

## FUNGHI EDIBILI ED ECONOMIA CIRCOLARE: IL CASO DEL PLEUROTUS

**Riassunto**

*In un'ottica in cui la produzione e i consumi mondiali, uniti al costante aumento della popolazione, sottopongono l'ambiente e le risorse a continui stress, un nuovo modo di immaginare prodotti e processi di produzione virtuosi, poco impattanti, e ad alto valore sociale e territoriale, è rappresentato dal concetto di economia circolare. Secondo tale modello economico, i materiali vengono riutilizzati in successivi cicli produttivi, riducendo al massimo gli sprechi.*

*La coltivazione di funghi eduli del genere Pleurotus ben si inserisce in un'ottica di economia circolare. Oltre ad essere caratterizzati da una coltivazione molto semplice e da un elevato valore nutrizionale, i Pleurotus possiedono un complesso sistema enzimatico in grado di degradare i materiali lignocellulosici. Pertanto, diversi rifiuti provenienti dalle lavorazioni agricole o dalle industrie agroalimentari sono stati studiati per valutarne l'effettivo utilizzo come substrati di crescita per la coltivazione dei Pleurotus, riducendone così l'impatto sull'ambiente e reintroducendoli nel ciclo produttivo per generare ulteriore valore. Oltre ad aver dato buone rese di produzione (elevati valori di efficienza biologica), in alcuni casi la coltivazione dei Pleurotus si è tradotta in una riduzione della tossicità dei residui stessi e/o in aumento del contenuto di composti funzionali nei funghi eduli. Lo stesso sistema enzimatico è in grado di migliorare le qualità dei residui delle lavorazioni agricole come alimentazione per il bestiame, poiché, degradando preferenzialmente lignina ed emicellulosa, li rende più facilmente assimilabili dai ruminanti. Allo stesso tempo, diversi studi sono in corso per valutare l'attività di biorisanamento ad opera dei Pleurotus su matrici contaminate.*

*La coltivazione dei Pleurotus rappresenta essa stessa un micro-modello di economia circolare: oltre a fare uso di residui provenienti da precedenti cicli economici, infatti, il substrato esausto (residuo solido della coltivazione dei funghi), può essere riutilizzato per generare ulteriore valore, dall'estrazione di enzimi, al riutilizzo come substrato di crescita, alla produzione di compost, biochar e biocarburanti.*

**Abstract**

*In a perspective in which world production and consumption, combined with the constant population increase, are putting the environment and resources under pressure, a new way of imagining virtuous, low-impact and high social and territorial value products is represented by the concept of circular economy. According to this economic model, materials are reused in subsequent production cycles, reducing waste as much as possible.*

*Cultivation of edible mushrooms of the genus Pleurotus well fits in a circular economy perspective. Pleurotus are generally characterized by very simple cultivation and high nutritional value. Furthermore, they possess a complex enzyme system able of degrading lignocellulosic materials. Therefore, different field-based and processing-based residues have been evaluated for their use as growing substrates for Pleurotus cultivation, thus reducing their impact on the environment and reintroducing them into the production cycle in order to generate additional value. Cultivation of Pleurotus on these residues generally gave high values of biological efficiency. Furthermore, in some cases it resulted in a reduction of the residues toxicity, and/or in an increase in the content of functional compounds of edible mushrooms. The same enzymatic system is able to improve the quality of field-based residues as feed for livestock: Pleurotus, in fact, preferentially degrade lignin and hemicellulose, thus making these residues more easily digestible by ruminants. At the same time, several studies are in progress in order to evaluate the activity of bioremediation by Pleurotus on contaminated matrices.*

*The cultivation of Pleurotus represents itself a micro-model of circular economy: in addition to making use of residues coming from previous economic cycles, in fact, spent mushroom substrate (the*

*soil-like material remaining after mushrooms cultivation) can be reused for producing additional value, from the extraction of enzymes, to the re-use as growing substrate for further mushroom cultivation, to the production of compost, biochar and biofuels.*

**Key words:** *Pleurotus*; circular economy; agricultural wastes; agro-industrial wastes; mushrooms ligninolytic enzymes system.

## **Introduzione**

Il concetto di economia circolare risponde al desiderio di crescita sostenibile, in un quadro in cui la produzione e i consumi sottopongono le risorse mondiali e l'ambiente a pressione continua.

Finora l'economia ha funzionato con un modello *"take-make-dispose"*, modello lineare dove ogni prodotto è inesorabilmente destinato ad arrivare a *"fine vita"* (PE 2018). Per produrre il cibo, costruire le case e le infrastrutture, fabbricare beni di consumo o fornire l'energia si usano materiali pregiati. Quando sono stati sfruttati del tutto o non sono più necessari, questi materiali vengono smaltiti come rifiuti.

La transizione verso un'economia circolare è necessaria in quanto ci troviamo di fronte a un aumento della domanda di materie prime e allo stesso tempo ad una scarsità delle risorse (PE 2018): molte delle materie prime e delle risorse essenziali per l'economia sono limitate, ma la popolazione mondiale è in continuo aumento così come è in crescita la richiesta di tali risorse finite. Non dobbiamo poi dimenticare l'impatto sul clima che hanno i processi di estrazione e l'utilizzo delle materie prime, che inducono ad un aumento del consumo di energia e delle emissioni di anidride carbonica. Il continuo bisogno di materie prime crea poi una dipendenza verso altri paesi (PE 2018): alcuni stati membri dell'UE dipendono da altri paesi per quanto riguarda l'approvvigionamento (vedi ad esempio l'importazione di gas naturale in Italia da Algeria, Libia e Russia).

La transizione verso un'economia circolare sposta l'attenzione sul riutilizzare, aggiustare, rinnovare e riciclare i materiali e i prodotti esistenti, secondo il modello *"make-use-recycle"*. Quel che normalmente si considerava come *"rifiuto"* può essere trasformato in una nuova risorsa. Una volta che il prodotto ha terminato la sua funzione, i materiali di cui è composto vengono infatti reintrodotti, laddove possibile, nel ciclo economico, generando così ulteriore valore (PE 2018). In questo modo si estende il ciclo di vita dei prodotti, contribuendo a ridurre i rifiuti al minimo.

L'espressione dell'economia circolare fa riferimento ad una concezione della produzione e del consumo di beni e servizi alternativa rispetto al modello lineare (ad esempio attraverso l'impiego di energie rinnovabili in luogo dei combustibili fossili). I suoi principali obiettivi sono l'estensione della vita dei prodotti, la produzione di beni di lunga durata, le attività di ricondizionamento e la riduzione della produzione di rifiuti. I vantaggi che si trarrebbero da una transizione verso un'economia circolare sarebbero numerosi (EPRS 2016): i) riduzione della pressione sull'ambiente; ii) più sicurezza circa la disponibilità di materie prime; iii) aumento della competitività; iv) impulso all'innovazione e alla crescita economica; v) incremento dell'occupazione (si stima che nell'UE grazie all'economia circolare ci saranno 580.000 nuovi posti di lavoro).

