



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente (DAFNAE)

CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE DELLE PRODUZIONI VEGETALI

CICLO XXXI

# OTTIMIZZAZIONE DELLA FILIERA PRODUTTIVA DEL FUNGO COLTIVATO

Tesi redatta con il contributo finanziario di A.I.F. (Associazione Italiana Fungicoltori)

**Coordinatore:** Ch.mo Prof. Sergio Casella

**Supervisore:** Ch.mo Prof. Paolo Sambo

**Dottoranda :** Valentina Gobbi



***“Dimenticare come zappare la terra e curare il terreno  
significa dimenticare se stessi”***

Mahatma Gandhi





## **Dichiarazione**

Con la presente affermo che questa tesi è frutto del mio lavoro e che, per quanto io ne sia a conoscenza, non contiene materiale precedentemente pubblicato o scritto da un'altra persona né materiale che è stato utilizzato per l'ottenimento di qualunque altro titolo o diploma dell'università o altro istituto di apprendimento, a eccezione del caso in cui ciò venga riconosciuto nel testo.

01ottobre 2018

Valentina Gobbi

Una copia della tesi sarà disponibile presso <http://paduaresearch.cab.unipd.it/>

## **Declaration**

I hereby declare that this submission is my own work and that, to the best of my knowledge and belief, it contains no material previously published or written by another person nor material which to a substantial extent has been accepted for the award of any other degree or diploma of the university or other institute of higher learning, except where due acknowledgment has been made in the text.

01ottobre 2018

Valentina Gobbi

A copy of the thesis will be available at <http://paduaresearch.cab.unipd.it/>



<i>Riassunto</i> .....	11
<i>Abstract</i> .....	13
<b>1. INTRODUZIONE</b> .....	15
1.1. <i>Agricoltura e sostanza organica</i> .....	16
1.2. <i>Matrici organiche alternative</i> .....	17
1.3. <i>Substrato spento di fungaia</i> .....	18
1.3.1. <i>La fungicoltura</i> .....	18
1.3.2. <i>I sistemi di coltivazione</i> .....	18
1.3.3. <i>Importanza economica</i> .....	21
1.3.4. <i>Genesi del substrato spento di fungaia</i> .....	22
1.3.5. <i>Applicazioni e problematiche</i> .....	25
1.4. <i>I funghi coltivati</i> .....	26
1.4.1. <i>Agaricus bisporus</i> .....	28
1.4.2. <i>Gli aspetti nutrizionali e la qualità del fungo</i> .....	29
1.4.3. <i>Post harvest</i> .....	30
1.4.3.1 <i>La polifenolossidasi</i> .....	32
1.4.3.2. <i>La gestione dell'imbrunimento enzimatico</i> .....	33
1.4.4.3. <i>Problematiche riscontrate</i> .....	37
<b>2. CARATTERIZZAZIONE DEL SUBSTRATO SPENTO DI FUNGAIA (SMS)</b> .....	39
2.4. <i>Caratterizzazione chimica di substrato spento di fungaia: materiali e metodi</i> .....	40
2.5. <i>Risultati del primo ciclo di caratterizzazione (autunno 2013)</i> .....	42
2.3. <i>Risultati del secondo ciclo di caratterizzazione (autunno 2015)</i> .....	43
2.4. <i>Confronto tra le annate</i> .....	46
2.5. <i>Stoccaggio di substrato spento di fungaia</i> .....	47
2.5.1. <i>Risultati ottenuti dalla prova di stoccaggio di substrato spento di fungaia</i> .....	49
2.6. <i>Discussione</i> .....	50
<b>3. UTILIZZO IN PIENO CAMPO E RESE PRODUTTIVE</b> .....	53
3.1. <i>Materiali e metodi</i> .....	54
3.2. <i>Risultati delle prove in pieno campo: rese ottenute</i> .....	61
3.2.1. <i>Lattuga</i> .....	61
3.2.2. <i>Porro</i> .....	62
3.2.3. <i>Pomodoro</i> .....	63

3.2.4. <i>Spinacio</i> .....	65
3.2.5. <i>Finocchio</i> .....	66
3.2.6. <i>Radicchio di Chioggia</i> .....	67
3.2.7. <i>Fagiolino</i> .....	68
3.3. <i>Discussione</i> .....	69
4. <i>UTILIZZO IN PIENO CAMPO E RESE PRODUTTIVE</i> .....	73
4.1. <i>Materiali e metodi</i> .....	74
4.2. <i>Risultati delle prove in pieno campo: aspetti qualitativi</i> .....	77
4.2.1. <i>Lattuga</i> .....	77
4.2.2. <i>Porro</i> .....	78
4.2.3. <i>Pomodoro</i> .....	79
4.2.4. <i>Spinacio</i> .....	80
4.2.5. <i>Finocchio</i> .....	81
4.2.6. <i>Radicchio di Chioggia</i> .....	82
4.2.7. <i>Fagiolino</i> .....	84
4.3. <i>Discussione</i> .....	85
5. <i>CARATTERIZZAZIONE DI AGARICUS BISPORUS</i> .....	89
5.1. <i>Materiali e metodi</i> .....	90
5.1.1. <i>Analisi qualitative</i> .....	91
5.2. <i>Risultati</i> .....	94
5.3. <i>Discussione</i> .....	97
6. <i>GESTIONE DELLA SHELF-LIFE DI AGARICUS BISPORUS</i> .....	101
6.1. <i>Materiali e metodi</i> .....	102
6.2. <i>Risultati</i> .....	105
6.3. <i>Discussione</i> .....	110
7. <i>CONCLUSIONI</i> .....	115
7.1 <i>Premessa</i> .....	116
7.2. <i>Caratterizzazione e gestione di spent mushroom substrate</i> .....	116
7.3. <i>Caratterizzazione e gestione dell'imbrunimento di A. Bisporus</i> .....	119
8. <i>BIBLIOGRAFIA</i> .....	121
9. <i>TAVOLE E TABELLE</i> .....	134





## **Riassunto**

L'aumento del fabbisogno alimentare, ha comportato l'adozione di un'agricoltura indirizzata di tipo intensivo, causando un impoverimento della sostanza organica nel terreno e diminuzione della sua fertilità. Tra le soluzioni in grado di contenere la perdita di sostanza organica nel suolo, ci sono le concimazioni organiche. L'apporto avviene principalmente con l'utilizzo di deiezioni zootecniche ma negli ultimi anni vi è una crescente disponibilità di altre fonti, quali il compost spento di fungaia.

Il compost spento di fungaia (SMS dall'acronimo *Spent Mushroom Substrate*) è uno scarto risultante dalla fungicoltura, ovvero la produzione di funghi coltivati. La presente sperimentazione ha previsto la caratterizzazione di SMS e dimostrarne la potenzialità ad essere impiegato come matrice organica in orticoltura, attività caratterizzata da intense successioni colturali e frequenti lavorazioni. Il suo utilizzo come fertilizzante/ammendante è stato testato in una successione colturale che ha previsto il confronto tra 3 tipi di SMS e il susseguirsi di 8 specie orticole, alcune delle quali sensibili all'accumulo di nitrati.

Inoltre, questa sperimentazione ha previsto la caratterizzazione di *A. bisporus* e successivamente l'utilizzo di prodotti per la gestione dell'imbrunimento e mantenimento delle caratteristiche qualitative dello champignon nel post raccolta.

Dalle analisi eseguite sulle tipologie di SMS, non sono emerse significative differenze dei principali parametri presi in considerazione. SMS risulta dotato di buoni contenuti nutrizionali, soprattutto i contenuti di sostanza organica e azoto, i cui valori restano stabili anche dopo 12 mesi di stoccaggio in cumulo scoperto. Risulta ben dotato anche di fosforo e potassio, i quali però sono soggetti a perdite dovute all'azione dilavante delle piogge.

Il contenuto di sali risulta elevato se comparato con un comune letame. Questo problema può essere facilmente gestito se la quantità utilizzata in campo non eccede le reali esigenze colturali. Inoltre, risulta sicuro dal punto di vista della tossicità causata dalla presenza di metalli pesanti, rispettando i limiti stabiliti dal D. Lgs. 75/2010.

Le rese ottenute spesso non hanno rilevato differenze statistiche con la tesi completamente minerale, suggerendo che l'utilizzo di questa matrice può offrire produzioni assolutamente comparabili a quelle ottenibili con una comune fertilizzazione chimica, offrendo al contempo i vantaggi della concimazione organica. Da quanto emerso da questa sperimentazione, le colture a ciclo breve si avvantaggiano di una fertilizzazione mista organica/minerale. Nella valutazione della

qualità delle produzioni ottenute, SMS ha dimostrato essere una matrice sicura: la concentrazione di nitrati risulta sotto ai limiti imposti dalla legislazione.

Dai risultati emersi durante la prova di caratterizzazione di *A. bisporus*, si può affermare che il mantenimento della catena del freddo contribuisce al ritardamento della senescenza. *A. bisporus* affettato è stata la referenza che, riguardo la senescenza, ha risentito maggiormente del periodo di conservazione. Alla luce di quanto emerso, la successiva prova di gestione dell'imbrunimento è stata effettuata solo sul prodotto affettato, utilizzando 3 prodotti ad azione conservante. Il colore risulta il parametro più importante per il consumatore e il trattamento con EDTA sembra avere agito nel mantenimento della luminosità, mantenendo al contempo bassi livelli di acidità titolabile. Per gli altri parametri considerati non sono state rilevate differenze significative.



## **Abstract**

The increase in food requirements has led to the adoption of an intensive agriculture, causing organic matter pauperization in soil and a decrease of its fertility. Organic fertilization is among the solutions able to contain the loss of soil organic matter. As organic fertilizer, animal manure is the most utilized, but, in recent years, there is an increasing availability of other sources, such as the spent mushroom substrate.

The spent mushroom substrate (SMS) is a waste resulting from the fungiculture, activity that produce cultivated mushrooms. The present experimentation provided the characterization of SMS and the use of SMS as organic matrix in horticulture, an activity characterized by intense cultivations and frequent processing. The strip plot experimental design compared 4 fertilization treatments and 3 SMS types in a cultivation of 8 horticultural species, some of which are sensitive to the accumulation of nitrates.

Moreover, this experimentation provided the characterization of *A. bisporus* and then the use of different compound to manage the browning effect and to maintain the qualitative characteristics of the champignons in the post-harvest.

From the analyses performed on the type of SMS, no significant differences emerged regarding the main parameters taken into consideration. SMS is endowed with good nutritional contents, especially regarding the contents of organic matter and nitrogen, whose values remain unchanged even after 12 months of uncovered heap. SMS is also well equipped with phosphorus and potassium content, which, however, are subject to losses due to the washout of the rains.

The salt content is high when compared to a common manure. This problem can be easily managed if the quantity used in the field does not exceed the cultivation needs. Moreover, it is safe from the point of view of toxicity caused by the presence of heavy metals, respecting the limits established by Italian D.lgs. 75/2010.

If compared with mineral fertilization, yields obtained from SMS fertilization often did not report statistical differences, suggesting that the use of these two N sources can be comparable. Also, the use of SMS fertilization matrix offers the advantages of organic fertilization. Short cycle crops preferred mixed fertilization, because organic substrate usually require long time for mineralization. From the results of our experimentation, organic fertilization is more effective for long cycle crops. Moreover, assessing the quality of the obtained products, SMS has proved to be a safe matrix, in fact, the concentration of nitrates is below the limits imposed by the Italian legislation.

From the results emerged during the characterization test of *A. bisporus*, it is possible to assert that the maintenance of the cold chain contributes to the senescence retardation. Sliced *A. bisporus* was the reference that was most affected, about senescence, by the period of conservation and was thus considered for the subsequent tests. The test of the browning effect on sliced mushrooms was carried out testing three different compounds. Color, which is the most important parameter for the consumer, results less deteriorated with EDTA treatment that seems to have a good effect to maintain the brightness and low titratable acidity levels.

## **1. INTRODUZIONE**

### **1.1. Agricoltura e sostanza organica**

Dagli inizi del secolo scorso e in particolare dal secondo dopoguerra, la popolazione mondiale ha subito un importante incremento, traducendosi in un aumento della richiesta dei prodotti alimentari. L'aumento dei fabbisogni ha comportato la necessità di adottare un'agricoltura di tipo intensivo: questo tipo di coltivazione, però, ha dei risvolti negativi che si riflettono in un peggioramento delle caratteristiche fisiche e chimiche del terreno. Lo sfruttamento eccessivo del terreno causato da lavorazioni più o meno profonde effettuate spesso in periodi non ottimali, l'eliminazione delle rotazioni colturali e il crescente utilizzo dei fertilizzanti chimici, sono le principali cause dell'impoverimento dei terreni agrari (Havlin et al., 1990; Studdert, 2000; Zhao et al., 2009). L'utilizzo di concimi organici e/o ammendanti può contribuire fortemente a contenere queste problematiche, innalzando il livello di sostanza organica nel suolo. La sostanza organica esplica importanti funzioni all'interno del suolo, rendendo disponibili gli elementi nutritivi, i composti umici e fulvici presenti favoriscono l'accrescimento radicale e lo sviluppo microbico, oltre ad aumentare la capacità di scambio cationico. Migliora, inoltre, la struttura del terreno, favorisce l'aggregazione delle particelle, la capacità di ritenzione idrica e riduce la tenacità (Giardini, 2004). Essa è composta da residui vegetali e animali decomposti da parte della meso- e microfauna, formando tre frazioni, costituite da residui alterati, da prodotti di decomposizione ed humus (Davies e Payne, 1988; Murphy, 2015). La presenza di sostanza organica nel terreno, inoltre, può favorire l'inattivazione di composti biotossici sia di origine naturale (ad esempio i polifenoli), che sintetica (erbicidi e fitofarmaci) (Chenu et al., 2000; Gardner et al., 1999). In un contesto naturale, la sostanza organica subisce un turn over equilibrato, in cui gli organismi vegetali si avvantaggiano degli elementi rilasciati da quest'ultima e, al termine del loro ciclo vitale, contribuiscono alla formazione di nuova sostanza organica sinergicamente con la meso- e la microfauna. Al contrario, in un contesto agrario, la formazione di nuova sostanza organica è difficoltosa per le molteplici operazioni colturali ed è necessario ricorrere alla concimazione organica.

Ai sensi del D. Lgs. 75/2010 e s.m.i. si definisce un *“concime organico” un concime derivato da materiali organici di origine animale o vegetale, costituito da composti organici ai quali gli elementi principali della fertilità sono chimicamente legati in forma organica o comunque fanno parte integrante della matrice*”. Rientrano nella categoria degli ammendanti tutti quei *“materiali da aggiungere al suolo in situ, principalmente per conservarne o migliorarne le caratteristiche*

*fisiche o chimiche o l'attività biologica, disgiuntamente o unitamente tra loro*". La normativa consente l'impiego di un'ampia gamma di matrici tra cui i comuni letami e liquami le cui caratteristiche e uso sono storicamente documentati; considerando la scarsa disponibilità di letame, negli ultimi anni si stanno diffondendo matrici organiche "alternative" che stanno riscuotendo forte interesse tra gli utilizzatori in un momento storico in cui l'utilizzo di sostanza organica è molto incoraggiato.

Questa tendenza è documentata dalle rilevazioni ISTAT (ISTAT, 2015), che registrano una diminuzione dell'uso dei fertilizzanti chimici di circa il 45% nel decennio 2002-2013 a favore degli ammendanti e dei concimi organici.

### **1.2. Matrici organiche alternative**

Le matrici organiche alternative hanno in comune la caratteristica di derivare dal recupero di materiali di scarto. A titolo di esempio si può trovare il compost da rifiuto solido urbano, ovvero la frazione umida dei rifiuti solidi urbani decomposta e trasformata ad opera dei microrganismi in condizioni controllate in un prodotto stabile e molto simile all'humus (Ozores-Hampton et al., 1994; Montemurro et al., 2005; Farrell e Jones, 2009; Mylavarapu e Zinati, 2009; Fagnano et al., 2011). Alcuni studi dimostrano che l'utilizzo di compost da rifiuto solido urbano incrementa il tenore di sostanza organica nel suolo, mantenendo al contempo un buon rapporto C/N (Crecchio et al., 2001; Montemurro et al., 2005). Il D. Lgs 29 aprile 2010, n. 75 distingue due tipologie di prodotto, in base alle materie prime impiegate nel compostaggio, l'ammendante compostato verde (da scarti lignocellulosici) e l'ammendante compostato misto (da varie matrici organiche selezionate), ma la variabilità delle materie prime si ripercuote in una mutevolezza del prodotto finale. Tale prodotto presenta alcuni indiscutibili vantaggi, quali lo smaltimento della componente biodegradabile dei rifiuti solidi urbani e la riduzione dell'impatto ambientale, ma, al contempo può presentare alcuni svantaggi. Tra questi si possono citare l'aumento della salinità (Shanmugam e Warman, 2004; Maftoun et al., 2004) e il rilascio di metalli pesanti (He et al., 1992).

Un altro esempio è rappresentato dai digestati anaerobici, ovvero quelle materie organiche utilizzate per la produzione di energia e calore (Tambone et al., 2009), il cui prodotto di scarto alla fine del processo produttivo presenta un alto livello di nutrienti e basso rapporto C/N, esplicando un'ottima fertilizzazione nel breve periodo (Salminen et al., 2001; Weiland, 2010). Inoltre, il trattamento anaerobico utilizzato nel processo minimizza la presenza di microrganismi patogeni,

facendo dei digestati anaerobici dei prodotti sicuri da utilizzare in agricoltura (Weiland, 2010). La produzione di energia e calore prevede l'utilizzo di materie prime diverse, tra cui deiezioni zootecniche e sottoprodotti dell'agricoltura, ottenendo quindi una matrice finale che può presentare caratteristiche differenti (Alburquerque et al., 2012; Provenzano et al., 2011).

Anche in questo caso, la matrice può comportare delle problematiche, tra cui la tendenza a liberare ammoniaca nell'ambiente a causa dell'alto contenuto di ammonio e all'instaurarsi di un pH elevato che ne incentiva la liberazione (Weiland, 2010). Analogamente ad altre matrici organiche, il suo utilizzo deve avvenire in base alle reali esigenze colturali tenendo presente le condizioni ambientali in cui si opera, onde evitare di produrre inquinamento alle acque superficiali e profonde (Mulla et al., 2001; Hubbard and Lowrance, 1998; Newton et al., 1994; Odgers, 1991). Inoltre, la matrice può contenere composti tossici che derivano dalle matrici di partenza, quali metalli pesanti o composti fitotossici, che possono inquinare il suolo quando il digestato viene applicato come fertilizzante (Boydston et al., 2008; Watcharasukarn et al., 2009; Alburquerque et al., 2012; Inglet et al., 2009; Schievano et al., 2009).

I residui dei rifiuti solidi urbani e dei fanghi di depurazione sono matrici che risultano essere uno scarto di produzione di altre attività produttive, analogamente al substrato in cui viene coltivato *Agaricus bisporus*, ovvero un materiale composto da deiezioni animali che ha subito un processo di compostaggio e che alla fine del ciclo di coltivazione dello champignon, possiede ottime caratteristiche che possono essere sfruttate in agricoltura.

### **1.3. Substrato spento di fungaia**

#### **1.3.1 La fungicoltura**

La fungicoltura è un'attività produttiva che si è diffusa ed affermata con successo dall'inizio del 1900, anche se vi sono fonti che attestano l'inizio di tale attività già dal 1600 (Maffi, 2011) in cui venivano utilizzate metodiche molto semplici, quali la copertura di ceppaie con letame o la formazione di cumuli di quest'ultimo nei quali si trovavano presenti spore di funghi.

Come realtà produttiva vede i suoi esordi dal 1800, quando viene scoperta la possibilità di utilizzare le grotte sotterranee come ambiente di coltivazione, integrandosi alle tecniche rudimentali sopra citate, al fine di rendere disponibile il raccolto durante tutto l'anno grazie a parametri ambientali più costanti.

Con l'inizio del XX° secolo cominciano ad essere sviluppati diversi metodi di coltivazione e di preparazione del substrato di coltivazione, che finora era formato semplicemente da letame di cavallo. L'attività comincia a diffondersi anche negli Stati Uniti, dove vengono perfezionati nuovi sistemi di coltivazione che permettono la produzione senza l'ausilio delle grotte e, contemporaneamente, si assiste ad una svolta nella preparazione dei substrati, che vengono prodotti in locali controllati e meccanizzati.

La fungicoltura italiana, così come quella francese, si espande nel XIX° secolo dove veniva già praticata la coltivazione in grotta; tuttavia nella prima metà di tale secolo l'attività, nonostante la presenza di realtà ben affermate, non permette di raggiungere i risultati produttivi simili ad altri Paesi europei, quali Francia e Olanda, probabilmente a causa della crisi creatasi all'uscita dei due conflitti mondiali.

Al contrario, a partire dalla seconda metà del '900 si assiste ad uno sviluppo sorprendente e sempre al passo con le nuove tecnologie che sono state introdotte nel settore. Le aziende che hanno dato il maggior contributo a questo tipo di attività, sono dislocate nelle regioni settentrionali quali Lombardia e Veneto da cui si è poi diffuso anche nelle regioni centrali, tirreniche e isolate.

### **1.3.2. I sistemi di coltivazione**

La coltivazione dei funghi richiede un controllo costante dei parametri ambientali, per cui nei vari anni sono stati utilizzati diversi sistemi, la cui caratteristica comune è quella di non lasciar passare la luce del sole, poiché questa rende difficile la gestione dei parametri ambientali, tra cui ad esempio la temperatura, e comporta danni qualitativi al prodotto finale. Per gestire questa problematica, la coltivazione veniva eseguita in ambienti naturali, per poi essere dislocata in strutture artificiali, richieste con l'introduzione della meccanizzazione.

- ***La coltivazione in grotte***

La tipologia di questi ambienti permette di risolvere efficacemente il problema della luce solare, inoltre l'ambiente italiano presenta un numero elevato di cave permettendo così l'instaurarsi di diverse realtà produttive. In questi ambienti la coltivazione viene effettuata distribuendo il substrato inoculato in cumuli lungo le superfici della grotta.

Le grotte sono munite di viabilità interna ed esterna, di illuminazione, prima con lampade ad acetilene (Maffi, 2011), poi sostituite con l'introduzione dell'elettricità e della ventilazione.

- ***La coltivazione in casse***

È un sistema nato negli Stati Uniti negli anni '30 e diffusosi in Europa a fine anni '40.

Questo tipo di coltivazione prevede la sistemazione del substrato all'interno di casse, che potevano essere spostate all'interno dell'ambiente di coltivazione, generalmente in edifici appositamente dedicati, in cui vengono eseguite le operazioni colturali, quali preparazione, pastorizzazione, sterilizzazione del substrato, incubazione, sviluppo e raccolta.

Questa soluzione, attuabile anche nelle grotte, consente di ottenere produzione più elevate rispetto alla coltivazione in cumuli e consente di gestire con più accuratezza le fasi di processo.

- ***Il sistema americano***

È una soluzione adottata negli Stati Uniti già dalla fine del 1800.

La coltivazione avviene in capannoni dove, all'interno delle varie stanze, sono collocate delle scaffalature sovrapposte, in modo tale da sfruttare tutta la superficie disponibile. Su queste sono posti dei letti di legno, dove viene distribuito il substrato di coltivazione e, grazie all'introduzione di tecnologie più avanzate (es. pastorizzazione), la coltivazione diventa monozona, tecnica in cui tutti i processi colturali vengono eseguiti nello stesso locale, anche se questi sono ancora eseguiti manualmente.

- ***Il sistema olandese***

È il più recente sistema di coltivazione che viene attualmente ancora utilizzato e consiste nel rendere più efficiente il sistema americano, riducendo le superfici di coltivazione e introducendo innovazioni meccaniche atte allo carico e scarico del substrato di coltivazione tramite l'uso di un tappeto di nylon; questo inoltre consente di poter eseguire più rapidamente le lavorazioni del substrato, come la zappettatura. Altra innovazione è rappresentata dall'introduzione dei sistemi di controllo dei parametri atmosferici, che consentono di variare la distribuzione dell'aria e monitorare temperatura, umidità e tasso di CO<sub>2</sub>, durante le diverse fasi del ciclo.



### 1.3.3 Importanza economica

L'Italia si inserisce tra i principali produttori mondiali di funghi e tartufi (fonte FAOSTAT, 2018), come è possibile apprezzare dalla carta tematica riportata in figura 1.1.

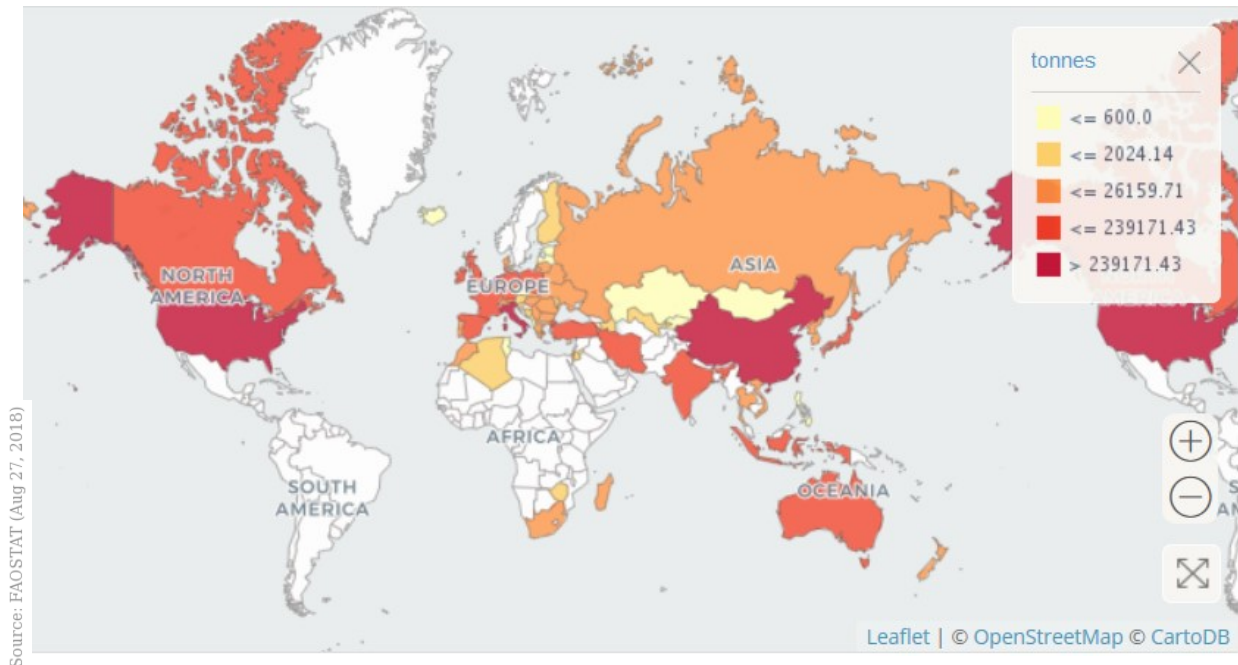


Figura 1.1. Carta tematica riferita alle produzioni mondiali di funghi e tartufi, riferita alle annate 2015 - 2016. (Fonte FAOSTAT, 2018).

L'Italia, da valori medi delle annate 2015 -2016, si colloca al secondo posto dopo la Cina con una produzione stimata di oltre 600.000 tonnellate di funghi e tartufi (FAOSTAT, 2018) (Fig. 1.2).

Secondo altre stime fornite da AIF (Associazione Italiana Fungicoltori) riferite all'annata produttiva 2017, la produzione di soli *Agaricus bisporus* si attesta sulle 50000 t.

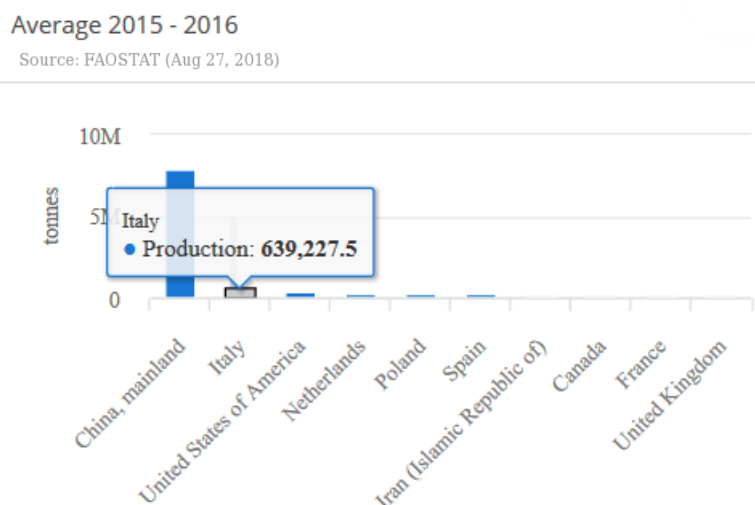


Figura 1.2. Grafico che riporta i primi 10 Paesi al mondo produttori di funghi e tartufi, riferito alle annate 2015-2016. (Fonte FAOSTAT, 2018).

Come si può notare dalla figura 1.3, l'Italia dagli anni '60 al 2007 ha registrato una produzione sostanzialmente costante per poi subire un'impennata a partire dal 2008, probabilmente dovuta ad un aumento delle produzioni ma verosimilmente anche all'entrata di nuovi produttori nel mercato.

1961 - 2016 Source: FAOSTAT (Aug 27, 2018)

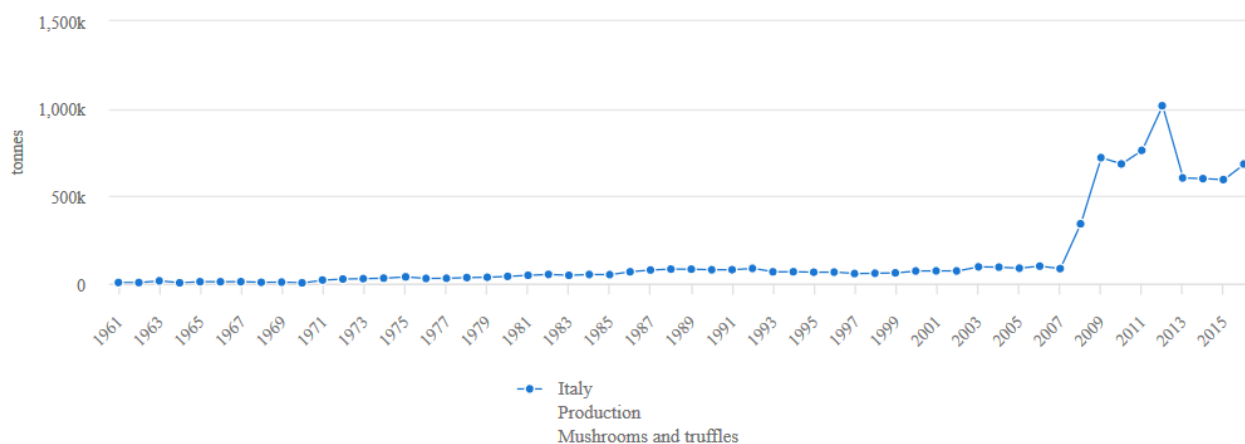


Figura 1.3. Andamento della produzione di funghi e tartufi in Italia, dal 1961 al 2016. (Fonte FAOSTAT, 2018).

Da fonti ISTAT riferite all'anno 2017, la regione Veneto si colloca al primo posto nel panorama produttivo italiano, producendo circa la metà della resa nazionale, mantenendo quel primato produttivo a livello nazionale che ha sempre contraddistinto questa regione fin dagli albori della fungicoltura. I grandi protagonisti di questo scenario sono due gruppi consorziati dislocati nelle province di Verona e Treviso, cui aderiscono la maggior parte delle fungaie presenti sul territorio.

### **1.3.4 Genesi del substrato spento di fungaia**

Un substrato è un materiale organico e/o inorganico che consente l'ancoraggio e lo sviluppo radicale, se si tratta di organismi vegetali, mentre nel caso dei funghi consente la crescita e la nutrizione del micelio fungino (Tripathy et al., 2009).

La natura del materiale utilizzato delinea le caratteristiche, ovvero le proprietà del substrato che si andrà a utilizzare, potendo così scegliere quale sia il composto più idoneo per i diversi fini produttivi.

La fungicoltura vede come prima tipologia di substrato, l'utilizzo del letame equino dopo che ha subito una prima fase di decomposizione (Beyer, 2003). La produzione quindi avveniva vicino alle

stalle, dove si faceva maturare il letame in modo tale da consentire l'innesto del micelio; il tutto avveniva in modo molto rudimentale, con conoscenze molto limitate della fermentazione e con tempistiche abbastanza lunghe. Tuttavia, nella prima metà del '900 vengono introdotte le nozioni più essenziali sulla fermentazione e sull'importanza di controllare i parametri di temperatura e umidità; l'introduzione della pastorizzazione per il controllo della carica microbica e l'impiego del gesso per migliorare la struttura delineano una serie di accorgimenti mirati ad ottenere un compost di qualità.

A causa della riduzione degli allevamenti di cavalli, e quindi alla necessità di poter sopperire alla carenza di materia prima per la produzione del substrato, venne introdotto l'utilizzo di altri residui come i miscugli di paglia e pollina, che si sono dimostrati essere una valida alternativa all'utilizzo del solo letame di cavallo (Castle, 1993).

L'evoluzione finale del sistema produttivo del compost, riguarda l'utilizzo di sistemi più raffinati a livello tecnico che vedono l'utilizzo di strutture specifiche. Storicamente, i substrati venivano prodotti mettendo a maturare il letame in grandi cumuli che venivano aerati settimanalmente, ottenendo il compost in circa due mesi. Negli anni '50 viene introdotto il sistema a stive strette che consentiva, tramite una lavorazione in ambienti di ridotte dimensioni, l'ottenimento del substrato in un solo mese. Negli anni '70 in Italia viene brevettato il sistema "3 phase 1" che consentiva di ottenere un compost di qualità e produttività superiore rispetto ai metodi sviluppati in precedenza.

Il sistema "3 phase 1" prevede l'esecuzione delle tre principali fasi di lavorazioni in un'unica stiva, con la caratteristica adozione di un tunnel aerato, su cui viene posta la massa di letame, e la fermentazione avviene in soli quattro giorni; al termine della fermentazione il substrato viene condizionato meccanicamente, pastorizzato e infine incubato (Beyer, 2003). Dopo la quasi totale adozione di quest'ultimo sistema, a fine anni '80 viene sperimentato il sistema indoor in massa, che consentirà di poter eliminare le vecchie strutture (stive) e impiegare strutture chiuse e ben controllate. Nella fase di fermentazione il substrato viene sottoposto ad aerazione forzata, permettendo la formazione di masse in cui non vi sono parti anaerobiche (Maffi, 2011); dopo la fase di pastorizzazione e d'incubazione, le masse di substrato vengono caricate nei locali di coltivazione tramite l'utilizzo di pale e tramogge. Tutti questi processi hanno consentito, oltre ad ottenere un substrato di qualità, di ridurre la manodopera, i costi e le tempistiche di produzione, oltre che la riduzione dell'impatto ambientale.

I substrati vengono attualmente prodotti con l'ultima soluzione tecnica indoor e la pastorizzazione che, oltre a quanto riportato, può essere eseguita direttamente sui letti di coltivazione.

La diffusione e il successo riscosso dalle aziende fungicoltrici, ha permesso la creazione di aziende specializzate nella produzione dei substrati già incubati, in grado di consentire l'attività produttiva a gran parte delle aziende, che non sono munite dei locali per il compostaggio.

Nell'attività produttiva, il substrato descritto finora non è mai stato impiegato tal quale, ma viene ricoperto con materiali diversi. Inizialmente veniva impiegata la copertura con uno strato di terreno di natura argillosa; negli anni '50 e '60 vennero utilizzati miscugli di argille, sabbia e torba. La fungicoltura moderna vede l'utilizzo di miscele di torbe (bionde e brune) e di carbonato di calcio (Maher et al., 2000; Gülser e Pekşen, 2003; Noble et al., 2003). La terra di copertura ha dimostrato di avere diverse funzioni, tra cui la principale è la stimolazione della fruttificazione del micelio (Berendsen et al., 2012). Nel secondo dopoguerra si scoprì che la stimolazione alla fruttificazione incentivata dal "casing layer", in presenza di determinati range di parametri abiotici, era dovuta alla presenza di *Pseudomonas putida* che si ipotizza sia in grado di rimuovere alcune sostanze con funzione auto inibitoria prodotte dalla parte vegetativa del micelio (Eger, 1961; Long e Jacobs, 1974; Wood, 1976). L'utilizzo di torbe e carbonato di calcio, invece, permette di avere una maggior capacità e durata di ritenzione idrica, mentre il calcare consente di correggere il pH, migliorandone la struttura e rendendola più esplorabile dal micelio (Gülser e Pekşen, 2003).

Con la distribuzione della terra di copertura sul substrato di coltivazione, vengono introdotte le tecniche di zappettatura e CACing (acronimo di "Compost Added at Casing"). Queste due operazioni consentono rispettivamente di creare un substrato zoloso dove si ha uno sviluppo migliore del micelio e di stendere un nuovo strato di compost inoculato sopra al terreno di copertura al fine di aumentare la produttività e ridurre il tempo tra i passaggi di raccolta ("volate") (Beyer, 2003).

Il substrato a fine del ciclo produttivo, è un compost esausto (in inglese SMS - Spent Mushroom Substrate), definito come un materiale compostato organico risultante dalla fine del ciclo di coltivazione dei funghi (Ciftja e Faruk, 2005), che subisce un trattamento di pastorizzazione al fine di eliminare l'insorgenza e lo sviluppo di patogeni o la proliferazione del micelio ancora attivo. Tale matrice è un substrato ricco in sostanza organica, che inizialmente veniva riutilizzato dalle fungaie ad integrazione del terreno di copertura; ormai è da ritenersi un prodotto di scarto delle

aziende fungicidiche, di cui si può dimostrare il possibile impiego nel mondo agronomico (Beyer, 2003).

