre (Roberto Leiva),
de mis abuelos (Amadeo Lázaro y Luis Leiva),
de mis abuelas (Ascensión Gómez y Paulina Gil),
de todos aquellos seres queridos, que pese a no
estar presentes siguen velando por mí.

A mi madre, familiares y amigos que siempre han
brindado su apoyo en los momentos más difíciles.

“Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber”.

Albert Einstein

AGRADECIMIENTOS.

De bien nacido es ser agradecido. Quiero dedicar estas primeras líneas a dar las gracias a todas esas personas que han ayudado a que esta tesis doctoral se materialice.

A mis directores de tesis, Julio Blanco y Emilio Jiménez cuyo trabajo, entusiasmo y dedicación han sido fundamentales para que este trabajo sea por fin una realidad, por sus numerosos consejos, por guiarme por el mejor de los caminos en este duro viaje, por esos inolvidables congresos, por esas largas reuniones maquetando artículos y todos esos regalos que me han brindado por el camino.

A mis compañeros Eduardo y Juan Carlos cuya labor ha sido trascendental para materializar los resultados de nuestras investigaciones, cuyos consejos y guías han sido fundamentales para mi trabajo.

A todas las personas que han participado activamente en este trabajo, Marisa, Sagrario, Carmelo y compañeros que han hecho de este proyecto una realidad.

A todos mis amigos por aguantar esos numerosos días de trabajo y ausencias en nuestras reuniones, cumpleaños y juergas, en quienes he encontrado un gran apoyo para seguir luchando.

A mi pareja por aguantar mis interminables jornadas de trabajo, porque sin su empuje, apoyo y comprensión no estaría donde estoy.

A mi familia y a todas aquellas personas que, aún no siendo nombradas, han contribuido a que esta tesis haya salido adelante.

Por último, el mayor agradecimiento es para mi madre cuyo empuje, motivación, tesón y ejemplo que ha sido siempre para mí, ha hecho de mí lo que soy ahora.

Sin vosotros esto no habría sido posible, ¡GRACIAS!

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| 1 OBJETIVOS | 1 |
| 2 ANTECEDENTES DEL CULTIVO DEL CHAMPIÑÓN EN LA RIOJA..... | 2 |
| 3 EL CHAMPIÑÓN VARIEDAD AGARICUS BISPORUS..... | 4 |
| 4 ANÁLISIS DEL CICLO DE VIDA (ACV)..... | 6 |
| 5 METODOLOGÍA BASADA EN EL ACV..... | 8 |
| 5.1 DEFINICIÓN DE LOS OBJETIVOS..... | 8 |
| 5.2 DEFINICIÓN DEL ALCANCE DEL PROYECTO..... | 9 |
| 5.2.1 Unidad funcional..... | 10 |
| 5.2.1.1 Proceso de elaboración de inóculos y micelio comercial..... | 10 |
| 5.2.1.2 Proceso de compostaje..... | 10 |
| 5.2.1.3 Ciclo de cultivo..... | 11 |
| 5.2.2 Límites del sistema..... | 11 |
| 5.2.3 Inventario del ciclo de vida..... | 13 |
| 5.2.4 Evaluación del impacto ambiental..... | 14 |
| 5.2.4.1 Software usado en el ACV..... | 14 |
| 5.2.5 Interpretación de los resultados..... | 16 |
| 6 ACV DEL PROCESO PRODUCTIVO DEL CHAMPIÑÓN..... | 16 |
| 6.1 PROCESO DE ELABORACIÓN DE INOCULOS Y MICELIO COMERCIAL..... | 17 |
| 6.1.1 Preparación del grano de centeno..... | 17 |
| 6.1.2 Elaboración de inóculos..... | 18 |
| 6.1.3 Elaboración del Micelio comercial (conocido como “semilla”)..... | 18 |
| 6.2 PROCESO DE COMPOSTAJE..... | 19 |
| 6.2.1 Pre-humidificación y Elaboración de la mezcla inicial de sustrato..... | 22 |
| 6.2.2 Fase I: Fermentación aeróbica en túneles controlados..... | 22 |
| 6.2.3 Fase II (Fase de Pasteurización)..... | 23 |
| 6.2.4 Empaquetado..... | 23 |
| 6.3 CICLO DE CULTIVO..... | 23 |
| 6.3.1 Preparación de las instalaciones de cultivo..... | 24 |
| 6.3.2 Preparación de la tierra de cultivo..... | 24 |
| 6.3.3 ciclo de cultivo..... | 25 |
| 7 CONCLUSIONES..... | 26 |
| 7.1 PRODUCCIÓN DE MICELIO..... | 27 |
| 7.2 PROCESO DE COMPOSTAJE..... | 28 |
| 7.3 PROCESO DE CULTIVO..... | 29 |
| 8 FUTURAS INVESTIGACIONES..... | 30 |
| 9 REFERENCIAS..... | 30 |
| PUBLICACIONES CIENTÍFICAS..... | 39 |
| ARTICULO 1: PROCESO DE ELABORACIÓN DE INOCULOS Y MICELIO COMERCIAL..... | 41 |
| ARTICULO 2: PROCESO DE COMPOSTAJE..... | 51 |
| ARTICULO 3: CICLO DE CUTIVO..... | 61 |

ÍNDICE DE FIGURAS E ILUSTRACIONES:

| | |
|--|----|
| FIGURA 1: LÍMITES DEL SISTEMA, PROCESO DE ELABORACIÓN DE INÓCULOS Y MICELIO COMERCIAL..... | 11 |
| FIGURA 2: LÍMITES DEL SISTEMA, PROCESO DE COMPOSTAJE..... | 12 |
| FIGURA 3: LÍMITES DEL SISTEMA, CICLO DE CULTIVO..... | 12 |

ÍNDICE DE TABLAS:

| | |
|--|----|
| TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE LAS DIFERENTES CATEGORÍAS DE IMPACTO SEGÚN LA METODOLOGÍA CML. ADAPTACIÓN A PARTIR DE GUINÉE ET AL., (2002) Y AUDSLEY (1997) | 15 |
| TABLA 2. IMPACTOS AMBIENTALES RESULTANTES EN EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DEL CHAMPIÑÓN, METODOLOGÍA CML 2 BASELINE 2000..... | 27 |

1 OBJETIVOS

El presente trabajo se orienta fundamentalmente hacia el estudio de los aspectos medioambientales de la producción de champiñón de la variedad *Agaricus Bisporus*, más conocido como champiñón común o “White button mushroom” y las otras etapas que componen su ciclo de vida.

El análisis realizado en este trabajo abarca el ciclo de vida completo del proceso productivo del champiñón, considerando cada una de las fases que lo componen:

- Proceso de elaboración de inóculos y micelio comercial.
- Proceso de compostaje.
- Ciclo de cultivo.

Para la realización del estudio se han recogido datos de las instalaciones de cada uno de los procesos objetos de estudio, situadas en La Rioja, España.

En este estudio se ha realizado un modelo de análisis de ciclo de vida (ACV) para cuantificar los impactos ambientales asociado a estos procesos. La identificación y análisis de las entradas y salidas, tanto de materiales como energéticas, de las diferentes actividades involucradas en el proceso productivo, han permitido desarrollar un modelo de ACV completo. Con ello se pretende dar una visión ambiental del ciclo productivo de uno de los productos más significativos de la región, que junto con el vino, son productos exportados y distribuidos a nivel nacional e internacional.

La identificación y análisis de las entradas y salidas, tanto de materiales como energéticas, de las diferentes actividades involucradas en el ciclo de cultivo del champiñón, han permitido desarrollar un modelo de ACV completo del proceso de cultivo de la especie *Agaricus Bisporus*.

Dentro del análisis del ciclo de vida nos interesa calcular los problemas ambientales que producen cambios climáticos, en definitiva, obtener la huella de carbono del cultivo.

El valor de la huella de carbono una vez obtenido los datos del análisis de ciclo de vida son relativamente sencillos de calcular puesto que para determinar la HC solo se tiene en cuenta los aspectos que influyen en la producción de cambio climático. Con este valor las empresas podrán establecer políticas de reducción que le aportaran beneficios económicos y podrán mejorar la imagen del sector. Si bien la Tesis aportará una serie de opciones de mejorar que podrán ser desarrollados en otros estudios o bien implantados. A parte dispondrán de la metodología de cálculo para futuros cálculos. Será posible, si se desea, obtener otra información ambiental a partir del ACV como son la eutrofización, la toxicidad, etc.

Debido a la ausencia de investigaciones científicas relacionadas con el análisis medioambiental del proceso productivo del champiñón y de cada una de sus fases, este trabajo ofrece una base para futuras investigaciones y como modelo comparativo en análisis medioambientales en el sector micológico para otras variedades de cultivo.

Los datos de las plantas reales ubicadas en La Rioja, España, se han recogido para realizar la LCA. La Rioja es una región líder en España en la producción de hongos comestibles, preferentemente en el cultivo del champiñón. (Leiva-Lazaro et al., 2014), con una poderosa estructura de producción y comercialización.

2 ANTECEDENTES DEL CULTIVO DEL CHAMPIÑÓN EN LA RIOJA.

El cultivo de champiñón en La Rioja hunde sus raíces en las primeras décadas del siglo XX época en la que la población logroñesa cultivaba sus propios cultivos en cuevas y sótanos ocultos. Fue donde apareció por primera vez el champiñón en La Rioja.

A finales de los años 50 el cultivo se extendió hacia las regiones de La Rioja baja, donde empezaban a quedar en desuso las bodegas dedicadas a la fermentación del vino por la aparición de las primeras cooperativas.

Debido a que las bodegas, ya en desuso, ofrecían unas condiciones ideales para el cultivo del champiñón, se comenzaron a utilizar con tal fin. En 1954, los hermanos Gil Merino compraron por encargo una botella de compost invadido tras leer un anuncio de propaganda de la casa Roca de Barcelona. Aquella primera botella fue el inicio del cultivo de champiñón en Pradejón que, como en el resto de localidades, se inició en bodegas de vino en desuso. La familia Gil Merino asentó así las bases para el cultivo de champiñón en la localidad ([Fuente extraída de Fungiturismo](#)).

En la década de los 70 el sector del champiñón se consolidó por completo con la aparición de las primeras plantas de compostaje muy cercanas a la localidad, lo cual permitió tener acceso a material en condiciones ideales para su uso inmediato en el cultivo del champiñón. Este hecho ahorró enormes costes y esfuerzos a los cultivadores de la región cada vez más influyente en el cultivo de esta seta.