## **Residui agroindustriali e fermentazione allo stato solido (FSS)**

Uno dei problemi principali da affrontare in tutto il mondo è lo smaltimento sia della grande quantità di rifiuti agroindustriali che dei residui derivanti dalle attività zootecniche (GARG ET AL., 2012). Nel 2012 la sola Unione Europea ha prodotto circa 88 milioni di tonnellate di rifiuti alimentari, di cui 9 milioni di tonnellate derivanti dalla produzione primaria e 17 milioni di tonnellate provenienti dal settore della trasformazione (STENMARCK ET AL., 2012). Questo valore è destinato ad aumentare in maniera significativa, tant'è che si prevede salirà a circa 126 milioni di tonnellate entro il 2020 (MIRABELLA ET AL., 2014), se non dovessero essere intraprese ulteriori misure preventive.

I rifiuti agroindustriali sono generalmente indirizzati alle discariche o smaltiti in maniera inadeguata, con conseguente minaccia per l'ambiente e la salute pubblica. Sono generalmente caratterizzati da elevati valori di richiesta biochimica di ossigeno (BOD) e richiesta chimica di ossigeno (COD), e sono anche facilmente suscettibili alla contaminazione batterica a causa dell'elevato contenuto di acqua (SADH ET AL., 2018), il che rende ulteriormente complicato il loro smaltimento. Fortunatamente i rifiuti agroindustriali hanno ancora un elevato potenziale nutrizionale (RAVINDRAN & JAISWAL, 2016), poiché sono composti principalmente da zuccheri, fibre, proteine e sali minerali (MUSSATTO ET AL., 2012). Proprio grazie a queste caratteristiche di composizione, attualmente c'è un grande interesse per il loro riutilizzo, tant'è che questi residui agroindustriali non vengono più considerati come semplici rifiuti da smaltire ma possono essere classificati come sottoprodotti (SADH ET AL., 2018), sposando così i principi dell'economia circolare. La contemporanea presenza di fonti di carbonio, sostanze nutritive e umidità all'interno di tali residui crea le condizioni ideali per lo sviluppo di microrganismi (MUSSATTO ET AL., 2012), aprendo così la porta a numerose applicazioni nel campo dei processi di fermentazione allo stato solido (SSF).

La SSF è definita come la fermentazione ad opera di microrganismi che crescono su particelle solide in assenza (o quasi) di acqua libera (PANDEY, 2003). Il substrato è un qualsiasi materiale solido che agisce sia come supporto fisico che come fonte di sostanze nutritive, e che possiede sufficiente umidità per supportare la crescita e il metabolismo di microrganismi, come funghi e batteri (PANDEY, 2003). Possono essere impiegati diversi substrati, provenienti dalle industrie agricole, alimentari, della carta, dei tessuti, e così via (SADH ET AL., 2018). La fermentazione allo stato solido si è rivelata un processo biotecnologico con maggiori rese e caratteristiche del prodotto migliori rispetto alla fermentazione sommersa, che è invece caratterizzata dalla crescita di microrganismi in un mezzo liquido (MUSSATTO ET AL., 2012).

Molti dei residui agroindustriali sono composti principalmente da cellulosa, seguita da emicellulosa e lignina, tant'è che vengono definiti materiali "lignocellulosici". Queste caratteristiche fanno sì che essi siano un substrato idoneo al processo di fermentazione allo stato solido ad opera da funghi, i quali possiedono un complesso sistema enzimatico in grado di degradare i materiali lignocellulosici.

La cellulosa e l'emicellulosa sono macromolecole composte da diversi zuccheri; mentre la lignina è un polimero aromatico sintetizzato da precursori fenilpropanoidi. Tutte e tre costituiscono la cosiddetta frazione insolubile della fibra alimentare. La composizione e le proporzioni di questi composti variano da pianta a pianta (SÁNCHEZ, 2009). La cellulosa è un polimero lineare composto da subunità di D-glucosio unite da legami  $\beta$ -1,4 glicosidici a formare lunghe catene, insolubili in acqua, disposte parallelamente le une alle altre e unite fra loro da legami idrogeno e forze di van der Waals. La disposizione regolare delle catene porta alla formazione di zone cristalline, mentre una piccola quantità di catene non organizzate forma cellulosa amorfa. In quest'ultima conformazione la cellulosa è più suscettibile alla degradazione enzimatica. La cellulosa appare in natura essere associata ad altri composti vegetali e questa associazione può influire sulla sua biodegradazione.

L'emicellulosa è un polisaccaride con peso molecolare inferiore a quello della cellulosa. Le sue unità monomeriche comprendono pentosi (L-arabinosio e D-xilosio) ed esosi (D-mannosio, D-galattosio, D-glucosio, acidi D-galatturonico e D-glucuronico), uniti da legami di tipo  $\beta$ -1,4 (principalmente) e  $\beta$ -1,3 glicosidici, a formare catene che possono essere lineari ma anche ramificate.

La lignina è legata sia all'emicellulosa che alla cellulosa, formando un sigillo fisico che costituisce una barriera impenetrabile nella parete cellulare dei vegetali, con funzione di supporto strutturale, impermeabilità e resistenza contro gli attacchi microbici e gli stress ossidativi. È un eteropolimero amorfo, non solubile nella maggior parte dei solventi, formato da unità fenilpropanoidi (alcoli p-cumarilico, coniferilico e sinapilico) unite tra loro da diversi

tipi di legame (C-C e C-O) non idrolizzabili. Il reticolo tridimensionale straordinariamente complesso della lignina è responsabile del suo appellativo di “sostanza incrostante” datogli dai botanici, il che rende la sua degradazione un processo molto complesso.

Nonostante la lignina risulti essere recalcitrante all’attacco enzimatico, alcuni microrganismi hanno sviluppato vie enzimatiche in grado di degradare tale polimero, come ad esempio alcune specie appartenenti al gruppo dei funghi della carie bianca (*white-rot fungi*) e della carie bruna (*brown-rot fungi*). Anche alcuni batteri si sono rivelati in grado di decomporre la lignina, che invece risulta non digeribile dagli animali.

La degradazione lignocellulosica è un processo complesso, che richiede una serie di enzimi idrolitici e ossidativi (SÁNCHEZ, 2009): i primi sono responsabili della degradazione della cellulosa e dell’emicellulosa, mentre i secondi agiscono sulla depolimerizzazione della lignina (PÉREZ ET AL., 2002; BALDRIAN, 2005). Tra gli enzimi idrolitici, le cellobioidrolasi, le endoglucanasi e le  $\beta$ -glucosidasi idrolizzano le lunghe catene di cellulosa, rilasciando il cellobiosio e infine il glucosio, mentre le endoxilanasi e le endomannanasi sono i principali enzimi coinvolti nella degradazione dell’emicellulosa (TENDERDY & SZAKACS, 2003). La degradazione della lignina avviene invece ad opera di una batteria di enzimi ossidativi, principalmente rappresentati dalla lignina perossidasi (LiP), manganese perossidasi (MnP) e laccasi.