### **1.3.5 Applicazioni e problematiche**

L'interesse per questa matrice, ancora poco conosciuta e diffusa, scaturisce dalla mole di materiale di scarto che viene prodotta a livello nazionale. In Italia vengono prodotte ogni anno circa 50.000 t di funghi champignon (AIF, 2017) da cui si stimano circa 250.000 tonnellate di tale ammendante (Williams et al., 2001) con una produzione che avviene a ritmo settimanale durante tutto l'arco dell'anno.

Si tratta di un ammendante purtroppo assai poco valorizzato in Italia, pertanto il substrato che rimane alla fine della coltivazione dei funghi anziché una risorsa per la fungaia, l'agricoltura e l'ambiente, risulta un onere per l'azienda che lo deve smaltire.

Male (1981) ha utilizzato SMS in una rotazione orticola in sostituzione della pollina, ottenendo rese uguali o addirittura superiori rispetto alle tesi concimate con deiezioni avicole. Anche su patata (Selvi Ranganathan e Selvaseelan, 1997) sono state riscontrate produzioni più elevate e migliori caratteristiche qualitative impiegando SMS durante la coltivazione. Analogamente Maynard (1994) ha potuto apprezzare le ottime capacità fertilizzanti di SMS in una rotazione orticola, registrando rese comparabili a quelle ottenute impiegando fertilizzante chimico NPK, anche se quantitativi eccessivi possono portare effetti negativi. Le caratteristiche che ne consentono l'utilizzo in pieno campo fanno riferimento al buon contenuto di nutrienti e in particolare al contenuto di N che viene rilasciato in modo graduale (Maher et al., 2000), contribuendo nel contempo a contenere l'inquinamento dovuto alla lisciviazione di tale elemento nelle falde sotterranee quando viene utilizzato in pieno campo.

Sebbene dotati di ottime caratteristiche e potenzialità, le matrici organiche possono presentare caratteristiche indesiderate che possono limitarne l'uso o richiedono accortezze particolari nella loro gestione. In particolare SMS presenta alti livelli di salinità, documentati anche da Maher et al. (2000), che attribuisce questo fattore alla presenza di elevati tenori di K. La presenza inoltre di cloruri, sodio, magnesio e calcio trova riscontro anche in bibliografia (Ciftja and Faruk, 2005). Questo problema è stato riscontrato anche da Wang et al. (1984), in cui è stato notato che quantitativi troppo elevati di SMS possono avere effetti negativi sulle rese produttive di alcune orticole, in special modo quelle sensibili alla salinità, mentre specie più tolleranti sopportano

egregiamente livelli di conducibilità elettrica più elevati dovuti a quantitativi maggiori di SMS. Gli stessi effetti negativi sul lungo periodo in seguito a quantitativi troppo elevati sono stati riscontrati anche da Maynard (1994) in uno studio di lungo periodo su una rotazione orticola.

La presenza di alte concentrazioni di sali scoraggia il suo utilizzo tal quale in ambito vivaistico e richiede la miscelazione con substrati o altri materiali inerti per poter essere utilizzato (Wever et al., 2005; Medina et al., 2009; Zhang et al., 2012).

Maher et al. (2000), inoltre, ha portato alla luce la problematica della grande quantità di acqua di cui è composto SMS, soprattutto quando deve essere trasportato per lunghe distanze, in cui verrebbe meno la convenienza economica ed ambientale dell'utilizzo di questo substrato. Dai risultati emersi, l'autore stima la parte liquida al 65-70% del totale del composto.

SMS può avere anche funzione di agente di controllo per parassiti di alcune piante superiori, come è stato osservato da Yohalem et al. (1996); SMS ha trovato anche impieghi al di fuori del comparto agricolo come soluzione per la purificazione di aria (Shojaosadati and Siamak, 1999), acqua (Chang et al., 2000) e suolo (Fermor et al., 2000).

#### **1.4 I funghi coltivati**

Quello che viene comunemente chiamato "fungo", sotto il profilo scientifico è definito carpoforo composto da un cappello più o meno emisferico, sorretto da un gambo e portante una struttura imeniale composta da lamelle; tuttavia l'adattabilità alle diverse condizioni di crescita, ha fatto sì che i carpofori delle varie specie abbiano assunto un forte dimorfismo.

La forma sferica del cappello nella fase iniziale della crescita permette al carpoforo di farsi strada tra la terra e i detriti del substrato, ma con il progredire dello stadio fenologico il cappello tende a distendersi fino a divenire pianeggiante o ad assumere addirittura un aspetto imbutiforme. È rivestito da una cuticola che può essere spessa, sottile, separabile o meno, lacerata o squamata.

Il cappello è un elemento fondamentale per la protezione dell'imenoforo, portante le lamelle, la cui funzione è quella di costituire il supporto dell'imenio. L'imenio è la vera e propria parte fertile del fungo nella quale trovano sede gli organi che producono e portano a maturazione le spore.

Nelle prime fasi dello sviluppo le lamelle sono di colore bianco-rosato, ma con il procedere della maturazione tendono al bruno. Le spore, di colore bruno, hanno forma ellissoidale. Al contatto con l'aria la carne tende in molti casi ad assumere sfumature giallastre o rossastre; molto spesso emana un intenso e gradevole aroma di anice o di mandorle (Bielli, 2011).

Il gambo assolve alla funzione di sollevare il cappello, e quindi la sottostante superficie imeniale, dal substrato dal quale il carpoforo si è prodotto. Esso risulta molto spesso elastico, capace quindi di piegarsi in modo da disporre l'imenio in maniera parallela al terreno e di consentire alle spore di discendere verticalmente dalle lamelle. Il gambo è provvisto di un anello membranoso, talvolta molto ampio, pendulo e anche parzialmente scorrevole.

Classificati scientificamente da Linneo come Piante, i funghi sono stati poi elevati al rango di regno da Nees nel 1817 e da Whittaker nel 1968. Il loro sistema di nutrizione si differenzia in maniera netta da quello dei vegetali che, essendo organismi autotrofi, assorbono dall'atmosfera sostanze inorganiche (anidride carbonica, acqua, sali minerali ecc.) e vengono poi trasformate in zuccheri grazie alla fotosintesi clorofilliana, il processo che utilizza la luce del sole per trasformare le molecole minerali semplici in grosse molecole nutritive (Cugildi, 2012). sprovvisti di clorofilla e di altro tipo di pigmento fotosintetico, i funghi risultano quindi organismi eterotrofi, dovendo necessariamente dipendere da una fonte di alimento organico già elaborato. Le loro possibilità di sviluppo sono, direttamente o indirettamente, legate alle piante verdi oppure alle spoglie di animali e alle loro sostanze di rifiuto (Bielli, 2011). In base al loro sistema di reperimento delle sostanze nutritive, quindi, vengono classificati come parassiti, saprofiti o simbiotici (Fenaroli, 2004).

I funghi superiori che si trovano comunemente nei boschi possiedono il corpo vero e proprio prevalentemente sotterraneo con il quale penetrano nel substrato di cui si nutrono (funghi saprotrofi come ad esempio gli champignon) o entrano in contatto con le radici delle piante da cui prendono il nutrimento, in un rapporto di reciproco vantaggio (funghi simbiotici come ad esempio i tartufi), oppure si sviluppano nei tessuti di altri organismi viventi parassitando spesso il fusto e le radici degli alberi (funghi parassiti come i chiodini).

La creazione di un regno dedicato nella classificazione sistematica è stata necessaria in quanto i funghi si differenziano non solo dai vegetali, in quanto incapaci di effettuare la fotosintesi, ma anche dagli animali che ingeriscono e successivamente digeriscono. I funghi, per poter utilizzare le sostanze organiche complesse (amido, cellulosa, lignina, proteine, etc.) effettuano una prima digestione a livello extracellulare, grazie al rilascio di enzimi litici, e solo successivamente assorbono le sostanze di cui necessitano attraverso le pareti cellulari (Roca, 2007). Una caratteristica peculiare degli organismi appartenenti al regno dei funghi è possedere le pareti cellulari formate prevalentemente da chitina (Kobold, 2005).

I funghi sono entrati nell'alimentazione umana fin dai tempi più antichi. Tracce di funghi sono state trovate in insediamenti dell'età della pietra ed è noto il loro consumo tra gli antichi greci e Romani, che consideravano i funghi delle vere e proprie leccornie, anche se testimonianze scritte dell'epoca fanno maggior riferimento ai veleni in essi contenuti che non ai piaceri della tavola (Giuliano, 2007).

#### **1.4.1 *Agaricus bisporus***

La classificazione dei funghi vanta numerose famiglie. Una delle principali famiglie è quella delle *Agaricaceae* a cui vi appartengono funghi carnosì, eterogenei, con gambo e cappello distinti e facilmente separabili. All'interno di questa famiglia troviamo il genere *Agaricus*, a cui appartiene la specie *Agaricus bisporus*, oggetto della presente sperimentazione. Il nome della specie *bisporus*, rimanda ad una importante caratteristica osservabile solo microscopicamente: ogni basidio porta con sé solo due spore anziché quattro (Ascarelli e Balestreri, 2014).

Il fungo champignon risulta essere l'unica specie coltivata su larga scala in Italia fino alla fine degli anni sessanta del secolo scorso (Maffi, 2011). Le varietà presenti attualmente sono 4, suddivise a seconda della colorazione del cappello: varietà bianche, brune, intermedie (crema) e ibridi.

Le varietà bianche sono le più diffuse e caratterizzate da carpofori di color bianco, con superficie delicata, di dimensioni tendenzialmente piccole (4-8 g), per assecondare il gusto della maggioranza dei consumatori (Ascarelli e Balestreri, 2014), mentre le varietà intermedie (crema) sono caratterizzate da corpi fruttiferi mediamente grandi (8-12 g) di colore chiaro con presenza di scaglie brune (Ascarelli e Balestreri, 2014). Dal punto di vista nutrizionale le due varietà non differiscono molto, sono caratterizzate da un contenuto calorico particolarmente basso e sono ricche di sostanze minerali, vitamine e proteine (Manzi et al., 2001).

Sia la varietà bianca (*Agaricus bisporus* var. *albidus* (Lange) Singer), sia quella caratterizzata da una superficie pileica tendente al bruno (*Agaricus bisporus* var. *bisporus* (Lange) Imbach) sono oggi coltivati artificialmente in quasi tutto il mondo in grotte o più comunemente in capannoni industriali dove è possibile mantenere costanti i parametri necessari alla crescita e alla fruttificazione (Ascarelli e Balestreri, 2014). È possibile coltivare *Agaricus bisporus* nei paesi caldi o durante l'estate nei paesi temperati essendoci varietà che si adattano rapidamente alle alte temperature producendo corpi fruttiferi, e per questo possono essere utilizzati in programmi di riproduzione (Navarro e Savoie, 2013).



L'intero ciclo di produzione di *Agaricus bisporus* dura circa 4-6 settimane e prevede l'uso di un substrato di crescita complesso (Zincari et al., 2012) formato da pollina e/o letame di cavallo e paglia.

#### **1.4.2 Gli aspetti nutrizionali e la qualità del fungo**

I funghi, pur appartenendo ad un regno a se stante, vengono considerati dal punto di vista nutrizionale come verdure ed ortaggi (Tagliavini, 2000). Infatti, hanno lo stesso valore energetico: apportano poche kcal, ovvero circa 20 kcal per ogni 100 g di parte edule, e questo grazie all'elevato contenuto di acqua e alla quasi totale assenza di grassi. La conoscenza della loro composizione chimica, del valore nutritivo e degli effetti salutistici si è ampliata in modo dinamico nel corso degli ultimi anni (Kalac, 2013). Le proteine nei funghi sono presenti in limitate quantità, (3-4%), ma sono caratterizzate da un elevato valore biologico, pari all'80%.

Oltre alla chitina, nei funghi è contenuto il glicogeno, un polisaccaride disponibile e assorbibile dall'uomo. Inoltre sono presenti zuccheri semplici e solubili (come il glucosio), disaccaridi (il trealosio), polialcol (come il mannitolo) ed altri composti (Giuliano, 2007). I funghi possono anche risultare una buona fonte di minerali, tra cui i più importanti sono rame, potassio e selenio, quest'ultimo piuttosto scarso nella maggior parte dei vegetali. Tuttavia la loro concentrazione dipende dal tipo di substrato in cui crescono (Turrini, 2013).

Di particolare interesse è il contenuto di vitamina D, pressoché assente nei vegetali. I funghi selvatici sono un'ottima fonte di vitamina D, la cui presenza è attribuita all'esposizione alla luce solare che catalizza la conversione dell'ergosterolo fungino in vitamina D<sub>2</sub> tramite una serie di reazioni fotochimiche/termiche. Tale vitamina non si sviluppa nell'ambiente di solito buio nel quale i funghi coltivati crescono. Per questo, negli ultimi anni, i coltivatori di funghi incorporano trattamenti di luce UV durante la coltivazione dei funghi. Simon et al. (2013) hanno dimostrato che la vitamina D nei funghi, prodotta con tecnologie di luce UV, è equivalente alla vitamina D nei funghi esposti alla luce naturale. Sempre nello stesso studio sono state escluse complicazioni circa la sicurezza per il consumo umano e sono quindi adatti per l'introduzione sul mercato.

Uno degli aspetti più importanti della qualità delle varietà bianche di champignon freschi è il loro colore. Funghi che imbruniscono a causa di un lungo periodo di conservazione, o addirittura una conservazione impropria, sono giudicati di scarsa qualità e quindi di basso valore commerciale dal consumatore (Mau et al., 1991).

La qualità di un prodotto alimentare considera anche l'eventuale presenza di elementi tossici quali mercurio, cadmio, piombo, aflatoxine, etc., presenti in moltissimi alimenti, ma nel caso dei funghi queste sostanze si riscontrano ad una concentrazione quasi sempre talmente bassa da non provocare nessun effetto negativo sulla salute umana.

I funghi, in linea generale, sono degli organismi iper accumulatori di sostanze, in particolare metalli pesanti (Vimala e Das, 2009; Svoboda et al., 2002). A tal proposito, il Regolamento CE 466/2001 fissa i residui massimi di vari elementi consentiti nelle derrate alimentari, e per i funghi coltivati vengono fissati i limiti di piombo (0,30 mg/kg di peso fresco) e cadmio (0,20 mg/kg di peso fresco). A tale proposito, nel 2003, l'“Associazione Italiana Fungicoltori” ha sottoposto ad analisi una vasta campionatura di funghi champignon e *Pleurotus*, coltivati su diversi tipi di substrato e differenti terre di copertura. Le analisi hanno evidenziato che il contenuto di tali metalli pesanti nei funghi sgambati, ossia la parte edibile privata della porzione che sta a contatto con la terra di copertura, è ampiamente al di sotto dei limiti stabiliti dai regolamenti della Comunità Europea (Maffi, 2011; Bilandžić et al., 2016). Inoltre, nell'ambito del progetto VeroVeneto, le varietà bianca e crema di *Agaricus bisporus*, sono state analizzate per alcuni parametri qualitativi, inclusa la concentrazione di metalli pesanti, risultando anche in questo caso, entro i limiti stabiliti dalla legge (Figg. 9.1 e 9.2).

### **1.4.3 Post harvest**

Il consumo di frutta e verdura negli ultimi anni, ha subito un'impennata, facendo registrare un aumento dal 12,7% al 18,4% in termini di budget destinato al consumo di prodotto fresco. Questo cambio di tendenza è dovuto per lo più alla ricerca di uno stile di vita più sano e salutistico (Ferrante e Maggiore, 2007). *Agaricus bisporus* contiene circa il 93% di acqua, 3% di carboidrati, 2-3% di proteine, 1-2% di fibre, circa 320 mg di potassio e circa 90 mg di potassio per 100 g di prodotto fresco (Dikeman et al., 2005), inserendosi così tra quei prodotti che il consumatore predilige quando cerca uno stile di vita sano. Tra gli aspetti che il consumatore considera maggiormente al momento dell'acquisto, rientra quello del colore, come indicatore di buona qualità e salubrità del prodotto.

Il fenomeno dell'imbrunimento è il risultato indiretto dell'azione dell'enzima polifenol ossidasi, conosciuto anche come tirosinasi (Yoruk e Marshall, 2003) e si può riscontrare principalmente nei prodotti di origine vegetale, ma si verifica anche nei funghi, nei crostacei e. Tale reazione può

essere di natura enzimatica e non enzimatica, e in ambito alimentare l'imbrunimento enzimatico è quello che desta più interesse, in quanto rappresenta per lo più un evento fortemente indesiderato che dovrebbe essere impedito. Si presenta in frutta e verdura a seguito dell'ammaccamento che avviene durante la manipolazione o il trasporto, o quando questi prodotti, precedentemente tagliati o affettati, sono esposti all'aria o in fase di scongelamento (Vámos-Vigyázó e Haard, 2009). Per alcuni alimenti l'imbrunimento rappresenta una reazione desiderata, come ad esempio nella produzione di tè nero l'ossidazione delle sostanze fenoliche è considerata una caratteristica positiva, per il caffè e i semi di cacao l'imbrunimento risulta essenziale ai fini del colore e della qualità finale del prodotto, e risulta positiva inoltre per le prugne, per l'uva sultanina e fichi (Whitaker e Lee, 1995). L'azione della polifenol ossidasi può inoltre influire positivamente sul gusto e l'aroma di alcune bevande fermentate (Vámos-Vigyázó e Haard, 2009).

Nel fungo l'imbrunimento è il principale evento biochimico che si verifica nel post raccolta e, come riportato in precedenza, per le varietà bianche dello champignon assume molta importanza nel determinarne la commerciabilità e l'accettabilità da parte del consumatore (Singh et al, 2010). Il colore, assieme alla texture e all'apertura del cappello, rientra tra le prime caratteristiche ricercate e desiderate dal consumatore (Burton, 2004). La perdita di qualità, quindi, è dovuta a cambiamenti fisiologici legati al grado di maturazione, alla perdita di luminosità, a variazioni nella consistenza e nel sapore (Zivanovic et al., 2000).

L'azione della polifenol ossidasi comporta spesso anche perdite economiche che raggiungono il 50% nei prodotti ortofrutticoli freschi; a tale enzima è inoltre imputata la formazione di odori sgradevoli e decadimenti nutrizionali (Whitaker e Lee, 1995).

Tutto questo induce il consumatore a scartare il prodotto al momento dell'acquisto o comporta un declassamento nella qualità dell'alimento; per tali ragioni prevenire l'ossidazione degli alimenti durante la produzione e lo stoccaggio è divenuto progressivamente una priorità nel settore alimentare (Ioannou e Ghoul, 2013).

Studi per migliorare la qualità e aumentarne la durata di conservazione sono in linea con le esigenze dei consumatori (Mau et al., 1991), in quanto funghi freschi *Agaricus b.* hanno una durata di 2-3 giorni se conservati a temperatura ambiente, 8 giorni in atmosfera modificata se posti a 3°C e un massimo di 14 giorni se posti a 2°C in atmosfera controllata (Zivanovic et al., 2000).

#### **1.4.3.1. La polifenolossidasi**

Polifenolo ossidasi (PPO) è un termine generico che definisce un gruppo di enzimi contenenti rame, che catalizzano l'ossidazione di composti fenolici in chinoni, producendo pigmenti scuri nei tessuti danneggiati come meccanismo di difesa contro i patogeni delle piante e gli insetti.

Tale enzima catalizza, in presenza di ossigeno molecolare, la reazione di ossidazione dei substrati fenolici in chinoni, sostanze leggermente colorate ed altamente instabili che possono polimerizzare dando origine alle melanine, responsabili dell'imbrunimento superficiale degli alimenti (Jolivet et al., 1998). I chinoni formati, inoltre, possono legare le proteine, riducendone la digeribilità ed il valore nutritivo (Queiroz et al., 2008).

La PPO appartiene al gruppo delle ossido riduttasi e comprende essenzialmente due tipi di enzimi che sono stati registrati nella Nomenclatura degli Enzimi sotto lo stesso numero 1.14.18.1, ma che sono diversi tra loro: l'o-difenolo ossidasi (detta anche tirosinasi o polifenolo ossidasi) e p-difenolo ossidasi o laccasi. Quest'ultima differisce dalla tirosinasi in quanto non idrolizza monofenoli, richiedendo specificità di substrato e dimostrando sensibilità verso alcuni inibitori.

In *Agaricus bisporus* la tirosinasi gioca il ruolo più importante, mentre l'importanza della laccasi è molto limitata a causa della sua trascurabile presenza (Jolivet et al., 1998): oltre che sui funghi, la sua presenza è stata riscontrata in alcune varietà ortofrutticole, ma la si incontra meno frequentemente rispetto alla tirosinasi (Vámos-Vigyázó e Haard, 2009).

Nei vegetali l'avvio della reazione si manifesta generalmente con la progressiva senescenza dell'alimento o a seguito di un danneggiamento dei tessuti vegetali dovuto a urti e stress meccanici, come la manipolazione durante il processo produttivo. A causa di ciò si verifica la rottura dei plastidi al cui interno è presente l'enzima che entra in contatto con i composti fenolici, rilasciati anch'essi nel citoplasma a seguito della rottura del vacuolo, il principale organello di stoccaggio (Queiroz et al., 2008). Nel fungo invece la PPO si trova sulla porzione delle ife presente sulla superficie del cappello (Gormley, 1975).

In alcune piante la PPO rilasciata risulta attiva immediatamente, in altre rimane latente dopo il suo rilascio dai plastidi, e richiede quindi un'attivazione. Nell'*Agaricus bisporus* coltivato la PPO è presente sia in forma attiva sia in forma latente ed entrambe aumentano la loro attività durante il periodo di stoccaggio post raccolta (McCord e Kilara, 1983).

L'enzima catalizza l'ossidazione dei composti fenolici in due fasi distinte, una prima fase caratterizzata da un processo relativamente lento che dà come prodotti di reazione sostanze prive

di colore (Ioannou e Ghoul, 2013), mentre la seconda fase avviene molto velocemente e dà prodotti di reazione colorati.

I chinoni formati sono composti molto reattivi ed instabili: essi possono interagire con le proteine presenti all'interno dell'alimento, causandone cambiamenti delle caratteristiche sia a livello strutturale, sia funzionale che nutrizionale (Yoruk e Marshall, 2003), ma possono anche auto ossidarsi formando così le melanine scure (Steffens et al., 1994). In *Agaricus bisporus* le melanine sono molecole eterogenee che presentano un ampio range di colorazioni che va dal giallo al nero includendo il rosso ed il viola (Soler-Rivas et al., 1999).

#### **1.4.3.2. La gestione dell'imbrunimento enzimatico**

L'attività della PPO può essere inibita eliminando uno dei due substrati necessari per la reazione ( $O_2$  e il composto fenolico) oppure intervenendo nei prodotti della reazione enzimatica al fine di inibire la formazione delle melanine nel passaggio successivo (Vámos-Vigyázó e Haard, 2009). I metodi che possono essere utilizzati sono diversi e si suddividono in metodi fisici e chimici.

I metodi fisici svolgono diverse azioni tra cui i principali sono la modificazione della temperatura del prodotto o la diminuzione della disponibilità di ossigeno. La temperatura è un parametro che può influenzare significativamente l'attività catalitica della PPO. Alte temperature causano la rottura e la denaturazione della struttura dell'enzima, mentre basse temperature portano al rallentamento della cinetica di reazione; variazioni di temperatura possono inoltre alterare la solubilità dell'ossigeno, co-substrato richiesto dalla PPO per esplicare la sua attività catalitica.

Nella maggior parte dei casi un'esposizione, anche breve, ad una temperatura compresa tra 70–90°C risulta essere sufficiente per una parziale o totale inattivazione dell'attività catalitica (Vámos-Vigyázó e Haard, 2009), ma il tempo richiesto per l'inattivazione dipende dal prodotto.

La temperatura ottimale di funzionalità della PPO varia invece a seconda della sua origine: Wu et al. (2013) nel valutare l'effetto della temperatura sulla PPO estratta da *Agaricus bisporus*, hanno rilevato che la temperatura ottimale si attesta a 20°C e che l'enzima continua ad avere una buona attività tra 15-30°C (più del 90% di quella a 20°C); quest'ultima però diminuisce vertiginosamente (7,7%) quando raggiunge i 60°C.

Il blanching è un trattamento con il calore che viene usato per inattivare gli enzimi nei vegetali; può essere effettuato in acqua bollente, con il vapore e negli ultimi anni anche usando il microonde. Esso causa la denaturazione e la successiva inattivazione degli enzimi, limitando così

l'ossidazione (Queiroz et al., 2008). Questa tecnica mostra tuttavia alcuni svantaggi, in quanto altera in parte la consistenza dei prodotti trattati, dando a volte un aroma di cotto, e soprattutto genera la perdita dei nutrienti termosensibili e una perdita di peso del prodotto; nell'identificare la combinazione tempo-temperatura di processo ottimale è quindi necessario scegliere quella che minimizza le perdite di valori nutrizionali e della texture.

La refrigerazione inibisce parzialmente la polifenolo ossidasi ma non riesce ad inattivarla completamente; tuttavia ha un effetto positivo sul grado di bianchezza dei funghi. In uno studio condotto da Gormley (1975), sono stati condotti dei test per valutare gli effetti che la conservazione a temperatura refrigerata (1°C) avevano sull'aspetto dei funghi. È stato notato che sia il tempo impiegato per porre in cella i funghi dopo la raccolta sia il tempo per rimuoverli avevano avuto un effetto sulla loro luminosità. In generale, lo studio ha dimostrato che maggiore è il tempo in cui i funghi vengono esposti a basse temperature, più bianchi si mantengono i funghi.

Il coating è una tecnica che viene usata per ritardare la maturazione dei prodotti vegetali e per prolungarne così la shelf-life; consiste nell'applicare sulla superficie dell'alimento un film semi permeabile costituito da materiali edibili (Singh et al., 2010). Se applicato su fungo ritardano l'imbrunimento enzimatico, diminuiscono la perdita di umidità e di aromi, e in generale, il miglioramento dell'aspetto del prodotto (Ioannou e Ghou, 2013).

Il confezionamento effettuato usando l'atmosfera modificata porta ad un cambiamento nel contenuto di O<sub>2</sub> nell'atmosfera a stretto contatto con l'alimento; ciò permette di ritardare le reazioni di imbrunimento senza però andare ad alterarne la qualità (Ioannou e Ghou, 2013). Questa tecnica sembra molto pratica, facile da attuare e di basso costo, tuttavia non è sempre un approccio possibile per tutte le specie di funghi; gli effetti sono specie-dipendenti e ciò è dovuto alla permeabilità del film e alle condizioni di conservazione (Oz et al., 2015).

L'irraggiamento o irradiazione degli alimenti è una tecnologia di conservazione e stabilizzazione basata sull'esposizione di derrate alimentari a dosi controllate di radiazioni ionizzanti ad alta energia (raggi gamma, raggi X o fasci di elettroni), usate per estendere la shelf-life dei prodotti ortofruitticoli: le radiazioni infatti inattivano i microrganismi, disinfettano e ritardano il processo di maturazione e senescenza (Queiroz et al., 2008).

La generazione di un campo elettrico pulsato (PEF) è un'altra tecnica che viene utilizzata per l'inattivazione delle cellule microbiologiche. Questa tecnica viene usata principalmente per evitare la degradazione microbiologica più che per prevenire l'imbrunimento enzimatico; tuttavia sono

stati condotti degli studi sull'effetto della PEF sulla polifenolo ossidasi che hanno dimostrato come l'inattivazione enzimatica dipenda dalla forza del campo elettrico e dal tempo di trattamento (Queiroz et al., 2008).

Tra i metodi chimici si possono citare alcuni inibitori che possono essere utilizzati per diminuire o prevenire l'imbrunimento degli alimenti, ma il loro uso alimentare tuttavia è soggetto a restrizioni riguardo alla loro tossicità. Tali prodotti devono quindi essere salubri e non incidere su gusto, aroma e texture dell'alimento. I risultati migliori solitamente vengono raggiunti mescolando più sostanze assieme (Vámos-Vigyázó e Haard, 2009).

A seconda del loro modo di agire gli inibitori si possono dividere in diverse categorie, tra cui gli agenti acidulanti, sfruttando la sensibilità della PPO alle variazioni di pH: generalmente la sua attività catalitica risulta maggiormente attiva in un range di pH compreso tra 4.0 e 8.0 e l'attività enzimatica comincia a cadere drasticamente quando l'ambiente si fa maggiormente acido (Yoruk e Marshall, 2003). Gli agenti acidulanti maggiormente utilizzati sono l'acido citrico (E330), l'acido ascorbico (E300), l'acido malico e l'acido fosforico, e spesso vengono combinati per ottenere un effetto sinergico maggiore sulla PPO.

Tra quelli citati, l'acido citrico svolge duplice azione sulla PPO: agisce sia abbassando il pH sia effettuando un'azione chelante nei confronti dello ione  $\text{Cu}^{2+}$  (Segel, 1976).

Svolge inoltre un'azione di controllo sulla perdita di peso e aiuta a ridurre il tasso di respirazione del prodotto (Gupta e Bhat, 2016).

Gli agenti riducenti sono ampiamente utilizzati nell'industria alimentare. Essi svolgono un'importante azione contro l'imbrunimento: agiscono sugli o-chinoni appena formati, li riducono a o-difenoli incolori e prevengono così la formazione delle melanine.

Se tuttavia vengono utilizzati ad alte concentrazioni, la reazione di inattivazione della PPO può verificarsi prima dell'esaurimento della sostanza (Vámos-Vigyázó e Haard, 2009).

Tra gli agenti riducenti, i più largamente utilizzati sono gli agenti solfitanti, tra cui sono presenti l'anidride solforosa ( $\text{SO}_2$ ) ed i suoi derivati (Eskin et al., 1971). L'aggiunta di  $\text{SO}_2$  agli alimenti ha tuttavia sollevato dei dubbi, a causa degli effetti negativi riscontrati dalle persone sensibili a questo composto. Per tale motivo l'OMS ne ha regolamentato l'utilizzo, limitandone l'uso nei trattamenti degli alimenti: la dose quotidiana accettabile è stata fissata a 0.7 mg/kg di peso corporeo (Queiroz et al., 2008). Inoltre, la  $\text{SO}_2$  ed i solfiti presenti negli alimenti in concentrazione superiore a  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , devono essere dichiarati in etichetta come previsto dalla Direttiva allergeni del Reg. 1169/2011.

L'acido ascorbico è un composto riducente presente in natura come acido, forma dei sali neutri con le basi ed è altamente solubile in acqua; questa vitamina va a ridurre i composti prima che vengano coinvolti nella seconda reazione di polimerizzazione e quindi nella biosintesi delle melanine (Queiroz et al., 2008) ed ha inoltre un effetto chelante sull'enzima.

Fra i derivati dell'acido ascorbico, importanza è data all'ascorbato di calcio che è il principale costituente di alcuni prodotti commerciali, adesso divenuti di uso comune nell'industria della frutta IV gamma (Giacalone, 2015).

Gli agenti chelanti formano un complesso con gli ioni rame (McEvily et al., 1992) al fine di bloccare l'attività catalitica e inattivare in questo modo l'enzima. I principali agenti chelanti utilizzati nell'industria alimentare sono l'acido sorbico, acidi policarbossilici, l'acido kojico, polifosfati (ATP e pirofosfati), macromolecole (proteine) ed EDTA (E385). L'EDTA è un acronimo che definisce l'acido etilendiaminotetraacetico, detto anche sequestrene; assieme al calcio di sodio EDTA hanno ricevuto l'approvazione dalla "Food and Drug Administration" per essere utilizzati come additivi negli alimenti. L'EDTA forma con il rame dei complessi altamente stabili; la massima efficienza chelante si verifica al più alto valore di pH, dove i gruppi carbossilici sono presenti in uno stato dissociato (Dziezak, 1986).

Gli agenti complessanti sono in grado di intrappolare o di formare complessi con i substrati della polifenolo ossidasi o con i prodotti della reazione enzimatica.

Tra questi agenti ci sono le ciclodestrine, un gruppo di oligosaccaridi ciclici derivanti dall'amido.

Gli inibitori enzimatici interferiscono con l'azione di un enzima e ne rallentano la velocità di reazione. Zhou et al. (2015) hanno dimostrato che l'utilizzo di acido salicilico causa un'inibizione competitiva della PPO; ciò permette di ritardare l'imbrunimento sia esterno sia interno dell'alimento. Pertanto, l'acido salicilico dimostra di esercitare una buona azione nel ritardare la senescenza dell'alimento, nell'aumentarne la qualità e nel controllarne le perdite durante il post raccolta.

Dokhanieh e Aghdam (2016), in uno studio recente, hanno utilizzato acido salicilico con l'intento di diminuire l'imbrunimento dei funghi durante la conservazione a temperatura refrigerata +4° C. I risultati ottenuti hanno dimostrato una diminuzione dell'attività della PPO ed un aumento dell'attività antiossidante; oltre a queste azioni è stato inoltre osservato un aumento nell'accumulo di fenoli totali.



#### **1.4.3.3. Problematiche riscontrate**

La gestione dell'imbrunimento di *Agaricus b.* è stata ampiamente affrontata in bibliografia, suggerendo soluzioni chimiche o tecnologiche, anche se non sono esenti da problematiche. La soluzione che finora ha offerto il miglior risultato è stato l'utilizzo della refrigerazione, considerati anche i costi di investimento necessari per le aziende.

Spesso ciò che risulta vantaggioso per frutta e verdura, non si riflette altrettanto efficacemente per i funghi. L'utilizzo della MAP (modified atmosphere packaging) o CA (controlled atmosphere) offre un buon grado di diminuzione del tasso respiratorio del prodotto, ma di contro tende a far aumentare l'umidità presente all'interno delle confezioni. I funghi, caratterizzati da un tasso respiratorio molto elevato, risultano negativamente condizionati dall'umidità che può formarsi all'interno delle confezioni creando un ambiente adatto alla proliferazione batterica, con tutte le ripercussioni che ne conseguono (Burton e Twynning, 1989). Inoltre, cambiare l'equilibrio tra O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> può innescare processi anaerobici andando a causare disordini metabolici al prodotto (Briones et al., 1993).

La tecnica del coating sembra avere effetti positivi sul mantenimento della shelf life di *Agaricus b.* (Nussinovitch e Kampf, 1993), anche se i risultati più incoraggianti sono stati ottenuti trattando funghi interi, mentre per quanto riguarda il prodotto affettato non sono state rilevate marcate differenze rispetto al prodotto non trattato. Va in ogni caso segnalato che, anche in questo caso, il contributo di temperature inferiori a quelle che si possono trovare in un punto vendita, aumentano l'efficacia del trattamento.

La validità di trattamenti di lavaggio per rimuovere impurità dal prodotto è stata confermata da diversi autori, utilizzando prodotti chimici food grade su fungo intero. Le migliori performance in termini di mantenimento del colore e di abbattimento della carica batterica sono state ottenute mescolando diversi composti o lavando il fungo in più passaggi con diverse soluzioni di lavaggio (McConnell, 1991). L'adozione di questa tecnica, però, comporta che il fungo entri in contatto con soluzioni acquose, aumentando la possibilità che il fungo assorba tale soluzione incrementando così il suo contenuto d'acqua. Inoltre, questo tipo di soluzione può aumentare la shelf life del fungo quando viene applicato su fungo intero, ma non è attuabile su fungo tagliato per le ragioni sopra sposte. Inoltre, è stato appurato che l'esposizione a temperature ottimali di conservazione offre buoni risultati, per diminuire drasticamente quando la temperatura di stoccaggio aumenta (Sapers et al., 2001).

Gran parte della ricerca si è focalizzata su metodi che potessero eliminare o quanto meno rallentare la tirosinasi, enzima responsabile dell'imbrunimento enzimatico di *Agaricus b.* Un forte limite di questo filone della ricerca riguarda l'applicazione pratica, in quanto il controllo chimico è stato effettuato su L-tirosina, substrato utilizzato nella sperimentazione chimica. Inoltre, gli inibitori utilizzati spesso richiedono tempi di esposizione molto lunghi (Nerya et al. 2006), strategia difficilmente applicabile in una normale linea di lavorazione per i funghi. A titolo di esempio, altre soluzioni sono state trovate applicando Methyl trans-Cinnamate, inibitore food grade utilizzato anche nell'industria cosmetica. Il suo potere inibitorio nei confronti della tirosinasi offre ottimi risultati (Huang et al., 2009), avendo di contro alcuni limiti applicativi: da una parte per la fragranza dolciastra che lo caratterizza e dall'altra la solubilità limitata in sostanze oleose o in DMSO, composto chimico utilizzato principalmente come solvente industriale o in ambito farmaceutico.

Le problematiche esposte non rappresentano la totalità di quelle riscontrate in bibliografia, ma offrono una panoramica di base della ricerca sull'aumento della shelf life di *Agaricus b.*; si può quindi affermare in estrema sintesi che gran parte della ricerca si è focalizzata sullo studio del fungo intero e in maniera molto sporadica sul prodotto affettato. Inoltre le soluzioni proposte in bibliografia spesso pongono dei limiti in fase di applicazione pratica, sia dal punto di vista gestionale che economico, creando così la necessità di dover ampliare il campo di studi a soluzioni economiche e funzionali applicate su *A. bisporus* affettato.

Scopo di questa sperimentazione, quindi, può essere ricondotto a due principali filoni, il primo dei quali prevede la caratterizzazione e la successiva gestione di SMS in pieno campo, con la finalità di riciclare un materiale di scarto creando al contempo un'economia circolare territoriale. Attualmente la normativa presenta una falla per la gestione di tale materiale, che lo assimila ad uno scarto vero e proprio, senza che possa venire valorizzato. La sua caratterizzazione si rende necessaria per conoscere il prodotto, che presenta caratteristiche simili ad altri substrati utilizzati in altri Paesi, ma essendo prodotto localmente risulta doveroso confermare le buone potenzialità fertilizzanti della matrice ed escludere eventuali caratteristiche che possono generare problematiche nel suo utilizzo.