Dada la importancia que con el paso del tiempo adquirió el cultivo del champiñón en la región, se creó en 2003 el Centro Tecnológico de Investigación del Champiñón (CTICh) y posteriormente se creó la primera planta de reciclaje de compost, la cual gestiona el 70% del sustrato total de champiñón y setas que se genera en la región.

La Rioja es la región líder en España en cuanto a la producción de champiñón y cuenta con una potente estructura productiva y comercializadora. La Rioja tiene 215 hectáreas dedicadas al cultivo del champiñón de un total de 497 hectáreas en España dedicadas a dicho cultivo. Con una producción de 70,1 Mt de champiñón, lo que supone el 52 % de la producción nacional, se convierte en la región líder de producción de champiñón en España ([Ministerio de agricultura, 2014](#)). La producción de La Rioja representa el 4,25 % de la producción Europea ([Sonnenberg et al., 2011](#)). De lo producido en La Rioja, el 42% se consume en fresco y el 57% se destina a conserva. A pesar de que cada vez más españoles consumen este peculiar hongo, la media nacional es de 1,7 Kg anuales per cápita, cifra inferior frente a la media europea, que se estima en 3 Kg anuales.

3 EL CHAMPIÑÓN VARIEDAD *AGARICUS BISPORUS*.

El número de especies de hongos en la Tierra se estima en 1,5 millones, pero tal vez sólo el 10% son conocidos (Hawksworth 2001). La mayoría de las especies de hongos son comestibles y han sido cultivadas con éxito a nivel comercial en todo el mundo mediante el uso de residuos lignocelulósicos como sustratos para su cultivo (Yadav et al., 2014; Reshetnikov et al., 2001). Se estima en 1,5 millones de especies. Los hongos son tras los insectos el grupo de organismos más abundantes en la biosfera. Tan sólo unas 2.000 especies, pertenecientes a unos 30 géneros son comestibles: 80 especies se cultivan experimentalmente, 40 especies se cultivan de modo artesanal, 20 especies se cultivan comercialmente, 4 ó 5 especies se cultivan a escala industrial.

El *Agaricus Bisporus*, conocido comúnmente como champiñón, es una especie de hongo basidiomiceto de la familia Agaricaceae (Leiva et al., 2015c) cultivado extensamente por todo el mundo (Ma et al., 2014; Saravanan et al., 2013) en más de setenta países, siendo el hongo más cultivado desde hace décadas (Foulongne-Oriol et al., 2014; Tautorus, 1985). Es un organismo eucariota no verde y de rápido crecimiento dentro del dominio de los eucariotas (Oz et al., 2015; Ma et al., 2014; Saravanan et al., 2013; Jurak et al., 2013). La zona de producción de este hongo se limita principalmente a los países de clima templado debido a las condiciones ambientales necesarias para su cultivo (Foulongne-Oriol et al., 2014).

El *Agaricus Bisporus* está específicamente adaptado a crecer a partir de material parcialmente descompuesto (Kerrigan et al., 2013). Crece principalmente sobre sustratos lignocelulósicos que deben descomponerse en parte para que desaparezcan los azúcares solubles fácilmente asimilables que favorecen la presencia de competidores como algunos mohos y bacterias (Donini et al., 2006; García Rollán, 2007).

El champiñón es generalmente cultivado instalaciones especialmente adaptadas a su cultivo, aunque también podemos encontrarlo de modo silvestre en casi todas las latitudes a nivel mundial y sobre todo en áreas de elevada humedad, especialmente después de épocas de lluvia, a partir de finales de la primavera hasta el otoño. Es fácilmente reconocible y diferenciado del resto de especies de hongos, lo que hace que

hasta los recolectores menos experimentados no tengan una gran dificultad a la hora de identificarlo (Akinyele et al., 2012).

Aunque el cultivo de hongos en general y del champiñón en particular es un proceso complejo en comparación con otros de cultivos, es muy eficiente si se realiza correctamente, con un máximo de 8-9 ciclos de cultivo anuales (Sonnenberg et al., 2011).

El principal uso de este hongo es en la gastronomía debido a su alto valor nutricional contiene proteínas, aminoácidos, polisacáridos, vitaminas, etc. (Wani et al., 2010; Kakon, 2012; Moon et al., 2013), siendo un componente importante de la dieta humana desde hace más de 200 años (Morin et al., 2012) y el hongo más consumido (Foulongne-Oriol et al., 2014). Los hongos cultivados comestibles, como el *Agaricus Bisporus*, tienen algunas propiedades valiosas como una notable cantidad y calidad de proteínas, aminoácidos, polisacáridos, vitaminas, etc. (Moon et al., 2013; Wani et al., 2010), bajo nivel de energía, algunos elementos importantes, como K y P, además de reconocimiento gastronómico (Vetter, 2007). Los cuerpos fructíferos de los hongos se han utilizado como material alimenticio y saborizante de alimentos durante siglos (Ma et al., 2014). Los cuerpos fructíferos de los hongos se han utilizado como alimento y saborizante de alimentos durante siglos debido a sus sabores únicos (Ma et al., 2014), así como un interesante suplemento alimenticio (Miles et al., 2004).

Además de ser un elemento importante en la gastronomía, posee un uso muy extendido en la medicina ya que posee propiedades medicinales útiles para tratar ciertas enfermedades como el cáncer o la diabetes, debido a sus propiedades antimicrobianas, antitumorales, anticancerígenas o antioxidantes (Dutta, 2013; Özçelik et al., 2007). Investigadores han indicado también que el *Agaricus Bisporus* tiene funciones farmacológicas que incluyen actividades antimicrobianas, antitumorales, anticancerígenas, antioxidantes, hipocolesterolémicas, antidiabéticas, inmunosupresoras, antialérgicas, antivirales y hepatoprotectoras (Wasser 2003, Rathee, Rathee et al., 2012; Xu et al., 2012; Dutta 2013).

4 ANÁLISIS DEL CICLO DE VIDA (ACV).

El origen de la metodología de un ACV se remonta a finales del 1960 (Miettinen et al., 1997). Los estudios iniciales eran simples y generalmente restringidos a calcular los requerimientos de energía y los residuos sólidos, con poca atención a la evaluación de los efectos ambientales potenciales. El marco general de la metodología de un ACV ha cambiado en los últimos años. Desde 1990, se han hecho intentos para desarrollar y estandarizar la metodología del ACV, bajo la coordinación de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (siglas en inglés SETAC) (Guinée et al., 2002). En 1993, la SETAC publicó un “Código de buenas prácticas”, en el que se presentan los principios generales y un marco para la realización, revisión, presentación y utilización de los resultados del ACV (SETAC, 1993). Un estándar internacional para el ACV elaborado por la Organización Internacional de Normalización (ISO) ha surgido recientemente y está en fase de evaluación y revisión (Burgess et al., 2001). El marco metodológico para la normativa ISO es similar a la de SETAC con algunas diferencias para la fase de interpretación, donde las normas ISO han incluido su posterior análisis y estudios de sensibilidad.

- UNE-EN ISO 14040. Gestión Medioambiental. Análisis de Ciclo de Vida. Principios y Estructura.
- UNE-EN ISO 14041. Gestión Medioambiental. Análisis de Ciclo de Vida. Definición de Objetivos y Alcance y análisis de inventario.
- UNE-EN ISO 14042. Gestión Medioambiental. Análisis de Ciclo de Vida. Evaluación de Impacto de Ciclo de Vida.
- UNE-EN ISO 14043. Gestión Medioambiental. Análisis de Ciclo de Vida. Interpretación de Ciclo de Vida.
- UNE-EN ISO 14047. Gestión Medioambiental. Análisis de Ciclo de Vida. Ejemplos de la aplicación de ISO14042.
- UNE-EN ISO 14048. Gestión Medioambiental. Análisis de Ciclo de Vida. Formato de documentación de datos del análisis.

A diferencia de otros métodos de evaluación de impacto ambiental, el ACV se desarrolló para considerar una amplia gama de recursos potenciales y los impactos

ambientales que incluyen, entre otros: el calentamiento global, el agotamiento de la capa de ozono, la eutrofización, la acidificación, toxicidad humana y los ecosistemas, agotamiento de recursos naturales, el consumo de energía, uso de la tierra y el uso del agua (Jiménez et al., 2014; Martínez et al., 2014). Ejemplos de los impactos ambientales que pueden ser cubiertos por un ACV:

- El cambio climático.
- La acidificación.
- La eutrofización.
- La toxicidad de los Ecosistemas.
- El agotamiento del ozono.
- La formación de humo.
- La alteración del hábitat.
- La disminución de la biodiversidad.
- El agotamiento de los recursos.
- El consumo de agua.
- El uso de la tierra.
- El cambio de uso del suelo.

El análisis del ciclo de vida (ACV) es una de las técnicas más utilizadas para la identificación de los impactos ambientales ofreciendo un marco y métodos para analizar y evaluar los aspectos ambientales y el impacto potencial de un material, producto o servicio (Lorenz, 2014) a lo largo de su ciclo de vida (Baumann et al., 2004; Leiva-Lazaro et al., 2014).

El análisis del ciclo de vida es una "compilación y evaluación de las entradas, las salidas y los impactos ambientales potenciales de un sistema de producto a lo largo de su ciclo de vida" (Nicolae et al., 2015), siendo una metodología bajo la norma ISO 14040 (Martinez et al., 2014).

El análisis del ciclo de vida es utilizado principalmente para determinar el impacto del producto, servicio o proceso estudiado siguiendo la metodología “de la cuna a la tumba” (Jiménez et al., 2014; Pieragostini et al., 2014). Es utilizado como método para definir y reducir las cargas ambientales de un producto, proceso o actividad mediante la identificación y cuantificación de la energía y los materiales de uso y residuos vertidos, la evaluación de los impactos de los desechos en el medio ambiente y la evaluación de las oportunidades de mejora del medio ambiente durante todo el ciclo de vida (Azapagic et al., 1999).

Puede ser utilizado como herramienta para identificar los puntos críticos del proceso de producción, o puntos calientes, y de este modo estudiar las posibles mejoras (Belussi et al., 2015; Wang et al., 2015). Sirve también para examinar los impactos potenciales de un producto, proceso o servicio, debido a que considera todos los aspectos y fases del mismo (Jimenez et al., 2014).