I *Pleurotus* sono un genere di funghi appartenenti ai funghi della carie bianca e il *P. ostreatus* (fungo orecchione, gelone, ostrichetta, etc.) è una delle specie più coltivate in tutto il mondo, insieme all’*Agaricus bisporus* (champignon) e il *Lentinula edodes* (Shiitake) (PHILIPPOUSSIS, 2009). Gli champignon hanno una velocità di degradazione della lignina inferiore a quella dei *Pleurotus* (LANKINEN, 2004) e sono meno interessanti dal punto di vista nutrizionale, a causa del loro contenuto trascurabile di beta-glucani, a differenza, invece, di alcune specie del genere *Pleurotus* (MANZI ET AL., 2001). Anche la *Lentinula edodes* si è rivelata molto promettente nella degradazione selettiva della lignina (PHILIPPOUSSIS, 2009), ma è diffusa soprattutto in Giappone e Cina; tuttavia, la sua coltivazione si sta diffondendo attualmente anche in Europa.

I *Pleurotus* possono essere definiti dei degradatori selettivi, in quanto degradano preferenzialmente lignina ed emicellulosa piuttosto che cellulosa, che in questo modo rimane esposta e può essere utilizzata dai ruminanti (COHEN ET AL., 2002). Inoltre essi hanno il vantaggio di necessitare di condizioni di coltivazione molto più semplici rispetto a quelli del genere *Agaricus* (COHEN ET AL., 2002): paglia tritata, non compostata e imbevuta d’acqua, rappresenta infatti un substrato sufficientemente idoneo alla coltivazione di funghi del genere *Pleurotus* (PHILIPPOUSSIS, 2009).

Grazie al loro complesso sistema enzimatico in grado di degradare materiali lignocellulosici, e al loro valore nutrizionale unito alla loro diffusione in tutta Europa, i funghi del genere *Pleurotus* potrebbero essere considerati come un utile strumento in grado di ridurre non solo l’impatto dei rifiuti agroalimentari sull’ambiente, ma anche per trasformare questi ultimi in nuove risorse per la produzione simultanea di prodotti edibili (funghi) ad alto valore aggiunto, il tutto in linea con i principi dell’economia circolare.

Per tale motivo gli sforzi della ricerca scientifica negli ultimi anni si sono concentrati sullo studio dell’utilizzo di diversi residui, provenienti dalle lavorazioni agricole o dalle industrie agroalimentari, come substrati per la coltivazione di funghi del genere *Pleurotus*, con particolare attenzione volta agli effetti della coltivazione stessa sui residui, ai parametri di crescita dei funghi coltivati e meno frequentemente alle caratteristiche chimico-nutrizionali di questi ultimi. Purtroppo, c’è da sottolineare come non sempre i dati della letteratura scientifica siano confrontabili fra loro, a causa in genere della mancanza di alcune informazioni fondamentali, come ad esempio la composizione iniziale dei substrati di crescita, la quantità di substrato utilizzato per la coltivazione o i ceppi impiegati, e alla differenza di metodi analitici utilizzati per alcuni parametri di rilevante interesse nutrizionale (vedi metodi per la determinazione delle proteine, della fibra o dei carboidrati).

Per quanto riguarda i parametri di produzione per la coltivazione dei funghi, molto spesso si fa riferimento all'Efficienza Biologica (BE), calcolata come la percentuale del peso di funghi freschi rispetto al peso secco del substrato (CHANG ET AL., 1981). Affinché la coltivazione dei *Pleurotus* possa considerarsi redditizia, il valore di BE deve essere pari ad almeno il 50% (PATRA & PANI, 1995). Questo, ovviamente, sarà influenzato dalle caratteristiche del substrato di crescita e dalla specie di fungo coltivata, oltre che dal ceppo utilizzato.

Substrati a base di paglia o segatura, fermentate o no, con l'aggiunta o meno di supplementi sono i substrati più utilizzati per la coltivazione del *Pleurotus* (PHILIPPOUSSIS, 2009). Questi generalmente forniscono cellulosa, emicellulosa e lignina, componenti necessarie per la fruttificazione e la crescita dei funghi. L'efficienza biologica di questi substrati differisce notevolmente, con valori di BE per la segatura generalmente inferiori (KOUTROTSIOS ET AL., 2014): ciò può essere attribuito ad una più bassa velocità di delignificazione della segatura (CHITAMBA ET AL. 2012), ovvero al rapporto C/N più elevato della segatura rispetto alla paglia, poiché l'attività ligninolitica dei funghi sembra essere stimolata da substrati ricchi di azoto (KNOP ET AL., 2015).

Per quanto riguarda i residui provenienti dalle lavorazioni agricole utilizzati per la coltivazione del *Pleurotus*, la sola paglia di cereali raggiunge generalmente valori di efficienza biologica superiori al 50%. Differenze nei valori di BE osservate in letteratura possono essere attribuite a differenze nella composizione dei substrati (Tabella 1): la paglia di frumento utilizzata da SARDAR ET AL. (2017) per la coltivazione del *P. eryngii*, ad esempio, aveva un contenuto di emicellulosa superiore (27,2% vs 21,8%) e un contenuto di lignina inferiore (11,4% vs 19,1%) rispetto alla paglia di frumento utilizzata da ZERVAKIS ET AL. (2013) per produrre lo stesso fungo, portando pertanto a valori di BE più elevati. Entrambe queste componenti del substrato hanno mostrato, infatti, una correlazione, rispettivamente, negativa e positiva con l'efficienza biologica. Lo stesso effetto dei costituenti del substrato sulla produzione di funghi eduli è stato evidenziato nella coltivazione del *P. ostreatus*, dove anche il rapporto C/N mostra una correlazione negativa con l'efficienza biologica.