Il secondo filone prevede una prima caratterizzazione di *A. bisporus* nelle varie referenze in cui viene commercializzato e successivamente l'applicazione di prodotti food grade, il cui scopo è mantenere buone caratteristiche qualitative durante la shelf life del prodotto.

**2. CARATTERIZZAZIONE DEL SUBSTRATO SPENTO DI FUNGAIA (SMS)**

## **2.1. Caratterizzazione chimica del substrato spento di fungaia (SMS): materiali e metodi**

L'inizio di questa sperimentazione ha previsto la caratterizzazione di SMS, volta a quantificare il contenuto di nutrienti e la presenza di possibili composti potenzialmente nocivi per piante coltivate. Sono stati rilevate 3 diverse tipologie di substrati utilizzati dalle fungaie per coltivazione di *A. bisporus*; inoltre, in prima battuta, è stato analizzato anche il substrato utilizzato per la coltivazione di *Pleurotus ostreatus* per verificarne la capacità fertilizzante.

A tale scopo sono state selezionate 11 aziende dislocate nel territorio Veneto, di cui 9 facenti parte della O.P. Consorzio Funghi di Treviso, una a capo del Consorzio Funghi Valbrenta e una a capo del Consorzio Fungamico.

I tipi di substrato sottoposti alle analisi sono riconducibili quindi a 4 tipologie:

- PP, formato da paglia e pollina (coltivazione *A. bisporus*);
- PL, formato da pollina e letame equino (coltivazione *A. bisporus*);
- PPL, formato da paglia, pollina e letame equino (coltivazione *A. bisporus*);
- P, formato da sola paglia (coltivazione *P. ostreatus*).

Sono stati effettuati due campionamenti (autunno 2013 e primavera 2015) e considerati tre diversi momenti durante il ciclo di coltivazione nell'autunno del 2013 per effettuare i prelievi dei campioni su cui effettuare le analisi caratterizzanti gli aspetti fisico- chimici della matrice:

- in "entrata", cioè prima che questo venga effettivamente utilizzato per la coltivazione;
- "fine 2<sup>a</sup> volata", al termine del secondo ciclo di coltivazione
- "fine 3<sup>a</sup> volata", con cui si conclude il ciclo di coltivazione, il substrato si può considerare "spento" e quindi destinato allo smaltimento.

In seguito al primo ciclo di analisi effettuate, è stato optato per l'esclusione del substrato usato per la coltivazione di *P. ostreatus*, essendo formato da sola paglia e quindi dotato di proprietà fertilizzanti decisamente più contenute rispetto a quelle che può esplicitare un substrato formato prevalentemente da deiezioni animali. I substrati sono stati quindi analizzati valutando i principali parametri chimico- fisici. Nello specifico, il contenuto di sostanza secca è stata analizzato secondo la metodica ufficiale EN 13040; successivamente il contenuto di sostanza organica è stato ottenuto secondo la metodica ufficiale EN 13039. Per quanto riguarda il contenuto di azoto e la

determinazione del pH sono stati impiegati rispettivamente il metodo Kjeldahl e la metodica ufficiale EN 13037. La determinazione della conducibilità elettrica è stata, invece, eseguita seguendo la metodica ufficiale EN 13038.

La concentrazione di anioni e cationi, ha previsto la preparazione del campione secondo la metodica ufficiale EN 13652 procedendo all'analisi tramite cromatografia ionica (IC). In questa operazione sono stati pesati 200 mg di campione disidratato a 65°C ai quali sono stati aggiunti 50 mL di acqua demineralizzata. E' stata eseguita un'agitazione su piastra rotante per 20 minuti a 150 rpm e successivamente, con aiuto di imbuto e carta da filtro (589 Schleicher diametro 125 mm), è stato filtrato il campione. Il filtrato ottenuto è stato nuovamente filtrato con filtri per siringa in acetato di cellulosa da 20 µm ed iniettato nel cromatografo. Per l'analisi degli anioni è stata utilizzata una colonna Ion Pac AS23 con dimensioni 4x250 mm mentre per l'analisi dei cationi è stata utilizzata una colonna Ion Pac CS12A con dimensioni 4x250mm, entrambe a temperatura ambiente. La corsa cromatografica è stata eseguita ad una velocità di flusso pari a 1 mL min<sup>-1</sup>. L'eluente utilizzato è costituito da sodio carbonato 4.5 mM, sodio bicarbonato 0.8 mM per l'analisi degli anioni e da acido metensolfonico 20 mM per l'analisi dei cationi. La velocità di flusso utilizzata è 1 mL min<sup>-1</sup>. L'identificazione degli composti nella miscela in esame è avvenuta mediante il confronto dei tempi di ritenzione con i composti standard. Per l'analisi degli anioni è stata utilizzata una miscela costituita da fluoruri, cloruri, nitriti, bromuri, nitrati, fosfati, e solfati, mentre per l'analisi dei cationi è stata utilizzata una miscela costituita da litio, sodio, ammonio, potassio, magnesio e calcio. L'analisi quantitativa è stata eseguita mediante curva di calibrazione creata in seguito a diluizioni seriali delle soluzioni madre. Oltre alle analisi sopra esposte, è stata individuata la quantità di alcuni metalli pesanti, ponendo un'aliquota di substrato in una miscela di acido cloridrico e acqua demineralizzata, e poi analizzato tramite spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente (ICP).

Successivamente alla caratterizzazione dei substrati, sono state selezionate tre aziende utilizzatrici di altrettanti diversi substrati. Sono state ripetute le analisi sui substrati scelti da destinare alle prove in pieno campo, in modo da avere dati certi sui quantitativi da distribuire nelle varie tesi di concimazione.

### **Analisi statistica**

L'elaborazione statistica dei dati ottenuti è stata effettuata con ANOVA e la separazione delle medie è stata realizzata mediante il Test HSD di Tukey (p<0,05).

## **2.2. Risultati del primo ciclo di caratterizzazione (autunno 2013)**

Dalle analisi eseguite sui campioni di substrato, è emerso che non ci sono delle significative variazioni dei principali parametri considerati tra i diversi substrati presi in considerazione, fatta eccezione per il contenuto di alcuni metalli pesanti, in cui sono state riscontrate tendenze differenti.

Nello specifico si è potuto apprezzare un incremento della percentuale di sostanza secca (tabella 9.1) del substrato in uscita (fine 3° volata), rispetto a quello in entrata. La diminuzione del contenuto di acqua nel substrato in uscita è dovuto alle frequenti bagnature che il substrato subisce prima e durante il ciclo di coltivazione dei funghi, ma che diminuiscono avvicinandosi al momento della raccolta finale del prodotto. Nei confronti della percentuale di sostanza organica (tabella 9.1), i valori hanno subito un decremento in tutti i substrati utilizzati, anche se meno accentuato per quanto riguarda il substrato PPL, il quale si mantiene comunque su livelli più elevati. Il substrato PP è stato analizzato solo come substrato in entrata, presentando valori di sostanza secca pari a 29,7% e un tenore di sostanza organica molto elevato (83,48%), in quanto formato da sola paglia.

Per quanto riguarda il pH (tabella 9.1) si può notare una leggera acidificazione nei substrati in uscita, ma tale da non destare preoccupazione per il suo successivo utilizzo in pieno campo. Il valore medio riscontrato è comunque pari a 6. Il pH rilevato nel substrato PP è pari a 8,1, significativamente più elevato rispetto agli altri substrati considerati, ma non direttamente confrontabile con i substrati utilizzati per la coltivazione di *A. bisporus*, in quanto le matrici utilizzate per la composizione del substrato di coltivazione sono diverse.

I minori valori di conducibilità elettrica (tabella 9.1) sono stati riscontrati nel substrato PPL (6,01 mS cm<sup>-1</sup>). Tendenzialmente tale parametro aumenta tra il 2 e il 5% tra il substrato in entrata e quello in uscita per tutti i tipi di matrice considerati. Questo cambiamento può essere alla perdita di acqua che subisce il substrato una volta terminato il ciclo di coltivazione, fattore che può causare una concentrazione dei sali presenti.

La percentuale di azoto totale (tabella 9.1) si attesta su valori medi del 2%; nel substrato PP si può notare una lieve riduzione, ma decisamente trascurabile trattandosi di un decremento pari a 0,1%. Il substrato ornato da sola paglia ha presentato bassi livelli di azoto, inferiori all' 1%.

Il rapporto C/N (tabella 9.1) presenta discreti valori, attestandosi su 15 per i substrati PL e PP. Il substrato PPL presenta valori leggermente più elevati (18), dovuto probabilmente alla presenza di

tutte le matrici organiche (paglia, pollina e letame equino) all'interno del substrato. Il substrato PP, di contro, presenta alti valori di rapporto C/N (52), rendendolo una matrice poco interessante dal punto di vista agronomico.

Gli anioni e cationi (tabella 9.2) presi in considerazione sono cloruri, nitrati, fosfati, solfati, sodio, ammonio, potassio, magnesio e calcio. Per quanto riguarda cloruri, sodio e potassio i valori risultano costanti tra il substrato in entrata e il substrato esausto. Presentano valori più elevati nel substrato analizzato alla fine della seconda volata, per poi diminuire nuovamente alla fine della terza volata, stabilizzandosi su valori leggermente superiori rispetto al substrato in entrata, andando in parte a confermare il valore riscontrato nella misurazione della conducibilità elettrica. Solfati, nitrati, magnesio e calcio presentano un aumento dei valori nel substrato in uscita rispetto a quello all'inizio del ciclo di coltivazione. L'aumento dei solfati interessa maggiormente i substrati PP e PL che presentano una concentrazione iniziale pari a 25121 e 23810 mg kg<sup>-1</sup> ss rispettivamente, e una concentrazione finale pari a 34167 e 32793 mg kg<sup>-1</sup> ss rispettivamente. L'aumento per il substrato PPL è stato più contenuto. I nitrati aumentano sensibilmente da inizio a fine coltivazione: i valori iniziali di nitrati sono pari a 44, 27 e 43 mg kg<sup>-1</sup> ss per PP, PL e PPL, mentre i valori a fine ciclo sono pari a 443, 846 e 680 mg kg<sup>-1</sup> ss rispettivamente. Il magnesio aumenta di circa il 50% per i substrati PP e PL, mentre per il substrato PPL l'aumento è del 92%. Riguardo il calcio, il substrato PL aumenta del 45% dall'inizio alla fine del ciclo di coltivazione.

I fosfati, di contro, subiscono un importante decremento del loro contenuto, tra il substrato in entrata e quello alla fine del ciclo di coltivazione in tutte le matrici considerate. I substrati PP e PL subiscono una diminuzione di circa il 60%, mentre la contrazione registrata da substrato PPL è più modesta, attestandosi su 37%.

Per quanto riguarda l'ammonio, in tutti i substrati considerati il valore in uscita è simile; il valore del substrato in entrata parte da valori inferiori per i substrati PP e PPL (451 e 256 mg kg<sup>-1</sup> ss rispettivamente), che aumentano considerevolmente alla fine della 2<sup>a</sup> volata (1246 e 1104 mg kg<sup>-1</sup> ss rispettivamente).

Il substrato PP ha presentato valori molto inferiori rispetto agli altri substrati considerati: essendo formato da sola paglia, il contenuto di elementi risulta inferiore a quello normalmente presente in matrici utilizzate per la concimazione e di fatto la sua capacità fertilizzante risulta molto scarsa.

I metalli pesanti (tabella 9.3) considerati sono stati cadmio, cromo, rame, nichel, piombo, zinco; sono stati inoltre considerati anche potassio e fosforo, al fine di quantificarli come elementi a totale disponibilità. I valori ottenuti nel substrato "fine 3<sup>a</sup> volata" sono stati confrontati con i

tenori massimi consentiti per gli ammendanti come da D. Lgs. n. 75 del 29 aprile 2010, risultando ampiamente inferiori ai limiti imposti dalla legge.

Nello specifico il cadmio resta costante in tutti i substrati considerati; anche il cromo diminuisce, fatta eccezione per il substrato PP per il quale si segnala un aumento del 79%. Si segnala, ad ogni modo, che l'analisi fa riferimento al cromo totale, mentre i limiti imposti dalla normativa fanno riferimento al cromo esavalente.

Rame, nichel e zinco tendono a rimanere piuttosto costanti, seppur con qualche oscillazione. In particolare, per quanto riguarda il rame, il substrato PP e il substrato PPL hanno subito una lieve diminuzione, passando da 22,89 a 21,77 mg kg<sup>-1</sup> ss per PP e da 16,01 a 14,47 mg kg<sup>-1</sup> ss per PPL tra il substrato in entrata e quello in uscita. Il substrato PL, di contro, ha presentato un lieve incremento (+6,9%). Anche nei confronti del nichel si è potuto assistere ad un lieve aumento dei valori per PP e PPL (+ 12% e + 1% rispettivamente) e una trascurabile diminuzione per il substrato PL. Lo zinco ha subito un incremento di valori per tutte le tipologie di SMS considerate (2,9 % per PP, 4,8% per PL e 4,1% per PPL).

Per i livelli di piombo si nota un aumento più evidente nel substrato PP (+ 98,4%) e molto più contenuto nel substrato PL (+12,3%), mentre il substrato PPL segnala una diminuzione, seppur trascurabile (-6%).

I livelli di Fosforo presentano valori in lieve diminuzione nel substrato PL dalla fine della seconda volata all'uscita del substrato, registrando una diminuzione dello 0,9%. I substrati PP e PPL, di contro, hanno subito un aumento, pari a 6,9 e 25,2 % rispettivamente.

Il potassio diminuisce leggermente per tutti i substrati considerati, registrando variazioni pari a - 4,1% per il substrato PP, - 11,5% per il substrato PL e -12,8% Per il substrato PPL.

### **2.3. Risultati del secondo ciclo di caratterizzazione (autunno 2015)**

Nella primavera del 2015 è stato effettuato un secondo ciclo di caratterizzazione dei substrati utilizzati dalle fungaie per la coltivazione dello champignon. Oltre a verificare la costanza dei parametri, si è verificata anche l'epoca di prelievo. Il capitolo successivo è quindi dedicato al confronto dei substrati nelle due diverse annate e stagioni.

I valori di sostanza secca (tabella 9.4) rilevati presentano valori differenti, soprattutto per PPL (49,96%), ma tale differenza è giustificata dal fatto che questo parametro è il meno stabile tra tutti quelli considerati, in quanto è dipendente dalla gestione della singola fungaia (tempi e



modalità di bagnatura del substrato). Inoltre, tale parametro è legato anche al tempo intercorso tra lo scarico della camera di coltivazione e il momento dell'analisi. I substrati PL e PP hanno fornito rispettivamente valori pari a 33,47 e 34,27%.

I tipi di SMS risultano ben dotati di sostanza organica (tabella 8.4), registrando valori percentuali più elevati per il substrato PPL (63,87%) e via via più contenuti per i substrati PP (59,59%) e PL (55,30%). Tale matrice, a fronte delle percentuali registrate, risulta ben fornita di sostanza organica.

I valori di pH non presentano differenze tra i diversi tipi di substrato considerati, attestandosi su 6,3 (tabella 9.4). La conducibilità elettrica mostra valori differenti (tabella 9.4): il maggiore (6,53 mS cm<sup>-1</sup>) è stato riscontrato nel substrato PPL. Gli altri substrati hanno presentato valori leggermente inferiori, attestandosi rispettivamente a 5,6 per il substrato PP e 5,3 mS cm<sup>-1</sup> per il substrato PL. Il contenuto percentuale di azoto totale (tabella 8.4) si attesta attorno al 2%, come rilevato per il ciclo precedente di analisi. Per i diversi tipi di substrato non sussistono discostamenti degni di nota. Per quanto riguarda il rapporto C/N (tabella 8.4) risulta il medesimo per tutti i substrati considerati, pari a 17. Il contenuto di anioni e i cationi (tabella 9.5) ha evidenziato che la concentrazione di nitrati è risultata inferiore in PPL (132 mg kg<sup>-1</sup> ss), mentre in PL e PP, i valori registrati sono stati più elevati rispetto a quanto trovato su PPL (521 e 331 mg kg<sup>-1</sup> ss rispettivamente). Va comunque tenuto in considerazione che questo dato è estremamente variabile, in quanto questi composti sono suscettibili alle temperature e alla piovosità quando stoccato all'aperto anche per brevi periodi. Altre differenze sono state rilevate a carico dei fosfati, in cui un valore significativamente più elevato è stato riscontrato nel substrato PPL (2879 mg kg<sup>-1</sup> ss). Il substrato PP ha registrato il valore più elevato nel contenuto di cloruri (10629 mg kg<sup>-1</sup> ss), sodio (5394 mg kg<sup>-1</sup> ss), ammonio (857 mg kg<sup>-1</sup> ss) e calcio (5703 mg kg<sup>-1</sup> ss), giustificabile tenendo in considerazione che le matrici per formulare questo substrato sono paglia e pollina, deiezione notoriamente ricca di sali. I valori più elevati di solfati, potassio e magnesio sono stati rilevati nel substrato PPL, con valori pari a 22274 mg kg<sup>-1</sup> ss, 21955 mg kg<sup>-1</sup> ss e 1874 mg kg<sup>-1</sup> ss rispettivamente.

Il contenuto di metalli pesanti (tabella 9.6) ha presentato differenze a carico solo di alcuni elementi considerati. In particolare si può notare come il substrato PPL presenti livelli inferiori rispetto alle altre tipologie di substrato spento di fungaia considerati per quanto riguarda cadmio, rame e piombo. Di contro livelli più bassi di zinco e potassio siano stati rilevati nei substrati PP e PL. Stessa considerazione può essere fatta per fosforo e potassio considerati come elementi.

#### **2.4. Confronto tra le annate**

Andando a confrontare i dati ottenuti nei due momenti di prelievo e analisi dei substrati, è emerso che i valori non si discostano eccessivamente nelle due annate e nelle due stagioni.

In particolare, il contenuto di sostanza secca (Fig. 9.3) risulta costante nei diversi tipi di substrato e nei due momenti di analisi, fatta eccezione per il contenuto di sostanza secca del substrato PPL analizzato nel 2015, risultata nettamente maggiore, probabilmente in seguito alla gestione e ai tempi di stoccaggio accennati nel paragrafo precedente.

Andamento crescente, ma di entità trascurabile, è stato riscontrato per la sostanza organica (Fig. 9.4) e pH (Fig. 9.5) nelle due annate a confronto. Nello specifico il contenuto di sostanza organica ha presentato un aumento medio di circa il 4% tra il 2013 e il 2015; per quanto riguarda il pH, questo ha registrato un aumento medio di circa il 6%.

Il valore di conducibilità elettrica (Fig. 9.6) ha presentato un andamento diverso tra i substrati: PP e PL hanno evidenziato una diminuzione di circa il 25% tra il 2013 e il 2015, mentre il substrato PPL ha manifestato un aumento di quasi l'8%. Ad ogni modo, il valore più alto registrato (substrato PP 2013) si è attestato su  $7 \text{ mS cm}^{-1}$ , risultando ben tollerabile dalla maggior parte delle colture orticole.

Nei riguardi del contenuto di azoto totale (Fig. 9.7), i valori rimangono sostanzialmente costanti sia nei diversi tipi di substrato che nei diversi periodi di prelievo e analisi, evidenziando un trascurabile scostamento di circa 0,1%.

Il rapporto C/N (Fig. 9.8) aumenta per i substrato PP e PPL mentre diminuisce per il substrato PL, anche se le variazioni riscontrate risultano comunque contenute.

## 2.5. Stoccaggio di spent mushrooms substrate

In questa fase sperimentale è stata inoltre testata la possibilità di poter stoccare SMS ed è stata valutata la stabilità dei principali elementi della fertilità nel tempo. La prova è stata effettuata stoccando in cumulo solo due dei substrati considerati inizialmente (tipologie PP e PPL), senza che venisse predisposta alcuna protezione dagli agenti atmosferici, come è possibile vedere in figura 12. Il substrato PL non è stato considerato in questa prova in quanto le aziende fungicoltrici hanno abbandonato questa matrice per scelte gestionali ed economiche interne.



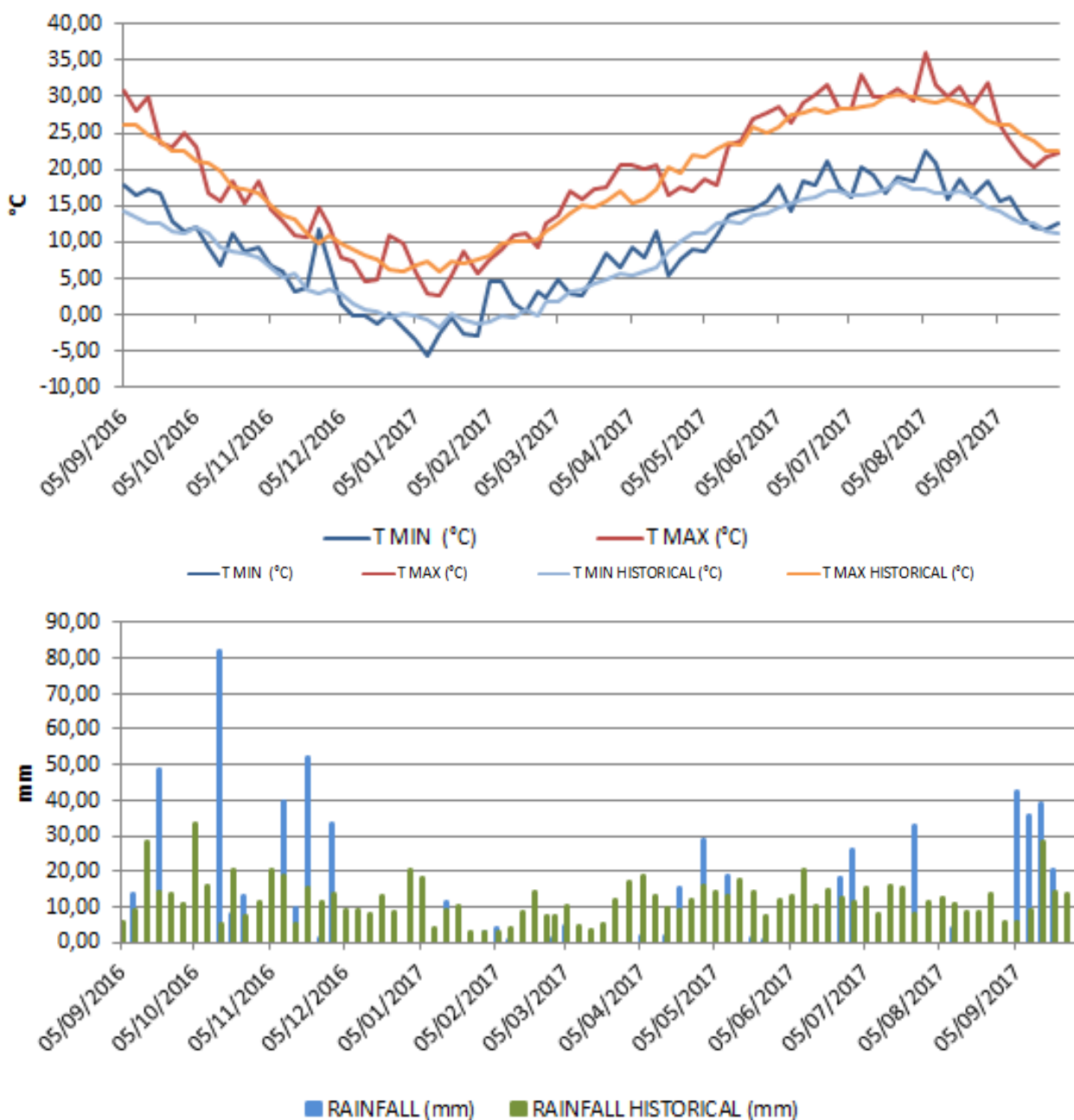
**Figura 2.1.** Cumuli di substrato spento di fungaia nella prova di stoccaggio.

Il substrato è stato stoccato per un periodo di 12 mesi, da settembre 2016 a settembre 2017, effettuando un campionamento nei primi giorni di ogni mese, considerando lo strato superficiale (1), lo strato intermedio (2) e lo strato più profondo (3). I parametri valutati sono stati la percentuale di sostanza secca, la percentuale di sostanza organica e la quantità di N, P e K, utilizzando le stesse metodiche usate nella caratterizzazione dei substrati (paragrafo 2.1).

Durante il periodo di stoccaggio appare utile riportare alcune considerazioni sul meteo.

La stagione autunnale (periodo dicembre 2016 - febbraio 2017) è stata complessivamente di poco superiore alla norma per le temperature minime, nella media per le massime e con precipitazioni moderatamente più scarse. L'inverno è trascorso con temperature minime in prevalenza più basse della norma, mentre le temperature massime sono state leggermente più alte. Per quanto riguarda le precipitazioni questa stagione è risultata tra le meno piovose dal 1994. La primavera

(periodo marzo-maggio) è stata leggermente meno piovosa delle medie stagionali mentre, per quanto riguarda il profilo termico, è stata più calda di 1°C circa sia per le temperature minime che per le massime. Le temperature estive (periodo giugno – agosto) sono state tra le più elevate dal 1994, mentre le piogge sono state prossime ai valori normali. L'ultimo periodo considerato infine (periodo settembre – novembre) è stato in media leggermente inferiore alla norma sia per le temperature che per le precipitazioni.



**Figura 2.2.** Medie pentadiche di temperature minime e massime nel periodo di prova, a confronto con le medie pentadiche minime e massime storiche (serie ventennale). Somma pentadica delle piogge caduta nel periodo di prova a confronto con la somma pentadica storica (serie ventennale). Fonte: Arpav

## Analisi statistica

L'elaborazione statistica dei dati ottenuti è stata effettuata con ANOVA e la separazione delle medie è stata realizzata mediante il Test HSD di Tukey ( $p < 0,05$ ).

### **2.5.1. Risultati ottenuti dalla prova di stoccaggio di spent mushrooms substrate**

Le due tipologie di substrato spento di fungaia analizzati in questa prova sono PP, formato da paglia e pollina e PPL, formato da paglia, pollina e letame. Come accennato precedentemente, il substrato PL è stato abbandonato dai fungicoltori come substrato e pertanto non è stato più preso in considerazione. Per quanto riguarda il contenuto di **umidità** (Figg. 9.9 e 9.10) nei tre strati campionati, sono state osservate escursioni di valori anche importanti nello strato più esterno per entrambi i substrati. Essendo quello a maggior contatto con gli eventi atmosferici, ha risentito maggiormente delle variazioni esterne. In linea di massima si è potuto assistere ad un decremento che da inizio a fine prova è portato a dimezzare il valore percentuale di umidità. Lo strato intermedio e quello più profondo hanno subito qualche lieve scostamento, ma l'andamento si può definire stabile e nel caso dello strato più profondo si è potuto assistere anche ad un lieve aumento dell'umidità presente. Se lasciato nella sua collocazione iniziale, lo strato più esterno, sebbene caratterizzato da una profondità compresa fra 5 e 10 cm, offre un eccellente scudo di protezione alla perdita di acqua del substrato, ma di contro può innescare reazioni fermentative negli strati sottostanti. Nel caso in cui si voglia avere un substrato sempre uniforme per quanto riguarda il contenuto di umidità è auspicabile di rimescolare il cumulo periodicamente e già dopo i primi giorni di stoccaggio, in quanto la matrice tende a seccare rapidamente specialmente se esposta al vento e ai raggi solari.

Il contenuto di **sostanza organica** (Figg. 9.11 e 9.12) si è mantenuto estremamente stabile nel corso della prova, presentando un valore compreso fra il 54 e il 60% circa per entrambi i substrati e in tutte le profondità testate.

Una analoga considerazione può essere fatta nei confronti dell'**azoto totale** (Figg. 9.13 e 9.14), i cui valori hanno subito qualche lieve escursione nel corso della prova, ma sono risultati stabili e prossimi al 2,3%.

Gli elementi che hanno, invece, subito maggiori variazioni sono risultati essere **potassio e fosforo**. Nei confronti del **fosforo** (Figg. 9.15 e 9.16) complessivamente si è potuto assistere ad un

mantenimento della concentrazione dell'elemento considerato, con tendenza ad un lieve aumento rispetto al valore iniziale.

Per quanto riguarda il **potassio** (Figg. 9.17 e 9.18) la perdita maggiore si è verificata nello strato più esterno per entrambi i substrati, in cui il tenore di potassio a fine prova è stato pari a un terzo rispetto al quantitativo presente a settembre 2016. Nello strato più esterno e in quello a media profondità il decremento è stato più accentuato e la maggior perdita avviene nella tarda primavera/inizio estate. Il decremento del contenuto di potassio può essere imputabile a perdita per lisciviazione con le piogge.

## **2.6. Discussione**

I cicli effettuati per delineare le caratteristiche chimiche e nutrizionali dei substrati considerati, avevano come obiettivo principale la realizzazione di una prima analisi delle reali potenzialità fertilizzanti delle matrici prese in considerazione. La produzione stessa, ma anche la gestione da parte delle fungaie può comportare dei cambiamenti nei substrati. Dalle informazioni trovate in bibliografia sono state notate delle differenze.

Le prime discordanze, anche tra i substrati analizzati e nei diversi momenti, riguardano la percentuale di sostanza secca, poiché questo parametro è dipendente dalla gestione della singola fungaia (tempi e modalità di bagnatura del substrato), ma anche dal tempo intercorso tra lo scarico della camera di coltivazione e il momento dell'analisi. In linea di massima si può comunque affermare che la percentuale di acqua presente nel substrato è presente in tenori piuttosto elevati, pari a circa il 60/70%, problematica riscontrata anche in altri studi (Maher et al., 2000; Curtin e Mullen, 2007).

Il substrato spento di fungaia risulta invece ben dotato di sostanza organica, con quantitativi quasi doppi rispetto a quanto trovato da Fidanza et al. (2010) e in linea con quanto affermato da Paredes et al. (2009). Questa caratteristica lo rende una matrice con buone potenzialità sia per la fertilizzazione delle piante, sia per aumentare le riserve del suolo. Allo stesso modo, risulta anche ben dotato di N e la quasi totalità è presente in forma organica in accordo con Steward et al. (1998).

Il pH risulta sub-acido e piuttosto stabile, compreso tra un range di valori in cui la maggior parte dei nutrienti risulta disponibile e dotato quindi di un eccellente potere fertilizzante (Ciftja e Faruk,

2005). Valori analoghi sono stati riscontrati anche da Curtin e Mullen (2007) e da Fidanza et al. (2010).

Nei confronti della conducibilità elettrica, si è potuto assistere ad un leggero aumento tra il substrato in entrata e quello in uscita, andamento comune a tutte le tipologie di substrato considerate. Questo cambiamento può essere dovuto alla disidratazione della matrice che concorre all'aumento della concentrazione di conducibilità. Il valore medio risulta comunque non trascurabile, richiedendo accortezze nel suo uso, in special modo per quanto concerne le dosi, in modo da soddisfare le reali necessità colturali ed evitare di incorrere in fenomeni di eccessiva salinità (Uzun, 2004; Ciftja e Faruk, 2005).

I valori di anioni e cationi confermano quanto registrato per la conducibilità elettrica: i principali elementi che concorrono alla salinità sono cloruri, sodio, calcio, magnesio e potassio (Maher et al., 2000). Valori elevati di elementi che possono concorrere ad aumentare la salinità sono molto probabilmente dovuti alla presenza della pollina come materiale di partenza per la formulazione del substrato e, in una certa misura, anche la presenza del carbonato di calcio utilizzato per migliorare la struttura del substrato.

Nei confronti dei metalli pesanti, i valori ottenuti nel substrato in uscita sono stati confrontati con i limiti massimi consentiti per gli ammendanti come da D. Lgs. n. 75 del 29 aprile 2010, risultando ampiamente inferiori ai limiti imposti dalla legge. Si segnala che l'analisi effettuata fa riferimento al cromo totale, mentre i limiti imposti dalla normativa fanno riferimento al cromo esavalente. Bassi valori di metalli pesanti sono stati riportati anche da altri autori (Fidanza et al., 2010; Uzun, 2004), rendendolo quindi sicuro da utilizzare come ammendante.

La situazione esposta fa riferimento a un SMS utilizzato entro 10 giorni dallo scarico da parte delle fungaie. Quando conservato per un periodo di tempo più prolungato, è stato osservato una più accentuata perdita di umidità nello strato più esterno che risente maggiormente delle condizioni esterne. In generale si è osservato un decremento del 20% di umidità in un anno di stoccaggio, mentre gli strati inferiori ne hanno risentito in misura minore. Se lasciato nella sua collocazione iniziale, lo strato più esterno, sebbene caratterizzato da una profondità compresa fra 5 e 10 cm, offre un eccellente scudo di protezione alla perdita di acqua del substrato, ma può innescare reazioni di fermentazione negli strati sottostanti, andando ad elaborare ulteriormente la matrice.

I principali elementi della fertilità, rappresentati da N e dalla sostanza organica sono rimasti piuttosto stabili nel tempo, trovando conferma con quanto affermato da Curtin e Mullen (2007). Sebbene con qualche oscillazione, anche il fosforo si è mantenuto stabile durante la prova di

stoccaggio. Uzun (2004), di contro, ha notato una perdita di azoto pari al 15% dopo un anno di stoccaggio e perdite consistenti anche riguardo al contenuto di fosforo, mentre non ha osservato altrettante perdite nei confronti del potassio. Il decremento del contenuto di potassio osservato in questa sperimentazione molto probabilmente è dovuto alla sua attitudine ad essere lisciviato ad opera della pioggia (Sharpley e Moyer, 2000).



### **3. UTILIZZO IN PIENO CAMPO E RESE PRODUTTIVE**

### 3.1. Materiali e metodi

Le prove in pieno campo sono state effettuate mettendo in atto una rotazione orticola con più specie, al fine di identificare la potenzialità del substrato spento di fungaia (SMS) come ammendante/fertilizzante. L'esperimento è stato condotto nelle annate comprese tra il 2014 e il 2017 presso l'Azienda Agraria Sperimentale dell'Università degli Studi di Padova (Legnaro, 45°21'N – 11°58'E).

Le caratteristiche del terreno utilizzato nella prova sperimentale sono riportate nella tabella 3.2. Sono state messe a confronto 3 tesi di concimazione e un testimone non concimato come controllo. Le tesi di concimazione sono state impostate come nello schema riportato in figura 3.1.

Per ogni tipo di substrato spento di fungaia, sono state messe a confronto un testimone non concimato, come verifica della fertilità residua del suolo (T0), con le tesi in cui il 50% del fabbisogno di N richiesto dalla coltura è stato soddisfatto con la concimazione minerale e il restante 50% tramite l'apporto di substrato spento di fungaia (T50), con la tesi in cui il 100% del fabbisogno di N è stato apportato tramite substrato spento di fungaia (T100) e una in cui la componente azotata è stata fornita interamente tramite la concimazione minerale (TMIN).

I trattamenti applicati facevano riferimento a diverse combinazioni di concimazione minerale e/o mista e/o organica. Il parametro di riferimento per la concimazione considerato è stato l'apporto di N che normalmente viene impiegato per ogni coltura.