Es un instrumento efectivo en la toma de decisiones (Guinee et al., 1993) ya que incluye todas las cargas e impactos en el ciclo de vida de un producto o un proceso, no centrándose únicamente sobre las emisiones y residuos generados por sólo el sitio de la planta o de fabricación, proporcionando una base cuantitativa para evaluar y elegir posibles alternativas y/o mejoras (Guinée et al., 1993; Jiménez et al., 2014).

El alcance de la evaluación abarca la extracción y transformación de materias primas, procesos de fabricación y montaje, la distribución del producto, uso, reutilización, mantenimiento, reciclaje y disposición final.

5 METODOLOGÍA BASADA EN EL ACV.

5.1 DEFINICIÓN DE LOS OBJETIVOS.

Uno de los primeros puntos a tener en cuenta es la correcta definición de los objetivos y límites del sistema, previamente definidos. Este paso es esencial a fin de evaluar los resultados finales, ya que es necesario conocer, junto con el impacto evaluado, el alcance del estudio y las etapas del proceso que se han tenido en cuenta. En el presente

caso, el objetivo principal es obtener una visión ambiental completa del proceso de identificación y análisis de las entradas y salidas de materiales y energía asociados con las diferentes formas de desarrollo de cada una de las actividades involucradas en el proceso productivo de la variedad *Agaricus Bisporus*.

Se realizará un análisis puerta a puerta o “*gate-to-gate*”, estudiando todos los procesos productivos, identificando en cada uno de ellos los materiales utilizados, recursos energéticos y flujos de proceso hasta la creación de la unidad funcional final definida en la fase de alcance. Se considerará cada etapa del ciclo de vida, desde la entrada de materiales, hasta el almacenamiento del producto final, con el fin de identificar las actividades críticas dentro del proceso. El sistema estudiado incluye desde la admisión de la entrada de materiales, incluyendo el transporte desde la empresa de origen hasta la empresa productora, o la recolección del producto final, pasando por todos los procesos productivos.

Todos los datos han sido recolectados en diferentes empresas de La Rioja para cada uno de los procesos y obtenidos de bibliografía científica, previamente revisada antes de la recolección de datos.

Se realizará un análisis de sensibilidad para evaluar el impacto de las perspectivas sobre el modelo, pero no las incertidumbres sobre los datos de inventario.

5.2 DEFINICIÓN DEL ALCANCE DEL PROYECTO.

Para definir el alcance del proyecto es imprescindible tener en cuenta, alguno de los siguientes puntos:

- Las funciones del sistema de producto como son la recepción, los sistemas de procesamiento, la aplicación de los sistemas objeto de estudio, etc.
- La unidad funcional objeto de estudio.
- El sistema de producto a ser estudiado.

- Los límites del sistema producto que nos va a determinar los procesos y materiales que van a ser incluidos en el estudio.
- Los procedimientos de asignación de los datos recolectados.
- La metodología de evaluación de impacto necesaria para cumplir los objetivos de estudio.
- Las necesidades de datos para llevar a cabo la metodología elegida.
- Suposiciones en el caso de que tengamos una ausencia parcial o total de información.
- Limitaciones del estudio para la identificar de impactos ambientales total del sistema.

5.2.1 Unidad funcional.

La unidad funcional va a ser la unidad de referencia del estudio. Debe ser definida desde el principio, ya que todo el estudio girara en torno a dicha unidad funcional. La unidad funcional variará de un análisis a otro, ya que depende de las salidas del sistema y de la forma en que entran en el siguiente. Este estudio consta de tres procesos encadenados con diferentes unidades funcionales por lo que cada una de ellas debe ser adaptada a la siguiente fase.

5.2.1.1 Proceso de elaboración de inóculos y micelio comercial.

La unidad funcional se ha definido como un paquete de semillas de *Agaricus Bisporus*. Cada paquete tiene un peso total de 3 kg.

5.2.1.2 Proceso de compostaje.

La unidad funcional se ha definido como un paquete de compost con micelio inoculado de la variedad *Agaricus Bisporus* con un peso medio de 19 kg.

5.2.1.3 Ciclo de cultivo.

La unidad funcional se ha definido como un paquete de champiñón con un peso de un kg de la variedad *Agaricus Bisporus*.

5.2.2 Límites del sistema.

Definida la unidad funcional, los límites del sistema deben ser definidos. Durante esta fase, se identifica el contexto y la profundidad de la evaluación del estudio. Este paso inicial también determina el límite del estudio. Una descripción precisa de los límites del sistema, es muy importante porque la recolección de datos depende de la adecuada comprensión de donde comienza y termina cada etapa del análisis del ciclo de vida.

Se han establecido un los límites de actuación para el estudio. Dichos límites del modelo de ACV abarcan la producción global del producto objeto de estudio, basado en la unidad funcional previamente definida. Se muestran los límites del sistema para cada uno de los procesos que conforman el proceso global.

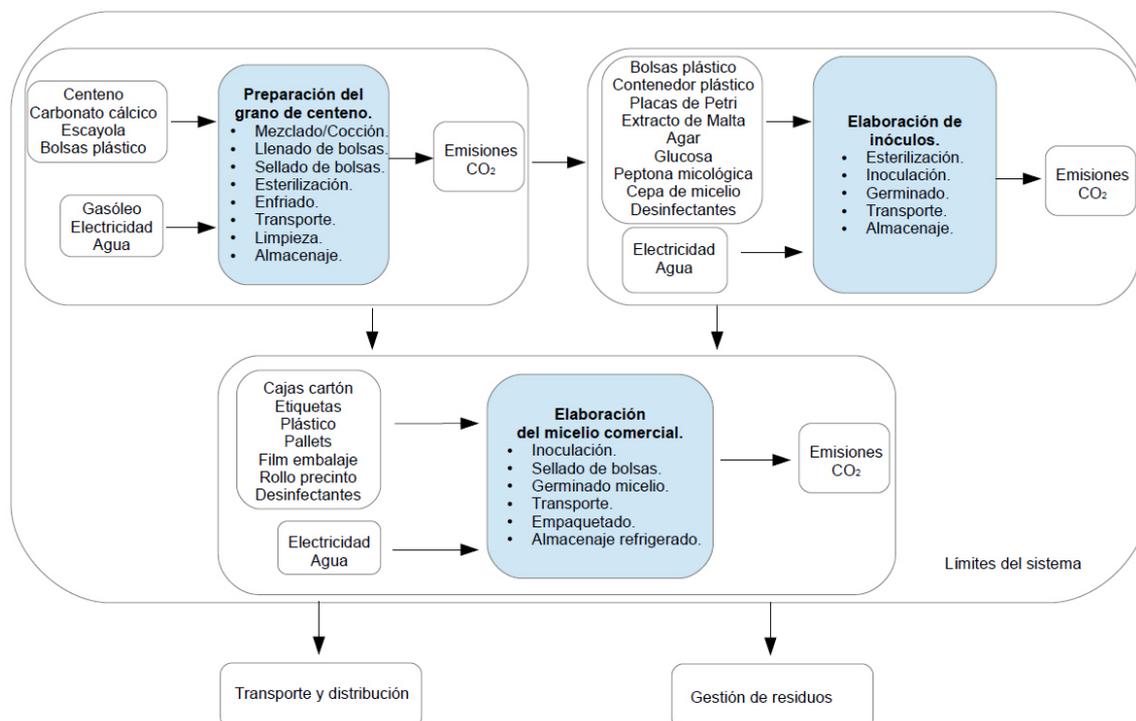


Figura 1: Límites del sistema, proceso de elaboración de inóculos y micelio comercial

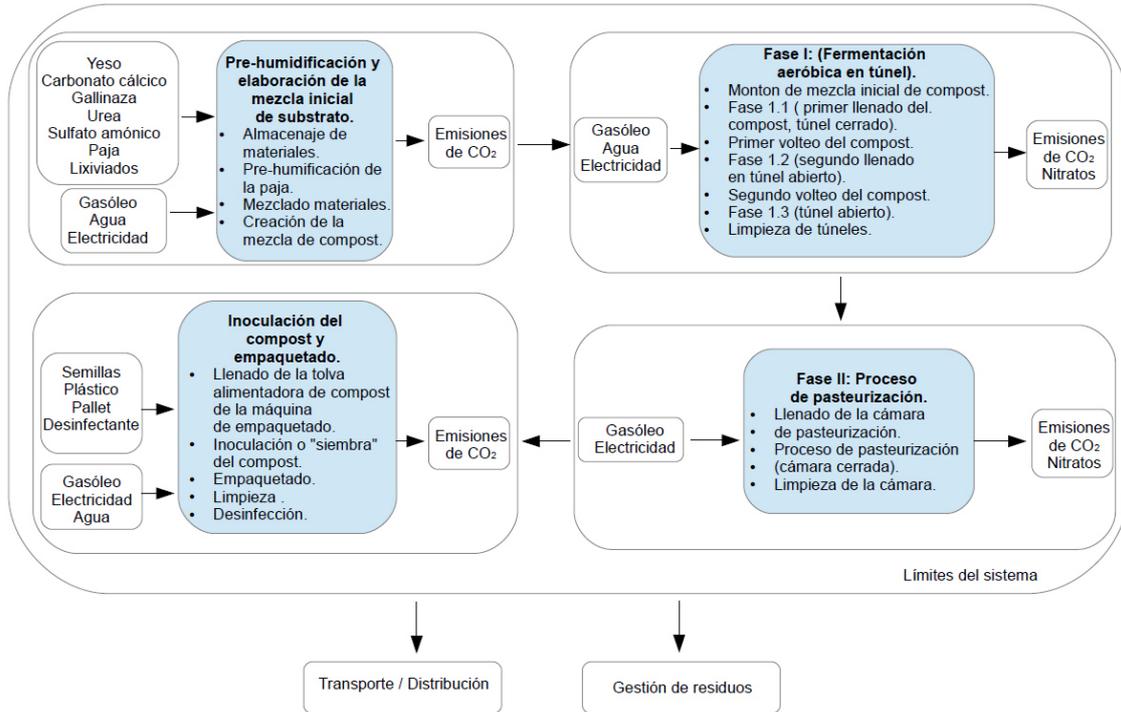


Figura 2: Límites del sistema, proceso de compostaje.