**Tabella 1. Valori di Efficienza Biologica (BE) e caratteristiche di alcuni substrati utilizzati per la coltivazione di specie del genere *Pleurotus***

Substrato	Caratteristiche del substrato	Specie	BE	Riferimento
Paglia	Emicellulosa: 27,2% Lignina: 11,4%	<i>P. eryngii</i>	87,5	SARDAR ET AL. (2017)
Paglia	Emicellulosa: 21,8% Lignina: 19,1% C/N: 79,8	<i>P. eryngii</i>	48,2	ZERVAKIS ET AL. (2013)
Paglia	Emicellulosa: 21,8% Lignina: 19,1% C/N: 79,8	<i>P. ostreatus</i>	70,2	ZERVAKIS ET AL. (2013)
Paglia	Emicellulosa: 37,6% Lignina: 11,6% C/N: 123	<i>P. ostreatus</i>	52,6	KOUTROTSIOS ET AL. (2014)

La fermentazione allo stato solido operata dai funghi sui residui provenienti dalle lavorazioni agricole può essere vista come uno strumento per ridurre il loro impatto sull'ambiente, evitando così che vengano lasciati marcire in campo o che vengano smaltiti impropriamente tramite pratiche di abbruciamento che non rispettano le condizioni e i limiti previsti dalle norme, ma anche per migliorare la loro qualità, rendendoli ad esempio più adatti all'utilizzo come mangimi.

Molto spesso, infatti, l'uso di tali residui come alimentazione per il bestiame è limitato, a causa della presenza di elevati contenuti di composti non nutritivi (come lignina e silice) e/o di fattori antinutrizionali (es. tannini), che possono interferire con la normale digestione e il conseguente assorbimento dei nutrienti (ISSAKA ET AL., 2013). In un recente studio, NASEHI ET AL. (2017) hanno valutato l'effetto della fermentazione allo stato solido di *P. florida* sul valore nutritivo di alcuni rifiuti agricoli (paglia di riso, di frumento, d'orzo, di soia, di canola, di pisello e lolla di riso). Dopo il pretrattamento biotecnologico ad opera del *P. florida*, gli autori hanno osservato un aumento significativo del contenuto di proteine e ceneri in tutti i trattamenti, così come una diminuzione della sostanza secca, della sostanza organica e della fibra al detergente neutro.

Molto interessante risulta anche l'utilizzo di scarti provenienti dalle industrie agroalimentari per la produzione di funghi eduli, con il duplice scopo di ridurre il loro impatto sull'ambiente e reintrodurli nella catena alimentare, generando così ulteriore valore, in linea con i principi dell'economia circolare.

L'industria olearia è uno dei settori trainanti per l'economia dei Paesi del Mediterraneo; tuttavia, è noto che il processo di produzione dell'olio produce grandi volumi di rifiuti. A seconda del sistema di centrifugazione utilizzato dall'industria per estrarre l'olio, alla fine del processo possono essere ottenute diverse frazioni (ROIG ET AL., 2006). Nel sistema a tre fasi si producono la fase oleosa, la sansa di oliva e le acque di vegetazione, mentre l'estrazione con il più recente sistema a due fasi porta alla fase oleosa e alla sansa umida, un residuo viscoso simile ad un fango (con gli impianti a due fasi è vero che si riduce fortemente la produzione di acque di vegetazione, ma le sanse prodotte, essendo molto umide, sono di difficile collocazione presso i sansifici). Sebbene il sistema a due fasi sia stato etichettato come "ecologico" a causa della riduzione del consumo di acqua, la gestione efficace e lo smaltimento sicuro di tutti i rifiuti generati da entrambi i sistemi rappresentano un serio problema di inquinamento ambientale, anche perché sono prodotti in grandi quantità in un breve periodo di tempo. Questi residui, infatti, sono caratterizzati da pH acido, alto carico organico, elevato contenuto di sostanze fenoliche, colore e odore indesiderati (NTOUGIAS ET AL., 2013). Il loro uso nell'alimentazione del bestiame è limitato a causa della presenza di composti antinutrizionali, come i fenoli, e dell'elevato contenuto di lignina, che impedisce l'azione sia dei microrganismi del rumine sia degli enzimi idrolitici (BROZZOLI ET AL., 2010). Numerosi studi in letteratura hanno mostrato come il sistema enzimatico ligninolitico di alcuni funghi della carie bianca sia in grado di diminuire il contenuto fenolico e la fitotossicità dei residui della lavorazione delle olive (KOUTROTSIOS & ZERVAKIS, 2014; NTOUGIAS ET AL., 2012).

In uno studio del 2013 ZERVAKIS ET AL. hanno osservato come le sanse umide (TPOMW) provenienti dal sistema a due fasi per la produzione dell'olio, e utilizzate come substrato di crescita per la coltivazione di diverse specie del genere *Pleurotus*, dessero risultati migliori in termini di BE se utilizzati dopo compostaggio (cTPOMW): questo processo, infatti, porta a una disintossicazione del materiale originale. La produttività dei funghi è diminuita quando la supplementazione con TPOMW tal quale superava il 60%, probabilmente a causa dell'elevata tossicità dei residui presenti nel substrato di crescita. Tuttavia, c'è da sottolineare come i risultati di questo studio avessero mostrato valori di BE molto elevati (Figura 1), con il risultato massimo ottenuto sul substrato TPOMW compostato al 20% (BE compresa tra 120 % e 135%). Per quanto riguarda le diverse specie di *Pleurotus* oggetto di studio, il *P. ostreatus* ha mostrato valori di BE leggermente superiori. Pochi sono gli studi di letteratura in cui si sono valutati gli effetti della supplementazione con residui agroindustriali oltre che sui parametri di crescita, anche sulla composizione chimica e sulla qualità nutrizionale dei funghi. AVNI ET AL., (2017) hanno studiato l'uso di sanse (derivanti dal sistema a tre fasi) come substrato nella coltivazione di diverse specie di *Pleurotus*, concentrandosi in particolare sul contenuto di glucani. Gli autori sono stati in grado di aumentare fino al doppio il contenuto totale di glucani utilizzando le sanse in combinazione con la segatura di eucalipto (80:20) nel substrato di crescita rispetto al substrato che non conteneva sanse. Questo risultato era in accordo con quanto già osservato

da REVERBERI ET AL. (2004), secondo il quale il substrato contenente sanse stimolava la sintesi di  $\beta$ -1,3-glucani nel *P. ostreatus*, a causa della risposta del fungo allo stress ossidativo che può verificarsi in presenza di sanse. Inoltre, AVNI ET AL. (2017) hanno osservato una grande differenza nel contenuto di glucani tra le diverse specie di *Pleurotus* studiate, con la massima variazione nelle concentrazioni di  $\alpha$ -glucani. Il *P. eryngii* si è rivelata la specie con il più alto contenuto di  $\alpha$ - e  $\beta$ -glucani, con gli  $\alpha$ -glucani concentrati principalmente nel gambo.

Anche i residui provenienti dalla lavorazione del caffè, una delle bevande più consumate al mondo, possono essere utilizzati come substrati per la coltivazione di funghi o essere bioconvertiti tramite il processo di fermentazione allo stato solido. Questi residui, infatti, contengono composti come la caffeina, i tannini e i polifenoli, che li rendono tossici e ne impediscono o limitano l'uso come fertilizzanti, mangimi per animali, compost, ecc., oltre ad essere causa di problemi di inquinamento ambientale. Studi in materia hanno per esempio evidenziato un aumento dell'attività delle laccasi in funghi coltivati su residui dell'industria del caffè con la contemporanea diminuzione della caffeina e dei contenuti fenolici nel substrato, portando pertanto ad una riduzione della tossicità dei residui stessi (SALMONES ET AL., 2005; VELÀZQUEZ-CEDENO ET AL., 2002).