**Figura 3.1.** Schema a blocchi randomizzati adottato per la prova sperimentale in pieno campo.

anno	stagione	coltura	varietà	date		Sesto d'impianto		Densità (piante/m <sup>2</sup> )
				Trapianto/ semina	raccolta	Tra le file (m)	Sulla fila(m)	
2014	primavera	lattuga		07-mag	17-giu	0.30	0.25	13
2014- 2015	autunno inverno	porro	Fahrenheit	18-lug	14-gen	0.80	0.15	8
2015	estate	pomodoro	Rio Grande	13-mag	11-ago	0.50	0.32	6
2015- 2016	autunno inverno	spinacio		29-set	23-feb	0.30	0.15	22
2016	primavera	finocchio		07-apr	23-giu	0.42	0.25	9
2016- 2017	estate inverno	radicchio di Chioggia		23-ago	17-gen	0.50	0.35	6
2017	estate	fagiolino		7-lug	30-ago (1° rilievo) 5-set (2° rilievo) 11-set (3° rilievo)	0.50	0.20	10

**Tabella 3.1.** Dati di coltivazione riguardanti le colture impiegate nella prova.

<i>Parametro</i>	<i>Media ± DS</i>
Scheletro (g 100 g <sup>-1</sup> di terra)	1.05±0.71
Sabbia (g 100 g <sup>-1</sup> di terra fine)	23.8±4.4
Limo (g 100 g <sup>-1</sup> di terra fine)	65.5±4.4
Argilla (g 100 g <sup>-1</sup> di terra fine)	10.7±1.1
Classe di tessitura	Silt-loam (USDA)
pH	8.50±0.04
Conducibilità elettrica (mS cm <sup>-1</sup> )	0.30±0.02
Sostanza organica (%)	1.65±0.54
Capacità di scambio cationico (meq 100 g <sup>-1</sup> di terra)	12.5±0.4
Carbonato di calcio (g 100 g <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> )	29.6±3.6
Carbonato di calcio attivo (g 100 g <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> )	4.4±0.9
Azoto totale (g 100 g <sup>-1</sup> )	0.088±0.005
P scambiabile (mg kg <sup>-1</sup> )	7.70±0.57
K scambiabile (mg kg <sup>-1</sup> )	465±55
Ca scambiabile (mg kg <sup>-1</sup> )	1982±76
Mg scambiabile (mg kg <sup>-1</sup> )	85±5
Na scambiabile (mg kg <sup>-1</sup> )	172±6
C/N	10.9±3.2

**Tabella 3.2.** Dati medi riferiti al terreno in cui è stata effettuata la prova di coltivazione.

Trattamento/specie	Quantità di fertilizzante						
	SMS (t ha <sup>-1</sup> )	N (kg ha <sup>-1</sup> )		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (kg ha <sup>-1</sup> )		K <sub>2</sub> O (kg ha <sup>-1</sup> )	
		SMS	minerale	SMS	minerale	SMS	minerale
	<b>Lattuga</b>						
T0	0	0	0	0	0	0	0
TMIN	0	0	80	0	60	0	110
PP-T50	3	40	40	11	49	25	85
PP-T100	6	80	0	22	38	50	60
PPL-T50	3	40	40	12	48	28	82
PPL-T100	6	80	0	23	37	56	54
PL-T50	4,3	40	40	14	46	27	83
PL-T100	8,6	80	0	28	32	54	56
	<b>Porro</b>						
TMIN	0	0	150	0	60	0	180
PP-T50	9,5	75	75	43,4	16,6	84,8	95,2
PP-T100	19	150	0	86	0	168,7	11,3
PPL-T50	12,3	75	75	52,5	7,5	92,5	87,5
PPL-T100	24,6	150	0	105	0	185	0
PL-T50	10	75	75	35,2	24,8	69,7	110,3
PL-T100	20	150	0	70,4	0	139,3	40,7
	<b>Pomodoro</b>						
TMIN	0	0	150	0	100	0	200
PP-T50	11	75	75	100	0	72,5	127,5
PP-T100	22	150	0	100	0	145	55
PPL-T50	5,8	75	75	38,5	61,5	96	104
PPL-T100	11,6	150	0	77	23	143,7	56,3
PL-T50	10	75	75	26,2	73,8	65	135
PL-T100	20	150	0	52,5	47,5	130	70
	<b>Finocchio</b>						
TMIN	0	0	140	0	80	0	160
PP-T50	9,7	70	70	61,3	17,7	80,4	79,6
PP-T100	19,4	140	0	122,6	0	160,7	0
PPL-T50	5,8	70	70	38,5	61,5	96	104
PPL-T100	11,6	140	0	77	23	143,7	56,3
PL-T50	10,8	70	70	39,1	40,9	85,9	74,1
PL-T100	21,7	140	0	78,3	1,7	171,8	0
	<b>Radicchio di Chioggia</b>						
TMIN	0	0	130	0	60	0	180
PP-T50	9	65	65	63,7	0	75,5	104,5
PP-T100	17,9	130	0	127,4	0	151	29
PPL-T50	9,6	70	70	40,5	19,5	83	97
PPL-T100	19,3	130	0	81	0	166	14
PL-T50	9,5	70	70	31	29	66,5	113,5
PL-T100	18,9	130	0	61,9	0	133	47
	<b>Fagiolino</b>						
TMIN	0	0	50	0	80	0	80
PP-T50	3,6	25	25	21,9	58,1	28,7	51,3
PP-T100	7,1	50	0	43,8	36,2	57,4	22,6
PPL-T50	3,4	25	25	15,3	64,7	32,6	47,3
PPL-T100	6,7	50	0	30,5	49,5	65,3	14,7
PL-T50	3,5	25	25	18,7	61,3	30,6	49,3
PL-T100	7	50	0	37,3	42,7	61,3	18,7

**Tabella 3.3.** Apporto dei macronutrienti tramite substrato spento di fungaia e fertilizzanti minerali per le diverse specie e tesi a confronto per la prova effettuata (PP=paglia+pollina; PPL=paglia+pollina+letame equino; PL=pollina+letame equino).

La preparazione del terreno ha previsto un'aratura superficiale di circa 15-20 cm con lo scopo di interrare infestanti, aumentare la porosità e la capacità di ritenzione idrica. Successivamente è stato distribuito il substrato di fungaia e concimi nelle varie parcelle precedentemente individuate e con i rispettivi dosaggi.

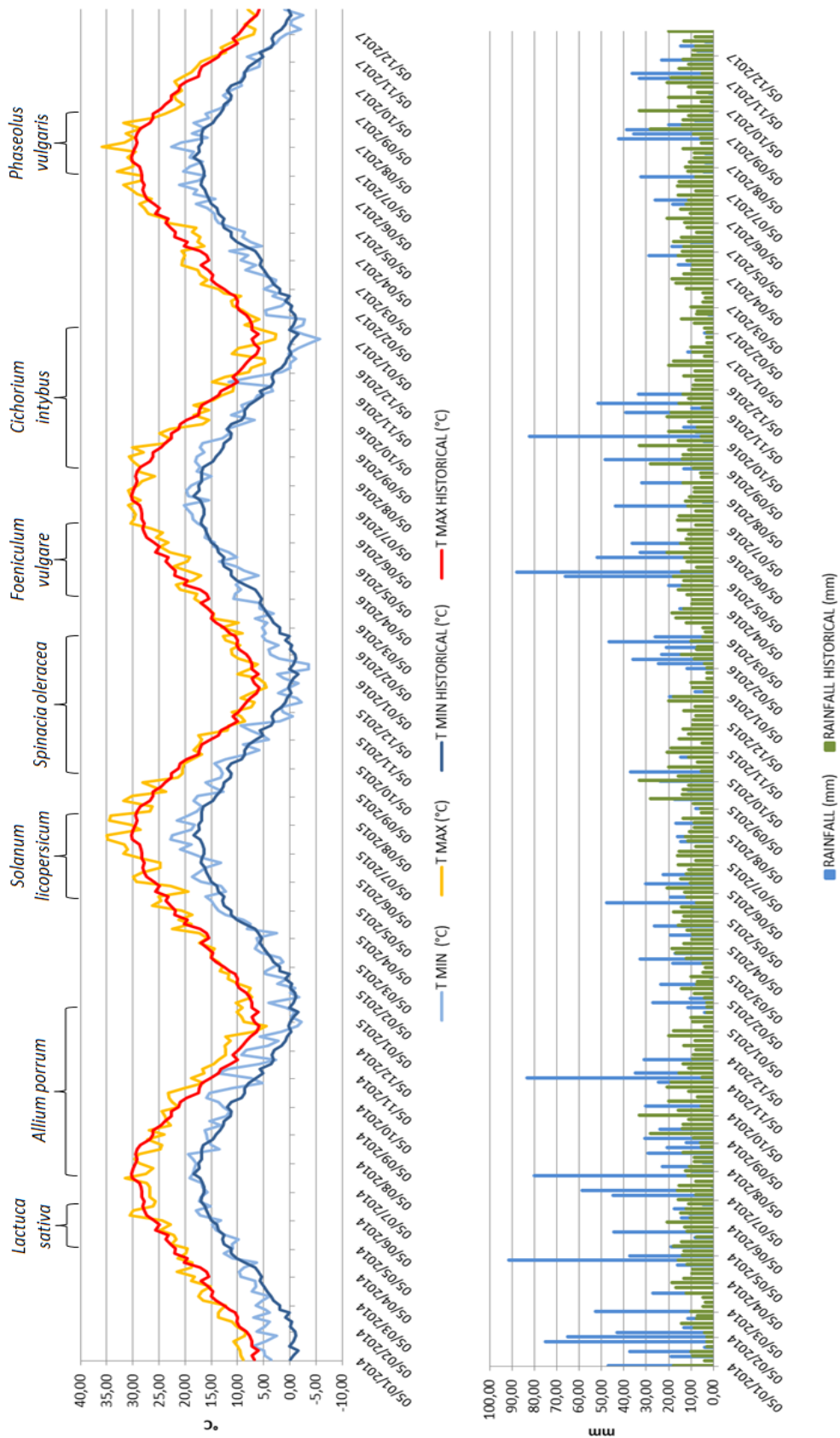
La distribuzione dei fertilizzanti è stata effettuata manualmente con i quantitativi riportati in tabella 3.3 per soddisfare le esigenze nutrizionali in termini di N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O per le diverse colture. Per le tesi in cui l'apporto di fosforo e potassio non era completamente soddisfatto tramite substrato, si è effettuata un'integrazione minerale con urea (titolo 46%), perfosfato triplo (titolo 46%) e solfato di potassio (titolo 47%). L'interramento di substrato e concimi è stato realizzato con erpice rotante. A fine trapianto o semina si è proceduto con irrigazione per aspersione tramite ala piovana al fine di ottimizzare l'attecchimento delle plantule. Tutte le informazioni riguardanti le date di trapianto/semina, raccolta e i sestri d'impianto sono riportati in tabella 3.1. Per quanto riguarda i trattamenti fitosanitari e gestione idrica delle colture sono state adottate le normali pratiche agronomiche impiegate nella zona.

In prossimità della raccolta, per ciascuna specie e ciascun trattamento sono state individuate le aree di saggio e, a maturazione commerciale, è stata effettuata la raccolta.

Per ogni area di saggio le varie piante raccolte sono state contate e pesate ed è stata inoltre quantificata la frazione di scarto e la quota commerciabile, ove ciò era possibile.

Inoltre, sulla frazione commerciale di ciascuna coltura, sono state valutate alcune caratteristiche qualitative, argomento trattato nel successivo capitolo.

## Andamento meteorologico



**Figura 3.2.** Valori medi pentadici di temperature massime e minime, e precipitazioni cumulate pentadiche registrate durante il periodo di prova (Fonte: Arpav).

Appare utile riportare qualche informazione relativa all'andamento meteorologico durante i periodi di coltivazione delle specie selezionate per ricavare informazioni utili a motivare alcuni aspetti produttivi e qualitativi del prodotto (Fig. 3.2).

Per quanto riguarda la **lattuga** il periodo di coltivazione è risultato relativamente mite tra Aprile e Maggio, con episodi di variabilità e momenti di instabilità. Per quanto riguarda le precipitazioni, l'annata in questione è risultata particolarmente piovosa durante tutto il ciclo colturale. Il valore cumulato è risultato pari a 101.6 mm con eventi meteorici intensi che si sono riscontrati soprattutto durante l'ultima decade di maggio. Nella fase conclusiva del ciclo colturale si sono registrati fenomeni piovosi caratterizzati da ridotta intensità, ma elevata frequenza che hanno condizionato la coltura.

Durante il periodo di coltivazione del **porro** le condizioni climatiche si sono presentate complessivamente fresche, con limitati periodi di bel tempo per alta pressione e valori termici inferiori alle medie, e con precipitazioni generalmente sopra la media, spesso in maniera anche molto rilevante. In particolare si distinguono un mese di luglio eccezionalmente piovoso e un mese di agosto caratterizzato da livelli termici inferiori alla media. L'autunno 2014 è stato caratterizzato da temperature molto al di sopra della media, specie nel bimestre ottobre-novembre. L'inverno 2014/15 è stato caratterizzato da temperature mediamente superiori alla norma e da una distribuzione disomogenea delle precipitazioni. Complessivamente le condizioni climatiche non sono state favorevoli alla coltivazione, essendo una coltura che non predilige condizioni atmosferiche caratterizzate da elevate umidità e precipitazioni. Inoltre, non hanno consentito di gestire la coltura adeguatamente per quanto concerne le lavorazioni.

Durante il periodo di prova del **pomodoro** le condizioni climatiche sono risultate più stabili e più calde del normale. L'estate 2015 si è presentata complessivamente calda, a tratti anche molto calda soprattutto nel mese di luglio, con prolungati periodi di bel tempo per alta pressione e valori termici nettamente superiori alle medie; le precipitazioni sono state generalmente inferiori alla media, dovendo quindi ricorrere ad irrigazioni anche frequenti, nei periodi più caldi.

Durante il periodo di coltivazione dello **spinacio**, le temperature minime e le temperature massime del periodo invernale sono state in prevalenza miti. Il mese di dicembre è stato tra i più miti degli ultimi venti anni; in pianura, infatti, le gelate notturne sono state scarse. Verso la fine della terza decade il transito di una perturbazione fredda ha determinato sia una diminuzione sensibile delle temperature, sia delle precipitazioni che sono state piuttosto contenute. Il mese

successivo è stato ancora mite, specie per le temperature massime in pianura con modeste precipitazioni e temperature prossime alla norma o leggermente superiori.

Il ciclo colturale del **finocchio** è stato caratterizzato da maggiore piovosità, un po' più caldo per le temperature minime e leggermente più fresco per le massime rispetto ai valori medi stagionali.

Il primo periodo è trascorso all'insegna della variabilità con giornate soleggiate e miti, alternate a frequenti annuolamenti con qualche precipitazione.

Nella terza decade di aprile, dopo un prolungato periodo mite da inizio primavera, con temperature spesso elevate e a tratti anche ben di sopra della norma, è arrivata la prima riduzione termica importante che ha determinato precipitazioni anche consistenti e una sensibile diminuzione delle temperature.

Le precipitazioni primaverili sono state complessivamente superiori alle medie stagionali, anche se il primo mese primaverile è stato quasi nella norma e il secondo al di sotto dei valori medi del periodo. Le precipitazioni di maggio, infatti, hanno superato abbondantemente le medie del periodo.

Per quanto riguarda il **Radicchio di Chioggia**, la situazione è stata piuttosto stabile in settembre con temperature tra le più elevate degli ultimi 22 anni e con piogge tra le più scarse; da variabile a instabile in ottobre con valori termici di qualche grado inferiori alle medie stagionale e con piogge nella norma, in gran parte variabile novembre con fasi fredde e miti e con precipitazioni di poco inferiori alle medie stagionali. I periodi più freddi rispetto alla norma si sono manifestati soprattutto nei mesi di ottobre e di novembre nella prima parte del mese. L'ultimo periodo di coltivazione è trascorso con temperature minime in prevalenza più basse della norma, mentre le temperature massime sono state leggermente più alte. Per quanto riguarda le precipitazioni questa stagione è risultata tra le meno piovose dal 1994.

Infine, per quanto riguarda il **fagiolino** le temperature estive sono state tra le più elevate dal 1994, mentre le piogge sono state prossime ai valori normali. Fino al 31 luglio non si sono superati record termici, ma nella prima settimana di agosto, che statisticamente risulta la più calda dell'estate, si sono superati alcuni record estivi. Le precipitazioni sono risultate complessivamente tra le più scarse dal 1994 dopo le estati del 2003, 2012, e del 2013.



## **Analisi statistica**

Lo schema sperimentale a blocchi randomizzati con tre ripetizioni ha previsto il confronto tra 12 tesi derivate dalla combinazione fattoriale di 3 tipi di substrato spento di fungaia x 4 modalità di concimazione. L'elaborazione statistica dei dati ottenuti è stata effettuata con ANOVA e la separazione delle medie è stata realizzata mediante il Test HSD di Tukey.

Alcuni parametri non presentavano una distribuzione normale. Sono stati quindi utilizzati dei test non parametrici (Kruskal–Wallis e Mann–Whitney con  $p < 0.05$ ).

### **3.2. Risultati delle prove in pieno campo: rese ottenute**

#### **3.2.1. Lattuga**

La lattuga (*Lactuca sativa*) è una pianta angiosperma dicotiledone appartenente alla famiglia delle Asteraceae e rappresenta la specie a foglia che occupa la superficie di coltivazione tra le maggiori della penisola (circa 16.000 ha - ISTAT 2017).

In questa sperimentazione è stata coltivata come prima coltura della successione colturale, all'interno del Progetto PSR "CoCaL".

Prendendo in considerazione gli aspetti ponderali e, in particolare, la produzione di **biomassa totale**, si sono riscontrate differenze significative solo per l'effetto principale della concimazione (tabella 9.7). In particolare il testimone non concimato T0 ha ottenuto il valore minore pari a 33,3 t ha<sup>-1</sup> con valori crescenti passando da TMIN a T100 a T50 con 45,5 t ha<sup>-1</sup>. A livello statistico solo T50 e T0 si sono differenziati, in particolare T50 ha fornito produzione di biomassa totale maggiore del 26,8% rispetto a T0. Sempre nell'ambito della biomassa totale non si sono osservate differenze significative in funzione del tipo di substrato apportato (Tabella 9.7).

La **resa commerciale** per ettaro è stata influenzata dalla concimazione (tabella 8.7). Soprattutto passando da T0 agli altri trattamenti si è registrato un incremento dei valori raggiungendo i massimi livelli in T50 con 34,9 t ha<sup>-1</sup>. T0 è risultato il minore perché non sono stati forniti nutrienti e la pianta ha potuto beneficiare solamente della fertilità residua del terreno. T50 risulta essere ancora la condizione più vantaggiosa per la lattuga anche se non si è differenziata da T100 e TMIN. Quest'ultimo risultato mette in evidenza la maggiore **quota di scarto** (tabella 9.7) che è stata ottenuta per T50. Tale dato non è supportato dall'analisi statistica che non ha

differenziato le tesi. E' comunque possibile individuare un forte scostamento (+26.4%) tra T50 e TMIN.



**Figura 3.3.** Lattuga in prossimità della raccolta.

### **3.2.2. Porro**

Il porro (*Allium porrum*), coltivato dopo lattuga, ha fornito una **produzione totale** (tabella 9.10) che non si è differenziata in relazione all'applicazione dei diversi tipi di SMS; tuttavia i valori apparentemente maggiori si sono riscontrati impiegando SMS costituito da pollina e letame (PL). Sono state osservate differenze significative in relazione ai trattamenti di concimazione effettuati. T0, come atteso, è stata la tesi che ha riportato i valori produttivi più ridotti, mentre le altre tesi hanno riportato valori analoghi e superiori alle 30 t ha<sup>-1</sup>. La **produzione commerciale** (tabella 8.10) delle tesi concimate non si è differenziata fornendo valori intorno a 18 t ha<sup>-1</sup>. Il valore più contenuto è stato registrato nel testimone non concimato, mentre la tesi T100 ha eguagliato la produzione della concimazione minerale. La tesi con concimazione mista ha registrato valori intermedi. La **biomassa di scarto** (tabella 9.10) è stata pressoché analoga in tutte le tesi,

registrando valori più consistenti in T100, statisticamente diversa solo dal testimone non concimato. Il **diametro delle piante** non ha presentato variazioni in funzione del tipo di substrato utilizzato (tabella 9.10). Significative differenze invece sono state riscontrate nella modalità di concimazione: la tesi concimata con forma minerale ha prodotto piante dal calibro più elevato, diversa solo da T100 e da T0, dovuto con buone probabilità alla prontezza d'azione dei concimi minerali che hanno contribuito ad un maggiore sviluppo nelle fasi iniziali della coltivazione. La **lunghezza totale delle piante** (tabella 9.10) è stata influenzata sia dal tipo di substrato, in cui i valori maggiori sono stati riscontrati nelle piante coltivate con PP (88,57 cm), ma anche dalla modalità di concimazione. La tesi minerale e la tesi interamente organica hanno fornito i risultati più elevati (mediamente 90 cm), e di seguito le tesi T50 e T0, entrambe statisticamente diverse (85,07 e 77,82 cm rispettivamente).



**Figura 3.4.** Porro raccolto nella prova di coltivazione.

### **3.2.3. Pomodoro**

Nei confronti del pomodoro, le rese agronomiche hanno evidenziato un quantitativo di **biomassa totale** medio di circa  $50 \text{ t ha}^{-1}$ , non mostrando differenze significative per quanto riguarda il tipo di substrato utilizzato (tabella 9.13), registrando invece delle variazioni significative a livello di tipologia di concimazione. La tesi minerale ha mostrato i valori più elevati ( $66 \text{ t ha}^{-1}$ ), diversa solo dalla tesi non concimata, che ha prevedibilmente fornito i valori più bassi, mentre le tesi T50 e T100 hanno mostrato valori intermedi ( $49 \text{ t ha}^{-1}$  e  $54 \text{ t ha}^{-1}$  rispettivamente).





**Figura 3.5.** Pomodoro nelle prime fasi fenologiche durante la prova di coltivazione.

Le bacche sono state suddivise per classe di maturazione, ottenendo 4 classi:

- bacche immature, tendenzialmente di colore verde e con consistenza della polpa piuttosto compatta;
- bacche invaiate, con colorazione rosata, talvolta presentando ancora porzioni di bacca verde e polpa piuttosto compatta;
- bacche mature, con la tipica colorazione rossa più o meno intensa, e consistenza della polpa soda, pronti al consumo;
- bacche sovramature, che presentano un grado di maturazione oltre quello ottimale, presentando talvolta porzioni di bacca marcescenti.

Il **peso delle bacche mature** (tabella 8.14) non ha evidenziato variazioni significative dal punto vista statistico, sia per quanto riguarda i tipi di substrato che le modalità di concimazione, anche se ha presentato delle differenze comunque apprezzabili. Nello specifico il substrato PP ha fornito il quantitativo più elevato ( $116 \text{ t ha}^{-1}$ ) mentre per quanto riguarda la modalità di concimazione, le tesi T100 e T50 hanno fornito i valori maggiori e fornendo quantitativi molto simili, superando di poco le  $120 \text{ t ha}^{-1}$ . Le altre tesi di concimazione hanno fornito valori progressivamente minori.

Il **peso delle bacche invaiate** (tabella 9.13) è costante tra i diversi tipi di substrato utilizzati, mentre presenta delle differenze anche se non significative tra le varie tesi di concimazione. In

particolare la tesi T50 ha presentato i valori minori (circa 28 t ha<sup>-1</sup>), mentre le altre tesi hanno manifestato valori più elevati (mediamente 40 t ha<sup>-1</sup>).

Per quanto riguarda il quantitativo delle **bacche immature** (tabella 9.13), analogamente agli altri pesi registrati, non si sono riscontrate differenze significative nell'utilizzo dei diversi tipi di substrato spento di fungaia. Le varie tesi di concimazione hanno, invece, fornito risultati significativamente diversi. La tesi minerale ha fornito la produzione più elevata (oltre 21 t ha<sup>-1</sup>), significativamente diversa solo dalla tesi mista organica/minerale. Tale valore suggerisce una buona potenzialità di maturazione, ma con un aumento dei tempi di permanenza in campo della coltura.

Il quantitativo di **bacche sovramature** (tabella 9.13) non si è differenziato nell'ambito dei diversi substrati, anche se il dato ottenuto dal substrato PPL risulta inferiore di circa il 17% rispetto agli altri. Le tesi di concimazione, anch'esse non diverse, hanno evidenziato delle differenze apprezzabili. La tesi non concimata ha fornito i dati più elevati, la tesi T50 ha registrato i valori più bassi (poco più di 14 t/ha), mentre il testimone minerale e T100 hanno fornito valori intermedi.

#### **3.2.4. Spinacio**

Lo spinacio (*Spinacia oleracea*) è stata l'unica coltura tra quelle inserite nella rotazione scelta a non ricevere nessun tipo di concimazione, al fine di valutare le rese agronomiche sulla fertilità residua dopo circa 2 anni dall'inizio della concimazione con substrato di fungaia. Le colture che hanno preceduto lo spinacio sono state lattuga, porro e pomodoro, le quali hanno fornito soddisfacenti risultati considerate le loro peculiari caratteristiche.

La **biomassa totale** di spinacio (tabella 9.16) ha fornito valori medi pari a circa 19 t ha<sup>-1</sup>, non mostrando differenze significative né per quanto riguarda il tipo di substrato utilizzato né riguardo le tesi di concimazione. Nonostante l'assenza di variazioni statisticamente rilevanti, si è osservato che la tesi concimata interamente con substrato spento di fungaia ha mostrato i valori più elevati con valori oltre le 20 t ha<sup>-1</sup>: la tesi non concimata ha prevedibilmente fornito i valori più bassi, mentre le tesi TMIN e T50 hanno mostrato valori intermedi (19 t ha<sup>-1</sup> e 18 t ha<sup>-1</sup> rispettivamente).



**Figura 3.6.** Spinacio nelle prime fasi fenologiche durante la prova di coltivazione.

### ***3.2.5. Finocchio***

La biomassa aerea del finocchio (tabella 9.18) ha presentato i valori più elevati nella tesi fertilizzata con il concime minerale ( $65,84 \text{ t ha}^{-1}$ ), anche se questa è risultata non diversa significativamente dalle altre tesi concimate. La sola differenza statistica è stata osservata dalla tesi non concimata che ha prevedibilmente fornito il risultato più basso ( $47,15 \text{ t ha}^{-1}$ ). Non sono inoltre state rilevate differenze significative per quanto riguarda il tipo di substrato utilizzato. Risultati analoghi sono stati registrati per la resa commerciale (tabella 9.18); in particolare le tesi concimate hanno fornito risultati simili dal punto di vista statistico, differenziandosi solo dal testimone non concimato. Nello specifico le tesi TMIN e T50 sono risultate molto simili ( $24,6$  e  $24,3 \text{ t ha}^{-1}$  rispettivamente), mentre T100 ha fornito un risultato leggermente inferiore ( $21,9 \text{ t ha}^{-1}$ ). Conseguentemente, la quota di scarto ha presentato lo stesso andamento registrato per la produzione totale e la produzione commerciale. È possibile infatti, notare significatività statistica solo tra le tesi concimate e il testimone non concimato. Nell'ambito di queste ultime, sebbene risultino paragonabili dal punto di vista statistico, la quota di scarto più elevata è stata registrata in TMIN e T100 ( $41,2$  e  $40,2 \text{ t ha}^{-1}$ ).





**Figura 3.7.** Finocchio nelle prime fasi di sviluppo durante la prova di coltivazione.

### ***3.2.6. Radicchio di Chioggia***

Durante questa sperimentazione, il Radicchio di Chioggia ha fornito differenze statistiche per quanto riguarda la biomassa aerea (tabella 9.21). La tesi mista organica/minerale ha presentato il valore più elevato, discostandosi di quasi  $10 \text{ t ha}^{-1}$  rispetto alle altre tesi. Le differenze statistiche però sono apprezzabili solo nei confronti della la tesi minerale, la quale ha fornito il risultato minore ( $64,9 \text{ t ha}^{-1}$ ). Nella produzione commerciale la tesi T50 ha fornito i risultati più elevati ( $42,8 \text{ t ha}^{-1}$ ), rispetto a tutte le altre tesi concimate e non, le quali hanno fatto registrare risultati tra loro molto simili ( $37 \text{ t ha}^{-1}$ ), anche se i dati rilevati non hanno evidenziato differenze statistiche. Di conseguenza, la quota di scarto risulta maggiore in T50 rispetto a TMIN e T0.

Tra i diversi tipi di substrato non sono stati registrati scostamenti.



**Figura 3.8.** Radicchio in prossimità della raccolta durante la prova di coltivazione.

### **3.2.7. Fagiolino**

Il fagiolino, ultima coltura considerata in questa sperimentazione, è stato raccolto in modo scalare, nel rispetto della fisiologia della pianta. Sono stati effettuati 3 rilievi, come è possibile vedere dalla tabella 3.1 che riporta i dati relativi alle colture. In tutti i rilievi effettuati non sono state rilevate differenze dal punto di vista statistico tra le diverse tesi, sebbene si possano trarre alcune considerazioni pratiche. Nei confronti della biomassa aerea non commerciale (tabella 9.25), effettuata in un'unica raccolta a fine ciclo colturale, il risultato maggiore è stato ottenuto dalla tesi interamente minerale, che ha quasi raggiunto le  $16 \text{ t ha}^{-1}$ , di poco superiore alla tesi interamente organica ( $14.48 \text{ t ha}^{-1}$ ). La produzione commerciale nel primo rilievo è stata mediamente di  $1,5 \text{ t ha}^{-1}$ , presentando i valori più elevati nella tesi concimata interamente con SMS ( $1,78 \text{ t ha}^{-1}$ ) e i valori più modesti nella tesi totalmente minerale ( $1,07 \text{ t ha}^{-1}$ ). Durante il secondo rilievo la produzione più elevata è stata registrata dalla tesi minerale con  $7,12 \text{ t ha}^{-1}$ ; di poco inferiori sono state le rese della tesi T100 e del testimone non concimato, mentre la tesi mista organica/minerale ha fornito i valori inferiori e pari a  $6,66 \text{ t ha}^{-1}$ . Nel terzo e ultimo rilievo,



invece, la resa superiore è stata ottenuta dalla tesi interamente organica con un quantitativo pari a  $7,02 \text{ t ha}^{-1}$ , mentre quella più bassa, dal testimone non concimato con  $6,48 \text{ t ha}^{-1}$ . Le altre tesi hanno fornito risultati intermedi (tabella 9.25). Per quanto riguarda i diversi tipi di substrato non sono state rilevate differenze statistiche e i quantitativi registrati sono paragonabili tra loro.



**Figura 3.9.** Fagiolino con i baccelli appena formati.

### **3.3. Discussione**

Alla luce di quanto emerso da questa successione colturale si possono trarre alcune considerazioni interessanti, sebbene le differenze riscontrate tra le diverse tesi di concimazione spesso non abbiano prodotto differenze statistiche. Questo risultato, in prima battuta, ci suggerisce che l'utilizzo di SMS fornisce rese paragonabili ad una fertilizzazione chimica (Gobbi et al., 2016), offrendo in aggiunta i vantaggi che conseguono ad una fertilizzazione organica sulle caratteristiche fisiche e chimiche del suolo, oltre a diminuire gli svantaggi e i costi direttamente collegati all'utilizzo della fertilizzazione minerale.

Le rese ottenute dai diversi tipi di substrato non hanno prodotto differenze statistiche, con valori assolutamente comparabili tra loro, potendo così affermare che la diversa composizione di SMS non influisce sul suo successivo utilizzo in pieno campo.

La lattuga è un tipo di coltura che si avvantaggia di una fertilizzazione organica, offrendo rese paragonabili a quelle di una fertilizzazione minerale come dimostrato anche da Pavlou et al.

(2007) e Paredes et al. (2016). In questa sperimentazione, anche in relazione al periodo in cui è stata coltivata, la coltura si è maggiormente avvantaggiata con una fertilizzazione mista organica/chimica. Tale risultato è legato alla forma di distribuzione dell'azoto. Considerando infatti il breve ciclo colturale della lattuga la tesi T50, essendo caratterizzata da azoto fornito sia in forma minerale che organica, ha probabilmente soddisfatto in modo migliore e continuato le esigenze nutrizionali della coltura. Nelle prime fasi, infatti, ha agito la forma minerale prontamente disponibile e in un secondo momento la quota di azoto proveniente dalla frazione organica in seguito a mineralizzazione.

Il porro è una coltura a ciclo lungo coltivata nel periodo invernale, caratterizzato quindi da temperature più rigide e meno irraggiamento solare se coltivato alle nostre latitudini, con ripercussioni negative sulla mineralizzazione e quindi sulla disponibilità dei nutrienti presenti nella sostanza organica. In questo caso SMS ha presentato rese leggermente inferiori rispetto alla tesi minerale (Gobbi et al., 2016), anche se tra loro paragonabili. Tali rese possono essere state determinate dalla prontezza d'azione della concimazione minerale e degli elementi disponibili di SMS in seguito a mineralizzazione durante il lungo ciclo colturale che caratterizza il porro, nonostante le condizioni meteorologiche non siano state favorevoli. Analogo risultato è stato ottenuto da Guerrero et al. (2005) nel suo studio.

In pomodoro è stato notato che la biomassa prodotta dalla tesi minerale è stata superiore rispetto alla tesi interamente organica e a quella mista, sebbene i valori non risultino significativamente diversi, suggerendo che una fertilizzazione minerale può favorire maggiormente la porzione vegetativa ed avere un probabile effetto ritardante sulla maturazione delle bacche. È stato interessante notare inoltre come la tesi mista minerale/organica abbia fornito un dato maggiore di bacche mature, rispetto a quelle immature, invaiate e a quelle sovramature, suggerendo che SMS possa offrire una migliore uniformità di maturazione, indiscutibile vantaggio se la raccolta viene effettuata in modo meccanico. La capacità del pomodoro di trarre beneficio dalla fertilizzazione organica è stata confermata anche da Tonfack et al. (2017), che ha ottenuto rese comparabili tra le piante cresciute con fertilizzazione organica e quelle fertilizzate con prodotti chimici. Maynard (1994) nel suo studio in cui ha testato SMS e altri fertilizzanti sia organici che minerali, non ha notato performance migliori rispetto al controllo non trattato, ma i quantitativi di SMS utilizzati sono decisamente superiori rispetto a quelli utilizzati in questa sperimentazione e verosimilmente superiori anche rispetto alle reali necessità colturali. Dalle analisi effettuate su SMS, è stato riscontrato un valore di conducibilità elettrica maggiore

rispetto a quello che si potrebbe riscontrare in un comune letame bovino, e sebbene il pomodoro tolleri bene la salinità del suolo, si possono avere ripercussioni negative sulla resa delle bacche all'aumentare della salinità (Soria e Cuartero, 1998; Tüzel, 2002).

Lo spinacio non ha ricevuto nessun tipo di fertilizzazione poiché lo scopo era quello di sfruttare la fertilità residua del suolo. Le rese ottenute non hanno evidenziato differenze, sebbene la tesi interamente organica abbia fornito un valore medio leggermente più elevato, risultato in contrasto con quanto trovato da Citak e Sonmez (2010), in cui la tesi completamente minerale aveva prodotto una resa maggiore. Va comunque riportato che le condizioni di partenza di questa sperimentazione per quanto concerne la fertilità residua del suolo erano molto buone.

Anche nel caso del finocchio la produzione totale ottenuta dalla fertilizzazione organica sono assolutamente comparabili con la fertilizzazione minerale e per quanto riguarda la frazione commerciale, la resa ottenuta da T100 è stata leggermente inferiore rispetto a T50 e TMIN, tra di loro molto simili. Questi dati trovano parzialmente conferma con quanto affermato da Atta-Aly (2001) che ha osservato rese commerciali maggiori in piante coltivate con una concimazione organica addizionata di N minerale e in piante coltivate con una concimazione interamente organica.

In radicchio, sebbene non supportato da analisi statistica, la produzione commerciale offerta da T50 è risultata maggiore, ma, parallelamente, maggiore è stata anche la quota di scarto, significativamente diversa dalla tesi interamente minerale e dal controllo. La resa commerciale superiore comunque suggerisce che una fertilizzazione organica mista chimica potrebbe offrire un probabile vantaggio per questa coltura.

Nei confronti del fagiolino la maggior parte della produzione è stata raccolta nel 2° e 3° rilievo, in cui la tesi T100 ha offerto rese uguali o maggiori rispetto alla tesi minerale, mentre la biomassa aerea è stata maggiore nella tesi minerale, dati confermati anche da Indrakumar Singh e Chauhan (2009). Questo risultato potrebbe suggerire che una fertilizzazione completamente minerale potrebbe incentivare maggiormente la parte aerea a discapito della produzione commerciale.

Analogamente a quanto osservato in pomodoro, anche in questo caso la tesi minerale può aver provocato un ritardo nella maturazione del prodotto, concentrando maggiormente la produzione negli ultimi rilievi.



#### **4. UTILIZZO IN PIENO CAMPO E RESE PRODUTTIVE**

#### **4.1. Materiali e metodi**

Le prove in pieno campo sono state effettuate mettendo in atto una rotazione orticola con più specie, al fine di identificare la potenzialità del substrato spento di fungaia come fertilizzante. Sono state messe a confronto 3 tesi di concimazione e un testimone non concimato come controllo.

In prossimità della raccolta, per ciascuna specie e ciascun trattamento sono state individuate le aree di saggio e a maturazione commerciale è stata effettuata la raccolta.

Per ogni area di saggio le varie piante sono state raccolte e determinate le rese quantitative. Inoltre, solo sulla frazione commerciale, è stata valutata la qualità ottenuta, determinando la percentuale di sostanza secca, il valore di azoto percentuale, il contenuto dei principali anioni e cationi e per porro, pomodoro, radicchio e fagiolino sono stati misurati anche i valori di di pH, conducibilità elettrica, gradi Brix e solo nel caso del radicchio anche capacità antiossidante totale (CAT), contenuto di polifenoli totali (PT) e le coordinate colore L\*a\*b\*.

La percentuale di sostanza secca è stata determinata pesando un'aliquota di campione fresco e successivamente disidratata in stufa ventilata a 65°C fino al raggiungimento del peso costante. La determinazione dell'umidità residua è stata effettuata disidratando a 105°C aliquote di campione seccato precedentemente a 65°C. È stata posta in congelatore una quota di prodotto commerciale per ogni coltura e sul succo ricavato dallo scongelamento, sono stati valutati il valore di pH e conducibilità elettrica tramite un pHmetro-conduttivimetro portatile, modello H19811. Un'aliquota di succo è servita anche per la determinazione dei gradi Brix, che è stata effettuata tramite rifrattometro portatile digitale HI 96801 Hanna Instruments, uno strumento che utilizza la misura dell'indice di rifrazione per determinare il contenuto di solidi solubili (°Brix). L'acidità titolabile è stata determinata secondo il metodo standard ISO 750:1998 (E), che prevede il prelievo di 10 mL di succo ai quali vengono aggiunti 40 mL di acqua demineralizzata. Servendosi di un titolatore automatico, contenente idrossido di sodio (NaOH) 0,1 N si è proceduto con la titolazione del succo, impostando il pH di viraggio su 8,1-8,3. L'acidità titolabile è stata espressa in grammi di acido citrico per 100 g di prodotto fresco, tramite la seguente formula:

$$Z = [(V*N*mEqwt)/Y]*100$$

dove:

Z= g di acido per 100 g di campione;

V= volume in mL di NaOH usata per la titolazione;

N= normalità di NaOH;

mEqwt= milliequivalenti di acido (0,064 ac.citrico);

Y= volume in mL di campione.

Il parametro del colore è stato valutato utilizzando un colorimetro ottico Minolta CR-300, secondo il metodo Hunter Lab, considerando i valori di L\* che indica la luminosità del campione e varia dal nero (zero) al bianco (100), a\* che indica il colore del campione nell'intervallo tra il verde e il rosso ( $\pm 60$ ) e b\* nell'intervallo tra il blu e il giallo ( $\pm 60$ ).

Inoltre, è stata valutata la determinazione della capacità antiossidante totale (CAT) e il contenuto di polifenoli totali (FT): l'analisi ha previsto per entrambi una comune fase di estrazione effettuata con 0,500 g di prodotto liofilizzato ai quali sono stati aggiunti 20 mL di metanolo; il campione è stato omogeneizzato per 30'' con l'ausilio di Ultra Turrax a velocità di 9000 rpm e quindi filtrato con carta da filtro (589 Schleicher).