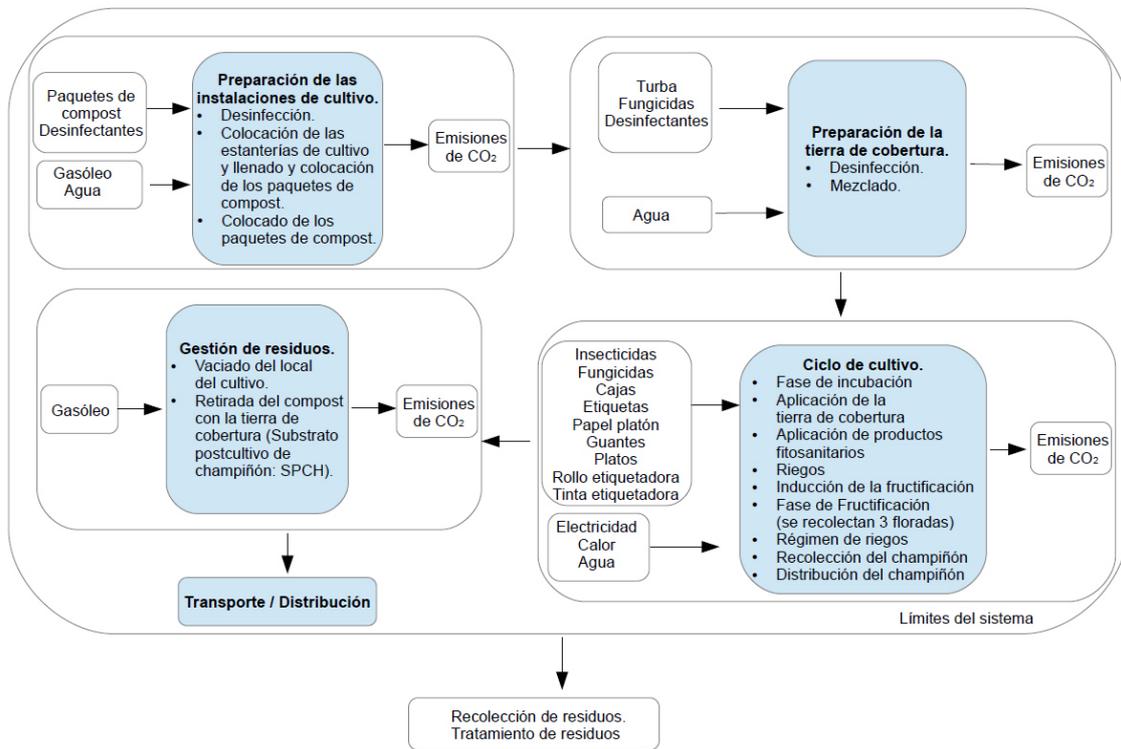


Figura 3: Límites del sistema, ciclo de cultivo.

5.2.3 Inventario del ciclo de vida.

En esta fase de estudio se identifican y cuantifican los materiales utilizados durante el proceso, incluyendo materiales, energía, recursos y emisiones ambientales al aire, agua y tierra en todo el ciclo de vida del proceso objeto de estudio, incluyendo:

- Adquisición de materia prima.
- Elaboración y transformación de las materias primas hasta los productos finales.
- La producción y consumo de productos intermedios.
- El transporte de materias primas y productos terminados.
- La disposición final de los residuos producidos durante el período de tratamiento como en el final de la vida útil del producto.

Es necesario ubicar e identificar los subsistemas o procesos unitarios con el fin de identificar la utilización de las entradas recopiladas y las emisiones producidas por cada uno de ellos dentro del conjunto de actividades o del proceso global, para identificar los puntos calientes o “*hotspot*” para estudiar mejoras o escenarios alternativos con el fin de reducir el impacto producido.

Una vez se han identificado los componentes en el sistema, es necesario para describir las técnicas de recogida de datos para cada unidad de proceso. Los datos de inventario para el sistema se pueden obtener a partir de un número de fuentes, incluyendo:

- Literatura existente.
- Estudios específicos.
- Las investigaciones realizadas en ese campo.
- Los organismos gubernamentales.

Dependiendo de los requisitos de los datos necesarios para el estudio y la accesibilidad de la información adecuada, la recolección de datos comprende una parte importante del proceso de creación del inventario del ciclo de vida.

5.2.4 Evaluación del impacto ambiental.

Definidos los objetivos, establecidos los límites del sistema para la acotación del estudio y los datos necesarios para realizar el estudio, el siguiente paso para completar el análisis del ciclo de vida, es necesario evaluar el impacto del proceso estudiado. La recopilación de datos es una parte importante para poder obtener un análisis completo y preciso, por lo que debe hacerse lo más completa posible.

Ante la gran cantidad de metodologías existentes y de las categorías de impacto analizadas, es necesario establecer las categorías que van a ser estudiadas y consecuentemente elegir el método que más se ajusta a nuestras necesidades.

5.2.4.1 Software usado en el ACV.

En los últimos años y basados en la metodología del ACV se han desarrollado numerosos programas para facilitar su cálculo. La mayoría de estos programas incluyen bases de datos que pueden variar en extensión y calidad de dichos datos y por lo tanto en el precio. Las bases de datos de inventarios públicos vienen incorporadas en la mayoría de los programas comerciales.

En ellos se introducen los datos que configuran el inventario para posteriormente realizar los cálculos propios de la fase del inventario del ciclo de vida, obteniéndose los resultados para las diferentes categorías de impacto elegidas. Algunos de estos programas realizan también análisis de sensibilidad e incertidumbre.

El software utilizado para el presente estudio es el SimaPro y se ha aplicado la metodología CML 2 baseline 2000 para el cálculo del impacto ambiental que analiza las siguientes categorías:

- Agotamiento abiótico (AD).
- Calentamiento global (GWP100).

- Agotamiento de la capa de ozono (OLD).
- Toxicidad humana (HT).
- Ecotoxicidad acuática (FWAE y MAE).
- Ecotoxicidad terrestre (TE).
- Oxidación fotoquímica (PO).
- La acidificación (AC).
- La eutrofización (EU).

| Categoría de impacto | Área de Protección ⁽¹⁾ | Unidades ⁽²⁾ | Escala geográfica | CML |
|--------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------------|-----|
| Entradas | | | | |
| Agotamiento recursos abióticos | IV | kg Sb a ⁻¹ | Global | A |
| Energía | IV | MJ kg ⁻¹ | Global | A |
| Uso del suelo Competitividad | IV | | Local | A |
| Pérdida soporte vida | I, II, III | | Local | B |
| Pérdida Biodiversidad | II | | Local | B |
| Salidas | | | | |
| Cambio climático | I, II, III | kg CO ₂ | Global | A |
| Agotamiento Ozono | I, II, III, IV | kg CFC11 | Global | A |
| Acidificación | I, II, III, IV | kg SO ₂ | Continental/regional/local | A |
| | | kg H ⁺ | Global | |
| Eutrofización | I, III, IV | kg PO ₃ ⁻ | Continental/regional/local | A |
| Formación Foto-oxidantes | I, II, III, IV | kg etileno | Continental/regional/local | A |
| Toxicitat humana | I | kg 124 DCB | Continental/regional/local | A |
| | | kg Pb aire ^(*) | Global | |
| Ecotoxicitat Terrestre | II, IV | kg 124 DCB | Continental/regional/local | A |
| | | kg Zinc aire ^(*) | Global | |
| Acuática marina | II, IV | kg 124 DCB | Continental/regional/local | A |
| Acuática agua dulce | II, IV | kg 124 DCB | Continental/regional/local | A |
| | | kg Zinc agua ^(*) | Global | |
| Sedimento agua dulce | II, IV | kg 124 DCB | Continental/regional/local | B |
| Sedimento marino | II, IV | kg 124 DCB | Continental/regional/local | B |
| Otros | | | | |
| Desecación | | m ³ | Local | C |
| Radiaciones | | | Regional/local | B |
| Olor | | | Local | B |
| Ruido | | | Local | C |

⁽¹⁾Áreas de protección: I salud humana, II entorno natural, III entorno modificado por el hombre, IV recursos naturales

⁽²⁾Unidades propuestas por (Guinée y col., 2002) a excepción de ^(*) Audsley (1997)

Tabla 1. Clasificación de las diferentes categorías de impacto según la metodología CML.
Adaptación a partir de Guinée et al., (2002) y Audsley (1997)

5.2.5 Interpretación de los resultados.

Obtenidos los resultados es necesario interpretarlos, ya que por sí solos son meros números y unidades sin sentido aparente. Es necesario analizar los resultados, llegar a conclusiones, explicar las limitaciones, proporcionar recomendaciones basadas en los resultados de las fases anteriores y que informe de los resultados de la interpretación del ciclo de vida analizado.

Se debe asegurar que toda la información y datos necesarios para la fase de interpretación son los recogidos en el inventario del ciclo de vida, se debe evaluar la fiabilidad de los resultados obtenidos y sacar unas conclusiones que refuercen en el entendimiento de los resultados, así como determinar si las suposiciones realizadas, el método utilizado y los datos recopilados son coherentes con el objetivo y el alcance del estudio inicialmente planteado.

Con los resultados se pueden identificar y localizar los puntos calientes del proceso, permitiendo la aplicación de mejoras que los eliminen, ya que el ACV no sólo analiza un proceso como algo global, si no que analiza los subprocesos existentes considerándolos como procesos individuales. Se plantearán escenarios alternativos, conforme a las limitaciones y suposiciones planteadas a la hora de definir los límites del sistema, para la mitigación de los elevados impactos atendiendo a las categorías de impacto analizadas.

6 ACV DEL PROCESO PRODUCTIVO DEL CHAMPIÑÓN.

Como se ha mencionado en el apartado de objetivos, el presente trabajo se orienta fundamentalmente hacia el estudio de los aspectos medioambientales de la producción de champiñón de la variedad *Agaricus Bisporus*, a lo largo de su ciclo de vida.

El análisis realizado abarca el ciclo de vida completo considerando cada una de las fases que lo componen:

- Proceso de elaboración de inóculos y micelio comercial.
- Proceso de compostaje.

- Ciclo de cultivo.

Cada una de las fases del proceso ha sido analizada individualmente como procesos independientes para un análisis más completo y detallado, para finalmente obtener el impacto global del proceso completo.

6.1 PROCESO DE ELABORACIÓN DE INOCULOS Y MICELIO COMERCIAL.

El micelio es la masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo de un hongo. Las colonias de hongos compuestas por micelio se encuentran en el suelo y en muchos otros sustratos. Una espora única germina en un micelio homocariótico, que no puede reproducirse sexualmente; cuando dos micelios homocariotas compatibles se unen y forman un micelio dicariótico, dicho micelio puede formar cuerpos fructíferos como los hongos.