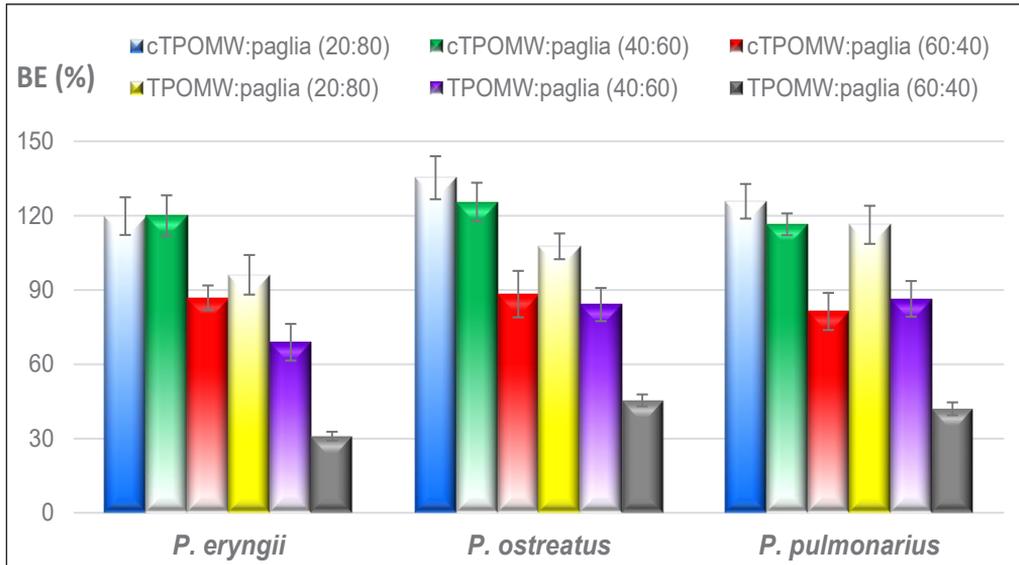
### **Biorisanamento ad opera di funghi del genere *Pleurotus***

Per biorisanamento si intende una tecnologia di bonifica ambientale basata sul metabolismo microbico di determinati microrganismi in grado di biodegradare o detossificare sostanze inquinanti. Il "micorisanamento", ossia il trattamento biologico basato sull'utilizzo di funghi, soprattutto di quelli appartenenti alla classe dei *white-rot*, è considerato attualmente di grande interesse nella bonifica di suoli contaminati da inquinanti organici. I funghi *white-rot*, infatti, si sono dimostrati particolarmente abili nel metabolizzare e mineralizzare molti contaminanti organici, quali oli ed affini, prodotti petroliferi, clorofenoli e idrocarburi policiclici aromatici. I funghi filamentosi hanno inoltre delle peculiarità che li distinguono dai batteri dal punto di vista della possibile applicabilità al biorisanamento di suoli inquinati e alla rimozione dei contaminanti. Le loro ife, infatti, hanno un'ottima capacità di penetrazione nella matrice contaminata; producono, inoltre, enzimi esocellulari quali laccasi, Mn-perossidasi e lignina-perossidasi in grado di raggiungere ed attaccare i composti inquinanti, anche a basse biodisponibilità. Le ossidasi che producono, inoltre, hanno bassa specificità del substrato e quindi sono capaci di ossidare (anche attraverso mediatori) un'ampia gamma di composti aromatici.

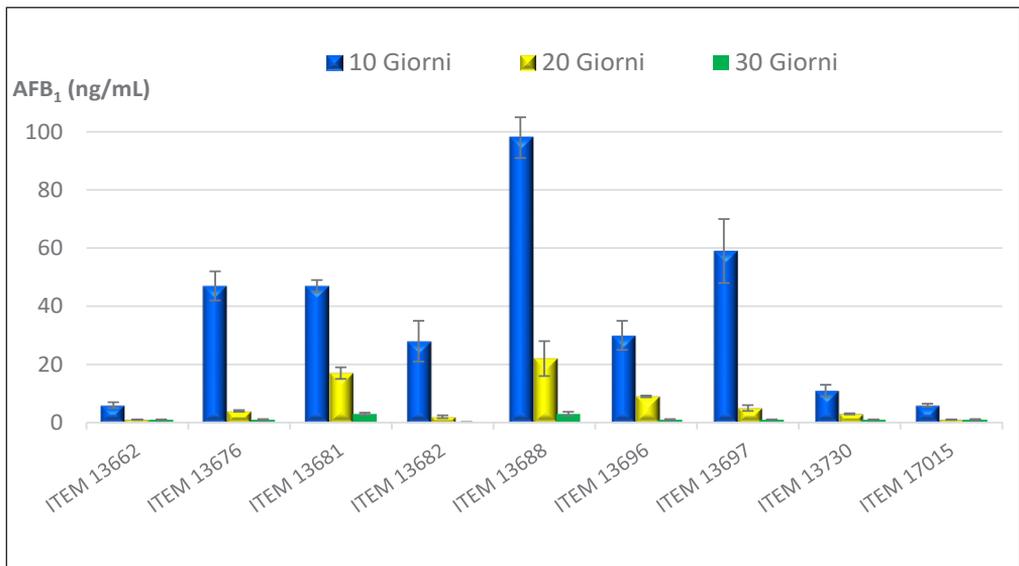
Ad esempio il substrato esausto derivato dalla produzione industriale di *P. ostreatus* è stato valutato come substrato organico versatile ed a basso costo per la degradazione di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) su suoli da essi contaminati (GREGORIO ET AL., 2016). I risultati hanno evidenziato come, già dopo 1 mese di trattamento con il substrato spento, si osservasse una riduzione del 50% della concentrazione di IPA totali, arrivando addirittura ad un valore di oltre il 95% dopo 8 mesi. Sebbene tali risultati fossero incoraggianti, c'è tuttavia da sottolineare come sia stata osservata anche una tossicità residua dell'eluato del suolo: alcuni metaboliti degli IPA, infatti, possono essere ancora più tossici dei composti primari da cui derivano, pertanto ulteriori studi in materia sono necessari per valutare l'effettiva azione di biorisanamento da parte di funghi eduli o dei loro substrati di coltivazione esausti su suoli contaminati da IPA.