La CAT è stata determinata con il metodo FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma). Il reagente FRAP (soluzione 1 mM di 2,4,6-tripiridil-2 triazina [TPTZ], 2 mM di cloruro ferrico e 250 mM di acetato di sodio a pH 3.6) è stato preparato giornalmente a partire da soluzioni madre di 300 mM di buffer acetato, 12 mM di TPTZ (in acido cloridrico 48 mM) e 24 mM di cloruro ferrico in rapporto 10:1:1. A 100  $\mu$ L di estratto sono stati aggiunti 1900  $\mu$ L di reagente FRAP e si è omogeneizzato con l'ausilio di un vortex; dopo 4' a 20° C è stata letta l'assorbanza a 593 nm. La lettura è stata confrontata con una curva di calibrazione costituita da soluzioni di solfato di ammonio ferroso con concentrazione da 0 a 800 ppm. La CAT è stata espressa come mg di Fe<sup>2+</sup> equivalenti (Fe<sup>2+</sup>E) per kg di campione secco.

Per la determinazione dei fenoli totali, invece, si sono prelevati 200  $\mu$ L dell'estratto, sono stati aggiunti 1000  $\mu$ L di reattivo Folin-Ciocalteu e 800  $\mu$ L di carbonato di sodio anidro al 7,5%. Si è proceduto con 15'' di agitazione e successivo riposo per 30' a temperatura ambiente prima di leggere allo spettrofotometro ad una lunghezza d'onda di 765 nm. L'assorbanza è stata confrontata con quella letta da soluzioni a concentrazione nota di acido gallico (da 0 a 400  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>) le quali hanno subito lo stesso procedimento dei campioni. Il contenuto totale di fenoli è stato espresso come mg di acido gallico equivalenti (GAE) per kg di campione secco.

La determinazione del contenuto di anioni e cationi è stata effettuata mediante cromatografia ionica (I.C.). In questa operazione sono stati pesati 200 mg di campione liofilizzato ai quali sono stati aggiunti 50 mL di acqua demineralizzata. E' stata eseguita un'agitazione su piastra rotante per 20 minuti a 150 rpm e successivamente, con aiuto di imbuto e carta da filtro (589 Schleicher diametro 125 mm), è stato filtrato il campione.

Il filtrato ottenuto è stato nuovamente filtrato con filtri per siringa in acetato di cellulosa da 20 µm ed iniettato nel cromatografo. Per l'analisi degli anioni è stata utilizzata una colonna Ion Pac AS23 con dimensioni 4x250 mm mentre per l'analisi dei cationi è stata utilizzata una colonna Ion Pac CS12A con dimensioni 4x250mm, entrambe a temperatura ambiente. La corsa cromatografica è stata eseguita ad una velocità di flusso pari a 1 mL min<sup>-1</sup>. L'eluente utilizzato è costituito da sodio carbonato 4.5 mM, sodio bicarbonato 0.8 mM per l'analisi degli anioni e da acido metensolfonico 20 mM per l'analisi dei cationi. La velocità di flusso utilizzata è 1 mL min<sup>-1</sup>.

L'identificazione degli composti nella miscela in esame è avvenuta mediante il confronto dei tempi di ritenzione con i composti standard. Per l'analisi degli anioni è stata utilizzata una miscela costituita da fluoruri, cloruri, nitriti, nitrati, fosfati, e solfati mentre per l'analisi dei cationi è stata utilizzata una miscela costituita da sodio, ammonio, potassio, magnesio e calcio. L'analisi quantitativa è stata eseguita mediante curva di calibrazione creata in seguito a diluizioni seriali delle soluzioni madre.

Infine, è stato determinato il contenuto di azoto con il metodo Kjeldahl su un'aliquota di campione disidratato a 65°C.

### **Analisi statistica**

Lo schema sperimentale a blocchi randomizzati con tre ripetizioni ha previsto il confronto tra 12 tesi derivate dalla combinazione fattoriale di 3 tipi di substrato spento di fungaia x 4 modalità di concimazione. L'elaborazione statistica dei dati ottenuti è stata effettuata con ANOVA e la separazione delle medie è stata realizzata mediante il Test HSD di Tukey.

Per i parametri che non presentavano una distribuzione normale sono stati utilizzati dei test non parametrici (Kruskal–Wallis e Mann–Whitney con  $p < 0.05$ ).



## **4.2. Risultati delle prove in pieno campo: aspetti qualitativi**

### **4.2.1. Lattuga**

I valori percentuali di sostanza secca (tabella 9.8) registrati non si sono differenziati né in relazione ai tipi di substrato, né alla modalità di concimazione, presentando una percentuale di sostanza secca compresa tra il 5% e 6% e i valori più alti sono stati registrati nella tesi non concimata (6,3%). La percentuale di azoto rilevata nella pianta (tabella 9.8) ha presentato valori piuttosto stabili e prossimi al 3% in tutti i trattamenti, differenziandosi solamente nell'ambito della modalità di concimazione, in cui il testimone non concimato ha presentato il valore più contenuto (2,4%) probabilmente dovuto all'assenza di concimazione e anche al possibile dilavamento dell'azoto presente nel terreno in seguito alle intense precipitazioni avvenute durante il ciclo colturale.

Considerando le analisi svolte sulla concentrazione di anioni e cationi, sono state osservate differenze significative a carico di alcuni elementi sia in funzione del tipo di substrato che della modalità di concimazione (tabella 9.9). In relazione alla modalità di concimazione, il contenuto di cloruri è risultato inferiore nelle piante delle tesi TMIN e T0 e aumenta con il quantitativo di substrato apportato, passando da T50 a T100. Nella tesi totalmente organica (T100) si è registrato un incremento superiore al 100%, rispetto a TMIN. I tipi di substrato non hanno evidenziato differenze statistiche. Il contenuto di nitrati è risultato più elevato nelle piante concimate con PL (4549 mg kg<sup>-1</sup> ps) seguito da PPL e PP (3920 e 2715 mg kg<sup>-1</sup> ps rispettivamente). In funzione della concimazione si sono osservati anche scostamenti significativi sul contenuto di nitrati nella pianta. In particolare i campioni di T0 hanno fornito il minor contenuto (757 mg kg<sup>-1</sup> ps) mentre TMIN ha presentato il valore maggiore pari a 5579 mg kg<sup>-1</sup> ps. La pianta, infatti, ha assorbito maggiormente l'azoto fornito prevalentemente in forma minerale. Le altre tesi hanno fornito valori intermedi.

Per il contenuto di solfati il testimone T0 si è differenziato da tutte le tesi concimate con un valore pari a 2989 mg kg<sup>-1</sup> ps e il valore maggiore è stato ottenuto sul prodotto ottenuto dalla tesi T100 (4264 mg kg<sup>-1</sup> ps). Per quanto riguarda il sodio, il contenuto minore è stato registrato nelle piante del testimone non concimato (1042 mg kg<sup>-1</sup> ps), risultato diverso dal punto di vista statistico solo dalla tesi interamente organica (1179 mg kg<sup>-1</sup> ps), assistendo ad un incremento del valore all'aumentare dell'apporto di substrato. Il quantitativo di ammonio presente risulta essere significativamente influenzato dal tipo di substrato ma non dal tipo di concimazione. PL e PPL

hanno presentato valori simili (473 e 444 mg kg<sup>-1</sup> ps rispettivamente) mentre PP inferiori (324 mg kg<sup>-1</sup> ps). Per quanto riguarda il potassio, il suo contenuto risulta essere significativo in funzione della concimazione. In particolare si osserva il valore minore con T0 (51253 mg kg<sup>-1</sup> ps) e valori maggiori, ma molto simili tra loro, per TMIN, T100 e T50 (valore medio circa 60000 mg kg<sup>-1</sup> ps). Anche il contenuto di magnesio risulta influenzato dal tipo di concimazione. Come si può osservare dalla tabella 8.9 il testimone non concimato T0 è caratterizzato da valori inferiori (1523 mg kg<sup>-1</sup> ps) mentre in T50 e TMIN si sono osservati valori superiori di circa il 15% rispetto a T0. Il valore ottenuto da T100 (1687 mg kg<sup>-1</sup> ps) risulta essere simile alla tesi minerale e alla tesi mista. Sia per il contenuto di fosfati, sia per il contenuto di calcio sono stati ottenuti valori stabili tra le diverse tesi e senza differenze significative sia per quanto riguarda le diverse modalità di concimazione sia per il tipo di substrato utilizzato.

#### **4.2.2. Porro**

La percentuale di sostanza secca (tabella 9.11) non presenta variazioni significative nell'utilizzo dei diversi tipi di substrato, né per le diverse modalità di concimazione. Si può notare soltanto un lieve incremento nella tesi non concimata (aumento compreso fra 1 e 2% rispetto alle altre tesi), per ragioni legate alla carenza di soluti che influenzano il quantitativo di acqua assorbita dalla pianta.

Per quanto riguarda gli aspetti qualitativi, la concimazione minerale ha favorito un maggior accumulo di azoto rispetto alle altre tesi (2,37% ps), significativamente diverso solo dal testimone non concimato (1,88%). Nell'ambito dei diversi tipi di SMS non si sono riscontrate differenze significative. La concentrazione dei diversi anioni e cationi (tabella 9.12) presenti nella pianta non hanno evidenziato scostamenti di rilievo. I cloruri aumentano gradualmente all'aumentare della concimazione organica con SMS, dovuto prevalentemente alla presenza di pollina nei substrati considerati, ma senza che questo raggiunga livelli tossici per la coltura. I valori inferiori e statisticamente differenti sono stati riscontrati nella tesi minerale (2634 mg kg<sup>-1</sup> ps) e nel testimone non concimato (2748 mg kg<sup>-1</sup> ps). Ponendo l'attenzione sui nitrati, questi si attestano su valori decisamente modesti, essendo il porro una coltura non accumulatrice di tale anione; il valore più elevato è stato riscontrato nelle piante coltivate con la concimazione minerale (670 mg kg<sup>-1</sup> ps), anche se statisticamente diverso solo dal testimone non concimato (160 mg kg<sup>-1</sup> ps). Per quanto riguarda gli altri anioni e cationi considerati, ovvero fosfati, solfati, sodio, ammonio,

potassio, magnesio e calcio non sono state riscontrate differenze e tutte le tesi considerate hanno fornito tra loro valori simili. Il potassio si attesta su valori elevati, ma tale concentrazione rientra nei valori standard per la coltura. Per quanto riguarda le differenze tra i tipi di SMS, non si sono riscontrate differenze significative per tutti gli elementi considerati, pur presentando qualche lieve oscillazione.

#### **4.2.3. Pomodoro**

Le analisi qualitative per questa specie sono state effettuate solo sulle bacche mature, essendo la frazione che viene poi effettivamente consumata. La percentuale di sostanza secca rilevata non ha prodotto differenze a livello statistico tra le diverse tesi di concimazione, attestandosi su valori medi compresi tra 4,7 e 4,9% (tabella 9.14). Analogamente, i diversi tipi di substrato non hanno registrato differenze statistiche. Per quanto riguarda il contenuto di azoto (tabella 9.14), i valori più elevati sono stati forniti dalle tesi concimate, anche se la forma in cui è stato distribuito l'azoto non ha influito su tale parametro dal punto di vista statistico. Va comunque segnalato che il valore medio riscontrato nelle bacche ottenute dalla concimazione minerale è risultato più elevato rispetto alle altre tesi, presentando una concentrazione pari a 2,59% per la tesi minerale e valori pari a 2 e 1,82% per le tesi T50 e T100 rispettivamente. I tipi di substrato non si sono differenziati. Il valore di pH, i °Brix e l'acidità titolabile sono risultati molto stabili tra le diverse tesi di concimazioni, sebbene alcune differenze statistiche siano state rilevate per quanto riguarda il valore di pH tra i diversi substrati, in cui il substrato PL ha fornito il valore più elevato (4,47), diverso solo dal substrato PPL (4,38). Per quanto riguarda l'acidità titolabile, sebbene i valori registrati non risultino diversi statisticamente, il substrato PPL ha fornito il risultato più elevato con un valore di 0,043% di acido citrico su pf. La conducibilità elettrica ha presentato alcune differenze statistiche a carico della modalità di concimazione. Il risultato più elevato è stato registrato nella tesi completamente minerale (5,87 mS cm<sup>-1</sup>), statisticamente diverso solo dalla tesi non concimata (5,07 mS cm<sup>-1</sup>). I diversi tipi di SMS, invece, non hanno prodotto differenze. Considerando il contenuto di anioni e cationi (tabella 9.15), le variazioni dei diversi elementi considerati sono state contenute. Differenze tra le tesi di concimazioni, sono state registrate per i cloruri, in cui le tesi T50 e T100 hanno fornito i valori più elevati (4876 e 4703 mg kg<sup>-1</sup> ps rispettivamente), significativamente diversi dalla tesi minerale (3285 mg kg<sup>-1</sup> ps) e dal testimone non concimato (3762 mg kg<sup>-1</sup> ps), analogamente a quanto riscontrato nelle precedenti colture. Per

quanto concerne il sodio, sono state registrate differenze statistiche solo per quanto riguarda i diversi tipi di substrato; in particolare PP ha fornito il valore più elevato ( $524 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ), diverso solo da PPL ( $398 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ). L'ammonio ha fornito differenze statistiche sia a livello di concimazione che di tipo di SMS: il valore più basso è stato registrato nella tesi interamente organica ( $13 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ), diverso da tutte le altre tesi di concimazione (valore medio pari a  $28,6 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ). Per quanto riguarda il tipo di SMS, il substrato PL ha fornito il risultato più basso ( $11 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ). Calcio e magnesio hanno presentato il medesimo andamento ed il valore più elevato è stato riscontrato in TMIN ( $5795 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$  per calcio e  $1984 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$  per il magnesio), mentre quello più basso è stato registrato nel testimone non concimato ( $4746 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$  per il calcio e  $1465 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$  per il magnesio). I diversi tipi di substrato non hanno prodotto differenze. Per quanto riguarda fosfati, solfati e potassio non sono state rilevate differenze ne a livello di concimazione ne a livello di substrato.

#### **4.2.4. Spinacio**

Lo spinacio è stata l'unica coltura tra quelle inserite nella rotazione scelta a non ricevere nessun tipo di concimazione, al fine di valutare le rese agronomiche e i suoi effetti sulla qualità considerando la fertilità residua dopo circa 2 anni dall'inizio della concimazione con substrato di fungaia.

La percentuale di sostanza secca e il contenuto di azoto percentuale presenti nel prodotto non hanno evidenziato differenze statistiche (tabella 9.16): la sostanza secca ha presentato una percentuale media pari al 18% mentre il contenuto di azoto si è attestato su un valore medio del 4%, presentando il valore più elevato sulla tesi minerale (4,26%) e valori medi di circa 3,9% su tutte le altre tesi di concimazione.

Il contenuto di anioni e cationi non ha presentato variazioni di rilievo per molti degli elementi considerati (tabella 9.17), fatta eccezione per quanto riguarda il contenuto di cloruri, i quali sono risultati più elevati nelle tesi che hanno ricevuto totalmente o parzialmente il substrato di fungaia come ammendante ( $7613$  e  $7116 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$  rispettivamente). Variazioni importanti sono state registrate anche per quanto riguarda il contenuto di nitrati, i quali sono risultati significativamente più elevati nella tesi minerale ( $13449 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ), analogamente a quanto registrato in altre colture sensibili all'accumulo di nitrati, mentre i tipi di SMS non si sono differenziati tra loro. Il valore inferiore e statisticamente diverso da TMIN è stato registrato nel testimone non concimato

con 7411 mg kg<sup>-1</sup> ps. I fosfati sono risultati significativamente più elevati nella tesi completamente minerale (14927 mg kg<sup>-1</sup> ps) e i più bassi valori nel testimone non concimato (12997 mg kg<sup>-1</sup> ps). Per questo elemento, il substrato PL ha fornito il valore più elevato (14624 mg kg<sup>-1</sup> ps), mentre quello più basso è stato riscontrato in PP (13393 mg kg<sup>-1</sup> ps), tra loro statisticamente differenti. Il contenuto dei rimanenti anioni e cationi considerati non si è differenziato tra le tesi di concimazione né tra i tipi di SMS, fatta eccezione per ammonio e calcio, i quali hanno presentato qualche differenza solo a livello del substrato considerato. Si può notare infatti, che il valore maggiore di ammonio è stato rilevato nel substrato PL (1132 mg kg<sup>-1</sup> ps), mentre il più elevato valore di calcio è stato registrato nel substrato PP (1771 mg kg<sup>-1</sup> ps).

#### **4.2.5. Finocchio**

La percentuale di sostanza secca in finocchio è risultata significativamente più bassa nel trattamento totalmente minerale (9,3%), mentre ha presentato il valore più elevato nel testimone di controllo con un valore pari a 13% (tabella 9.19). Le tipologie di SMS non hanno prodotto differenze.

Il contenuto di azoto percentuale presente nella frazione commerciale ha presentato il valore più elevato nelle piante della tesi minerale (2,35%) e valori medi di circa 1,6% sono stati registrati su tutte le altre tesi di concimazione, risultate tutte significativamente più basse rispetto a TMIN (tabella 9.19). Il contenuto di anioni e cationi non ha presentato variazioni di rilievo per molti degli elementi considerati (tabella 9.20), fatta eccezione per quanto riguarda il contenuto di cloruri e nitrati, i quali hanno presentato le differenze più marcate. I cloruri, analogamente alle altre colture testate, sono risultati significativamente più elevati nelle tesi che hanno ricevuto totalmente o parzialmente il substrato di fungaia come ammendante (6226 mg kg<sup>-1</sup> ps in T100 e 4562 mg kg<sup>-1</sup> ps in T50), mentre tra i diversi SMS non sono state registrate differenze. Variazioni importanti sono state registrate per quanto riguarda il contenuto di nitrati, i quali sono risultati significativamente più elevati nella tesi minerale (15288 mg kg<sup>-1</sup> ps). La concentrazione di nitrati in T100 è risultata molto simile a quella registrata nel testimone non concimato. Va ricordato che il finocchio, al pari della lattuga e di altri ortaggi a foglia verde, è sensibile all'accumulo di nitrati. Il contenuto di solfati ha prodotto differenze a livello statistico solo per quanto riguarda la modalità di concimazione e il risultato che si è discostato significativamente dagli altri è stato quello fornito dalla tesi non concimata (6182 mg kg<sup>-1</sup> ps) mentre le tesi concimate hanno fornito un valore

medio pari a 11000 mg kg<sup>-1</sup> ps. Il sodio è risultato statisticamente più elevato nella tesi completamente minerale (6097 mg kg<sup>-1</sup> ps), mentre il valore più basso in quella completamente organica (3106 mg kg<sup>-1</sup> ps), tra loro statisticamente diversi, ma non rispetto alle altre tesi a confronto. Il potassio ha registrato valori statisticamente superiori nelle tesi concimate con SMS, con 59127 mg kg<sup>-1</sup> ps per la tesi T50 e 58872 mg kg<sup>-1</sup> ps per la tesi T100, anche se hanno presentato differenze solo dal testimone non trattato (48677 mg kg<sup>-1</sup> ps). Per questi ultimi tre elementi considerati, i diversi tipi di SMS non hanno prodotto differenze tra loro. Il contenuto di ammonio è risultato non diverso tra le tesi di concimazione, mentre per quanto riguarda i tipi di substrato, PL ha fornito il risultato statisticamente più elevato (459 mg kg<sup>-1</sup> ps) e diverso dalle altre tipologie considerate (valore medio 215 mg kg<sup>-1</sup> ps circa). Il calcio ha presentato differenze sia a livello di modalità di concimazione che di tipologia di SMS. Il valore più elevato di calcio è stato registrato nel testimone non concimato (10130 mg kg<sup>-1</sup> ps), diverso solo dalla tesi minerale, la quale ha fornito il valore più basso (7540 mg kg<sup>-1</sup> ps). Per quanto riguarda il tipo di SMS, il risultato più elevato è stato registrato nella tipologia PP (10082 mg kg<sup>-1</sup> ps), diverso statisticamente dalle altre tipologie considerate. Lo stesso andamento per la tipologia di SMS è stato rilevato nel magnesio, in cui il substrato PP ha registrato il valore più elevato (2596 mg kg<sup>-1</sup> ps) diverso dalle altre tipologie considerate, anche se a livello di concimazione non sono state registrate differenze. In ultima analisi, i fosfati non hanno risentito della concimazione.

#### **4.2.6. Radicchio di Chioggia**

La percentuale di sostanza secca non ha prodotto differenze significative (tabella 9.22). Il valore più elevato è stato registrato nelle piante coltivate interamente con SMS (9,3%), mentre le altre tesi hanno fornito valori leggermente inferiori (valori compresi fra 8,2 e 8,8%).

L'azoto rilevato nella frazione commerciale della coltura non ha prodotto differenze statistiche, anche se valori lievemente più alti sono stati registrati in T0 (2,60%), mentre i valori più bassi in T100 (2,26%) (tabella 9.22).

Per il Radicchio di Chioggia sono state effettuate anche una serie di analisi qualitative necessarie per misurare alcuni parametri che in alcune colture, come quella in oggetto, possono rendere il quadro conoscitivo più completo. In particolare sono stati misurati pH, EC, °Brix, Acidità titolabile, capacità antiossidante totale, contenuto di polifenoli totale e le coordinate colore. Per quanto riguarda il pH sono stati trovati valori tra loro paragonabili e mediamente pari a 6 (tabella 9.22).

La conducibilità elettrica (EC) ha presentato alcune variazioni, con valori più elevati nella tesi T100 ( $8,4 \text{ mS cm}^{-1}$ ), diverso statisticamente dal testimone non concimato ( $7,68 \text{ mS cm}^{-1}$ ) e dalla tesi minerale ( $7,58 \text{ mS cm}^{-1}$ ). Il contenuto di solidi solubili ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) non ha registrato variazioni degne di rilievo, attestandosi mediamente su un valore pari a  $5,7 \text{ }^{\circ}\text{Brix}$  (tabella 9.22). Analoghe considerazioni possono essere fatte per l'acidità titolabile, in cui non sono state rilevate differenze tra le diverse tesi di concimazione, presentando un valore medio di  $0,105\%$  di acido citrico su pf. La capacità antiossidante totale e il contenuto totale di polifenoli (tabella 9.23) hanno presentato lo stesso trend. Le differenze riscontrate sono molto lievi e non significative dal punto di vista statistico, anche se si può notare un lieve incremento dei valori di tali parametri nelle tesi concimate totalmente o parzialmente con substrato spento di fungaia. Il contenuto medio di polifenoli totali registrati nelle tesi concimate con SMS risulta pari a  $8000 \text{ mg GAE kg ps}$ , mentre la capacità antiossidante totale media delle tesi con SMS è stata mediamente  $86000 \text{ mg Fe}^{2+} \text{ kg ps}$ . In tutti questi parametri considerati, le diverse tipologie di substrato non si sono differenziate tra loro. Analoghe considerazioni possono essere fatte per le coordinate del colore  $L^*a^*b$ . Le uniche differenze statistiche riscontrate riguardano la coordinata  $*b$ , la quale ha fornito il valore più elevato nel prodotto ottenuto dalla tesi interamente minerale ( $-1,35$ ). La coordinata  $*b$  varia da  $-60$ , che corrisponde il colore blu, a  $+60$  che corrisponde al suo colore complementare, il giallo. In questo caso le piante che hanno ricevuto la concimazione minerale tendono a presentare un colore più tendente al giallo, quindi meno intenso rispetto alle altre tesi, le quali hanno fornito un valore medio pari a  $-2,3$ .

Per quanto riguarda il contenuto di anioni e cationi (tabella 9.24), questi hanno presentato differenze a carico di alcuni elementi, analogamente quanto visto anche nelle altre colture testate nella prova. In particolare il contenuto di cloruri ha prodotto differenze significative e risultano più elevati nelle tesi concimate con SMS, in particolare la tesi T100 in cui sono stati registrati valori di  $7299 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ . Nel testimone non concimato e nella tesi minerale le concentrazioni registrate sono state pari a  $2497 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$  e  $2763 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$  rispettivamente. I livelli registrati comunque non hanno compromesso né la salubrità né le qualità organolettiche della produzione. PP è stato il substrato che ha determinato la concentrazione di cloruri più elevata ( $4690 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ), diversa statisticamente solo da PPL ( $3547 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ). Il contenuto di nitrati, sebbene non presenti differenze statistiche, ha fornito i risultati più elevati nella tesi minerale ( $4403 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ), mentre le altre tesi a confronto hanno fornito risultati molto simili. Nell'ambito del contenuto di sodio sono state registrate differenze statistiche, in cui la tesi non concimata ha presentato il

valore più elevato ( $577 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ), diverso solo da quella minerale ( $366 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ). L'ammonio ha presentato differenze a livello statistico solo per quanto riguarda le diverse tipologie di SMS, in cui il valore più elevato è stato registrato nel substrato PL ( $655 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ), ma diverso solo da PP ( $423 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ). Il potassio ha presentato differenze statistiche sia a livello di concimazione che di tipologia di SMS. Il valore più elevato è stato registrato in T50 ( $40449 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ), diversa solo dal testimone non concimato ( $38106 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ). Per quanto riguarda i tipi di SMS, il substrato PP è quello che ha fornito il valore più elevato con  $40213 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ , diverso solo da PL ( $38450 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ps}$ ). I valori di fosfati, solfati, magnesio e calcio non hanno prodotto differenze statistiche, ne per quanto riguarda la modalità di concimazione, ne per i tipi di SMS.

#### **4.2.7. Fagiolino**

Il fagiolino è stata l'ultima coltura considerata nella rotazione colturale messa in atto in questa prova. Nel rispetto della fisiologia della pianta, la raccolta è stata effettuata in modo scalare, effettuando tre rilievi. Le analisi sono state effettuate su tutti i rilievi e i valori mediati.

La percentuale di sostanza secca (tabella 9.26) non ha prodotto nessuna differenza statistica, attestandosi su valori medi molto simili tra loro pari a circa 9%, sia per la modalità di concimazione, sia per quanto riguarda le tipologie di substrato. La percentuale di azoto rilevata ha presentato differenze a livello statistico, in cui il risultato maggiore è stato registrato dalle piante coltivate con concimi minerali (3,4%) (tabella 9.26) e risultato diverso solo dalle tesi che hanno ricevuto parzialmente o totalmente SMS (valore medio 3,2%). I diversi tipi di substrato non si sono differenziati tra loro.

Il valore di pH ha presentato differenze a livello statistico nel confronto fra substrati (tabella 9.26) con PP che ha fornito il valore più elevato pari a 5,82, statisticamente diverso solo da PPL (5,76). Nessuna differenza è stata invece riscontrata nella modalità di concimazione. Il valore di conducibilità elettrica non ha presentato differenze a livello statistico nel confronto fra substrati (tabella 9.26) ne a livello del tipo di concimazione, attestandosi su un valore medio pari a  $5,8 \mu\text{S cm}^{-1}$ . Il contenuto di solidi solubili non ha evidenziato differenze ne tra i substrati, ne tra le concimazioni, presentando un valore medio pari a 5° Brix. L'acidità titolabile (tabella 9.26) ha fornito un valore medio estremamente stabile tra le modalità di concimazione e i tipi di substrato (0,11% di acido citrico su pf). Il contenuto di anioni e cationi (tabella 9.27) rilevato nella parte commerciale non ha evidenziato scostamenti degni di rilievo per molti elementi considerati.



Andamento simile a quanto visto nelle altre colture è stato riscontrato per i cloruri, e l'applicazione di SMS ha contribuito ad innalzarne i valori. Dalla tabella 8.28 infatti, emerge che i valori degli elementi considerati hanno subito degli incrementi nelle tesi in cui è stato applicato SMS. Nella tesi T100 è stato registrato un valore pari a 1917 mg kg<sup>-1</sup> ps e in T50 1826 mg kg<sup>-1</sup> ps. Il valore medio registrato in TMIN e nel testimone non trattato è stato pari a 1300 mg kg<sup>-1</sup> ps. I nitrati non risultano un problema per questo tipo di coltura e non presentano differenze statistiche ne tra le diverse tesi di concimazione ne tra le tipologie di SMS. È comunque possibile notare come questo valore risulti più alto nella tesi TMIN (6236 mg kg<sup>-1</sup> ps). Per il potassio i valori più elevati sono stati osservati nelle tesi che hanno ricevuto concimazione: infatti, TMIN con una concentrazione di 30231 mg kg<sup>-1</sup> ps e T100 con una concentrazione di 29925 mg kg<sup>-1</sup> ps risultano diverse solo dal testimone non concimato, ma non dalla tesi mista organica/minerale (T50). Il maggiore contenuto di magnesio è stato registrato nel testimone non concimato (3451 mg kg<sup>-1</sup> ps) ed è risultato diverso solo da TMIN (3184 mg kg<sup>-1</sup> ps) e da T100 (3261 mg kg<sup>-1</sup> ps). Analogamente al magnesio, anche la concentrazione di calcio è risultata maggiore in T0 (4814 mg kg<sup>-1</sup> ps), mentre il minore è stato registrato nella tesi interamente organica (4316 mg kg<sup>-1</sup> ps). Per questo elemento, anche la tipologia di SMS ha mostrato alcune differenze: PP ha fornito il risultato più elevato (4794 mg kg<sup>-1</sup> ps), diverso solo da PL (4365 mg kg<sup>-1</sup> ps). Per quanto riguarda i contenuti di fosfati, solfati, sodio e ammonio non sono state registrate differenze statistiche ne tra le diverse concimazione, ne tra i tipi di substrato.

### **4.3. Discussione**

In questa successione colturale oltre alle rese, sono stati valutati alcuni parametri indicatori della composizione chimica del prodotto commerciale, che possono fornire informazioni sulla qualità degli stessi.

Le variazioni riscontrate nell'utilizzo dei diversi tipi di SMS sono piuttosto rare, sebbene in alcuni casi le differenze risultino significative; considerando anche l'aspetto delle rese ottenute è possibile affermare che i tipi di substrato sono equivalenti tra loro e possono essere utilizzati indifferentemente senza che vengano pregiudicate le rese né la qualità del prodotto.

I valori di conducibilità elettrica elevati che caratterizzano SMS non hanno prodotto effetti negativi sulla qualità del prodotto, tenendo in considerazione la scarsa tollerabilità alla presenza di sali da parte della lattuga. Sebbene il pomodoro tolleri l'eccesso di Sali, Tonfack et al. (2017) ha

riscontrato una maggiore tendenza ad accumulare calcio, potassio e fosforo nella tesi miste organica/minerale, mentre in questa sperimentazione, sebbene i valori registrati non siano significativi, i valori più alti sono stati rilevati nelle bacche delle piante allevate nella tesi TMIN. Tra i cationi responsabili della salinità della matrice, i cloruri sono quelli che forniscono il contributo maggiore in tal senso. È stato osservato infatti come il valore dei cloruri cresca con l'aumento del quantitativo di SMS fornito alla coltura, ma nemmeno in questo caso gli alti valori hanno compromesso la quantità e la qualità della resa commerciale.

Sono state scelte inoltre alcune colture iper-accumulatrici di nitrati per valutare l'assorbimento da parte delle piante, di cui lattuga e spinacio sono normate dal Regolamento 1258/2011 CE per quanto concerne il contenuto massimo consentito nella parte edibile. I principali motivi dell'accumulo di nitrati nella pianta sono dovuti alla concimazione e all'effetto che il clima e la luce esplicano in questa dinamica (Santamaria et al., 2001), fattori non facilmente condizionabili. In presenza di basse temperature e poca luce la pianta tende ad accumulare nitrati e li immagazzina al suo interno (Cantliffe, 1973), mentre di contro elevate temperature e intensità luminosa fanno aumentare la loro utilizzazione e quindi diminuire il loro contenuto nel prodotto. In particolare i livelli più elevati si riscontrano nelle foglie, mentre nei frutti, nei tuberi e nei semi tali valori sono generalmente molto inferiori (Maynard et al., 1976). Pertanto i vegetali a foglia presentano generalmente valori di nitrati maggiori.

L'interesse in un'attenta valutazione del contenuto di nitrati è legata al loro ruolo indiretto sulla salute del consumatore. Durante i processi digestivi, infatti, i nitrati assunti con gli alimenti vengono convertiti in nitriti che, nello stomaco e nell'intestino, si legano alle ammine (diffuse in moltissimi alimenti) dando luogo alla formazione di nitrosammine (Pannala et al., 2003; Speijers & Van Den Brandt, 2003; Mensinga et al., 2003) Questi composti risultano essere cancerogeni per gli animali di laboratorio e probabilmente anche per l'uomo (Santamaria, 2006; Griesenbeck et al., 2009; Rembiałkowska, 2004). Inoltre questi composti possono interagire con l'emoglobina formando una nuova proteina detta metaemoglobina. Quest'ultima non sarà più capace di legare l'ossigeno per poi portarlo alle varie cellule del corpo (Addiscott e Benjamin, 2004). Nei casi più gravi, come nei bambini, l'intossicazione da nitrati e nitriti, può causare sintomi di asfissia. In seguito ai valori riscontrati nelle specie valutate, è possibile affermare che per la lattuga e lo spinacio ottenuti in questa prova sono stati rispettati i limiti imposti dalla normativa, di cui si riporta un estratto dell'allegato in figura 9.19. L'attitudine ad un maggiore accumulo di nitrati da parte di lattuga è stata osservata anche da Pavlou et al. (2007) e da Herencia et al. (2011), in cui

hanno osservato alti valori di nitrati in lattuga quando concimata con fertilizzanti minerali. Inoltre, anche se i tenori massimi non sono fissati per il finocchio, durante questa sperimentazione è stata osservata una maggiore tendenza ad accumularne nelle piante che hanno ricevuto una concimazione interamente minerale, suggerendo quindi che SMS, sotto questo aspetto è sicuro per la salute umana. In conclusione si può affermare, in base ai risultati ottenuti in tutti i parametri considerati, le diverse tipologie di substrato non hanno prodotto differenze, tranne in rare occasioni, potendo così definire le tre tipologie di SMS equivalenti sotto il profilo agronomico e come un unico substrato spento di fungaia. Questo consente di ottenere prodotti qualitativamente validi con rese paragonabili a quelle ottenibili con una concimazione minerale. A tutto ciò si aggiungono i vantaggi che derivano dall'utilizzo di sostanza organica sugli aspetti chimico-fisici del suolo.



## **5. CARATTERIZZAZIONE DI AGARICUS BISPORUS**

### 5.1. Materiali e metodi

Il fenomeno dell'imbrunimento in *A. bisporus* è un evento sgradito al consumatore, in quanto rende poco appetibile il prodotto. Questa prima prova di caratterizzazione è stata condotta sulle referenze riferite al prodotto fresco disponibili sul mercato, con lo scopo di avere un quadro conoscitivo del prodotto nell'ottica di future prove volte all'aumento della shelf life di *A. bisporus*. La sperimentazione è stata condotta su Champignon (*Agaricus bisporus*), tipologia bianca e crema, fornite dal Consorzio Funghi Treviso. La prova e le relative analisi sono state condotte presso il Dipartimento DAFNAE dell'Università degli Studi di Padova nel laboratorio del Gruppo Orticoltura. In questa prima fase di caratterizzazione sono state considerate 4 tipologie di prodotto:

- champignon bianco intero (W);
- champignon bianco sgambato (SC);
- champignon bianco affettato (S);
- champignon crema intero (PW).

Il materiale è stato prelevato presso lo stabilimento di produzione il giorno 8 marzo 2016. Subito dopo la raccolta, i funghi sono stati confezionati in 18 vaschette da 500 g circa per ciascun prodotto intero e sgambato; per quanto riguarda la referenza affettato, al fine di monitorare con maggiore puntualità i parametri qualitativi, si sono utilizzate 24 vaschette da 300 g. Nel complesso si è operato con 72 campioni. Ogni confezione è stata chiusa con pellicola in polipropilene normalmente impiegata dalla ditta.

Ciascuna confezione è stata pesata prima di iniziare la prova di conservazione al fine di valutare l'eventuale perdita d'acqua del materiale durante la sperimentazione. Ultimata questa prima fase, il materiale è stato posto in cella climatica al buio programmata a 4° C con umidità dell'80%.

I rilievi sono stati effettuati come riportato in tabella 5.1:

	0 d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
	Inizio prova- 8/03/16	10/03/16	12/03/16	14/03/16	16/03/16	18/03/16	20/03/16	22/03/16
W	x	x	x	x		x		x
SC	x	x	x	x		x		x
S	x	x	x	x	x	x	x	x
PW	x	x	x	x		x		x

**Tabella 5.1.** Tempistiche di svolgimento della prova di caratterizzazione e i giorni di campionamento.

Ad ogni rilievo sono state prelevate 3 confezioni per ciascun prodotto, pesate e, successivamente, parte del materiale di ciascuna vaschetta è stato destinato all'analisi strutturale di compressione e penetrazione; la rimanente quota è stata sottoposta a trattamento con azoto liquido per bloccare le attività metaboliche, liofilizzata, macinata finemente e conservata a -20°C per le seguenti analisi qualitative.

### **5.1.1. Analisi qualitative**

Il colore è stato valutato con colorimetro ottico Minolta CR-300, secondo il metodo Hunter Lab, considerando i valori di L\* che indica la luminosità del campione e varia dal nero (0) al bianco (100), a\* che indica il colore del campione nell'intervallo tra il verde e il rosso e b\* nell'intervallo tra il blu e il giallo (Fig. 5.1).

La percentuale di sostanza secca (%) è stata determinata ponendo 15 g di funghi freschi in stufa ventilata PID System Instrument modello M80-VF. Le pesate sono avvenute dopo 48 ore di essiccazione a 105°C.