6.1.1 Preparación del grano de centeno.

El proceso comienza con la selección del medio de crecimiento del micelio que tiene propiedades específicas físicas, químicas y microbiológicas que estimulan y promueven la iniciación de primordios (Noble et al., 2003). Ejemplos de medios utilizados son semillas de sorgo, mijo, trigo o centeno (García-Rollan, 2007).

La estructura física del grano, es eficaz como soporte para el desarrollo del micelio, siendo un elemento favorable para el crecimiento y desarrollo del micelio como fuente lignocelulósica (Tanaka et al., 2013). La capacidad del hongo para crecer sobre sustratos lignocelulósicos está relacionada con la fuerza de micelio y la capacidad de activar los mecanismos fisiológicos (Mata et al., 2001). La mayor parte de los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo micelial se obtienen a partir de lignina, celulosa, hemicelulosa, etc, como fuente de carbono (Krupke et al., 2003).

Para que los granos sean adecuados para la utilización como semilla se deben cocer, en un cocedor rotativo especialmente diseñado para ello, escurrir y mezclar con carbonato

de calcio y yeso para estabilización del pH y como fuente añadida de Calcio. Finalmente la esterilización eliminará cualquier bacteria que altere el crecimiento del micelio evitando pérdidas considerables (Sobieralski et al., 2012).

6.1.2 Elaboración de inóculos.

El inóculo se obtiene haciendo crecer el micelio del champiñón cultivado primeramente en placas de Petri creando el medio adecuado sobre las semillas previamente tratadas y esterilizadas (García-Rollan, 2007). Existen otros métodos de elaboración de inóculos que usan formulaciones especialmente diseñadas para ello.

Para inocular las semillas con el micelio, es necesario crear el inóculo en un medio de cultivo artificial en laboratorio. Los cultivos en agar y medios líquidos (sistemas totalmente artificiales) son excelentes e indispensables para el desarrollo del micelio (Erbil et al., 2008). La adición de peptona ayuda a obtener un crecimiento óptimo en el medio de cultivo (Gaspar et al., 2011). Es necesario indicar que el medio utilizado para el crecimiento del micelio es, a menudo, específico para una determinada especie de hongo (Steele et al., 1975; Jennings et al., 1999).

El crecimiento del micelio está fuertemente influenciado por las condiciones in vitro, como el tiempo de incubación, la temperatura, el pH, el tamaño del inóculo, etc. (Erbil et al., 2008). La temperatura más favorable para el crecimiento y colonización del micelio del *Agaricus Bisporus* es de 25°C (Andrade et al., 2007), con un valor de pH óptimo próximo a la neutralidad, alrededor de 7 (Yadav et al., 2014) y una relación de carbono/nitrógeno en el cultivo de 20:1-30:1 (Ma et al., 2014).

6.1.3 Elaboración del Micelio comercial (conocido como “semilla”).

Una vez inoculado el micelio del hongo en los granos de cereal, se incuba a la temperatura óptima para la cepa 20-25°C hasta que todo el contenido de la bolsa haya sido invadido por el micelio. Una vez finalizada la fase de incubación, las bolsas de micelio se deben mantener en una cámara frigorífica a unos 2°C para ralentizar la actividad del micelio (García-Rollan, 2007). El micelio comercial llega a las Centrales

de compostaje, donde debe ser deshecho y se mezclan mecánicamente con el compost o sustrato en la Fase de “siembra o inoculación”, posteriormente el compost se envasa bien en paquetes, o en contenedores o bien en masa si se va a hacer la Fase III en túnel.

La calidad del micelio empleado para inocular el compost es clave junto con la calidad del compost para obtener un rendimiento adecuado de la especie de hongo a cultivar. La calidad de la semilla, depende concretamente de obtener y mantener buenas cepas madre y elaborar inóculos adecuados. Estas cepas madre, se obtienen a partir de esporas, de tejidos de los hongos, o mediante técnicas de mejora genética y deben estar libres de microorganismos contaminantes, es decir, que deben ser cultivos puros (Miles et al., 2004).

La influencia de las características físicas y químicas de los sustratos en el crecimiento del micelio de los hongos se ha destacado en los últimos estudios (Donini, Bernardi et al., 2006; Özçelik et al., 2007, Sales-Campos, Eira et al. 2008), así como las diferencias en el crecimiento del micelio de los hongos que crecen en el mismo tipo de sustrato en las mismas condiciones de crecimiento (Boyle, 1998; Maki et al., 2001; Silva et al., 2005; De Andrade et al., 2010).

6.2 PROCESO DE COMPOSTAJE.

El proceso de compostaje se basa en la acción de diversos microorganismos aerobios (Haug, 1993), que actúan de manera sucesiva, sobre la materia orgánica original. El compostaje es función de determinados factores, produciendo elevadas temperaturas, reduciendo el volumen y el peso de los residuos y provocando su humificación y oscurecimiento (Leiva et al., 2015a). La tipología de residuos (subproductos) que son apropiados para el proceso de compostaje es muy elevada, entre los que distinguir los residuos sólidos urbanos e industriales (aunque este tipo de residuos no se emplean para la elaboración de compost de champiñón por su contenido en Metales pesados), estiércol, subproductos procedentes de la agricultura y forestales o cualquier basura orgánica (Haug, 1993).

La producción de compost para el cultivo del champiñón, es un proceso que implica la bioconversión de materias primas como paja de trigo, estiércol de pollo, conocido como “gallinaza”, en algunos países utilizan también el estiércol de caballo en sus formulaciones, aunque no es el caso de España, y yeso, en un sustrato capaz de soportar el crecimiento de la especie *Agaricus bisporus* (Lyons et al., 2006; Straatsma et al., 2000). El proceso de compostaje depende de la acción de diferentes microorganismos que actúan sobre el sustrato, convirtiéndolo en compost para el crecimiento del champiñón (Miles et al., 2004). Durante el proceso, los azúcares solubles aumentan y se degradan como consecuencia de las elevadas temperaturas (Pudelko, 2014). Dicha degradación es relevante para la cantidad de compost producido y, puesto que la relación de agua y de materia seca no es constante, desempeña un papel en la cantidad y calidad final del compost (Straatsma et al., 2000).

El proceso favorece el desarrollo de microorganismos termófilos, propiciando la generación de un compost selectivo para el crecimiento del champiñón (Stölzer et al., 1991).

En el compostaje tradicional se lleva a cabo la Fase de Fermentación (Fase I) en pilas (en espacios cerrados o abiertos) de 2-3 m de altura, 3-5 m de ancho y hasta un centenar de metros de largo, a fin de mantener las temperaturas altas dentro de la pila y también permitir el flujo de oxígeno al núcleo de la pila (van Haaren et al., 2010).

En el proceso de compostaje en hileras, el oxígeno no puede penetrar a través del cuerpo de la hilera. Por lo tanto, puede tener lugar alguna reacción anaeróbica que genera metano (van Haaren et al., 2010). Sin embargo, con un continuo volteado de la pila de compost, la cantidad de metano generado disminuye radicalmente (Komilis et al., 2004).

Durante este proceso se han de controlar los distintos factores que aseguren una correcta proliferación microbiana y, por consiguiente, una adecuada mineralización de la materia orgánica (Cronje et al., 2003). Es importante el control de parámetros como la temperatura, humedad, oxígeno, y el pH de la pila de compost, debido a que una variedad de poblaciones microbianas se desarrolla en respuesta a dichos parámetros (Peters et al.,

2000; Ryckeboer et al, 2003; Puyuelo et al., 2010). Los niveles de temperatura, oxígeno y suministro de alimentos disponibles son los parámetros con una mayor influencia en la determinación de la clase de organismos que componen la población microbiana en la pila de compost. Dichos microorganismos son los responsables de la degradación de una amplia gama de compuestos, a partir de proteínas y polisacáridos complejos a los aminoácidos y azúcares simples durante el proceso de compostaje (Pudelko, 2014).

El proceso de compostaje se realiza principalmente en dos fases. La fase I incluye la mezcla y humectación de los ingredientes y un período de compostaje con ventilación forzada donde las temperaturas se elevarán hasta los 80°C. La fase II comienza con un período de pasteurización con temperaturas constantes entorno a los 60 ° C (Straatsma et al., 2000) para reducir el contenido en amoníaco en la pila de compost. Durante el proceso, el aire es recirculado hacia arriba a través del sustrato utilizando un ventilador con salidas de aire en la base de la pila. La mayor parte del aire se recircula a través de la pila permitiendo un adecuado control del proceso y de sus parámetros. Una ventaja secundaria del compostaje en túneles es la contención de aire de proceso y por lo tanto la oportunidad de limpiar este aire de amoníaco y de olores indeseables.

Este sistema de fermentación a cielo abierto en pila, es el sistema tradicional de realizar la Fase I (fermentación) y aunque se sigue empleando en varios países, desde hace años se desarrollaron sistemas de compostaje “indoor” en los que la Fase I se realiza en túneles cerrados dotados de un sistema de pavimento aireado y control de ventilación mediante turbinas.

Este sistema se desarrolló debido a las normativas medioambientales impuestas por algunos países europeos, que limitaban las emisiones de metano, amoníaco y otros gases contaminantes a la atmosfera.

El proceso de compostaje se ha dividido en las siguientes fases:

- Pre-humidificación y Elaboración de la mezcla inicial de sustrato.
- Fase I: Fermentación aeróbica en túneles controlados.

- Fase II (Fase de Pasteurización).
- Empaquetado.

6.2.1 Pre-humidificación y Elaboración de la mezcla inicial de sustrato.

El proceso comienza con el premojado de la paja. La paja se moja durante 3-9 horas para alcanzar la humedad requerida para que el proceso de compostaje se realice correctamente. Este paso es importante ya que la paja apenas tiene humedad y el compost necesita una humedad elevada para que el proceso de compostaje transcurra de modo adecuado. (Haug, 1993). Por otro lado, se realiza el premezclado de la gallinaza, yeso, carbocal, urea y sulfato. Es imprescindible conseguir una mezcla inicial lo más homogénea posible para que el resto del proceso de compostaje tenga lugar en condiciones óptimas y podamos obtener un compost final homogéneo y de alta calidad.