Il potente sistema ligninolitico dei *Pleurotus* è stato valutato anche per la sua possibilità di degradare le aflatoossine, classe di composti prodotti da specie fungine appartenenti principalmente al genere *Aspergillus*. L'aflatoossina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), in particolare, è una micotossina, prodotta principalmente da isolati della specie *A. flavus* e *A. parasiticus*, che ha potenti effetti epatotossici, cancerogeni e mutageni sia sull'uomo che sugli animali (WILLIAMS ET AL., 2004). In un recente studio del 2017, BRANÀ ET AL. hanno evidenziato come isolati della specie di *P. eryngii* fossero in grado di degradare l'aflatoossina B<sub>1</sub> in mais contaminato (Figura 2 e 3). I risultati hanno evidenziato come la percentuale di degradazione di aflatoossina B<sub>1</sub> fosse già superiore all'80% dopo 10 giorni di incubazione e del 100%

dopo 30 giorni nel substrato di crescita liquido, mentre su supporto solido la percentuale di degradazione di aflatoxina B<sub>1</sub> oscillava tra il 65% e l'84%. Inoltre, né la biomassa prodotta né i basidiomi maturi, contenevano livelli rilevabili di AFB<sub>1</sub> o del suo metabolita aflatoxicolo, escludendo quindi la trasmigrazione di queste tossine attraverso il tallo fungino.



**Figura 1.** Efficienza Biologica (BE) di diverse specie di *Pleurotus* coltivate su substrati diversi: sansa umide compostate (cTPOMW) e non (TPOMW) + paglia di grano (modificato da ZERVAKIS ET AL. 2013).



**Figura 2.** Degradazione di Aflatoxina B1 (500 ng/mL) ad opera di diversi isolati di *Pleurotus eryngii* su supporto liquido (brodo di estratto di malto) (modificato da BRANÀ ET AL. 2017).

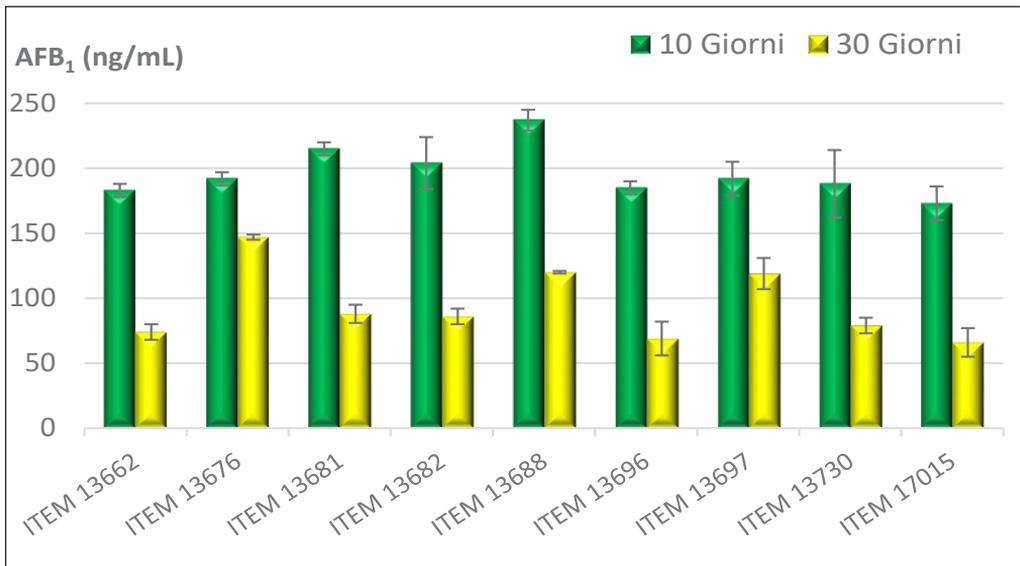


Figura 3. Degradazione di Aflatossina B1 (500 ng/mL) ad opera di diversi isolati di *Pleurotus eryngii* su supporto solido (agar di estratto di malto supplementato con paglia di frumento e farina di mais) (modificato da BRANÀ ET AL. 2017).

### Utilizzo del substrato di coltivazione esausto

La coltivazione dei *Pleurotus* porta ad una produzione di circa il 50% di anidride carbonica, 20% di acqua, 10% di basidiomi e 20% di residuo, il cosiddetto substrato esausto (STAMETS, 1993). Poiché la produzione globale di funghi è aumentata rapidamente negli ultimi decenni e si prevede che aumenterà ulteriormente in futuro a causa della necessità sempre maggiore di alimenti di qualità con un ridotto impatto ambientale, si assisterà anche ad un aumento della produzione di substrato esausto, che potrebbe superare addirittura i trilioni di kg l'anno (GRIMM & WÖSTEN, 2018). Diversi sono gli usi a cui potrebbero essere destinate queste enormi quantità di substrati esausti (Figura 4), ma la domanda che ci si deve porre è come queste possano essere

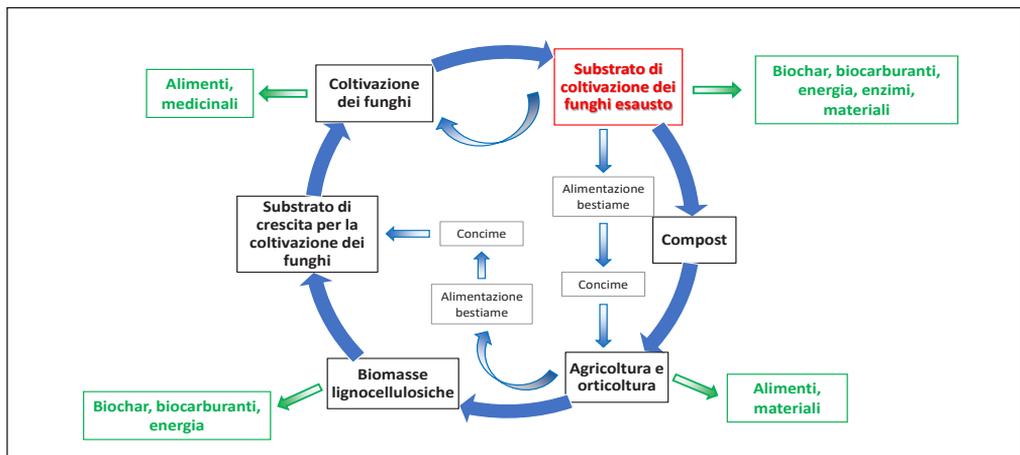


Figura 4. Utilizzo del substrato di coltivazione dei funghi esausto in un'economia circolare (modificato da: GRIMM & WÖSTEN, 2018).

utilizzate nella maniera più circolare possibile. Intuitivamente, si potrebbe iniziare con l'estrarre gli enzimi dal substrato esausto, cosa che sarebbe commercialmente fattibile a seconda delle attività degli enzimi presenti nello stesso substrato e dell'energia e dell'acqua necessarie per l'estrazione e, laddove richiesto, per la purificazione. Dopo l'estrazione enzimatica, il substrato esausto potrebbe essere utilizzato per uno o due altri cicli di coltivazione dei funghi, seguito dall'utilizzo dello stesso come compost, mangime o fonte per la produzione di biocarburanti. L'opzione più circolare dipenderà, ad esempio, dalla disponibilità locale di flussi di rifiuti, fertilizzanti e risorse alimentari e mangimistiche. La ricerca futura dovrebbe, pertanto, essere focalizzata ad individuare quali applicazioni del substrato esausto siano realmente rispettose verso l'ambiente, quali potrebbero essere fonte di reddito e come queste potrebbero essere migliorate integrando la produzione di funghi e substrato esausto in un'ottica di economia circolare.