I valori di pH e EC sono stati misurati su prodotto scongelato come previsto dal metodo ISO750



**Figura 5.1.** Misurazione del colore con colorimetro ottico Minolta CR-300, secondo il metodo Hunter Lab

tramite un pHmetro/conduttivimetro portatile, modello HI 255 Hanna Instruments.

Il contenuto di solidi solubili (°Brix) è stato misurato ponendo un'aliquota del succo ricavato da ciascun campione su un rifrattometro portatile digitale HI 96801 Hanna Instruments.

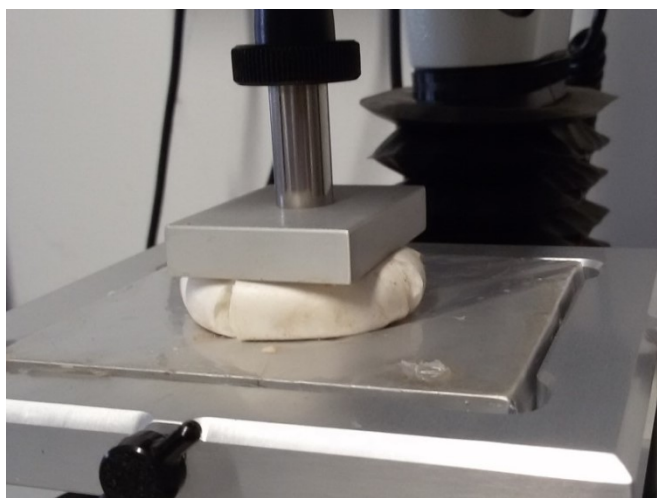
La determinazione della capacità antiossidante totale (CAT) ha previsto una fase di estrazione effettuata con 500 mg di funghi liofilizzati ai quali sono stati aggiunti 20 mL di metanolo; il campione

è stato omogeneizzato per 30'' con l'ausilio di Ultra Turrax a velocità di 13000 rpm e quindi filtrato con carta da filtro (589 Schleicher).

La CAT è stata determinata con il metodo FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma). Il reagente FRAP (soluzione 1 mM di 2,4,6-tripiridil-2 triazina [TPTZ], 2 mM di cloruro ferrico e 250 mM di acetato di sodio a pH 3.6) è stato preparato giornalmente a partire da soluzioni madre di 300 mM di buffer acetato, 12 mM di TPTZ (in acido cloridrico 48 mM) e 24 mM di cloruro ferrico in

rapporto 10:1:1. A 100  $\mu\text{L}$  di estratto sono stati aggiunti 1900  $\mu\text{L}$  di reagente FRAP e si è omogeneizzato con l'ausilio di un vortex; dopo 4' a 20° C è stata letta l'assorbanza a 593 nm. La lettura è stata confrontata con una curva di calibrazione costituita da soluzioni di solfato di ammonio ferroso con concentrazione da 0 a 1200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  di ione ferroso. La CAT è stata espressa come mg di  $\text{Fe}^{2+}$  equivalenti ( $\text{Fe}^{2+}\text{E}$ ) per kg di campione fresco e secco.

Per quanto riguarda la determinazione del contenuto di anioni e cationi si è fatto riferimento alla cromatografia ionica (IC) usando un sistema cromatografico a gradiente (Dionex ICS-900), costituito da una pompa binaria e da un rivelatore di conducibilità (Dionex DS5) con soppressore anionico (AMMS 300, 4mm) per l'analisi degli anioni e soppressore cationico (CMMS 300, 4mm) per l'analisi dei cationi. La colonna Ion Pac AS23 con dimensioni 4x250 mm è stata utilizzata per l'analisi degli anioni mentre la colonna Ion Pac CS12A con dimensioni 4x250 mm è stata utilizzata per l'analisi dei cationi. Entrambe sono precedute da una pre-colonna. I dati forniti da questo sistema sono stati raccolti ed elaborati usando il software Chromeleon per sistemi LC. 200 mg di campione secco macinato sono stati estratti in 50 mL di acqua per 20 minuti su piastra rotante a 150 rpm. Il campione è stato quindi filtrato in un primo momento con carta da filtro 589 Schleicher e successivamente con filtri per siringa in acetato di cellulosa da 0.20  $\mu\text{m}$ . Le iniezioni sono state fatte usando un iniettore a valvole (Rheodyne) con un loop di 50  $\mu\text{L}$ . Sono stati impiegati multi standard di anioni (Dionex), multi standard di cationi (Dionex), eluente concentrato AS23 (Dionex), eluente concentrato CS12A (Dionex). L'eluente utilizzato è costituito dal 100% di sodio carbonato 4.5 mM, sodio bicarbonato 0.8 mM per l'analisi degli anioni e dal 100% di acido metansolfonico 20 mM per l'analisi dei cationi. Il flusso utilizzato è 1 mL/min e la colonna è mantenuta a temperatura ambiente.



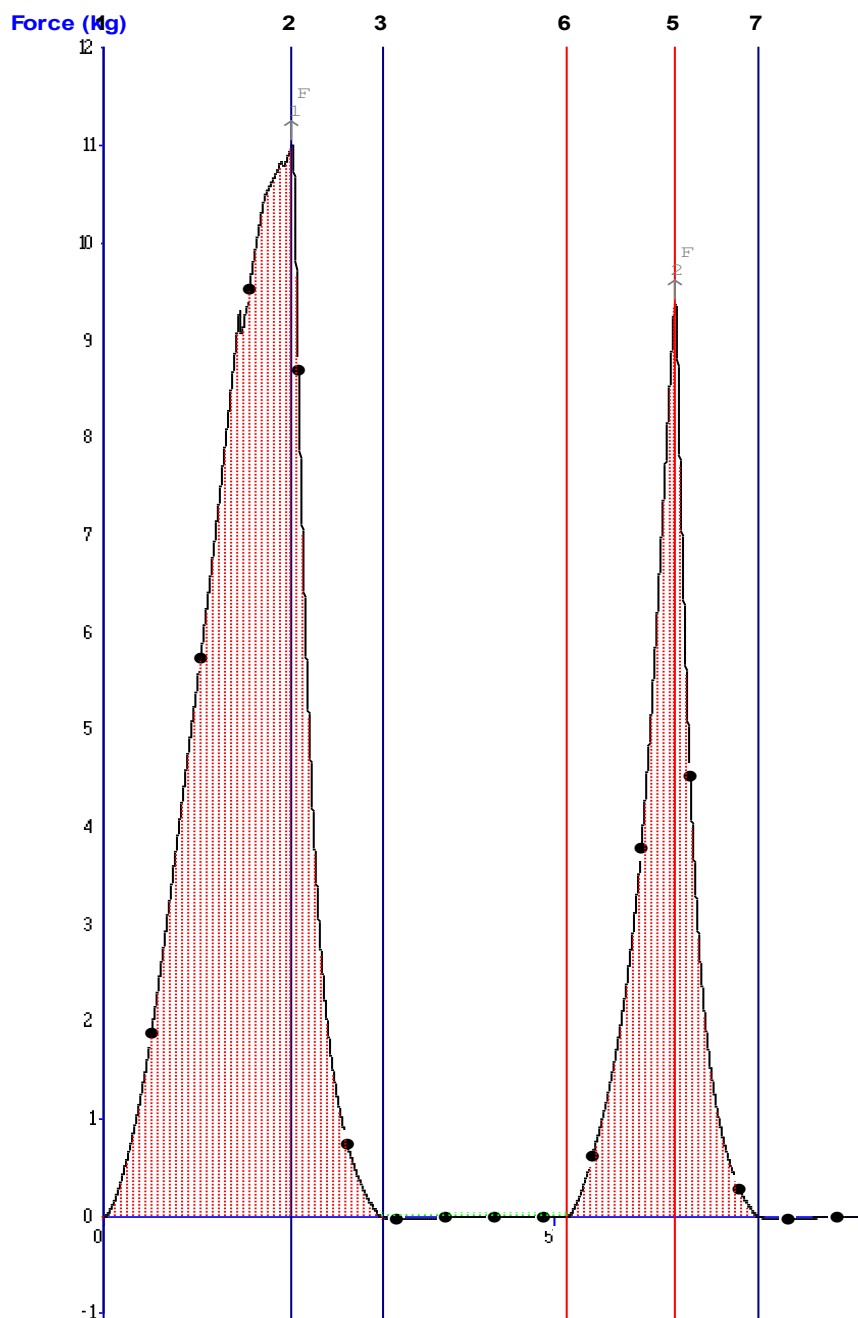
**Figura 5.2.** Misurazione dei parametri strutturali con dinamometro elettronico TA.XT.plus - Texture Analyser della Stable Micro Systems.

Le analisi strutturali sono state eseguite in corrispondenza di ciascun rilievo distruttivo impiegando il dinamometro elettronico TA.XT.plus - Texture Analyser della Stable Micro Systems (Fig. 5.2). Per tutte le tipologie di materiale è stato effettuato un test per ricavare il profilo di consistenza "Texture Profile Analysis" (TPA). Tale strumento cerca di riprodurre il gesto della masticazione, quindi l'azione della mascella e



mandibola. L'alimento viene compresso e rilasciato per due volte da un cilindro di compressione che si avvicina e allontana dal piano porta campione. I parametri per l'esecuzione del test sono: riportare metodo + immagine tipo del grafico ottenuto. Nei confronti del prodotto intero e/o sgambato si è proceduto recidendo l'intero gambo del fungo effettuando il test per il solo cappello. Il prodotto affettato è stato valutato posizionando 3 fette di fungo al fine di limitare l'effetto dovuto al piano di appoggio sulle forze registrate.

Il test TPA ha consentito di individuare diversi parametri strutturali di seguito riportati (Fig. 5.3):



**Figura 5.3.** Grafico risultante dal test TPA

- durezza (hardness) – altezza del picco di forza massima nel primo ciclo di compressione (primo morso)
- coesività (cohesiveness) – rapporto delle aree relative alla prima e seconda compressione ((area 1:2 + area 5:6)/(area 2:3 + area 5:7)). Rappresenta come il prodotto sopporta una seconda deformazione e come si è comportato nella prima deformazione.
- adesività (adhesiveness) – lavoro necessario per staccare il cilindro comprimente il campione (area 3:6)
- elasticità (springiness) – tempo impiegato dall'alimento per recuperare la sua altezza (tempo 5:6/tempo 1:2).
- gommosità (gumminess) – parametro ricavato dalla moltiplicazione di durezza x coesività
- masticabilità (chewiness) - parametro ricavato dalla moltiplicazione di gommosità x springiness
- resilienza o elasticità istantanea – (area 2:3/area 1:2)

### **Analisi statistica**

I dati sono stati elaborati tramite ANOVA e le medie separate con il test HSD di Tukey e all'occorrenza utilizzato il test LSD, quando il numero dei campioni non risultava numericamente uguale. Nelle figure riportate si è adottata la rappresentazione standard dove a lettere diverse corrispondono valori statisticamente diversi per  $P \leq 0.05$  e sono state riportate esclusivamente quando le differenze tra le tesi sono risultate significative.

Alcuni parametri non presentavano una distribuzione normale. Sono stati quindi utilizzati dei test non parametrici (Kruskal–Wallis e Mann–Whitney con  $p < 0.05$ ).

### **5.2. Risultati**

Le caratteristiche legate al colore sono risultate sostanzialmente stabili nel tempo per  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  (tabella 9.28), in particolare la varietà crema ha presentato valori stabili durante tutta la conservazione, con valori ovviamente più bassi per il parametro  $L^*$  dovuto alla tipica colorazione color nocciola. La tipologia bianco affettato ha presentato valori leggermente decrescenti nel corso della prova ed inferiori rispetto al prodotto bianco intero e sgambato. Durante la prova si è assistito ad un progressivo decremento di umidità per tutte e quattro le tipologie di prodotto

(tabella 9.29), arrivando a fine conservazione con una perdita di circa 10 g di acqua, pari al 2% dell'intero peso iniziale della confezione, in cui la tipologia bianco intero e la varietà crema hanno registrato una perdita maggiore rispetto alle altre referenze.

Per quanto riguarda la percentuale di sostanza secca (tabella 9.30) i valori sono risultati piuttosto costanti nei primi 10 giorni di conservazione per tutti i prodotti. Valori più alti, compresi tra 8 e 9%, sono stati registrati per lo champignon bianco intero rispetto alle altre tipologie.

In relazione al pH i valori si sono mantenuti costanti nei primi 6 giorni di conservazione e compresi tra 6 e 7 per le tipologie crema, bianco intero e bianco sgambato (tabella 9.31); il prodotto affettato ha presentato valori minori e prossimi a pH 5. La conducibilità elettrica è risultata stabile durante tutta la durata della conservazione (tabella 9.32), attestandosi su valori di 10 – 12 mS cm<sup>-1</sup> per le tipologie crema, bianco intero e bianco sgambato; per la tipologia di prodotto affettato i valori sono aumentati fino a 14 mS cm<sup>-1</sup> già dopo la prima settimana di conservazione. L'acidità titolabile si è mantenuta relativamente stabile per le tipologie W, SC e PW, registrando un lieve aumento da inizio a fine prova. La referenza S ha evidenziato un innalzamento più marcato dei valori, con un incremento percentuale del 127% dall'inizio a fine prova (tabella 9.33).

Anche nei confronti dei solidi solubili (tabella 9.34) l'andamento è risultato costante nei primi 6 giorni di conservazione per quasi tutte le tipologie, registrando un lieve calo a fine prova per le tipologie crema e affettato; una sostanziale differenza si è verificata per la tipologia bianco intero la quale ha presentato valori sensibilmente superiori ma stabili durante la prova, rispetto alla tipologia sgambato. Il contenuto di polifenoli totali (tabella 9.35) e la capacità antiossidante totale (CAT) (tabella 9.36) espressi su peso secco, non hanno presentato significative variazioni durante tutta la prova di conservazione, mantenendo valori sostanzialmente stabili.

Analizzando il contenuto di anioni e cationi si è potuto assistere ad un generale aumento di tutti gli elementi considerati, probabilmente dovuto alla perdita di umidità che ha aumentato la concentrazione degli elementi. L'unico elemento in controtendenza risulta il calcio, che diminuisce dal 30 al 40% all'aumentare del tempo di conservazione per le referenze Bianco intero e sgambato e per la varietà crema. La tipologia bianco intero (W) (tabella 9.37) ha subito un aumento generale dei valori fino a 10 giorni dall'inizio della prova, con valori che aumentano dal 6 al 30% per la maggior parte degli elementi. I nitrati aumentano del 75% dall'inizio della prova fino a 10 giorni di conservazione. Tali valori subiscono un lieve decremento dal 10° giorni fino a 14 giorni di conservazione. La tipologia bianco sgambato (SC) (tabella 9.38) ha presentato valori stabili o caratterizzati da lievi escursioni per quanto riguarda i cloruri e nitrati. Per fosfati e solfati

sono stati registrati gli incrementi più elevati (mediamente 25%), mentre per magnesio e potassio gli incrementi sono stati più contenuti (mediamente 8%). Sodio e calcio hanno subito una contrazione dei valori del 15 e del 40% rispettivamente. La referenza bianco affettato (S) ha presentato valori in generale più elevati già dal primo giorno di conservazione (tabella 9.39). Per quanto riguarda cloruri e sodio i valori sono rimasti stabili durante tutto il periodo di conservazione, mentre sono state registrate fluttuazioni anche importanti nel contenuto di nitrati. Un aumento medio del 20% ha interessato il contenuto di fosfati e solfati, mentre per il potassio l'incremento è stato più modesto (circa 7%). Calcio e magnesio hanno subito un decremento del 40 e del 15% rispettivamente. Infine, per la varietà crema (PW) (tabella 9.40) sono stati rilevati valori piuttosto stabili per quanto riguarda sodio, potassio e magnesio. Per quanto riguarda cloruri e calcio sono state registrate delle contrazioni di valori, pari rispettivamente a -7 e -20% circa. Fosfati e solfati hanno subito un aumento pari al 10 e al 20% circa da inizio e fine prova. I nitrati hanno subito un importante incremento fino a 10 giorni di conservazione (circa il 90%) per poi diminuire lievemente.

Per quanto riguarda le analisi strutturali sul prodotto, sono state effettuate prove di compressione utilizzando il test TPA, un test a doppia compressione che determina le proprietà strutturali di un cibo. Da questo tipo di test è possibile ricavare numerosi parametri strutturali. I dati ricavati dalla prova di compressione hanno evidenziato che, nei primi 6 giorni di conservazione, le tipologie considerate sono dotate di tessuti turgidi e ricchi di acqua, riuscendo a mantenere buone condizioni strutturali.

Per quanto riguarda il parametro della durezza (hardness) tutte le tipologie hanno presentato valori più elevati nella prima settimana di sperimentazione per poi subire una riduzione con il proseguire della conservazione (Fig. 9.20). In particolare il prodotto sgambato ha mostrato una diminuzione più marcata della consistenza, mentre, a differenza delle altre tipologie, la varietà crema non ha subito nessuna variazione al proseguire della conservazione. La tipologia bianco affettato ha presentato una minore adesività nei primi giorni di conservazione (Fig. 9.21), per poi aumentare al proseguire del tempo di conservazione. La varietà crema è stata caratterizzata dai valori più contenuti nei confronti di questo parametro che sono poi progressivamente aumentati durante la conservazione. La tipologia bianco sgambato ha presentato un'adesività sensibilmente superiore rispetto alla tipologia intera. Considerando l'elasticità (Fig. 9.22) il bianco affettato ha manifestato un decremento dei valori dopo la prima settimana di conservazione; le tipologie bianco intero e sgambato hanno presentato un'elasticità costante durante l'intera prova in

particolare per la tipologia intero, mentre per la tipologia sgambato si registra una lieve diminuzione dopo la prima settimana di conservazione. La varietà crema è invece caratterizzata da elasticità maggiore rispetto alle altre tipologie, con una lieve diminuzione a fine prova. La coesività della tipologia bianco affettato ha presentato un picco nella fase centrale del periodo di conservazione per poi ridursi e fornire valori analoghi al punto zero (Fig. 9.23). Le tipologie bianco intero e bianco sgambato non hanno registrato sostanziali differenze, presentando valori costanti per la prima settimana di conservazione per poi manifestare un leggero aumento al proseguire della conservazione, se pur con valori più bassi rispetto alla tipologia affettato. La varietà crema, invece, ha manifestato un sensibile incremento della coesività nella fase terminale della prova. La gommosità (Fig. 9.24) ha presentato le minori escursioni per la varietà crema e per la referenza bianco intero. La tipologia bianco affettato ha presentato un lieve aumento di valori per i primi 8 giorni, per poi diminuire il proprio valore di circa il 20%. Per la tipologia bianco sgambato, invece, la gommosità è diminuita in maniera costante per tutto il tempo di conservazione, riducendo il valore di partenza di circa il 60%. Il parametro della masticabilità (Fig. 9.25) ha avuto un andamento simile per le tipologie bianco affettato, bianco intero e per la varietà crema, i quali hanno evidenziato un progressivo e lieve aumento del parametro nei primi giorni di conservazione. La tipologia bianco sgambato, invece, è stata caratterizzata da una progressiva diminuzione fino a raggiungere un valore più basso di circa il 60% da inizio a fine prova di conservazione. Per quanto riguarda la resilienza del prodotto (Fig. 9.26) le tipologie crema e bianco sgambato hanno presentato un andamento simile, con un netto aumento dei valori nel primo periodo di conservazione per poi diminuire e riportarsi su valori prossimi a quelli ottenuti nel primo periodo di conservazione. La referenza bianco intero ha presentato valori in costante aumento, mentre per quanto riguarda il bianco affettato sono state registrate ridotte variazioni di valori.

### **5.3. Discussione**

I fisiologici processi di imbrunimento e senescenza dei prodotti alimentari sono dei fenomeni sgraditi al consumatore, che tendono ad accentuarsi quando prodotti deperibili, come possono esserlo i funghi, vengono stoccati a temperatura ambiente. *Agaricus bisporus*, se conservato a temperature attorno ai 4°C e mantenendo ininterrotta la catena del freddo, ha dimostrato di presentare una shelf-life superiore a 10 giorni. Tale risultato è in accordo con quanto affermato

da González-Fandos et al. (2000) e da Babalar et al. (2007) che hanno individuato breve durata di conservazione (1-3 giorni) per il prodotto mantenuto a temperatura ambiente e fino a 8-10 giorni in condizioni di refrigerazione. Come noto la catena del freddo riduce il deterioramento, tuttavia le fasi di distribuzione e vendita spesso avvengono a temperatura non inferiore a 18° riducendo notevolmente la shelf-life del prodotto.

Il colore è il principale parametro valutato dal consumatore al momento dell'acquisto e in questa prima fase di caratterizzazione è stato osservato che la referenza bianco affettato è quella che risente maggiormente della conservazione, dovuto probabilmente alla lavorazione effettuata che, esponendo un'ampia superficie di taglio, predispone il prodotto ad una senescenza più marcata e veloce durante tutta la prova di conservazione. Tra quelle considerate, quindi, la referenza affettato è quella che probabilmente richiederebbe qualche trattamento per mantenere le caratteristiche qualitative nel post-raccolta. Nerya et al. (2006) riportano che l'aggiunta di cloruro di calcio durante l'irrigazione migliora la colorazione del fungo al momento della raccolta e diminuisce il fenomeno dell'imbrunimento nel post-raccolta.

I funghi, inoltre, sono caratterizzati da un altissimo tasso di traspirazione in quanto sono privi di una struttura epidermica di protezione contro le perdite di umidità. In caso di disidratazione accentuata si verificano cambiamenti irreversibili del prodotto riconducibili a restringimento e perdita di peso (Singh et al., 2010) rendendoli non commerciabili. La progressiva perdita di umidità registrata durante la prova di conservazione trova conferma anche in letteratura, dove è stato dimostrato che durante la conservazione il gambo perde maggiore umidità rispetto al cappello (Donker e Van As, 1999; Gao et al., 2014). Nella caratterizzazione effettuata, infatti, la tipologia bianco intero e la varietà crema hanno registrato una perdita sensibilmente maggiore rispetto agli altri prodotti. Ciononostante, il valore di sostanza secca si è mantenuto stabile durante tutta la prova e il valore registrato risulta compreso tra 7 e 14%, percentuale che determina una maggiore consistenza del prodotto e una maggiore conservazione (Van Loon et al., 2000).

In relazione al pH i valori registrati sono rimasti pressoché costanti come confermato anche da Jaworska et al. (2010). Il decremento del pH nei confronti del prodotto affettato si è ripercosso sull'acidità titolabile che ha evidenziato un incremento sostanziale dall'inizio a fine prova. Tale aspetto è legato alla possibile liberazione di acidi organici durante i processi di respirazione del fungo che, nel caso del prodotto affettato, risultano più marcati rispetto agli altri. Alcuni autori hanno osservato inoltre la scomparsa di notevoli quantità di mannitolo durante la conservazione

e questo sembra indicare che tale zucchero risulti uno dei principali substrati respiratori durante la conservazione, ma risulta evidente che anche altri composti vengano utilizzati (Hammond and Nichols, 1975). Inoltre, il taglio del prodotto può avere liberato composti normalmente presenti all'interno delle cellule contribuendo all'innalzamento dell'acidità titolabile.

Per quanto riguarda i solidi solubili si è registrato un andamento abbastanza costante nei primi giorni di conservazione per quasi tutte le tesi, registrando un lieve calo a fine prova per le tipologie SC e S; una sostanziale differenza si è verificata per la tipologia bianco intero la quale ha presentato valori superiori e stabili durante la prova. Questa risposta può essere imputata alla respirazione del prodotto, in cui viene consumato mannitolo durante questo processo fisiologico. L'accumulo di mannitolo si concentra principalmente nel cappello e nella parte inferiore del gambo (Hammond e Nichols, 1975) e questo giustifica la differenza che è stata registrata tra la tipologia bianco intero e bianco sgambato, il quale risulta privo della parte inferiore del gambo. Tale fenomeno potrebbe verificarsi anche nella varietà crema che presenta, a fine prova, valori leggermente più alti rispetto alle tipologie sgambato e affettato.

La capacità antiossidante totale (CAT) su peso secco, non ha subito significative variazioni durante la prova di conservazione. I funghi contengono una varietà di metaboliti secondari, tra i quali troviamo i composti fenolici che risultano agire come buoni antiossidanti (Ghahremani-Majd e Dashti, 2015). Un aspetto molto importante degli antiossidanti è la loro azione contro il fenomeno dell'imbrunimento (Jolivet et al., 1998), il quale si verifica in seguito al taglio principalmente a causa della tirosinasi, enzima appartenente alla famiglia delle polifenolossidasi (Nerya et al., 2006).

Per quanto riguarda la texture del prodotto, si è assistito ad una generale diminuzione dei parametri che la descrivono, in seguito alla perdita di acqua del prodotto durante la conservazione (Gao et al., 2014); la varietà crema, invece, presenta una maggiore consistenza e considerazioni analoghe possono essere fatte anche per la tipologia bianco intero, rispetto alle altre referenze considerate. La referenza bianco sgambato ha presentato una diminuzione generale dei parametri considerati, verosimilmente dovuta al taglio della parte basale che può aver contribuito ad una precoce senescenza del prodotto rispetto alle due referenze che presentano la parte basale. Va anche considerato il trattamento di lavaggio che il prodotto sgambato subisce prima di essere confezionato per la vendita e che in qualche misura può influire sulla buona conservabilità del prodotto. La tipologia bianco affettato si è dimostrato essere la tipologia di prodotto più suscettibile a causa del tipo di lavorazione che subisce prima del

confezionamento e che limita fortemente un lungo tempo di conservabilità. A differenza delle altre tipologie, la varietà crema non ha subito nessuna variazione al proseguire della conservazione in quanto questa varietà presenta una consistenza maggiore rispetto alle altre.



## **6. GESTIONE DELLA SHELF-LIFE DI AGARICUS BISPORUS**

## **6.1. Materiali e metodi**

In seguito alla prova di caratterizzazione, in cui è stata fatta una panoramica del comportamento di 4 referenze di *A. bisporus*, è stata impostata una prova in cui, utilizzando diversi trattamenti food grade, ci si è posti l'obiettivo di aumentare la shelf life del prodotto o, quantomeno, di mantenere buone caratteristiche qualitative e strutturali per il tempo di conservazione. In questa sperimentazione è stata scelta solo la referenza bianco affettato, in quanto più suscettibile ai cambiamenti fisiologici legati alla senescenza. La prova, quindi, è stata condotta su funghi champignon (*Agaricus bisporus*) affettati sottoposti a differenti trattamenti chimici. I funghi sono stati forniti dal Consorzio Funghi di Treviso. La raccolta è avvenuta al raggiungimento del loro grado di maturità commerciale il giorno 11/10/2017, tempestivamente stoccati all'interno di borse frigo e portati, entro due ore dalla raccolta, presso i laboratori di Orticoltura del Dipartimento DAFNAE dell'Università di Padova dove è iniziata la fase di lavorazione e trattamento.

Una volta raggiunti i laboratori, è stata effettuata una cernita preliminare volta a selezionare funghi di grandezza uniforme e privi di danni meccanici. Successivamente, i funghi sono stati affettati in fette con spessore pari a 5 mm. Sono stati pesati circa 160 gr di prodotto e sui funghi affettati sono stati spruzzati circa 13 mL delle soluzioni che sono state selezionate.

Le soluzioni messe a confronto in questa prova sono acido citrico, acido salicilico e acido etilendiamminotetraacetico (EDTA) a 3 differenti concentrazioni.

La soluzione di acido citrico è stata scelta in base ai risultati ottenuti da Gupta e Bhat (2016). Analogamente, la soluzione di acido salicilico è stata selezionata in base ai risultati ottenuti da Dokhanieh e Aghdam (2016). Sono state selezionate le migliori concentrazioni trovate in bibliografia e messe a confronto con lo stesso prodotto diluito di 10 e 100 volte, per individuare la dose minima necessaria. Si è scelto di iniziare questa prova partendo da risultati soddisfacenti trovati in bibliografia, al fine di avere un punto di partenza che fornisca dei risultati, dai quali poi evolvere la ricerca in modo più raffinato. Inoltre, si è testata l'efficacia di tali prodotti chimici sui funghi affettati e prodotti nel contesto veneto, al fine di valutarne la reale efficacia.

Per quanto riguarda la soluzione con EDTA, il prodotto è stato usato da Miller (1994) miscelato con altri composti a creare un pool di sostanze con effetto sinergico. In questa prova è stata testata la sua potenzialità quando considerato come elemento singolo e valutare anche in questo caso la dose minima efficace, confrontandolo con i risultati di acido citrico e salicilico citati

precedentemente. Sono stati previsti, inoltre, dei campioni di controllo trattati con sola acqua demineralizzata.

Uno schema esplicativo delle soluzioni di trattamento e le relative concentrazioni è riportato in tabella 6.1:

TRATTAMENTO	DOSE		
Acido citrico	2,5%	0,25%	0,025%
Acido salicilico	250 $\mu$ M	25 $\mu$ M	2,5 $\mu$ M
EDTA	2 ppb	1 ppb	0,5 ppb

**Tabella 6.1.** Trattamenti effettuati e relative concentrazioni

Al termine del trattamento è stato simulato il confezionamento, così come avviene in azienda, collocando i funghi affettati su singole vaschette di plastica, precedentemente fornite dall'azienda stessa. Ogni vaschetta è stata infine chiusa con del film in polipropilene e numerata, seguendo il piano di campionamento definito, ed infine stoccata in cella frigorifera a +4°C.

Sono state campionate complessivamente 153 confezioni: tre non trattate sono state utilizzate come punto zero di riferimento della prova e indicate nei risultati alla data dell'11/10/2017 (0d); le altre, di cui tre campioni di controllo per ogni rilievo, sono servite per i rilievi seguenti che sono avvenuti dopo 2, 5, 7, 9 e 12 giorni dall'inizio della prova (dal 11/10/17 al 23/10/17). I campioni sono stati pesati al tempo zero e ad ogni campionamento al fine di valutare la variazione di peso nel corso della conservazione.

Ad ogni rilievo è stata valutata inoltre la sostanza secca dei campioni, e 11 g circa di funghi sono stati posti in stufa ventilata PID System Instrument modello M80-VF per 48 ore a 105°C. Il colore è stato valutato tramite colorimetro ottico Minolta CR-300, secondo il metodo Hunter Lab, considerando i valori di L\* che indica la luminosità del campione e varia dal nero (zero) al bianco (100), a\* che indica il colore del campione nell'intervallo tra il verde e il rosso ( $\pm 60$ ) e b\* nell'intervallo tra il blu e il giallo ( $\pm 60$ ). I valori delle tre coordinate L\*a\*b ottenuti sono stati successivamente incorporati in due formule che hanno permesso di calcolare il valore dell'indice  $\Delta E$  (Ajlouni, 1991) e BI (Palou et al., 1999).

$$\Delta E = [(L - 97)^2 + (a - (-2))^2 + b^2]^{1/2}$$

$$BI = \frac{100(x-0.31)}{0.172}, \text{ dove } x = \frac{a+1.75L}{5.645L+a-3.012b}$$

Una parte dei campioni è stata posta in congelatore a -20°C e sul liquido di scongelamento del prodotto sono stati registrati i valori di pH e conducibilità elettrica tramite un pHmetro/conduktivimetro portatile, modello HI 255 Hanna Instruments; l'acidità titolabile è stata valutata secondo la metodica ISO 750:1998 ed i risultati ottenuti sono stati espressi in mg di acido citrico su peso fresco. Circa 0,5 mL di liquido di scongelamento del prodotto sono serviti per la determinazione dei °Brix effettuata tramite rifrattometro portatile digitale HI 96801 Hanna Instruments.

Le altre analisi qualitative sono state effettuate su parte del campione precedentemente sottoposta a trattamento con azoto liquido per bloccare le attività metaboliche, liofilizzata, macinata finemente e conservata a -20°C. La determinazione di CAT e FT ha previsto per entrambi una comune fase di estrazione effettuata con 500 mg di funghi liofilizzati ai quali sono stati aggiunti 20 mL di metanolo; il campione è stato omogeneizzato per 30'' con l'ausilio di Ultra Turrax a velocità di 9000 rpm e quindi filtrato con carta da filtro (589 Schleicher).

La CAT è stata determinata con il metodo FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma). Il reagente FRAP (soluzione 1 mM di 2,4,6-tripiridil-2 triazina [TPTZ], 2 mM di cloruro ferrico e 250 mM di acetato di sodio a pH 3.6) è stato preparato giornalmente a partire da soluzioni madre di 300 mM di buffer acetato, 12 mM di TPTZ (in acido cloridrico 48 mM) e 24 mM di cloruro ferrico in rapporto 10:1:1. A 100 µL di estratto sono stati aggiunti 1900 µL di reagente FRAP e si è omogeneizzato con l'ausilio di un vortex; dopo 4' a 20° C è stata letta l'assorbanza a 593 nm. La lettura è stata confrontata con una curva di calibrazione costituita da soluzioni di solfato di ammonio ferroso con concentrazione da 0 a 800 ppm. La CAT è stata espressa come mg di Fe<sup>2+</sup> equivalenti (Fe<sup>2+</sup>E) per kg di campione secco.

Per la determinazione dei fenoli totali, invece, si sono prelevati 200 µL dell'estratto, sono stati aggiunti 1000 µL di reattivo Folin-Ciocalteu e 800 µL di carbonato di sodio anidro al 7.5%. Si è proceduto con 15'' di agitazione e successivo riposo per 30' a temperatura ambiente prima di leggere allo spettrofotometro ad una lunghezza d'onda di 765 nm. L'assorbanza è stata confrontata con quella letta da soluzioni a concentrazione nota di acido gallico (da 0 a 400 µg mL<sup>-1</sup>

<sup>1</sup>) le quali hanno subito lo stesso procedimento dei campioni. Il contenuto totale di fenoli è stato espresso come mg di acido gallico equivalenti (GAE) per kg di campione secco.

### **Analisi statistica**

I dati sono stati elaborati tramite ANOVA e le medie separate con il test HSD di Tukey e all'occorrenza utilizzato il test LSD, quando il numero dei campioni non risultava numericamente uguale. Nelle figure riportate si è adottata la rappresentazione standard dove a lettere diverse corrispondono valori statisticamente diversi per  $P \leq 0.05$  e sono state riportate esclusivamente quando le differenze tra le tesi sono risultate significative.

Alcuni parametri non presentavano una distribuzione normale. Sono stati quindi utilizzati dei test non parametrici (Kruskal–Wallis e Mann–Whitney con  $p < 0.05$ ).

### **6.2. Risultati**

Una prima considerazione generale riguardo al colore permette di dire che il parametro L che misura la luminosità dei funghi, come atteso, è diminuita all'aumentare del tempo di conservazione, mentre i valori  $a^*$  e  $b^*$  sono progressivamente aumentati per tutti i prodotti testati.

Il trattamento con acido citrico (Fig. 9.27) ha presentato un andamento decrescente per quanto riguarda il valore L partendo da un valore medio pari ad 83 e raggiungendo un valore medio finale di 74 per quanto riguarda le concentrazioni a 0,25% e 2,5%. Sebbene non sia stata registrata differenza statistica rispetto alle altre concentrazioni, quella a 0,025% ha determinato il valore maggiore, pari a 78. Il testimone ha fornito un valore finale pari a 62, statisticamente diverso da tutte le concentrazioni testate. Durante il corso della prova si sono registrate differenze significative tra le diverse concentrazioni solo dopo 7 e 12 giorni dall'inizio della prova. A 7 giorni da inizio prova sono state registrate differenze significative in cui la concentrazione a 0,25% è risultata significativamente diversa solo dalla concentrazione a 2,5). Il valore  $a^*$  (tabella 9.41) ha presentato un trend crescente non lineare, presentando differenze a livello statistico dopo 12 giorni dall'inizio della prova, nel quale il valore più elevato è stato fornito dal testimone (3,6), diverso solo dal trattamento allo 0,025% (con valore pari a 1,9).

Anche il valore  $b^*$  ha presentato un trend crescente, incrementando i valori nel corso della conservazione. Non ha registrato differenze significative nei rilievi durante il corso della prova,

presentando un valore medio pari a 10,22 ad inizio sperimentazione e un valore medio finale pari a 16,28 dopo 12 giorni (tabella 8.42).

Nel trattamento con acido salicilico a fornire i risultati migliori per il valore L è stata la concentrazione a 250  $\mu\text{M}$  fornendo un valore pari a 74 (Fig. 9.28) sebbene non sia risultata statisticamente diversa dalle altre concentrazioni, ma solo da testimone non trattato, il quale si è attestato su 62; i valori  $a^*$  e  $b^*$  (tabella 9.42) hanno mostrato un andamento simile a quello riscontrato nel trattamento con acido citrico. Il valore  $a$  ha mostrato un andamento meno lineare rispetto alle altre due coordinate di colore, in cui sono state registrate differenze statistiche dopo 7, 9 e 12 giorni dall'inizio della prova. Dopo 7 giorni i valori statisticamente diversi sono risultati i trattamenti a 2,5  $\mu\text{M}$  e 250  $\mu\text{M}$  i quali hanno fornito valori più elevati (2,63 e 2,48 rispettivamente) rispetto al testimone che ha presentato un valore pari a 1,42. Dopo 9 giorni la concentrazione a 25  $\mu\text{M}$  e quella a 2,5  $\mu\text{M}$  sono risultate diverse solo dal testimone non trattato (1,88). Dopo 12 giorni il testimone ha registrato un forte incremento dei valori, attestandosi su 3,65. I trattamenti a concentrazione 25  $\mu\text{M}$  e 2,5  $\mu\text{M}$  hanno presentato valori molto simili tra loro. Il dato fornito dal trattamento a 250  $\mu\text{M}$  è risultato minore (2,27) e statisticamente diverso solo dal testimone. Il valore  $b^*$  ha mostrato un andamento più lineare e andamento crescente, mostrando differenze significative solo dopo 12 giorni dall'inizio della sperimentazione. La concentrazione che ha manifestato il valore più elevato è stata 25  $\mu\text{M}$  (17,26), risultata significativamente diversa dal trattamento a 250  $\mu\text{M}$  (16,31) e dal testimone (14,88).