6.2.2 Fase I: Fermentación aeróbica en túneles controlados.

Una vez obtenida la mezcla inicial del sustrato, esta se llena en túneles especialmente contruidos, dotados de pavimento aireado y sistemas de control informatizado de la ventilación y temperatura. El llenado de los túneles se realiza de modo mecánico mediante líneas especiales de llenado. Durante el proceso de llenado se introduce agua a la mezcla para aumentar el contenido de humedad y permitir a los microorganismos transformar la materia (Jess, 2007). Tras el llenado el túnel, comienza la fase de Fermentación, conocida como Fase I. A lo largo de la Fase I se hacen varios volteos del sustrato, se vacía el túnel y se llena otro, se realizan varios cambios de túnel, dependiendo de las centrales de compostaje y la época del año, entre 3- 4 cambios. En cada subfase (llenado) del ciclo de Fermentación, el sustrato permanece en el túnel entre 2-3 días. Terminada cada subfase se procede al vaciado del túnel y se vuelve a llenar en otro túnel, para homogeneizar más el sustrato y realizar pequeños ajustes de humedad, añadiendo agua si es necesario y hacer que la temperatura del compost sea homogénea (Jess, 2007). Durante el proceso se establecen los tiempos de ventilación, dependiendo de las características del compost, que influirán en la concentración de CO₂, siendo mayor cuando las turbinas permanecen encendidas. Durante el proceso de compostaje, además de controlar los parámetros críticos como la temperatura o la humedad, se deben controlar

otros parámetros como el pH, nitrógeno, cenizas o la relación C/N como indicadores de la calidad y productividad del compost (Noble et al., 1996; Lyons et al., 2006).

6.2.3 Fase II (Fase de Pasteurización).

Acabada la fase I de fermentación, el lote se introduce en el túnel de pasteurización utilizando nuevamente una línea mecánica de llenado. Durante el proceso de pasteurización, la eliminación del amoníaco es muy efectiva, reduciendo considerablemente las concentraciones de amoníaco en el compost (Noble et al., 2003).

6.2.4 Empaquetado.

Una vez finalizada la Fase II de pasteurización, el compost ya está listo para ser “inoculado” con el micelio comercial (“semilla”). La fase de “siembra” del compost se realiza en unas máquinas especiales dotadas de un sistema de dosificación del micelio comercial, que lo mezcla homogéneamente con el compost.

En la máquina de empaquetado el compost ya inoculado es envasado en paquetes rectangulares de plástico, de dimensiones variables (normalmente 40 cm x 60 cm x 20 cm) y unos 20 kg de peso.

Estos paquetes de compost ya inoculado se paletizan mecánicamente en un paletizador automático que fleja también los pallets para después ser transportados a las instalaciones de cultivo.

6.3 CICLO DE CULTIVO.

Originalmente el cultivo de champiñón se llevaba a cabo en cuevas que poco a poco se han ido reemplazando por instalaciones de cultivo dotadas de sistemas de climatización informatizados, para un control de las parámetros ambientales de cultivo, requiriendo para ello consumo energético y sistemas de refrigeración (Foulongne-Oriol et al., 2014).

6.3.1 Preparación de las instalaciones de cultivo.

El cultivo del champiñón se desarrolla en unas salas con unas condiciones climáticas, en cuanto a temperatura y humedad, muy favorables para el cultivo de la variedad *Agaricus Bisporus*. El cultivo puede desarrollarse tanto bajo condiciones climáticas controladas o sin ningún tipo de control climático o “cultivo tradicional” (Leiva et al., 2015b). En ambos tipos de cultivos es necesario la colocación de instrumental que permita el desarrollo del cultivo, como es la colocación de las estanterías de cultivo sobre las cuales se ubicarán los paquetes de siembra y la cobertura para el cultivo.

6.3.2 Preparación de la tierra de cultivo.

Un requisito fundamental para tener buenos resultados productivos, es la calidad del sustrato, ya que el champiñón obtiene los nutrientes del compost, aunque parte del agua necesaria para el desarrollo de los champiñones dependiendo de la florada la obtienen de la tierra de cobertura, siendo una fuente importante de nutrientes para el desarrollo de los champiñones (Tripathy et al., 2009). El sustrato se compone principalmente de un sustrato compostado junto con una tierra de cobertura. La tierra de cobertura puede tener diferentes formulaciones y se coloca encima de la superficie del compost, la tierra de cobertura tiene un papel fundamental para el desarrollo del champiñón y sirve además de soporte para el desarrollo de los cuerpos fructíferos (champiñones) (Berendsen et al., 2012). La tierra de cobertura tiene un papel fundamental en el desarrollo de los champiñones, aparte de ser un reservorio de agua para el desarrollo de los champiñones, la tierra de cobertura tiene otras funciones muy importantes en el cultivo:

- Las bacterias presentes en la tierra de cobertura favorecen la inducción de los primordios,
- la tierra de cobertura proporciona una zona de intercambio gaseoso de intercambio de iones, de privación de nutrientes, de alto contenido en calcio, y de un pH estable y ligeramente alcalino,
- Una de las propiedades más importantes de la tierra de cobertura es su capacidad de intercambio gaseoso,

- Función protectora.

La cobertura se compone generalmente de turba neutralizada con tiza o piedra caliza (Castle, 1993). La turba es uno de los materiales de cobertura más utilizados en el cultivo del champiñón, pero también podemos encontrar otros tipos de materiales, normalmente mezclados con la turba (arcilla, piedra caliza, fibra de coco, sustrato postcultivo de hongos recompostado, etc.) (Gülser et al., 2003; Noble et al., 2003). Las propiedades físicas y químicas requeridas a la turba o cualquier otro sustrato deben ser una alta porosidad y capacidad de retención de agua, un pH entre 7.2 y 8.2, una concentración del 2.5 al 3.5% de cal activa, y 0,7-0,8% de concentración total de nitrógeno. Además de un bajo contenido en nutrientes inorgánicos y orgánicos y libres de enfermedades o plagas (Gülser et al., 2003).

6.3.3 ciclo de cultivo.

El desarrollo de una nueva cepa de *Agaricus bisporus* comienza con la germinación de sus esporas o a través de tejido de ejemplares de champiñón. Su hifas crecen y forman la gran red de micelio, ante diversos factores inducen el micelio para producir cuerpos fructíferos (Umar et al., 1997), bajo unas condiciones climáticas controladas. En el cultivo comercial del champiñón, el micelio se elabora en laboratorios de micelio especializados y este micelio comercial es el que se utiliza para inocular el compost Fase II elaborado en las centrales de compostaje. A las instalaciones de cultivo llegan los paquetes de compost Fase II ya inoculado con la variedad de micelio elegida por el cultivador que tras diversas fases y mediante el control de los parámetros ambientales van a producir “cuerpos fructíferos” que son los champiñones.

El crecimiento del micelio de diferentes especies es diferente y depende del tipo de medio utilizado y el pH. Aunque también se ve influenciada por la carga genética, así como el sustrato de cultivo, la temperatura (De Andrade et al., 2010) y el envejecimiento del micelio (Mata et al., 2013).

La fase de incubación del compost y de la tierra de cobertura, la temperatura debe mantenerse por debajo de los 28°C. Es necesaria una disminución de la temperatura ambiental para estimular la producción de carpóforos. Recomendándose una temperatura de 16-19°C durante el período de fructificación (Foulongne-Oriol et al., 2014) y entre 21-25°C durante la fase de incubación (Largeteau et al., 2011).

Estudios han demostrado la mayoría de las variedades híbridas comerciales de *Agaricus bisporus* no soportan temperaturas elevadas de cultivo. Tan sólo algunas variedades de otra especie próxima el *Agaricus Bitorquis* es capaz de fructificar con temperaturas más altas (unos 24°C), pero el cultivo de esta especie de champiñón se encuentra muy limitado y concretamente en España aunque en el pasado se cultivaba algo en los períodos estivales, en la actualidad ha desaparecido su cultivo, por su mal comportamiento en los procesos de transformación para la conserva y su menor valor organoléptico.

Los cuerpos fructíferos del *Agaricus bisporus* empiezan a desarrollarse y a crecer en forma de primordios, que tras un proceso de desarrollo originarán los champiñones. El período posterior a la fase de post-recolección es de suma importancia para fines de marketing y comercialización del champiñón, ya que deben mantener su color característico y su aroma (Umar et al., 1997).

7 CONCLUSIONES.

A lo largo de este estudio, se presenta un análisis de ciclo de vida de la cuna a la puerta del proceso productivo del champiñón, en concreto de la especie *Agaricus Bisporus*, analizando todas las fases del proceso productivo.

| Categoría de impacto | Unidad | Micelio | Compost | Cultivo |
|-----------------------------------|----------------------------------|-------------------------|---------------|-----------|
| | | <i>Unidad funcional</i> | | |
| | | Paquete 3kg | Paquete 19 kg | 1 kg |
| Abiotic depletion (AD) | kg Sb eq | 1.20E-02 | 1.89E-02 | 6.78E-03 |
| Global warming (GWP100) | kg CO ₂ eq | 9.21E-01 | -7.46 | 4.42 |
| Ozone layer depletion (OLD) | kg CFC-11 eq | 1.56E-07 | 2.48E-07 | 9.07E-08 |
| Human toxicity (HT) | kg 1.4-DB eq | 6.67E-01 | 1.47 | 4.32E-01 |
| Fresh water aquatic ecotox (FWAE) | kg 1.4-DB eq | 1.08E-01 | 1.76E-01 | 5.47E-02 |
| Marine aquatic ecotoxicity (MAE) | kg 1.4-DB eq | 7.90E+02 | 1.07E+03 | 4.36E+02 |
| Terrestrial ecotoxicity (TE) | kg 1.4-DB eq | 3.58E-03 | -1.50E-02 | -1.01E-02 |
| Photochemical oxidation (PO) | kg C ₂ H ₄ | 1.15E-03 | 6.45E-04 | 2.58E-04 |
| Acidification (AC) | kg SO ₂ eq | 1.40E-02 | 2.18E-02 | 7.95E-03 |
| Eutrophication (EU) | kg PO ₄ ... eq | 6.55E-03 | 9.15E-03 | 2.41E-03 |

Tabla 2. Impactos ambientales resultantes en el proceso de producción del Champiñón, metodología CML 2 baseline 2000.

7.1 PRODUCCIÓN DE MICELIO.

Analizando las tres fases principales del proceso productivo de forma global se puede observar que el proceso con mayor impacto en casi todas las categorías es la preparación del centeno debido a una mayor demanda y consumo de recursos energéticos de los equipos usados para el cocido del centeno. La única categoría de impacto en la que la fase de preparación de centeno no es la fase de mayor impacto es la categoría de calentamiento global. En esta categoría la fase que más impacta es la de elaboración del micelio debido básicamente a las emisiones de CO₂ que se producen en la actividad de germinado del micelio.