## Conclusioni

I funghi del genere *Pleurotus* sono tra i più coltivati al mondo, essendo caratterizzati da una coltivazione molto semplice e da un elevato valore nutrizionale. Sono anche ben noti per la loro capacità di degradare materiali lignocellulosici; pertanto, diversi rifiuti agroalimentari sono stati studiati per valutarne l'effettivo utilizzo come substrati di crescita per la loro coltivazione. In tal modo, rifiuti di basso valore, derivanti principalmente dalle attività delle lavorazioni agricole o dalle industrie agro-alimentari, possono essere convertiti in nuove risorse per la produzione di prodotti alimentari a valore aggiunto, riducendone anche il relativo impatto sull'ambiente. Tutto ciò ben si sposa con i principi dell'economia circolare, secondo cui un prodotto, una volta terminato il suo ciclo di vita, può essere scomposto nei suoi costituenti e reintrodotta nel ciclo economico.

I molti lavori scientifici pubblicati in materia mostrano la versatilità dei *Pleurotus* nel crescere su una vasta gamma di materiali lignocellulosici. A seconda della disponibilità locale dei residui dell'industria agricola e alimentare, pertanto, sarebbe possibile utilizzare diversi substrati in ciascuna regione del mondo. Tuttavia, poiché i substrati svolgono il ruolo importante di sostenere la crescita, lo sviluppo e la fruttificazione dei funghi, la scelta del materiale di scarto più adatto come substrato di crescita per ottenere la massima resa è molto importante per i produttori di funghi, affinché possano trarre il giusto ritorno economico da una coltivazione per così dire sostenibile.

La fermentazione allo stato solido ad opera di funghi del genere *Pleurotus* si è dimostrata anche uno strumento utile per migliorare e valorizzare alcuni rifiuti agricoli: grazie alla degradazione preferenziale della lignina e dopo SFF ad opera dei *Pleurotus*, infatti, molti scarti agricoli (es. paglia) si traducono in una alimentazione per il bestiame di migliore qualità, poiché risultano più facilmente digeribili con conseguente migliore assorbimento dei nutrienti.

La forte attività ossidativa del sistema enzimatico ligninolitico del *Pleurotus* si è dimostrata essere anche un processo di biorisanamento a basso costo: in alcuni residui dell'industria agroalimentare, infatti, i *Pleurotus* sono in grado di ridurre la fitotossicità legata alla presenza di composti tossici (fenoli, tannini, caffeina, ecc.). Inoltre, l'uso di residui dell'industria agroalimentare (ad es. residui della lavorazione delle olive) come substrato di crescita di funghi eduli è un chiaro esempio di applicazione biotecnologica con il duplice risultato di ridurre l'impatto sull'ambiente dei rifiuti tossici e produrre funghi ad elevato valore aggiunto (aumento del contenuto di glucani). Lo stesso corredo enzimatico si è rivelato in grado di metabolizzare e mineralizzare molti contaminanti organici, quali clorofenoli, idrocarburi policiclici aromatici e micotossine, aprendo così le porte per l'utilizzo dei *Pleurotus* nelle attività di micorisanamento (anche se la reale efficacia di un sistema così nettamente sostenibile è ancora da dimostrare, data la produzione in alcuni casi di metaboliti secondari con proprietà ancora pericolose per la salute dell'uomo e dell'ambiente).

Sempre in un'ottica di economia circolare, ben si inserisce la coltivazione dei funghi *Pleurotus*: il substrato esausto (residuo solido della coltivazione), infatti, può essere riutilizzato per produrre ulteriormente valore (estrazione di enzimi, riutilizzo come substrato di crescita, produzione di compost, biochar o biocarburanti).

Sebbene tutti i risultati esposti in questo lavoro siano incoraggianti, c'è da sottolineare come molti di essi provengano da esperimenti su scala di laboratorio o semi-pilota. Inoltre molti lavori scientifici sono carenti di informazioni che impediscono il confronto dei diversi risultati (ad esempio caratteristiche dei substrati in crescita per la coltivazione di funghi o il ceppo impiegato). Pertanto sono necessari ulteriori studi per valutare l'utilizzo di residui agro-alimentari come substrati nella coltivazione di funghi eduli su scala industriale o per dimostrare la reale efficacia dei *Pleurotus* in attività di biorisanamento.

Indirizzo dell'Autore

MENA RITOTA

Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA),  
Centro di ricerca Alimenti e Nutrizione, Via Ardeatina 546, 00178 Roma.

E-mail: mena.ritota@crea.gov.it

## Bibliografia

- AVNI S., EZOVE N., HANANI H., YADID I., KARPOVSKY M., HAYBY, H., GOVER O., HADAR, Y., SCHWARTZ B. & DANAY O. – 2017: *Olive mill waste enhances alpha-glucan content in the edible mushroom Pleurotus eryngii*. Int. J. Mol. Sci. 18: 1-11.
- BALDRIAN P. – 2005: *Fungal laccases-occurrence and properties*. FEMS Microbiol. Rev. 30: 215–242.
- BRANÀ M.T., CIMMARUSTI M.T, HAIDUKOWSKI M., LOGRIECO A.F. & ALTOMARE C. – 2017: *Bioremediation of aflatoxin B1-contaminated maize by king oyster mushroom (Pleurotus eryngii)*. PLoS ONE 12(8): e0182574.
- CHANG S.T., LAU O.W. & CHO K.Y. – 1981: *The cultivation and nutritional value of Pleurotus sajor-caju*. European J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 12: 58-62.
- CHITAMBA J., DUBE F., CHIOTA W.M. & HANDISENI M. – 2012: *Evaluation of substrate productivity and market quality of oyster mushroom (Pleurotus ostreatus) grown on different substrates*. Int. J. Agric. Res. 7: 100-106.
- DI GREGORIO S., BECARELLI S., SIRACUSA G., CASTIGLIONE M.R., PETRONI G., MASINI G., GENTINI A., DE LIMA E., SILVA M. R. & LORENZI R. – 2016: *Pleurotus ostreatus spent mushroom substrate for the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons: the case study of a pilot dynamic biopile for the decontamination of a historically contaminated soil*. J. Chem. Technol. Biotechnol. 91: 1654–1664.
- EPRS / European Parliamentary Research Service – 2016: *Closing the loop – new circular economy package*. [http://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/BRIE/2016/573899/EPRS\\_BRI%282016%29573899\\_EN.pdf](http://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/BRIE/2016/573899/EPRS_BRI%282016%29573899_EN.pdf)
- GARG V.K., SUTHAR S. & YADAV A. – 2012: *Management of food industry waste employing vermicomposting technology*. Bioresour. Technol. 126: 437-43.
- GRIMM D. & WÖSTEN H.A.B. – 2018: *Mushroom cultivation in the circular economy*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 102:7795-7803.
- HATAKKA A. – 1994: *Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role from in lignin degradation*. FEMS Microbiol. Rev. 13: 125-135.
- ISSAKA J., ALEMAWOR F. & DZOGBEFIA V.P. – 2013: *Bioconversion impact of Pleurotus ostreatus on the value of rice and groundnut by-products as feed resources*. Res. Biotechnol. 4: 24-30.
- KNOP D., YARDEN O. & HADAR Y. – 2015: *The ligninolytic peroxidases in the genus Pleurotus: divergence in activities, expression, and potential applications*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 99: 1025- 918.