Il trattamento con EDTA relativamente al valore L ha dimostrato mediamente di mantenere il valore  $a$  a livelli più elevati (Fig. 9.29) e le diverse concentrazioni non hanno dimostrato effetti statisticamente diversi tra loro, ma solo rispetto al testimone non trattato dopo 9 e 12 giorni da inizio prova; a 9 giorni il valore più elevato è stato registrato nei funghi trattati con 1 ppb di EDTA (82), statisticamente diverso solo dalla concentrazione a 0,5 ppb (75). Dopo 12 giorni è la concentrazione a 0,5 ppb a presentare il valore più elevato (77), diverso solo dal testimone non trattato (62). Per quanto riguarda il valore  $a^*$  (tabella 9.43) l'andamento non è stato lineare, presentando significatività solo negli ultimi due rilievi. Dopo 9 giorni il valore più elevato è stato registrato nei funghi trattati con 0,5 ppb (2,45), diverso solo dal trattamento a 1 ppb (0,80). Nell'ultimo rilievo il valore più elevato è stato registrato nel testimone (3,65), diverso solo dalla concentrazione a 0,5 ppb (1,71). Il valore  $b^*$  (tabella 9.43) ha mostrato un progressivo aumento fino a 7 giorni dall'inizio della prova per tutte le concentrazioni testate, mostrando delle differenze sono negli ultimi due rilievi, in cui il testimone ha offerto in entrambi i casi il valore più

elevato (15,54 dopo 9 giorni e 17,66 dopo 12 giorni). ST è risultato statisticamente diverso solo dalla concentrazione a 1 ppb (12,95) dopo 9 giorni e dalle concentrazioni a 0,5 e 1 ppb (15,99 e 15,82 rispettivamente) dopo 12 giorni.

I valori delle tre coordinate  $L^*a^*b$  ottenuti sono stati successivamente incorporati in due formule che hanno permesso di calcolare il valore dell'indice  $\Delta E$  e BI. L'indice  $\Delta E$  (Fig. 8.27) nel trattamento con acido citrico ha registrato un trend crescente, mostrando significatività dopo 5, 7 e 12 giorni di conservazione. Dopo 5 giorni il valore di  $\Delta E$  più elevato è stato registrato nel testimone di controllo (22,56) diverso solo dal trattamento a 2,5% (18,80). Dopo 7 giorni in valore più elevato è stato registrato nel trattamento con 2,5% (24,74), diverso dalle concentrazioni a 0,25 e 0,025% (20,34 e 20,65 rispettivamente). Nell'ultimo rilievo, dopo 12 giorni, il testimone non trattato ha subito un importante incremento (38,37), diverso da tutti gli altri trattamenti. Le concentrazioni a 0,025 e 2,5% sono risultate simili (24,88 e 27,92) ed è stata registrata significatività tra 0,25 (31,29) e 0,025%, il quale ha fornito il risultato più basso. L'indice BI (Fig. 9.27) ha presentato il medesimo andamento osservato per l'indice  $\Delta E$ , presentando differenze meno accentuate rispetto all'indice precedente nei rilievi in quei è stata registrata significatività statistica. È stata rilevata significatività dopo 5, 7 e 12 giorni dall'inizio della prova. Dopo 5 e 12 giorni il valore più elevato è stato offerto dal testimone non trattato (19 e 31 rispettivamente), diverso dalle concentrazioni a 0,25 e 0,025%.

Nel trattamento con acido salicilico (Fig. 9.28), il trend ha avuto lo stesso andamento osservato nel trattamento con acido citrico. In questo caso è stata registrata significatività solo dopo 12 giorni di conservazione, in cui il testimone non trattato ha fornito il valore più alto (38,37), diverso da tutte le concentrazioni testate. Analoghe considerazioni possono essere fatte per l'indice BI (Fig. 8.28), L'andamento è risultato crescente da inizio a fine prova ed è stata registrata significatività solo a livello dell'ultimo rilievo, in cui il testimone di controllo è risultato più elevato, diverso solo dalla tesi a 250  $\mu\text{M}$ . EDTA ha presentato lo stesso trend crescente (Fig. 9.29). In questo caso tutte le concentrazioni di EDTA hanno fornito un vantaggio al prodotto, mantenendo  $\Delta E$  mediamente più basso già dopo 7 giorni di conservazione, anche se dopo 9 giorni il testimone di controllo (26,51) si è differenziato solo dal trattamento a 1 ppb (20,33). Dopo 12 giorni il testimone non trattato si è differenziato da tutte le tesi trattate, le quali hanno fornito un valore medio pari a 28. Per quanto riguarda l'indice BI (Fig. 9.29) si è potuto assistere al medesimo trend, registrando differenze a livello statistico solo dopo 9 e 12 giorni. In entrambi i casi il valore più elevato è stato fornito dal testimone non trattato (25 dopo 9 giorni e 31 dopo 12 giorni), mentre il

valore più basso è stato registrato dalla concentrazione a 1 ppb dopo 9 giorni (17) e dalla concentrazione a 0,5 ppb (24) dopo 12 giorni.

Per tutti i parametri indicatori della qualità del prodotto, non sono state rilevate differenze significative per gran parte dei parametri considerati. Tutti i valori sono riportati sinteticamente nella tabella 9.44 per l'acido citrico, nella tabella 9.45 per l'acido salicilico e nella tabella 9.46 per EDTA. Nella prova effettuata, l'andamento dell'umidità è stato monitorato analizzando la percentuale di sostanza secca ad essa complementare. Per tutti e tre i prodotti chimici testati il trend è risultato in lieve diminuzione nel corso della prova, non facendo registrare quindi delle perdite d'umidità importanti, al contrario del testimone che invece ha mostrato un tasso di traspirazione maggiore, il quale è risultato statisticamente diverso rispetto ai campioni trattati nella maggior parte dei casi.

Nei confronti dell'acido citrico il testimone si è differenziato da tutte le concentrazioni dopo 9 e 12 giorni, fornendo il valore più elevato, pari a 7,32% dopo 9 giorni e 6,88% dopo 12 giorni; relativamente al trattamento con acido salicilico, la concentrazione che ha mantenuto un livello di sostanza secca minore e quindi una probabile minor perdita di umidità è risultata quella a 2,5  $\mu\text{M}$  (7,32%), statisticamente diversa solo dal testimone non trattato (6,63%) dopo 9 giorni, mentre dopo 12 giorni ha mostrato differenze dal trattamento a 250  $\mu\text{M}$  (6,69%) e dal testimone di controllo (6,88%). Per quanto riguarda l'EDTA anche in questo caso sono state registrate differenze solo verso la fine della prova. Dopo 9 giorni il valore più elevato è stato riscontrato nel testimone di controllo (7,32%), diverso dalle concentrazioni a 1 e 2 ppb (6,57 e 6,50% rispettivamente). Dopo 12 giorni a fornire il valore più basso di sostanza secca è stata la concentrazione a 1 ppb (6,23%) diversa solo dal testimone di controllo (6,88%).

I valori di pH si sono ridotti in tutti e tre i trattamenti senza evidenziare differenze a livello statistico tra le concentrazioni ed il testimone durante la maggior parte del periodo di conservazione. Nel trattamento con acido citrico, sono state registrate differenze dopo 9 e dopo 12 giorni da inizio conservazione. Dopo 9 giorni il valore di pH minore è stato registrato nel testimone (6,7), diverso da tutti gli altri trattamenti. Dopo 12 giorni il valore più basso è sempre stato registrato nel testimone di controllo (6,4), diverso solo dal trattamento a 0,25% (6,8). Nell'ambito del trattamento con acido salicilico sono state osservate differenze dopo 9 giorni dall'inizio della sperimentazione, in cui la concentrazione a 2,5  $\mu\text{M}$  ha fornito il risultato minore (6,43), diverso solo dalla concentrazione a 25  $\mu\text{M}$  (6,82). Nel trattamento con EDTA è stata



osservata differenza statistica solo dopo 12 giorni, in cui il testimone ha fornito il risultato più basso (6,4).

L'abbassamento, seppur lieve, del pH nel corso della conservazione ha comportato il conseguente aumento dell'acidità titolabile per ogni trattamento. Nel trattamento con acido citrico, sono state registrate differenze statistiche già dopo 5 giorni dall'inizio della prova, ed è stato possibile assistere al medesimo andamento in tutti i rilievi. Il trattamento con acido citrico, indipendentemente dalla concentrazione, ha agito mantenendo il valore più basso rispetto al testimone di controllo. Il trattamento con acido salicilico non ha agito in modo marcato sul contenimento dell'acidità titolabile. Si è potuto assistere infatti ad un aumento di valori già dopo 5 giorni da inizio prova, con valori superiori e statisticamente diversi nel trattamento a 2,5  $\mu\text{M}$  (mediamente 0,19% di acido citrico su pf), andamento rimasto piuttosto stabile fino a 9 giorni dopo l'inizio della prova. A 12 giorni il valore più elevato di acidità titolabile è stato registrato dal trattamento con 25  $\mu\text{M}$  (0,21 % acido citrico su pf), diverso solo dal trattamento a 250  $\mu\text{M}$  (0,16% acido citrico su pf). Nel trattamento con EDTA, infine, a mantenere il valore di acidità più basso sono stati i campioni trattati, non presentando significatività tra le diverse concentrazioni. Dopo 7 giorni dall'inizio della prova il valore più elevato è stato registrato nel testimone di controllo (0,14% acido citrico su pf), diverso solo dalla concentrazione a 2 ppb (0,11 % acido citrico su pf). Dopo 9 giorni dal confezionamento i campioni trattati si sono mantenuti stabili con valori inferiori rispetto al testimone, dopo 12 giorni è stato osservato un analogo andamento, presentando un valore medio pari a 0,14% acido citrico su pf per le tesi trattate, diverso rispetto al controllo (0,19% acido citrico su pf).

Relativamente alla conducibilità elettrica, il trend è risultato in aumento per tutti e tre i trattamenti, ma in tutti i casi non sono state rilevate differenze significative tra il testimone e le concentrazioni testate.

Per quanto riguarda i °Brix, anche in questo caso è stato registrato un generale aumento dei valori; in particolare per il trattamento con acido citrico non sono state rilevate differenze a livello statistico tra le varie concentrazioni ed il testimone. Nelle tesi trattate con acido salicilico, invece, sono state rilevate differenze statistiche dopo 7 giorni e la tesi a 2,5  $\mu\text{M}$  ha fornito il risultato statisticamente inferiore alle altre tesi (4,7 °Brix). Dopo 12 giorni dall'inizio della prova è stato confermato quanto osservato dopo 7 giorni. Nel trattamento con EDTA sono state osservate differenze già dopo 5 giorni dall'inizio della sperimentazione, in cui il valore statisticamente più elevato è stato registrato nelle tesi trattate con 1 ppb (6,07 °Brix), diverso dalla tesi a 2 ppb (5,57

°Brix) e dal testimone non trattato (5,50 °Brix). Dopo 7 giorni i valori più elevati sono stati registrati nelle tesi a 0,5 ppb e 1 ppb (5,93 e 5,90 °Brix rispettivamente), diverse dal testimone (5,20 °Brix). Dopo 9 giorni 0,5 ppb è stata la tesi a presentare il valore maggiore (6,03 °Brix), diverso dalle altre due tesi trattate.

Nei confronti del contenuto di polifenoli totali, il trattamento con acido citrico ha mantenuto i valori relativamente stabili durante il corso della sperimentazione, registrando significatività dopo 7 giorni dove la concentrazione a 0,025% ha offerto il risultato più alto con 2472 mg Fe<sup>2+</sup> E kg<sup>-1</sup>ps diverso solo dalla concentrazione a 0,25% (1924 mg Fe<sup>2+</sup> E kg<sup>-1</sup>ps). Dopo 12 giorni il testimone non trattato ha registrato il valore più elevato (2312 mg Fe<sup>2+</sup> E kg<sup>-1</sup>ps), diverso da tutte le tesi trattate. Il trattamento con acido salicilico ha determinato scostamenti rilevanti nelle ultime fasi di conservazione. Dopo 9 giorni l'unico valore elevato e significativamente diverso è stato registrato nei campioni trattati con la concentrazione a 25 µM (2310 mg Fe<sup>2+</sup> E kg<sup>-1</sup>ps), mentre dopo 12 giorni il valore più elevato è stato offerto dal testimone di controllo (2312 mg Fe<sup>2+</sup> E kg<sup>-1</sup>ps), diverso dalla concentrazione a 250 µM (2099 mg Fe<sup>2+</sup> E kg<sup>-1</sup>ps) e dalla concentrazione a 25 µM (2008 mg Fe<sup>2+</sup> E kg<sup>-1</sup>ps). Infine, per quanto riguarda il trattamento con EDTA, è stata registrata un aumento generale per tutte le tesi considerate, ma senza che siano state registrate differenze a livello statistico durante tutto il corso della prova.

Per quanto riguarda il contenuto di fenoli totali si è potuto assistere ad una generale diminuzione dei valori per tutti i trattamenti considerati e le relative concentrazioni, senza che sia stata registrata alcuna differenza statistica, fatta eccezione per il trattamento con EDTA dopo 7 giorni da inizio prova, in cui il valore relativo alle tesi trattate con 1 ppb è risultato più elevato con 2057 mg GAE kg<sup>-1</sup>ps, diverso solo dalla tesi a 2 ppb e dal testimone di controllo.

### **6.3. Discussione**

L'aspetto esteriore gioca un ruolo fondamentale nel considerare apprezzabile un prodotto da parte del consumatore. Nel caso dei funghi e in particolare di *Agaricus bisporus* l'assenza di ammaccature e il colore bianco sono alcuni dei requisiti imprescindibili per poter considerare un prodotto di qualità e una diminuzione della luminosità durante il tempo di conservazione comporta anche una diminuzione del suo valore commerciale (Gupta e Bhat, 2016). In questa prova si è voluto comparare tra loro diversi trattamenti, per valutare l'azione delle diverse

soluzioni chimiche su campioni di *Agaricus bisporus*; questo ha inoltre permesso di capire quale trattamento risultasse avere un'azione migliore nel ritardare la perdita di luminosità del fungo.

Il valore L tra le coordinate colore risulta rappresentativo della qualità del fungo, in quanto fornisce informazioni sulla sua bianchezza e luminosità; i valori a e b invece non forniscono direttamente informazioni aggiuntive sul colore (Moquet et al., 1997), ma vengono considerati in quanto parametri necessari nella formula per calcolare l'indice di imbrunimento.

Riguardo alla prova effettuata, una prima considerazione generale permette di affermare che, per tutti i trattamenti, la bianchezza e la luminosità dei funghi sono diminuite all'aumentare del tempo di conservazione, mentre i valori a e b sono progressivamente aumentati; questo andamento è lo stesso riscontrato da Gupta e Bhat (2016) nel loro studio.

Il trattamento in cui è stato utilizzato l'EDTA è risultato esplicitare una migliore funzione su tutte e tre le coordinate colore: relativamente al valore L, l'EDTA ha registrato una diminuzione media dell'8%, contro una diminuzione media del 15% riscontrata nelle altre sostanze considerate, per tutta la durata della prova; per quanto concerne i valori di a e b invece, ha dimostrato mantenere i valori a livelli più bassi. Inoltre, in linea generale, la concentrazione che meglio ha saputo gestire la perdita di luminosità è stato il trattamento a 1 ppb.

Un andamento analogo è stato riscontrato da Gupta e Bhat (2016) dove, sebbene le concentrazioni di EDTA siano molto maggiori rispetto alla nostra prova (2%, 4% e 6%) e le modalità di trattamento del campione diverse, si è visto che la concentrazione al 2% ha registrato complessivamente i dati migliori. Si può quindi ipotizzare che concentrazioni troppo basse o troppo alte di EDTA non riescano a fornire le migliori performance.

Relativamente al trattamento con acido citrico, non sono state notate differenze rilevanti per tutti i parametri considerati. Solo nei confronti del colore si può affermare che la concentrazione minore ha avuto una lieve influenza sul mantenimento della luminosità dei funghi. Nello studio effettuato da Gupta e Bhat (2016) l'utilizzo di acido citrico ha fornito buoni effetti, anche se viene portata l'attenzione sulla quantità di questo conservante, in quanto alte concentrazioni di acido citrico hanno portato ad un ingiallimento dei funghi trattati. Basse concentrazioni di acido citrico sembrano quindi esercitare un'azione migliore sull'aspetto e la qualità del fungo. Nel trattamento con acido salicilico, a fornire i risultati migliori in linea generale è stata la concentrazione a 250  $\mu\text{M}$ , confermando i risultati ottenuti da Dokhanieh e Aghdam (2016).

I valori delle tre coordinate  $L^*a^*b$  raccolti sono stati successivamente incorporati in una formula che ha permesso di calcolare il valore dell'indice  $\Delta E$  secondo quanto riportato anche da Gao et al. (2014), Gupta e Bhat (2016) e Dokhanieh e Aghdam (2016) in studi analoghi.

Gli indici  $\Delta E$  e BI forniscono un'indicazione su quanto il colore del campione trattato differisca da quello di uno standard di riferimento, nel nostro caso da un fungo ideale i cui valori sono  $L=97$ ,  $a=2$  e  $b=0$ , mentre l'indice di imbrunimento BI è correlato al cambiamento del colore nel fungo e alle coordinate colore: esso aumenta quando il valore di L diminuisce e contemporaneamente i valori di  $a^*$  e  $b^*$  aumentano (Gupta e Bhat, 2016); ciò è avvenuto anche nella prova effettuata, dove il valore di BI è quasi raddoppiato durante i 12 giorni di conservazione. In questa sperimentazione, il trattamento con EDTA ha mostrato di esercitare l'effetto migliore: tra i tre trattamenti è quello che ha registrato il valore più basso ed è quindi quello che meno si è discostato dalla situazione ideale e di riferimento.

L'imbrunimento del fungo è dovuto principalmente all'attività enzimatica e l'ausilio di basse temperature di stoccaggio contribuisce a inattivare o comunque a contenere l'attività degli enzimi responsabili e quindi rallentare le loro attività metaboliche. Mohapatra et al. (2010) hanno osservato le diverse cinetiche dell'indice di imbrunimento a temperature di stoccaggio diverse. Quando le temperature di stoccaggio sono molto basse, il valore del BI non cambia col passare del tempo, mentre con l'aumento della temperatura e del periodo di conservazione si è registrato un aumento anche del valore dell'indice. Tra le temperature considerate nello studio citato è presente anche la temperatura a cui è stata condotta la presente sperimentazione, ovvero 4°C. Paragonando i risultati da loro ottenuti con quelli della prova effettuata si può notare che quest'ultimi hanno fornito dei valori generalmente più alti, raggiungendo un valore superiore a 20, contro un valore di circa 17 registrato da Mohapatra et al. (2010).

La perdita di umidità durante la conservazione è un'altra problematica che comporta perdita di qualità nel fungo e che si riflette in variazioni della texture. Ciò è dovuto all'alto tasso di traspirazione dei funghi, che risulta maggiore rispetto ad altri frutti come ad esempio le mele che possiedono un basso coefficiente di traspirabilità (Manolopoulou et al., 2007). Nel caso del fungo la causa di questo fenomeno è dovuta alla sua morfologia, in quanto la cuticola che ricopre il cappello non offre resistenza contro la perdita di umidità. In questa sperimentazione, l'andamento dell'umidità è stato monitorato analizzando la percentuale di sostanza secca ad essa complementare. Per tutti i trattamenti il trend è risultato decrescente senza scostamenti di rilievo, registrando quindi delle lievi perdite d'umidità, al contrario del testimone non trattato che

invece ha mostrato un tasso di traspirabilità maggiore. I trattamenti, in questo caso, hanno offerto un contributo al mantenimento dell'umidità del prodotto.

Per quanto riguarda l'andamento generale del pH, la generale riduzione osservata ha interessato tutti i trattamenti; i valori riscontrati sono risultati leggermente inferiori rispetto a quelli registrati da Aday (2016) dove invece, a parità di giorni di conservazione, il valore del pH è sceso in maniera meno marcata. I dati riscontrati nelle analisi effettuate hanno trovato riscontro anche con quanto rilevato da Jaworska et al. (2010) che ha registrato valori di pH analoghi.

L'abbassamento del pH nel corso della conservazione ha comportato il conseguente aumento dell'acidità titolabile per ogni trattamento, dovuto alla possibile liberazione di acidi organici durante i normali processi fisiologici del fungo. Nella prova effettuata i trattamenti che hanno saputo contenere l'innalzamento dell'acidità titolabile sono stati l'acido citrico e l'EDTA, mentre il trattamento con acido salicilico ha offerto valori simili al testimone non trattato, suggerendo che questo prodotto non ha azione sul contenimento di tale parametro. Relativamente alla conducibilità elettrica, il trend è risultato in aumento in tutti e tre i trattamenti, probabilmente correlato con l'aumento dell'indice di imbrunimento e quindi con una conseguente perdita dell'integrità della membrana del fungo. Per quanto riguarda i °Brix, anche in questo caso si è registrato un aumento dei valori per tutti e tre i trattamenti, probabilmente dovuto alla disidratazione del prodotto e conseguente aumento della concentrazione dei solidi solubili. Per quanto riguarda la capacità antiossidante totale ed il contenuto di fenoli totali, gli andamenti sono risultati complementari: per la capacità antiossidante si è registrato un leggero aumento nel corso della conservazione mentre i fenoli hanno mostrato un andamento decrescente, legato all'indice di imbrunimento e quindi all'azione della polifenolo ossidasi.

I funghi contengono naturalmente una varietà di metaboliti secondari, tra cui i composti fenolici che risultano agire come buoni antiossidanti. Un aspetto molto importante degli antiossidanti è la loro capacità di contrastare il fenomeno dell'imbrunimento (Jolivet et al., 1998), il quale si verifica in seguito al taglio principalmente a causa della tirosinasi (Nerya et al., 2006). I fenoli possono essere ossidati dalla PPO e causare l'imbrunimento, ma anche avere capacità antiossidante, quando vengono accumulati dalla coltura in risposta allo stress post raccolta (Dokhanieh e Aghdam, 2016).

In estrema sintesi, ciò che è emerso dalla prova permette di dire che l'EDTA è la sostanza che meglio ha agito sul mantenimento della luminosità, mostrando differenze più basse nei confronti

dello standard di riferimento ideale. La concentrazione che ha registrato i risultati migliori è stata pari a 1 ppb, una quantità davvero minima se paragonata al risultato ottenuto.

Per i parametri rimanenti di sostanza secca, pH, acidità titolabile, conducibilità elettrica e °Brix non si sono riscontrati dei valori uniformi e costanti; ciononostante si è potuto notare una ripetibilità nei risultati per la concentrazione a 2 ppb nel trattamento con EDTA.

## **7. CONCLUSIONI**

### **7.1. Premessa**

L'aumento della popolazione mondiale e il conseguente fabbisogno alimentare, ha visto un'evoluzione dell'agricoltura indirizzata verso tecniche produttive di tipo intensivo che hanno portato ad un impoverimento della sostanza organica nel terreno e alla conseguente diminuzione della sua fertilità. Esistono molteplici soluzioni in grado di contenere tale perdita e al contempo di reintegrare il contenuto di sostanza organica nel suolo, quali le lavorazioni del terreno, le rotazioni colturali e le concimazioni organiche. In considerazione di quest'ultime, l'apporto viene maggiormente effettuato con l'utilizzo delle deiezioni zootecniche: negli ultimi anni la disponibilità di letame da impiegare come fertilizzante sta diminuendo, e nel contempo si può assistere alla crescente disponibilità di altre fonti che attualmente non sono ancora valorizzate, come ad esempio il compost spento di fungaia.

Il compost spento di fungaia (SMS dall'acronimo inglese di *Spent Mushroom Substrate*) è uno scarto risultante dalla produzione di funghi coltivati. La fungicoltura ha come scopo principale la produzione di funghi edibili, in cui la maggior quota produttiva è rappresentata da *Agaricus bisporus*. È divenuta una vera e propria attività produttiva solo nell'ultimo secolo, subendo recentemente diversi processi evolutivi, dovuti all'introduzione di sempre più avanzate tecnologie. Il compost spento di fungaia rappresenta attualmente un prodotto di scarto della coltivazione di *A. bisporus*, che potrebbe rientrare nella categoria degli ammendanti impiegabili in agricoltura grazie alle sue ottime capacità fertilizzanti.

Il presente lavoro ha voluto dimostrare la potenzialità del compost spento di fungaia ad essere impiegato come matrice organica in orticoltura, comparto dell'agricoltura caratterizzato da intense successioni colturali e frequenti lavorazioni.

Inoltre, parte di questa sperimentazione ha previsto la caratterizzazione di *A. bisporus* e successivamente l'utilizzo di prodotti food grade per mantenere le caratteristiche qualitative dello champignon nel post raccolta.

### **7.2. Caratterizzazione e gestione di spent mushroom substrate**

Il primo passo fondamentale nell'affrontare questa sperimentazione ha previsto la caratterizzazione del substrato spento di fungaia, al fine di poter delineare una prima panoramica sulle potenzialità della matrice come fertilizzante e/o ammendante.



Dalle analisi eseguite sulle tipologie di SMS, i quali prevedono variazioni sulla scelta delle matrici di partenza per la sua formulazione, non sono emerse significative differenze dei principali parametri presi in considerazione tra i diversi substrati, potendo quindi prescindere la loro composizione di partenza e considerarlo una matrice omogenea. Il solo parametro soggetto a variazioni di rilievo è la percentuale di sostanza secca: essendo SMS molto ricco d'acqua per sua natura, le fluttuazioni sul contenuto di umidità sono molto accentuate, in special modo se SMS viene stoccato per lunghi periodi in cumulo. In tali condizioni, lo strato più esterno funge da scudo per la perdita di umidità negli strati sottostanti, nei quali possono innescarsi processi fermentativi che elaborano ulteriormente la matrice ma senza che si verifichino perdite tali da comprometterne la capacità fertilizzante. La possibilità di stoccare SMS in cumulo risulta molto vantaggiosa per gli agricoltori, che spesso si trovano nelle condizioni di non poterlo utilizzare subito, per motivazioni che riguardano la gestione colturale ma soprattutto per le limitazioni imposte dalla normativa 91/676/CEE (Direttiva Nitrati). Il suo stoccaggio in condizioni protette, quali ad esempio una semplice tettoia, possono limitare le variazioni che sono state osservate in questa prova. Dal punto di vista sperimentale, inoltre, potrebbe essere interessante osservare i cambiamenti che avvengono nel cumulo in diverse condizioni di stoccaggio.

SMS risulta dotato di buoni contenuti nutrizionali, soprattutto per quanto riguarda le percentuali di sostanza organica e azoto, i cui valori restano stabili anche dopo 12 mesi di stoccaggio. Risulta ben dotato anche di fosforo e potassio, i quali però sono soggetti a perdite dovute soprattutto alla loro intrinseca attitudine alla lisciviazione.

Presenta un buon rapporto C/N, dato che conferma la buona attitudine della matrice a poter essere utilizzato come fertilizzante. L'unico parametro che può destare preoccupazione nel suo utilizzo è il contenuto di sali rilevato dalla misurazione della conducibilità elettrica, risultando elevato se comparato con un comune letame. Questo aspetto è da tenere in considerazione al momento del suo utilizzo, ma tale problema può essere facilmente gestito se la quantità utilizzata non eccede le reali esigenze colturali. Se utilizzato in coltura protetta, ad esempio per la coltivazione di ortaggi baby leaf destinati alla 4<sup>a</sup> gamma, il valore della conducibilità elettrica può creare seri problemi se non utilizzato secondo necessità: l'utilizzazione di una serra limita fortemente il dilavamento del terreno da parte delle piogge, potendo incorrere in fenomeni di eccessiva salinità del terreno in presenza di esagerate quantità di SMS. Questo problema risulta meno accentuato in pieno campo, dove le piogge possono dilavare un eventuale eccesso di sali. Risulta sicuro dal punto di vista della tossicità causata dalla presenza di metalli pesanti: il loro

contenuto è inferiore ai limiti stabiliti dal D. Lgs. 75/2010, normativa che disciplina il tenore massimo di metalli pesanti consentito nei fertilizzanti e negli ammendanti.

Le rese ottenute dalla successione colturale adottata spesso non hanno rilevato differenze statistiche, anche se in alcuni casi le parcelle concimate con SMS e fertilizzante chimico o con solo SMS hanno prodotto rese leggermente superiori rispetto alla tesi completamente minerale, suggerendo che l'utilizzo di questa matrice può offrire produzioni assolutamente comparabili a quelle ottenibili con una comune fertilizzazione chimica. Al contempo offre i vantaggi di una concimazione organica e promuove l'instaurarsi di economie circolari territoriali che prevedono il riutilizzo di materiali di scarto. Da quanto valutato da questa sperimentazione, sarebbe auspicabile optare per una fertilizzazione mista organica/minerale per le colture a ciclo breve e comunque nel primo periodo di utilizzo di SMS, in quanto la disponibilità degli elementi nutritivi da parte della matrice si verifica dopo un certo periodo di tempo. Inoltre, per quelle colture in cui la parte edibile non è rappresentata dalla totalità della pianta, sembra che la fertilizzazione minerale favorisca maggiormente la crescita della biomassa, senza peraltro apportare alcun vantaggio tangibile alla produzione commerciale. Interessanti sono stati i risultati ottenuti dalla coltivazione del pomodoro da industria, in cui la tesi mista organica/minerale ha offerto una migliore uniformità di maturazione, aspetto da non sottovalutare in questa coltura che prevede un'unica raccolta meccanica.

Per quanto concerne la qualità delle produzioni ottenute, gli aspetti che potenzialmente avrebbero potuto creare qualche problematica riguardavano il possibile accumulo di nitrati in specie sensibili e la salinità della matrice. In entrambi i casi SMS ha dimostrato essere una matrice sicura: nelle specie iper-accumulatrici di nitrati i tenori registrati risultano ampiamente sotto ai limiti imposti dalla legislazione e in ogni caso i valori riscontrati nelle piante coltivate con SMS risultano più bassi di quelli registrati nelle piante coltivate con la concimazione minerale. Per quanto riguarda la salinità, specie come lattuga, notoriamente sensibile, non ha risentito negativamente di questo aspetto.

I risultati ottenuti da questa sperimentazione hanno consentito di avviare l'iter burocratico necessario, inoltrando apposita richiesta al Ministero delle politiche agricole alimentari, forestali e del turismo, allo scopo di inserire questa matrice tra quelle utilizzabili a norma di legge, secondo il D. Lgs. 75/2010.

Questo passo importante nella gestione di SMS, risulta fondamentale per il suo utilizzo. Da una parte vi è la disponibilità di una risorsa per gli agricoltori che possono avvantaggiarsi di una

matrice organica, sicura dal punto di vista per la salute umana ma anche vantaggiosa per il mantenimento di buone qualità del suolo, e dall'altra si può creare un'economia circolare territoriale. La produzione stimata di circa 250000 t di SMS prodotta a livello nazionale può essere sufficiente per la concimazione di circa 130000 ha, ipotizzando un fabbisogno medio di circa 2 t ha<sup>-1</sup>. L'elevato contenuto di acqua presente in SMS non rende vantaggioso il suo trasporto a lunghe distanze, ma lo è la sua utilizzazione nelle vicinanze dei siti di produzione. Un interessante sviluppo per dare un valore aggiunto a questa matrice, potrebbe rivelarsi un sistema a basso costo che consente di eliminare una grossa percentuale dell'acqua presente, in modo da stabilizzarlo e successivamente pelletterlo, così da renderlo più facilmente spandibile in campo con appropriate attrezzature.

### **7.3. Caratterizzazione e gestione dell'imbrunimento di *A. bisporus***

*Agaricus bisporus* è una delle specie di funghi edibili più coltivate a livello nazionale e mondiale. Uno dei principali problemi che si trovano ad affrontare le ditte fungicoltrici è la gestione dell'imbrunimento nel prodotto durante il post raccolta, fenomeno che comporta deterioramento del prodotto rendendolo poco appetibile per il consumatore. Tale fenomeno è dovuto principalmente all'azione della tirosinasi, enzima responsabile dell'imbrunimento.

In questa sperimentazione è stato caratterizzato il prodotto al fine di valutare le dinamiche dei principali parametri che possono fornire indicazioni circa la qualità del prodotto.

Dai risultati emersi durante questa prova di caratterizzazione, si può affermare che il mantenimento della catena del freddo contribuisce in maniera fondamentale al ritardamento della senescenza di *A. bisporus*, condizione che non sempre viene rispettata dal momento in cui il prodotto esce dai locali di lavorazione delle fungaie. *A. bisporus* affettato è stata la referenza che ha risentito maggiormente del periodo di conservazione, a causa dell'ampia superficie di taglio esposta all'azione ossidante dell'aria. Alla luce di quanto emerso, la successiva prova di gestione dell'imbrunimento è stata effettuata solo sul prodotto affettato, essendo la referenza che maggiormente risente della conservazione. L'utilizzo di prodotti che agiscono sulla tirosinasi, possono rivelarsi utili nelle fasi di trasporto e durante lo stoccaggio al punto vendita, in cui il mantenimento della catena del freddo non sempre viene rispettata. Nei confronti del colore, quale parametro più importante per il consumatore al momento dell'acquisto, EDTA sembra avere fornito il miglior contributo nel mantenimento della luminosità, mantenendo al contempo

bassi livelli di acidità titolabile. I bassi quantitativi di EDTA necessari per esplicitare la sua azione conservante, lo rendono un prodotto vantaggioso anche per le aziende fungicidiche, che possono gestire il fenomeno dell'imbrunimento a costi contenuti. Inoltre può essere facilmente impiegato questo prodotto, inserendo apposite strumentazioni lungo la linea di lavorazione del prodotto, senza peraltro rendersi necessario l'acquisto di nuove attrezzature.

## **8. BIBLIOGRAFIA**

- Aday, M.S., 2016. Application of electrolyzed water for improving postharvest quality of mushroom. *LWT - Food Sci. Technol.* 68, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.014>
- Addiscott, T.M., Benjamin, N., 2004. Nitrate and human health. *Soil Use Manag.* 20, 98–104. <https://doi.org/10.1079/SUM2004256>
- Albuquerque JA, de la Fuente C, Ferre-Costa A, Carrasco L, Cegarra J, Abad M, Bernal MP (2012) Assessment of the fertiliser potential of digestates from farm and agro-industrial residues. *Biomass Bioenergy* 40:181–189
- Ascarelli S., Balestreri S. (2014) “*Agaricus bisporus*”
- Atta-Aly, M.A., 2001. Fennel swollen base yield and quality as affected by variety and source of nitrogen fertilizer. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 88, 191–202. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(00\)00207-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(00)00207-7)
- Ajlouni, S.O., 1991. Quality characteristics of two hybrids of the cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*) and the improvement of their shelf life using stripe trimming and gamma irradiation. Ph.D. Thesis. The Pennsylvania State University, University Park, PA.
- Babalar, M., Asghari, M., Talaei, A., Khosroshahi, A., 2007. Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. *Food Chem.* 105, 449–453. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.021>
- Beélik, A. (1956). Kojic acid. In *Advances in carbohydrate chemistry* (Vol. 11, pp. 145-183). Academic Press.
- Beyer David M., 2003. Basic procedures for *Agaricus* Mushroom. Publ. Distrib. Center, Pennsylvania State Univ.
- Berendsen, R.L., Kalkhove, S.I.C., Lugones, L.G., Baars, J.J.P., Wösten, H.A.B., Bakker, P.A.H.M., 2012. Effects of fluorescent *Pseudomonas* spp. isolated from mushroom cultures on *Lecanicillium fungicola*. *Biol. Control* 63, 210–221.
- Bielli E. (2011) “*Funghi: conoscere, riconoscere e ricercare tutte le specie di funghi più diffuse*”
- Briones GL, Varoquaux P, Bureau G and Pascat B, (1993). "Modified atmosphere packaging of common mushroom". *Int J Food Sci Technol* 28:57–68.
- Bilandžić, N., Čalopek, B., Sedak, M., Kolanović, B. S., Varenina, I., Luburić, Đ. B., ... & Đokić, M. (2016). Content of heavy metals in three cultivated species of mushrooms. *Veterinarska stanica: znanstveno-stručni veterinarski časopis*, 47(5), 405-414.