En la fase de preparación del centeno se puede observar que la actividad con mayor impacto en casi todas las categorías es el mezclado y cocido del centeno debido a una mayor demanda y consumo de recursos energéticos de los equipamientos para el cocido del centeno.

Durante la preparación del micelio se puede observar que la actividad con mayor impacto en la mayoría de las categorías es el almacenamiento del producto final en cámaras frigoríficas, debido a la importante demanda y consumo de recursos energéticos

del sistema de refrigeración de las cámaras. La excepción la encontramos en la categoría de calentamiento global donde la actividad de incubación es la que más impacta debido a las elevadas emisiones de CO₂ del proceso.

7.2 PROCESO DE COMPOSTAJE.

El ACV se ha desarrollado en base a los datos reales de una central de compostaje (SAT CHAMPRA) durante el periodo de un año. De tal forma que se ha podido obtener una información precisa del impacto ambiental de las diferentes actividades que definen el proceso productivo.

Analizando las fases principales del proceso productivo de forma global se puede observar que el proceso con mayor impacto en casi todas las categorías es la fase de Pre-humidificación y elaboración mezcla inicial. Esto es debido a un mayor consumo de recursos energéticos de la línea mecánica de mezcla y de la maquinaria para el transporte de materias.

En esta fase el proceso con mayor impacto en casi todas las categorías es la elaboración de la mezcla inicial de substrato. Esto es debido a un mayor consumo de recursos energéticos de la maquinaria que mezcla las materias primas para la creación del lote. Es en las categorías de impacto de calentamiento global y ecotoxicidad terrestre, es el almacenamiento de materias primas el que posee los mayores impactos.

En la Fase I (Fermentación) la actividad con mayor impacto en casi todas las categorías es la subfase inicial (Fase 1.1). Esto se debe a un mayor consumo energético durante el dicho proceso en comparación con el resto de subfases, ya que los periodos de funcionamiento de la ventilación son mayores en esta fase.

En la Fase II (Pasteurización) la actividad con mayor impacto en todas las categorías es el proceso de pasteurización en el interior de los túneles herméticos de

pasteurización. Se debe a una mayor demanda y consumo de recursos energéticos del sistema de ventilación.

En la fase de inoculación y empaquetado se puede observar que la actividad con mayor impacto en todas las categorías es el proceso de empaquetado. Se debe a una mayor demanda y consumo de recursos energéticos del sistema de empaquetado.

Finalmente en la fase de limpieza, desinfección, transporte y consumo de la instalación se puede observar que la actividad con mayor impacto en todas las categorías es el consumo de la instalación. Se debe a una mayor demanda y consumo de recursos energéticos del proceso productivo.

7.3 PROCESO DE CULTIVO.

Analizando las fases principales del proceso productivo de forma global se puede observar que el proceso con mayor impacto en casi todas las categorías es la climatización de las salas de cultivo. Esto es debido a una gran demanda y consumo de recursos energéticos del sistema de climatización que está en constante funcionamiento. Las únicas categorías de impacto en las que climatización no es la fase de mayor impacto son calentamiento global durante la fase de cultivo y agotamiento de la capa de ozono y eutrofización durante la preparación de la cobertura.

En la fase de la preparación de la cobertura, la actividad con un mayor impacto en todas sus categorías es el mezclado de la cobertura, debido a una gran demanda de recursos energéticos.

En la fase de la preparación de los locales de cultivo, la actividad con mayor impacto en muchas categorías es la desinfección de las salas de cultivo. Esto se debe a un mayor consumo de recursos energéticos y el uso de productos químicos durante el proceso de desinfección. A excepción de las categorías de agotamiento abiótico, agotamiento de la capa de ozono, oxidación fotoquímica y eutrofización, cuyo impacto es mayor en el proceso de metido de paquetes en las salas de cultivo.

En la fase de cultivo se puede observar que la actividad con mayor impacto en casi todas las categorías es la cobertura de los paquetes de compost. Se debe a un mayor consumo de gasoil por el toro mecánico para el transporte de la tierra de cobertura hasta los paquetes de compost. Con excepción de la categoría de eutrofización, donde el mayor impacto se encuentra en la fase de distribución del producto final.

8 FUTURAS INVESTIGACIONES.

Antes la ausencia de investigaciones y literatura referente a los impactos ambientales producidos durante proceso productivo del champiñón, el presente trabajo se consolida como un referente y un punto de partida para futuras investigaciones.

A partir de los resultados obtenidos se considera la creación de escenarios alternativos de mejora para la reducción de los impactos, en cualquiera de las fases analizadas, a lo largo del proceso productivo del champiñón, especialmente en el proceso de compostaje donde los impactos son mayores y cuya reducción sería significativa en el producto final.

9 REFERENCIAS.

Akinyele, J.B., Fakoya, S., Adetuyi, C.F. Anti-growth factors associated with *Pleurotus ostreatus* in a submerged liquid fermentation. *Malaysian Journal of Microbiology*, 2012. **8**(3): p. 135-140.

Andrade, M.C.N., Calonego, F.W., Minhoni, M.T.A., Durgante, E.T., Kopytowski, J., 2007. Avaliação do crescimento micelial de linhagens de shiitake, da produção em toras de eucalipto e de alterações físicas da madeira. *Acta Sci. Agron.* 29, 23–27.

Audsley, E. (1997). *Harmonisation of Environmental Life Cycle Assessment*. European Commission DG VI Agriculture. Final Report Concerted action AIR3-CT94-2028. 139 pp.

Azapagic, A., Clift, R. Life cycle assessment and multiobjective optimisation. *Journal of Cleaner Production*, 1999. **7**(2): p. 135-143.

Baumann, H., Tillman, A.M. *The Hitch Hiker's Guide to LCA: An Orientation in Life Cycle Assessment Methodology and Applications* 2004, Lund, Sweden: Studentlitteratur AB. 543.

Belussi, L., Mariotto, M., Meroni, I., Zevi, C., Svaldi, S.D., 2015. LCA study and testing of a photovoltaic ceramic tile prototype. *Renew. Energy* **74**, 263–270.

Berendsen, R.L., Kalkhove, S.I.C., Lugones, L.G., Wösten, H.A.B., Bakker, P.A.H.M., 2012. Germination of *Lecanicillium fungicola* in the mycosphere of *Agaricus bisporus*. *Environmental Microbiology Report* **4**, 227–233

Boyle, D., Nutritional factors limiting the growth of *Lentinula edodes* and other white-rot fungi in wood. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998. **30**(6): p. 817-823.

Burgess, A.A., Brennan, D.J. Application of Life Cycle Assessment to Chemical Processes, *Chem. Eng. Science*: **56** (8), 2589-2604 (2001).

Castle, L., Determination of acrylamide monomer in mushrooms grown on polyacrylamide gel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*®, 1993. **41**(8): p. 1261-1263.

Cronje A, Turner C, Williams A, Barker A, Guy S, Composting under controlled conditions. *Environ Technol* **24**:1221–1234 (2003).

De Andrade, M.C.N., Chavari, J.L., De Almeida Minhoni, M.T., Zied, D.C., 2010. In vitro mycelium growth of five *Agaricus bisporus* strains submitted to different temperature condition. *Acta Sci.-Agron.* **32**, 69–72.

Donini, L.P., Bernardi, E., Do Nascimento, J.S. In vitro development of *Agaricus brasiliensis* in media supplemented with different brans. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 2006. **41**(6): p. 995-999.

Erbil, K., Kalyoncu, F. Mycelial Growth Rate of Some Morels (*Morchella* spp.). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 2008. **3**(6): p. 861-864.

Foulongne-Oriol M, Navarro P, Spataro C, Ferrer N, Savoie JM, Deciphering the ability of *Agaricus bisporus* var. *burnettii* to produce mushrooms at high temperature (25°C). *Fungal Genet Biol* 73:1–11 (2014).

García-Rollan, M. *Cultivo de setas y trufas* (5ª Edition) 2007, Madrid. Spain: MUNDI-PRENSA LIBROS S.A.- PARANINFO S.A. 250.

Gaspar Jr., P.J., Tomizawa, M.M., Schwan, R.F., Rinker, D.L., Dias, E.S., 2011. Nutritional requirements for growth of *Agaricus brasiliensis*. *Acta Sci. Biol. Sci.* 33, 93–97.

Guinee, J.B., Heijungs, R., Udo de Haes, H.A., Huppes, G. Quantitative life cycle assessment of products 2. Classification, valuation and improvement analysis. *Journal of Cleaner Production*, 1993. **1**(2): p. 81-91.

Guinée, J.B., Gorrée, M., Heijungs, R., Huppes, G., Kleijn, R., de Koning, A., van Oers, L., Wegener Sleeswijk, A., Suh, S., Udo de Haes, H.A., de Bruijn, H., van Duin, R., Huijbregts, M.A.J. (2002). *Handbook on Life Cycle Assessment. Operational Guide to the ISO Standards.* (Kluwer/Springer, xii + 692 pp

Gülser, C., Pekşen, A. Using tea waste as a new casing material in mushroom (*Agaricus bisporus* (L.) Sing.) cultivation. *Bioresource Technology*, 2003. **88** (2): p. 153-156.

Haug, R.T. *The Practical Handbook of Compost Engineering*, ed. I. Lewis Publishers. CRC Press. 1993, Boca Raton. Florida. USA.

Hawksworth, D.L., *Mushrooms: The Extent of the Unexplored Potential.* *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2001. **3**(4): p. 333-340.

Jennings, D.H., Lysek, G., 1999. *Fungal Biology: Understanding the Fungal Lifestyle.* 2nd edition Bios Scientific Pub. Ltd., Oxford, UK.

Jess, S., Murchie, A.K., Bingham, J.F.W. Potential sources of sciarid and phorid infestations and implications for centralised phases I and II mushroom compost production. *Crop Protection*, 2007. **26**(4): p. 455-464.

Jimenez, E., Martinez, E., Blanco, J., Perez, M., Graciano, C., 2014. Methodological approach towards sustainability by integration of environmental impact

in production system models through life cycle analysis: application to the Rioja wine sector. *Simulation* 90, 143–161.

Kakon, A.J., Choudhury, M.B.K., Saha, S. Mushroom is an ideal food supplement. *Journal of Dhaka National Medical College Hospital*, 2012. **18**(1): p. 58-62.

Kerrigan, R.W., Challen M.P., Burton K.S. *Agaricus bisporus* genome sequence: A commentary. *Fungal Genetics and Biology*, 2013. **55**: p. 2-5.