- KOUTROTSIOS G., KALOGEROPOULOS N., KALIORA A.C. & ZERVAKIS G.I. – 2018: *Toward an Increased Functionality in Oyster (Pleurotus) Mushrooms Produced on Grape Marc or Olive Mill Wastes Serving as Sources of Bioactive Compounds*. J. Agric. Food Chem. 66(24): 5971-5983.
- KOUTROTSIOS G., MOUNTZOURIS K.C., CHATZIPAVLIDIS I. & ZERVAKIS G.I. – 2014: *Bioconversion of lignocellulosic residues by Agrocybe cylindracea and Pleurotus ostreatus mushroom fungi – Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties*. Food Chem. 161: 127–135.
- LANKINEN P. – 2004: *Ligninolytic enzymes of the basidiomycetous fungi Agaricus bisporus and Phlebia radiata on lignocellulose containing media*. Academic Dissertation in Microbiology, Faculty of Agriculture and Forestry of the University of Helsinki, Finland. 54 p.
- MANZI P., AGUZZI A. & PIZZOFERRATO L. – 2001: *Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy*. Food Chem. 73: 321-325.
- MIRABELLA N., CASTELLANI V. & SALA S. – 2014: *Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review*. J. Clean. Prod. 65: 28-41.
- MUSSATTO S.I., BALLESTEROS L.F., MARTINS S. & TEIXEIRA J.A. in: SHOW K.Y. & GUO X. (editors) – 2012: *Use of agro-industrial wastes in solid-state fermentation processes*. Industrial Waste: InTech Open Access Publisher; 121-140.
- NASEHI M., TORBATINEJAD N.M., ZEREHDARAN S. & SAFAIE A.R. – 2017: *Effect of solid-state fermentation by oyster mushroom (Pleurotus florida) on nutritive value of some agro by-products*. J. Appl. Anim. Res. 45: 221-226.
- NTOUGIAS S., BALDRIAN P., EHALIOTIS C., NERUD F., ANTONIOU T., MERHAUTOVA V. & ZERVAKIS G.I. – 2012: *Biodegradation and detoxification of olive mill wastewater by selected strains of the mushroom genera Ganoderma and Pleurotus*. Chemosphere 88:620-626.
- NTOUGIAS S., BOURTZIS K. & TSIAMIS G. – 2013: *The microbiology of olive mill wastes*. Bio. Med. Res. Int. 2013: 1-16.
- PANDEY A. – 2003: *Solid-state fermentation*. Biochem Eng. J. 13: 81-84.
- PATRA AK. & PANI B.K. – 1995: *Evaluation of banana leaf as a new alternative substrate to paddy straw for oyster mushroom cultivation*. J. Phytol. Res. 8: 145-148.
- PE / Parlamento Europeo – 2018: *Economia circolare: definizione, importanza e vantaggi*. N. di rif.: 20151201STO05603. [http://www.europarl.europa.eu/pdfs/news/expert/2015/12/story/20151201STO05603/20151201STO05603\\_it.pdf](http://www.europarl.europa.eu/pdfs/news/expert/2015/12/story/20151201STO05603/20151201STO05603_it.pdf)
- PÉREZ J., MUÑOZ-DORADO J., DE LA RUBIA T. & MARTÍNEZ J. – 2002: *Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview*. Int. Microbiol. 5: 53-63.
- PHILIPPOUSSIS A. in: SINGH NEE' NIGAM P, PANDEY A. (editors) – 2009: *Production of Mushrooms Using Agro-Industrial Residues as Substrates*. Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Utilisation of Agro-Residues. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 163-196.
- RAVINDRAN R. & JAISWAL AK. – 2016: *Exploitation of food industry waste for high-value products*. Trends Biotechnol. 34: 58-69.
- REVERBERI M., DI MARIO F. & TOMATI U. – 2004: *b-Glucan synthase induction in mushrooms grown on olive mill wastewaters*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 66: 217-225.
- ROIG A., CAYUELA M.L. & SANCHEZ-MONEDERO M.A. – 2006: *An overview on olive mill wastes and their valorisation methods*. Waste Management 26: 960-969.
- SADH P.K., DUHAN S. & DUHAN J.S. – 2018: *Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review*. Bioresour. Bioprocess 5: 1.
- SÁNCHEZ C. – 2009: *Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi*. Biotechnology Advances 27: 185-194.
- SARDAR H., ALI M.A., ANJUM M.A., NAWAZ F., HUSSAIN S., NAZ S. & KARIMI S.M. – 2017: *Agro-industrial residues influence mineral elements accumulation and nutritional composition of king oyster mushroom (Pleurotus eryngii)*. Sci Hort. 225: 327-334.

- STAMETS P. – 1993: *Growing gourmet and medicinal mushrooms, 3rd edn.* Crown Publishing Group, New York.
- STENMARCK Å., JENSEN C., QUESTED T. & MOATES G. – 2016: *FUSIONS-Estimates of European food waste levels.* Stockholm, ISBN 978-91-88319-01-2.
- TENGERDY R.P. & SZAKACS G. – 2003: *Bioconversion of lignocellulose in solid substrate fermentation.* *Biochem. Eng. J.* 13: 169-79.
- WILLIAMS J.H., PHILLIPS T.D., JOLLY P.E., STILES J.K., JOLLY C.M. & AGGARWAL D. – 2004: *Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions.* *Am. J. Clin. Nutr.* 80: 1106-1122.
- ZERVAKIS G.I., KOUTROTSIOS G. & KATSARIS P. – 2013: *Composted versus raw olive mill waste as substrates for the production of medicinal mushrooms: an assessment of selected cultivation and quality parameters.* *BioMed. Res. Int.* 2013: 1-13.