Komilis, D.P., Ham, R.K. Life-cycle inventory of municipal solid waste and yard waste windrow composting in the United States. *Journal of Environmental Engineering*, 2004. **130**(11): p. 1390-1400.

Krupke, O.A., Castle, A.J., Rinker, D.L., 2003. The North American mushroom competitor, *Trichoderma aggressivum* f. *aggressivum*, produces antifungal compounds in mushroom compost that inhibit mycelial growth of the commercial mushroom *Agaricus bisporus*. *Mycol. Res.* 107, 1467–1475.

Largeteau, M.L., Callac, P., Navarro-Rodríguez, A.M., Savoie, J.M., 2011. Diversity in the ability of *Agaricus bisporus* wild isolates to fruit at high temperature (25°C). *Fungal Biol.* 115, 1186–1195.

Leiva, F., Senz-Diez, J.-C., Martinez, E., Jimenez, E., Blanco, J. Environmental impact of mushroom compost production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, (2015a): p. Article in Press.

Leiva FJ, Saenz-Diez JC, Martinez E, Jimenez E and Blanco J, Environmental impact of *Agaricus bisporus* cultivation process. *Eur J Agron* 71:141–148 (2015b).

Leiva FJ, Saenz-Diez JC, Martinez E, Jimenez E and Blanco J, Environmental impact of *Agaricus bisporus* mycelium production. *Agric Syst* 138:38–45 (2015c).

Lorenz, E., Life-cycle assessment in U.S. codes and standards. *PCI Journal*, 2014. **59**(1): p. 49-54.

Leiva-Lazaro, F.J., Blanco-Fernandez, J., Martínez-Camara, E., Jimenez-Macias, E., 2014. Production of compost for mushroom cultivation: a life cycle assessment study. 26th European Modeling and Simulation Symposium, EMSS, 620–625.

Ma, Y., Guan, C.Y., Meng, X.J., 2014. Biological characteristics for mycelial growth of *Agaricus bisporus*. *App.Mech. Mater.* 297–302.

Maki, C.S., Teixeira, F.F., Paiva, E., Paccola-Meirelles, L.D., 2001. Analyses of genetic variability in *Lentinula edodes* through mycelia responses to different abiotic conditions and RAPD molecular markers. *Braz. J. Microbiol.* 32, 170–175.

Martinez, E., Sanz, F., Pellegrini, S., Jimenez, E., Blanco, J., 2009. Life-cycle assessment of a 2-MW rated power wind turbine: CML method. *Int. J. LifeCycle Assess.* 14, 52–63.

Mata, G., Savoie, J.M. Preservation of *Agaricus subrufescens* strains at low temperature by using cultures on sorghum grains. *Revista Iberoamericana de Micología*, 2013. 30(2): p. 96-102.

Mata, G., Delpech, P., Savoie, J.M., 2001. Selection of strains of *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* adapted for efficient mycelial growth on wheat straw. *Rev. Iberoam. Micol.* 18, 118–122.

Miettinen, P., Hämäläinen, R. P., 1997. How to Benefit from decision analysis in environmental life cycle assessment (LCA). *European Journal of Operational Research* 102: 279-294.

Miles, P.G., Chang, S.T., 2004. *Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact*. 2 edition. CRC Press, London, UK.

Ministerio de Agricultura, 2014. *Avances, Superficie y Producciones de Cultivos*. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid. Ministry of Agriculture, Food and Environment (Spain), Spain, pp. 55, Translated as: *Progress, Area and Crop Production*.

Moon, B., Lo, Y.M., 2013. Conventional and novel applications of edible mushrooms in today's food industry. *J. Food Process. Preserv.* 38 (5), 2146–2153.

Morin, E., Kohler, A., Baker, A.R., Foulongne-Oriol, M., Lombard, V., Nagy, L.G., Ohm, R.A., Patyshakuliyeva, A., Brun, A., Aerts, A.L., Bailey, A.M., Billette, C., Coutinho, P.M., Deakin, G., Doddapaneni, H., Floudas, D., Grimwood, J., Hildén, K., Kües, U., LaButti, K.M., Lapidus, A., Lindquist, E.A., Lucas, S.M., Murat, C., Riley, R.W., Salamov, A.A., Schmutz, J., Subramanian, V., Wösten, H.A.B., Xu, J., Eastwood, D.C., Foster, G.D., Sonnenberg, A.S.M., Cullen, D., De Vries, R.P., Lundell, T., Hibbett, D.S., Henrissat, B., Burton, K.S., Kerrigan, R.W., Challen, M.P., Grigoriev, I.V., Martin, F., 2012. Genome sequence of the button mushroom

Agaricus bisporus reveals mechanisms governing adaptation to a humic-rich ecological niche. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 17501–17506.

Nicolae, B., George-Vlad, B., 2015. Life cycle analysis in refurbishment of the buildings as intervention practices in energy saving. *Energy Build.* 86, 74–85.

Noble, R., Fermor, T.R., Lincoln, S., Dobrovin-Pennington, A., Evered, C., Mead, A., Li, R., 2003. Primordia initiation of mushroom (*Agaricus bisporus*) strains on axenic casing materials. *Mycologia* 95, 620–629.

Özçelik, E., Pekşen, A., 2007. Hazelnut husk as a substrate for the cultivation of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). *Bioresour. Technol.* 98, 2652–2658.

Peters, S., Koschinsky, S., Schwieger, F., Tebbe, C.C. Succession of Microbial Communities during Hot Composting as Detected by PCR–Single-Strand-Conformation Polymorphism-Based Genetic Profiles of Small-Subunit rRNA Genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000. 66(3): p. 930-936.

Pieragostini, C., Aguirre, P., Mussati, M.C., 2014. Life cycle assessment of corn-based ethanol production in Argentina. *Sci. Total Environ.* 472, 212–225.

Pudełko, K., Effect of forced ventilation during composting on *Agaricus bisporus* substrate selectivity. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2014. **93**: p. 153-161.

Puyuelo, B., Gea, T., Sánchez, A. A new control strategy for the composting process based on the oxygen uptake rate. *Chemical Engineering Journal*, 2010. **165**(1): p. 161-169.

Reshetnikov, S.V. Higher Basidiomycota as a Source of Antitumor and Immunostimulating Polysaccharides (Review). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2001. **3**(4): p. 361-394.

Ryckeboer, J., Mergaert, J., Coosemans, J., Deprins, K., Swings, J. Microbiological aspects of biowaste during composting in a monitored compost bin. *J Appl Microbiol* 94:127–137 (2003).

Saravanan, R., Senthilkumar, K., Dhachinamoorthi, D., Heena, N.S.D., Benarjee, K., Narendra, K., Prudhvi, C., 2013. Analysis of nutrients and minerals content in commercially purchased *Agaricus bisporus*. *Res. J. Pharm. Technol.* 6, 765–768.

Silva, E.M., Machuca, A., Milagres, A.M.F., 2005. Effect of cereal brans on *Lentinula edodes* growth and enzyme activities during cultivation on forestry waste. *Lett. Appl. Microbiol.* 40, 283–288.

Sobieralski, K., Siwulski, M., Błaszczyk, L., Fruzyńska-Józwiak, D., Lisiecka, J., 2012. The effect of infestation with isolates of *Trichoderma* sp. on mycelium growth and yielding in single-spore heterokaryotic cultures of *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus* 11, 47–57.

Sonnenberg, A.S.M., Baars, J.J.P., Hendrickx, P.M., Lavrijssen, B., Gao, W., Weijn, A., 2011. Breeding and strain protection in the button mushroom *Agaricus bisporus*. *Proceedings of the 7th International Conference of the World Society For Mushroom Biology and Mushroom Products*.

Steele, G.C., Trinci, A.P.J., 1975. Morphology and growth kinetics of hyphae of differentiated and undifferentiated mycelia of *Neurospora crassa*. *J. Gen. Microbiol.* 91, 362–368.

Stolzer, S., Grabbe, K. Mechanisms of substrate selectivity in the cultivation of edible fungi. *Mushroom Science*, 1991. **13**(1): p. 141-146.

Straatsma, G., Gerrits, J.P.G., Thissen, J.T.N.M., Amsing, J.G.M., Loeffen, H., Van Griensven, L.J.L.D. Adjustment of the composting process for mushroom cultivation based on initial substrate composition. *Bioresour Technol* 72:67–74 (2000).

Tanaka, H.S., Mantovani, T.R.D., Santos, M.P., Linde, G.A., Colauto, N.B., 2013. Cereal grains and glycerol in *Agaricus blazei* cryopreservation. *Biosci. J.* 29, 627–633.

Tautorus, T.E., *Mushroom fermentation. Advances in Biotechnological Processes*, 1985. **5**: p. 227-273.

Tripathy, A., Patel, A.K., Sahoo, T.K. Effect of various substrates on linear mycelial growth and fructification of *Volvariella diplasia*. *Asian Journal of Plant Sciences*, 2009. **8**(8): p. 566-569.

Umar, M.H., Van Griensven, L.J.L.D. Morphological studies on the life span, developmental stages, senescence and death of fruit bodies of *Agaricus bisporus*. *Mycological Research*, 1997. **101**(12): p. 1409-1422.

van Haaren, R., Themelis, N.J., Barlaz, M. LCA comparison of windrow composting of yard wastes with use as alternative daily cover (ADC). *Waste Management*, 2010. **30**(12): p. 2649-2656.

Vetter, J. Chitin content of cultivated mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*. *Food Chemistry*, 2007. **102**(1): p. 6-9.

Wang, J., Yang, Y., Mao, T., Sui, J., Jin, H. Life cycle assessment (LCA) optimization of solar-assisted hybrid CCHP system. *Applied Energy*, 2015. 146: p. 38-52.

Wani, B.A., Bodha, R.H., Wani, A.H., 2010. Nutritional and medicinal importance of mushrooms. *J. Med. Plant Res.* 4, 2598–2604.

Xu, T., Beelman, R.B., Lambert, J.D., 2012. The cancer preventive effects of edible mushrooms. *Anti Cancer Agents Med. Chem.* 12, 1255–1263.

Yadav, M.K., Chandra, R., 2014. Effect of culture media, pH and temperature on mycelial growth of *Agaricus bisporus* strains. *J. Pure Appl. Microbiol.* 8, 2497–2500.

PUBLICACIONES CIENTÍFICAS

ARTICULO 1: PROCESO DE ELABORACIÓN DE INOCULOS Y MICELIO COMERCIAL

ARTICULO 2: PROCESO DE COMPOSTAJE

ARTICULO 3: CICLO DE CUTIVO