- Boydston RA, Collins HP, Vaughn SF (2008) Response of weeds and ornamental plants to potting soil amended with dried distillers grains. *HortSci* 43:191–195
- Burton KS and Twynning RV, (1989). Extending mushroom storage-life by combining modified atmosphere packaging and cooling. *Acta Horti* 258:565–571
- Burton, K. S. (2004). Cultural factors affecting mushroom quality-cause and control of bruising. *Mushroom Science*, 16, 397-402.
- Cantliffe, D.J., 1973. Nitrate Accumulation in Table Beets and Spinach as Affected by Nitrogen, Phosphorus, and Potassium Nutrition and Light Intensity<sup>1</sup>. *Agron. J.* 65, 563. <https://doi.org/10.2134/agronj1973.00021962006500040012x>
- Castle, L., 1993. Determination of acrylamide monomer in mushrooms grown on polyacrylamide gel. *J. Agric. Food Chem.* 41, 1261–1263
- Chang, I.S., P.K. Shin, B.H. Kim, I.S. Chang, P.K. Chang, P.K. Shin and B.H. Kim. 2000. Biological treatment of acid mine drainage under sulfate-reducing conditions with solid waste materials as substrate. *Water Research* 34(4):1269-1277.
- Chenu, C., Le Bissonnais, Y., Arrouays, D., 2000. Organic Matter Influence on Clay Wettability and Soil Aggregate Stability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 1479. <http://dx.doi.org/10.2136/sssaj2000.6441479x>.
- Ciftja, O., Faruk, M.G., 2005. Plant Nutrients and Fresh Mushroom Compost. *Phys. Rev. B* 1–10. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.72.205334>
- Citak, S., Sonmez, S., 2010. Effects of conventional and organic fertilization on spinach (*Spinacea oleracea* L.) growth, yield, vitamin C and nitrate concentration during two successive seasons. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.08.010>
- Crecchio, C., Curci, M., Mininni, R., Ricciuti, P., Ruggiero, P., 2001. Short-term effects of municipal solid waste compost amendments on soil carbon and nitrogen content, some enzyme activities and genetic diversity. *Biol. Fertil. Soils* 34, 311–318.
- Cugildi P. (2012) *“Funghi. Dalle nostre montagne, da boschi e prati – verde e natura”*
- Curtin, J.S., Mullen, G.J., 2007. Physical properties of some intensively cultivated soils of Ireland amended with spent mushroom compost. *L. Degrad. Dev.* 368, 355–368. <https://doi.org/10.1002/ldr.763>
- Davies DB & Payne D (1988) Management of soil physical properties. In: WildA(ed) Russell's *Soil Conditions and Plant Growth*, Eleventh Edition, pp 412–448. Harlow, Essex, Longman
- Dikeman, C.L., Bauer, L.L., Flickinger, E.A., Fahey, G.C., 2005. Effects of stage of maturity and

cooking on the chemical composition of select mushroom varieties. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1130–1138. <https://doi.org/10.1021/jf048541l>

Dokhanieh, A.Y., Aghdam, M.S., 2016. Postharvest browning alleviation of *Agaricus bisporus* using salicylic acid treatment. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 207, 146–151. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.05.025>

Donker, H.C.W., Van As, H., 1999. Cell water balance of white button mushrooms (*Agaricus bisporus*) during its post-harvest lifetime studied by quantitative magnetic resonance imaging. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 1427, 287–297. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(99\)00027-6](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(99)00027-6)

Dziezak, J. D. (1986). Preservatives: antioxidants. *Food Technol*, 40(9), 94-102.

Eger, G. (1961). Untersuchungen tiber die Function der Deckschicht bei der Fruchtkorperbildung des Kulturechampignons, *Psalliota bispora* Lange. *Archiv fur Mikrobiologie* 39, 313-334.

Eskin, N. A. M., Henderson, H. M., & Townsend, R. J. (1971). Biochemical changes in food: Plants. Postharvest changes in foods and vegetables. In “Biochemistry of Foods,”.

Fagnano, M., Adamo, P., Zampella, M., Fiorentino, N., 2011. Environmental and agronomic impact of fertilization with composted organic fraction from municipal solid waste: a case study in the region of Naples, Italy. *Agric. Ecosyst. Environ.* 141, 100–107.

Farrell, M., Jones, D.L., 2009. Critical evaluation of municipal solid waste composting and potential compost markets. *Bioresour. Technol.* 100, 4301–4310.

Fenaroli, L. (2004). *Funghi*. Giunti Editore.

Fermor, T., N. Watts, T. Duncombe, R. Brooks, A. McCarthy, K. Semple and B. Reid. 2000. Bioremediation: use of composts and composting technologies. *Mushroom Science* 15: 833-839.

Ferrante, A., Maggiore, T., 2007. Chlorophyll a fluorescence measurements to evaluate storage time and temperature of *Valeriana* leafy vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 45, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.02.003>

Fidanza, M. a., Sanford, D.L., Beyer, D.M., Aurentz, D.J., 2010. Analysis of fresh mushroom compost. *Horttechnology* 20, 449–453.

Finstein, M.S. and M.L. Morris. 1975. Microbiology of municipal solid waste composting. *Advances of Applied Microbiology*, 19:113-151.

Gao, M., Feng, L., Jiang, T., 2014. Browning inhibition and quality preservation of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by essential oils fumigation treatment. *Food Chem.* 149, 107–



113. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.073>

Gardner, C.M.K., Laryea, K.B., Unger, P.W., 1999. Soil Physical Constraints To Plant Growth and Crop Production.

Ghahremani-Majd, H., Dashti, F., 2015. Chemical composition and antioxidant properties of cultivated button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Hortic. Environ. Biotechnol.* 56, 376–382. <https://doi.org/10.1007/s13580-015-0124-z>

Giacalone, G. (2015). Sistemi per prolungare la vita di scaffale di prodotti frutticoli di IV. *Italus Hortus*, 22(3).

Giardini L., *Agronomia generale*, Ristampa corretta. Bologna, Pàtron editore, 2004.

Giuliano A. (2007) “*La raccolta dei funghi tra passione, rispetto per l’ambiente e sicurezza*”. ISBN: 88-95230-08-6

Gobbi, V., Bonato, S., Nicoletto, C., Zanin, G., 2016. Spent mushroom substrate as organic fertilizer: vegetables organic trials. *Acta Hortic.* 49–56. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1146.6>

Golueke, G. Clarence. 1972. *Composting, a Study of the Process and its Principles*. Rodale Press, Inc. Emmaus, Pennsylvania.

González-Fandos, E., Giménez, M., Olarte, C., Sanz, S., Simón, A., 2000. Effect of packaging conditions on the growth of micro-organisms and the quality characteristics of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*) stored at inadequate temperatures. *J. Appl. Microbiol.* 89, 624–632. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01159.x>

Gormley, R. (1975). Chill Storage of Mushrooms. *J. Sci. Fd Agric.*, 5(26), 401–411.

Griesenbeck, J. S., Steck, M. D., Huber Jr, J. C., Sharkey, J. R., Rene, A. A., & Brender, J. D. (2009). Development of estimates of dietary nitrates, nitrites, and nitrosamines for use with the short willet food frequency questionnaire. *Nutr J*, 8(1), 16.

Guerrero, C., Faleiro, M.L., Pita, P., Beltrão, J., Brito, J., 2005. Inorganic and Organic Fertilisation of “Leeks” Cultivated in Pots : Yield , Plant Mineral Content and Microbial Quality 9–16.

Gülser, C., Pekşen, A., 2003. Using tea waste as a new casing material in mushroom (*Agaricus bisporus* (L.) Sing.) cultivation. *Bioresour. Technol.* 88, 153–156.

Gupta, P., Bhat, A., 2016. Efficacy of Different Washing Treatments on Quality of Button Mushrooms (*A.bisporus*). *J. Food Process. Technol.* 7, 6–10. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000590>

- Hammond, J.B.W., Nichols, R., 1975. Changes in respiration and soluble carbohydrates during the post-harvest storage of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *J. Sci. Food Agric.* 26, 835–842. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740260615>
- Havlin, J. L., Kissel, D. E., Maddux, L. D., Claassen, M. M., & Long, J. H. (1990). Crop rotation and tillage effects on soil organic carbon and nitrogen. *Soil Science Society of America Journal*, 54(2), 448-452
- He, X. T., Traina, S. J., & Logan, T. J. (1992). Chemical properties of municipal solid waste composts. *Journal of environmental quality*, 21(3), 318-329.
- Herencia, J.F., García-Galavís, P.A., Dorado, J.A.R., Maqueda, C., 2011. Comparison of nutritional quality of the crops grown in an organic and conventional fertilized soil. *Sci. Hortic.* (Amsterdam). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.04.008>
- Huang, Q.-S., Zhu, Y.-J., Li, H.-L., Zhuang, J.-X., Zhang, C.-L., Zhou, J.-J., Li, W.-G., Chen, Q.-X., 2009. Inhibitory Effects of Methyl *trans* -Cinnamate on Mushroom Tyrosinase and Its Antimicrobial Activities. *J. Agric. Food Chem.* 57, 2565–2569. <https://doi.org/10.1021/jf8036227>
- Hubbard RK, Lowrance RR (1998) Dairy cattle manure management. In: *Agricultural utilization of municipal, animal and industrial wastes*. USDA, Agric. Res. Service, Conservation Res. Rep.No. 44. USDA, Washington, DC, pp 91–100
- Inglet GE, Rose DJ, Stevenson DG, Chen D, Biswas A (2009) Total phenolic and antioxidant activity of water and ethanolic extracts from distillers dried grains with solubles with or without microwave irradiation. *Cereal Chem* 86:661–664.
- Ioannou, I., & Ghouli, M. (2013). Prevention of Enzymatic Browning in Fruit and Vegetables. *European Scientific Journal*, 9(30), 1857–7881. <https://doi.org/doi:10.1021/bk-1989-0405.ch003>
- ISTAT, 2015. La distribuzione per uso agricolo dei fertilizzanti e dei fitosanitari. Dati 2002- 2013. Statistiche report 20 gennaio 2015.
- Jaworska, G., Bernaś, E., Biernacka, A., Maciejaszek, I., 2010. Comparison of the texture of fresh and preserved *Agaricus bisporus* and *Boletus edulis* mushrooms. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45, 1659–1665. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02319.x>
- JOLIVET, S., ARPIN, N., WICHERS, H.J., PELLON, G., 1998. *Agaricus bisporus* browning : a review. *Mycol. Res.* 102, 1459–1483.
- Kalac P., (2013) “A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms” *J Sci Food Agric* 93:209-218

- Kobold M. (2005) *“Funghi di prati e boschi – conoscerli, rispettarli, raccogliarli e cucinarli”*
- Lerch, K. (1995). Tyrosinase: molecular and active-site structure.
- Long, P. E. & Jacobs, L. (1974). Aseptic fruiting of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. Transactions of the British Mycological Society 63, 99-107.
- Maftoun, M., Moshiri, F., Karimian, N., & Ronaghi, A. M. (2005). Effects of two organic wastes in combination with phosphorus on growth and chemical composition of spinach and soil properties. Journal of plant nutrition, 27(9), 1635-1651.
- Maher, M.J., Magette, W.L., Smyth, S., Duggan, J., Dodd, V.A., Hennerty, M.J., McCabe, T., Road, M., Terrace, E., Development, R., 2000. MANAGING SPENT MUSHROOM. Proj. 4444. Teagasc, Kinsealy Res. Centre, Malahide Road, Dublin 17 1–34.
- Male. R.T., 1981. The use of spent mushroom compost in vegetable production. Mushroom Science XI, 11-121
- Manolopoulou, E., Philippoussis, A., Lambrinos, G., Diamantopoulou, P., 2007. Evaluation of productivity and postharvest quality during storage of five *agaricus bisporus* strains. J. Food Qual. 30, 646–663. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2007.00148.x>
- Manzi, P., Aguzzi, A., Pizzoferrato, L., 2001. Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. Food Chem. 73, 321–325. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00304-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00304-6)
- Maynard, A.A., 1994. Sustained vegetable production for three years using composted animal manures. Compost Sci. Util. 2, 88–96. <https://doi.org/10.1080/1065657X.1994.10757922>
- Maynard, D.N., Barker, A. V., Minotti, P.L., Peck, N.H., 1976. NITRATE ACCUMULATION IN VEGETABLES. Adv. Agron. 28, 71–118.
- Mau J.L., Beelman R., Ziegler G., Royse D.J., (1991) *“Effect of Nutrient Supplementation on Flavor, Quality, and Shelf Life of the Cultivated Mushroom (Agaricus bisporus)”* Mycological Society of America 83:142-149
- McConnell AL, Evaluation of wash treatments for the improvement of quality and shelf life of fresh mushroom (*Agaricus bisporus*). MS thesis, Pennsylvania State University, University Park, PA (1991).
- McCord, J. D., & Kilara, A. (1983). Control of Enzymatic Browning in Processed Mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of Food Science*, 48(5), 1479–1484. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1983.tb03521.x>

- McEvily, J., Otwell, W. S., & Iyengar, R. (1992). Inhibition of Enzymatic Browning in Foods and Beverages. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32(3), 253-273. <https://doi.org/10.1080/10408399209527599>
- Miller, R.L., 1994. Enzymatic Browning Control in Minimally Processed Mushrooms.
- Mohapatra, D., Bira, Z.M., Kerry, J.P., Fr??as, J.M., Rodrigues, F.A., 2010. Postharvest hardness and color evolution of white button mushrooms (*agaricus bisporus*). *J. Food Sci.* 75, 146–152. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01518.x>
- Montemurro, F., Convertini, G., Ferri, D., Maiorana, M., 2005. MSW compost application on tomato crops in Mediterranean conditions: effects on agronomic performance and nitrogen utilization. *Compost Sci. Util.* 13, 234–242.
- Moquet, F., GuedesLafargue, M., Védie, R., Mamoun, M., Olivier, J.M., 1997. Optimum measure of cap color in *Agaricus bisporus* wild and cultivated strains. *J. Food Sci.* 62, 1054-.
- Mulla DJ, Birr AS, Randall G, Moncerief J, Schmitt M, Sekely A, Kerre E (2001) Impacts of animal agriculture on water quality: technical work paper. Minnesota Environmental Quality Board, Minnesota Planning (Agency), St. Paul
- Murphy, B.W. Impact of soil organic matter on soil properties—a review with emphasis on Australian soils *Soil Res.*, 53 (2015), pp. 605-635
- Mylavarapu, R.S., Zinati, G.M., 2009. Improvement of soil properties using compost for optimum parsley production in sandy soils. *Sci. Hortic. (Amsterdam)* 120, 426–430.
- Navarro P., Savoie J.M., (2013) “*Selected wild strains of Agaricus bisporus produce high yields of mushrooms at 25°C*” *Revista Iberoamericana Micologia* 32:54-58
- Nerya, O., Ben-arie, R., Luzzatto, T., Musa, R., 2006. Prevention of *Agaricus bisporus* postharvest browning with tyrosinase inhibitors 39, 272–277. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.11.001>
- Newton GL, Hubbard RK, Johnson JC, Davis JG, Vellidis G, Lowrance R, Johnson AW, Williams RG, Dove CR (1994) Utilization and environmental consequences of land application of liquid manure in the southeastern United States coastal plain. In: Proc. Great Plains Anim. Waste Conf. Confined Anim. Prod. Water Quality. Balancing Anim. Prod. and the Environ. Great Plains Agric. Council publ. no. 151, pp 66–73

- 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.
- Nussinovitch A and Kampf N, Shelf life extension and conserved texture of alginate-coated mushrooms (*Agaricus bisporus*). *LebensmWiss Technol* 26:469–475 (1993).
- Ogders E (1991) Regulations bolster voluntary programs for cleanup of agricultural nonpoint “bad actors” in Wisconsin. In: National livestock, poultry and aquaculture waste management: Proc. Natl. Workshop. ASAE Publ. 03-92. ASAE, St. Joseph, pp 273–277
- Ozores-Hampton, M., Schaffer, B., Bryan, H.H., Hanlon, E.A., 1994. Nutrient concentrations, growth, and yield of tomato and squash in municipal solid-waste-amended soil. *HortScience* 29, 785–788.
- Oz, A.T., Ulukanli, Z., Bozok, F., Baktemur, G., 2015. The postharvest quality, sensory and shelf life of *agaricus bisporus* in active map. *J. Food Process. Preserv.* 39, 100–106. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12301>
- Palou, E., Lopez-Malo, A., Barbosa-Canovas, G. V., Welti-Chanes, J., Swanson, B.G., 1999. Polyphenoloxidase Activity and Color of Blanched and High Hydrostatic Pressure Treated Banana Puree. *J. Food Sci.* 64, 42–45. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb09857.x>
- Pannala, A.S., Mani, A.R., Spencer, J.P.E., Skinner, V., Bruckdorfer, K.R., Moore, K.P., Rice-Evans, C.A., 2003. The effect of dietary nitrate on salivary , plasma , and urinary nitrate metabolism in humans 34, 576–584. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)01353-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)01353-9)
- Paredes, C., Medina, E., Bustamante, M.A., Moral, R., 2016. Effects of spent mushroom substrates and inorganic fertilizer on the characteristics of a calcareous clayey-loam soil and lettuce production. *Soil Use Manag.* 32, 487–494. <https://doi.org/10.1111/sum.12304>
- Paredes, C., Medina, E., Moral, R., Perez-Murcia, M.D., Moreno-Caselles, J., Bustamante, M.A., Cecilia, J.A., 2009. Characterization of the Different Organic Matter Fractions of Spent Mushroom Substrate. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 40, 150–161. <https://doi.org/10.1080/00103620802625575>
- Pavlou, G.C., Ehalotis, C.D., Kavvadias, V.A., 2007. Effect of organic and inorganic fertilizers applied during successive crop seasons on growth and nitrate accumulation in lettuce. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 111, 319–325. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.11.003>
- Provenzano MR, Iannuzi G, Fabbri C, Senesi N (2011) Qualitative characterization and differentiation of digestates from different biowastes using FTIR and fluorescence

- spectroscopies. *J Environ Prot* 2:83–89.
- Queiroz, C., Mendes Lopes, M.L., Fialho, E., Valente-Mesquita, V.L., 2008. Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control. *Food Rev. Int.* 24, 361–375. <https://doi.org/10.1080/87559120802089332>
- Rembiakowska, E. (2004). The impact of organic agriculture on food quality. *Agricultura (Slovenia)*, 3(1), 19-26.
- Roca E. (2007) "*La raccolta dei funghi tra passione, rispetto per l'ambiente e sicurezza*". ISBN: 88-95230-08-6
- Salminen, E., Rintala, J., Härkönen, J., Kuitunen, M., Högmander, H., Oikari, A., 2001. Anaerobically digested poultry slaughterhouse wastes as fertiliser in agriculture. *Bioresour. Technol.* 78, 81–88.
- Santamaria, P., Gonnella, M., Elia, A., Parente, A., Serio, F., 2001. Ways of reducing rocket salad nitrate content. *Acta Hort.* 529–536.
- Santamaria, P. (2006). Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(1), 10-17.
- Sapers GM, Miller RL, Pilizota V and Kamp F, Shelf life extension of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*) by application of hydrogen peroxide and browning inhibitors. *J Food Sci* 66:362–366 (2001).
- Schievano A, Adani F, Tambone F, D'Imporzano G, Scaglia B, Genevini PL (2009) What is digestate? In: Adani F, Schievano A, Boccasile G (eds) *Anaerobic digestion: opportunities for agriculture and environment*. Lombardia, Milan, pp 7–18
- Segel, I. H. (1976). Enzyme inhibition. *Biochemical Calculations. Published by John Wiley & Sons, Inc*, 246-272.
- Selvi Ranganathan, D., Selvaseelan, D.A., 1997. Effect of mushroom spent compost in combination with fertilizer application on nutrient uptake by potato in Ultic Tropudalf 45, 515–519.
- Shanmugam, G. S., & Warman, P. R. (2004). Soil and plant response to organic amendments to three strawberry cultivars. *Proceedings of the International Humic Substances Society. Embrapa (Pub.)*, Sao Pedro, 230-232.
- Sharpley, A and Moyer, B., 2000. Phosphorus forms in manure and compost and their release during simulated rainfall. *J. Environ. Qual.* 29, 1462–1469. <https://doi.org/10.2134/jeq2000.00472425002900050012x>

- Shojaosadati, S.A. and E. Siamak. 1999. Removal of hydrogen sulfide by the compost biofilter with sludge of leather industry. *Resources, Conservation and Recycling* 27(1-2):139-144.
- Simon R., Borzelleca J., DeLuca H., Weaver C., (2013) "Safety assessment of the post-harvest treatment of button mushroom (*Agaricus bisporus*) using ultraviolet light" *Food Chem Toxicol* 56:278-289
- Singh, N. I., & Chauhan, J. S. (2009). Response of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to organic manures and inorganic fertilizer on growth and yield parameters under irrigated condition. *Nature and Science*, 7(5), 52-54.
- Singh, P., Langowski, H., Wani, A., Saengerlaub, S., 2010. Recent advances in extending the shelf life of fresh *Agaricus* mushrooms : a review 1393–1402. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3971>
- Soler-Rivas, C., Jolivet, S., Arpin, N., Olivier, J.M., Wichers, H.J., 1999. Biochemical and physiological aspects of brown blotch disease of *Agaricus bisporus*. *FEMS Microbiol. Rev.* 23, 591–614. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1999.tb00415.x>
- Soria T., Cuartero J., 1998. Tomato fruit yield and water consumption with salty water irrigation. *Acta Horticulturae* 458: 215-219.
- Speijers, G.J.A., & Van Den Brandt, P.A. (2003). Nitrite and potential endogenous formation of N-nitroso compounds. In: WHO food additives series (Vol. 50). Geneva: World Health Organization. Retrieved from <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je05.htmf>
- Steffens, J. C., Harel, E., & Hunt, M. D. (1994). Polyphenol oxidase. In *Genetic engineering of plant secondary metabolism* (pp. 275-312). Springer, Boston, MA.
- Stewart D. P.C., Cameron K.C., Cornforth I. S. 1998. Inorganic-N release from spent mushroom compost under laboratory and field conditions. *SOIL BIOLOGY AND BIOCHEMISTRY* 30/13: 1689-1699
- Studdert, G. A. (2000). Crop rotations and nitrogen fertilization to manage soil organic carbon dynamics. *Soil Science Society of America Journal*, 64(4), 1496-1503.
- Svoboda, L., Kalač, P., Špička, J., & Janoušková, D. (2002). Leaching of cadmium, lead and mercury from fresh and differently preserved edible mushroom, *Xerocomus badius*, during soaking and boiling. *Food chemistry*, 79(1), 41-45.
- Tagliavini O. (2000) "Atlante dei funghi commestibili della Basilicata"

- Tambone, F., Genevini, P., D'Imporzano, G., Adani, F., 2009. Assessing amendment properties of digestate by studying the organic matter composition and the degree of biological stability during the anaerobic digestion of the organic fraction of MSW. *Bioresour. Technol.* 100, 3140–3142.
- Toivonen, P. M. A., & Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 1–14.
- Tonfack, L.B., Bernadac, A., Youmbi, E., Mbouapouognigni, V.P., Ngueguim, M., Akoa, A., 2017. Impact of organic and inorganic fertilizers on tomato vigor, yield and fruit composition under tropical andosol soil conditions. *Res. Dev.* 64, 167–177. <https://doi.org/10.1051/fruits/2009012>
- Tripathy, A., Patel, A.K., Sahoo, T.K., 2009. Effect of various substrates on linear mycelial growth and fructification of *Volvariella diplasia*. *Asian J. Plant Sci.* 8, 566–569.
- Turrini L. (2013) *“I rumori silenziosi del bosco”*
- Tüzel I.H., 2002. Tomato response to salinity in substrate culture. *Acta Horticulturae* 573: 461-467.
- Uzun, I., 2004. Use of spent mushroom compost in sustainable fruit production. *J. Fruit Ornam. Plant Res.* 12, 157–165.
- Vámos-Vigyázó, L., & Haard, N. F. (2009). Polyphenol Oxidases and Peroxidases in Fruits and Vegetables. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 15(1), 49–127. <https://doi.org/10.1080/10408398109527312>
- Van Loon, P. C. C., Swinkels, H. A. T. I., & Van Griensven, L. J. L. D. (2000). Dry matter content in mushrooms (*Agaricus bisporus*) as an indicator for mushroom quality. *Mushroom Science*, 15(2), 507-513.
- Vimala, R., & Das, N. (2009). Biosorption of cadmium (II) and lead (II) from aqueous solutions using mushrooms: a comparative study. *Journal of Hazardous Materials*, 168(1), 376-382.
- Wang, S.H., V.I. Lhr and D.L Coffey, 1984. Spent mushroom compost as a soil amendment for vegetables. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109(5): 698-702
- Watcharasukarn M, Kaparaju P, Steyer JP, Krogfelt KA, Angelidaki I (2009) Screening *Escherichia coli* , *Enterococcus faecalis* , and *Clostridium perfringens* as indicator organisms in evaluating pathogen-reducing capacity in biogas plants. *Microb Ecol* 58:221– 230
- Weiland, P. (2010). Biogas production: current state and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, 85(4), 849-860.



- Wever, G., van der Burg, A.M.M., Straatsma, G., 2005. Potential of Adapted Mushroom Compost As a Growing Medium in Horticulture. *Acta Hortic.* 171–177. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.697.21>
- Whitaker, J. R., & Lee, C. Y. (1995). Recent Advances in Chemistry of Enzymatic Browning. *Enzymatic Browning and Its Prevention - ACS Symposium Series 600*, 45(2), 2–7.
- Wood, D. A (1976). Primordium formation in axenic cultures of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. *Journal of General Microbiology* 95, 313-323.
- Yohalem, D.S., Nordheim, E. V, Andrews, J.H., 1996. Effect of water extracts of spent mushroom compost on apple scab in the field. *Phytopathology*.
- Yoruk, R., & Marshall, M. R. (2003). Physicochemical Properties and Function of Plant Polyphenol Oxidase: a Review. *Journal of Food Biochemistry*, 27(5), 361–422.
- Zhang, R.H., Duan, Z.Q., Li, Z.G., 2012. Use of Spent Mushroom Substrate as Growing Media for Tomato and Cucumber Seedlings. *Pedosphere* 22, 333–342. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(12\)60020-4](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(12)60020-4)
- Zhao, Y., Wang, P., Li, J., Chen, Y., Ying, X., Liu, S., 2009. The effects of two organic manures on soil properties and crop yields on a temperate calcareous soil under a wheat-maize cropping system. *European Journal of Agronomy*. 31, 36-42
- Zhou, D., Li, L., Wu, Y., Fan, J., Ouyang, J., 2015. Salicylic acid inhibits enzymatic browning of fresh-cut Chinese chestnut (*Castanea mollissima*) by competitively inhibiting polyphenol oxidase. *Food Chem.* 171, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.115>
- Zincari G., Rivetti D., Soardo V., et al (2012a) “*La coltivazione dei funghi Agaricus bisporus (champignon)*” *Progress in Nutrition* vol.14, N°3
- Zivanovic, S., Buescher, R.W., Kim, K.S., 2000. Textural Changes in Mushrooms ( *Agaricus bisporus*) Associated with Tissue Ultrastructure and Composition. *Sens. Nutr. Qual. Food* 65, 1404–1408.

## **9. TAVOLE E TABELLE**



**CARATTERIZZAZIONE QUALITATIVA  
DEI FUNGHI COLTIVATI: CHAMPIGNON BIANCO**



**CAMPIONE (valori medi di tutti i campioni analizzati)**

**Prodotto** Champignon bianco  
(*Agaricus bisporus*)

**Data campionamento** 15/04/2015



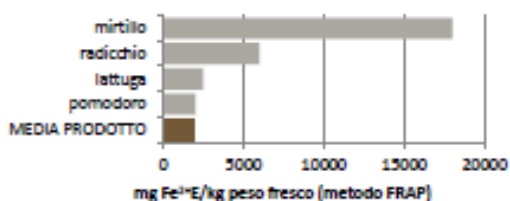
**PRINCIPALI CARATTERISTICHE DEL PRODOTTO**

**MEDIA**

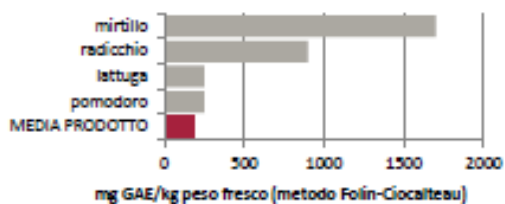
Sostanza secca (%)	7,1
Acqua (%)	92,9
pH	6,7
Conducibilità elettrica (mS cm <sup>-1</sup> )	7,6
Solidi solubili (*Brix)	5,7
Acidità titolabile (% ac. citrico)	0,190
Fibra alimentare totale (% pf)	1,45
Lipidi (% pf)	1,121
Proteine totali (% pf)	2,7
Saccarosio (mg/100 g pf)	-
Glucosio (mg/100 g pf)	-
Fruttosio (mg/100 g pf)	-
Valore energetico determinato (kcal/100 g pf)	28,0
Valore energetico calcolato* (kcal/100 g pf)	21,0
Vitamina C (mg/100 g pf)	2,28

\* Regolamento UE n° 1169/2011

**CAPACITA' ANTIOSSIDANTE TOTALE**



**POLIFENOLI**



**CONTENUTO DI ANIONI E CATIONI NEL PRODOTTO (mg/100 g peso fresco)**

	Cloruri	Nitrati	Fosfati	Solfati	Sodio	Ammonio	Potassio	Magnesio	Calcio
MEDIA	67,2	4,15	149	14,9	7,23	23,8	283	14,4	36,4

**CONTENUTO DI METALLI PESANTI NEL PRODOTTO (mg/kg peso fresco)**

	Cd	Cr*	Cu	Ni	Pb	Zn
MEDIA	0,006	0,016	1,978	0,184	0,027	3,384
limiti	0,20**				0,30***	

\* concentrazione di cromo totale

\*\* Reg. UE n° 488/2014

\*\*\*Reg. UE n° 1881/2006



**QUALITA' GLOBALE MEDIA**

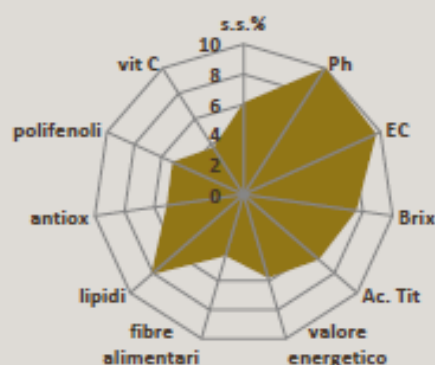


Figura 9.1. Scheda riferita alla caratterizzazione di *A. bisporus* bianco prodotta nell'ambito del Progetto VeroVeneto .



**CARATTERIZZAZIONE QUALITATIVA  
DEI FUNGHI COLTIVATI: CHAMPIGNON CREMA**



REGIONE DEL VENETO



**CAMPIONE (valori medi di tutti i campioni analizzati)**

**Prodotto** Champignon crema  
(*Agaricus bisporus*)

**Data campionamento** 15/04/2015

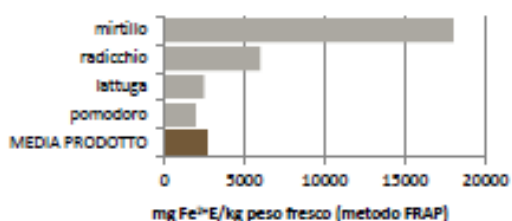


**PRINCIPALI CARATTERISTICHE DEL PRODOTTO**

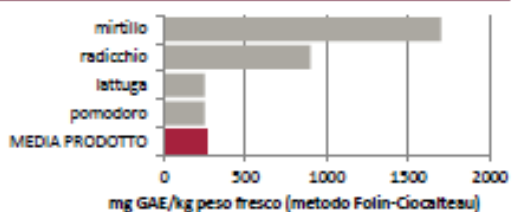
PRINCIPALI CARATTERISTICHE DEL PRODOTTO	MEDIA
Sostanza secca (%)	7,6
Acqua (%)	92,4
pH	6,6
Conducibilità elettrica (mS cm <sup>-1</sup> )	7,8
Solidi solubili (*Brix)	5,7
Acidità titolabile (% ac. citrico)	0,220
Fibra alimentare totale (% pf)	1,51
Lipidi (% pf)	0,142
Proteine totali (% pf)	2,8
Saccarosio (mg/100 g pf)	-
Glucosio (mg/100 g pf)	-
Fruttosio (mg/100 g pf)	-
Valore energetico determinato (kcal/100 g pf)	30,6
Valore energetico calcolato* (kcal/100 g pf)	22,1
Vitamina C (mg/100 g pf)	3,69

\* Regolamento UE n° 1169/2011

**CAPACITA' ANTIOSSIDANTE TOTALE**



**POLIFENOLI**



**CONTENUTO DI ANIONI E CATIONI NEL PRODOTTO (mg/100 g peso fresco)**

	Cloruri	Nitrati	Fosfati	Solfati	Sodio	Ammonio	Potassio	Magnesio	Calcio
MEDIA	89,5	5,30	160	19,2	9,30	22,5	297	16,3	40,6

**CONTENUTO DI METALLI PESANTI NEL PRODOTTO  
(mg/kg peso fresco)**

	Cd	Cr*	Cu	Ni	Pb	Zn
MEDIA	0,008	0,019	2,026	0,200	0,027	3,746
limiti	0,20**				0,30***	

\* concentrazione di cromo totale

\*\* Reg. UE n° 488/2014

\*\*\*Reg. UE n° 1881/2006



**QUALITA' GLOBALE MEDIA**

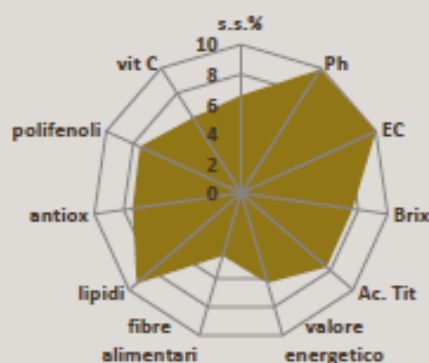


Figura 9.2. Scheda riferita alla caratterizzazione di *A. bisporus* crema (var. Portobello) prodotta nell'ambito del Progetto VeroVeneto .

## Caratterizzazione dei substrati

*Primo ciclo (autunno 2013)*

SMS	% sostanza secca	% sostanza organica	pH	EC (mS/cm)	% N	rapporto C/N
<b>entrata</b>						
PP	31,32 a	64,22 b	6,24 b	6,67 a	2,26 a	17 b
PL	29,84 a	59,19 c	6,16 b	6,60 a	2,03 a	17 b
PPL	27,72 b	63,62 b	6,42 b	5,63 b	1,82 ab	20 b
PP	29,74 ab	83,48 a	8,10 a	2,06 c	0,93 b	52 a
<b>fine 2<sup>^</sup> volata</b>						
PP	35,08 a	58,91 ab	5,93 a	6,97 a	2,24 a	15 b
PL	34,73 a	53,96 b	6,02 a	7,03 a	2,04 a	15 b
PPL	34,13 a	65,52 a	5,98 a	5,90 b	2,11 a	18 a
<b>fine 3<sup>^</sup> volata</b>						
PP	36,01 a	55,96 b	6,06 a	7,05 a	2,19 a	15 b
PL	34,25 a	52,96 b	5,86 a	6,69 ab	2,02 a	15 b
PPL	36,48 a	62,53 a	5,82 a	6,01 b	1,97 a	18 a

**Tabella 9.1.** Principali parametri chimico- fisici individuati nei substrati analizzati nell'autunno 2013. I risultati sono accorpate per tipo di substrato considerato.

SMS	Cloruri	Nitrati	Fosfati	Solfati	Sodio	Ammonio	Potassio	Calcio	Magnesio
(mg/kg ss)									
<b>entrata</b>									
PP	7029 a	44 a	1807 a	25121 a	2036 a	451 b	20892 a	6724 a	1698 a
PL	4755 b	27 b	2973 a	23810 a	1935 a	829 a	16796 b	5663 b	1524 a
PPL	3973 b	43 a	3063 a	21046 a	1699 a	256 c	17356 a	5455 b	1420 a
PP	1605 c	22 b	180 b	1712 b	449 b	177 c	5285 c	2151 c	505b
<b>fine 2<sup>^</sup> volata</b>									
PP	8954 a	377 b	1284 b	36764 b	2662 a	1246 a	26530 a	9765 a	2741 ab
PL	7594 ab	415 ab	4768 a	47215 a	3104 a	1199 a	24864 a	9252 a	2527 b
PPL	6251 b	580 a	4858 a	37467 b	3333 a	1104 a	26277 a	8817 b	3276 a
<b>fine 3<sup>^</sup> volata</b>									
PP	7286 a	443 b	774 b	34167 a	2275 a	567 a	21526 a	10069 a	2543 a
PL	4563 b	846 a	1100ab	32793 a	2222 a	612 a	17028 b	10267 a	2293 a
PPL	4118 b	680 a	1921 a	24473 b	1839 a	568 a	19834 a	7481 b	2728 a

**Tabella 9.2.** Principali anioni e cationi riscontrati nei substrati analizzati nell'autunno 2013. I risultati sono accorpate per tipo di substrato considerato.

	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	K	P
	(mg/kg ss)							
<b>entrata</b>								
PP	0,04 a	20,44 b	22,89 a	5,22 a	2,56 b	120,4 a	--	--
PL	0,09 a	6,07 b	19,81 a	4,56 a	4,06 ab	103,5 a	--	--
PPL	0,00 b	73,38 a	16,01 ab	4,54 a	6,00 a	107,5 a	--	--
PP	0,00 b	4,92 b	7,49 b	2,27 b	0,61 a	24,79 b	--	--
<b>fine 2^</b>								
<b>volata</b>								
PP	0,16 a	17,85 b	26,75 a	5,82 a	4,59 a	123 a	19275 a	5798 a
PL	0,15 a	5,11 b	17,73 b	4,12 b	3,89 ab	101 b	17004 ab	5030 b
PPL	0,12 b	94,03 a	16,22 b	4,75 ab	2,67 b	120 a	13739 b	5866 a
<b>fine 3^</b>								
<b>volata</b>								
PP	0,11 a	36,58 a	21,77 a	5,85 a	5,08 ab	124 a	20608 a	5560 a
PL	0,09 a	5,39 b	21,18 a	4,52 b	4,56 b	108 b	16848 b	4451 b
PPL	0,05 b	29,07 a	14,47 b	4,59 b	5,45 b	112 b	17206 ab	5117 ab

**Tabella 9.3.** Tenore di metalli pesanti nei substrati analizzati nell'autunno 2013. I risultati sono accorpati per tipo di substrato considerato.

## Caratterizzazione dei substrati

*Secondo ciclo (autunno 2015)*



SMS	% sostanza secca	% sostanza organica	pH	EC (mS/cm)	% N	rapporto C/N
PP	34,27 b	59,59 b	6,3 a	5,55 ab	2,0 b	17 a
PL	33,47 b	55,30 c	6,3 a	5,32 b	1,9 b	17 a
PPL	49,96 a	63,87 a	6,3 a	6,53 a	2,2 a	17 a

**Tabella 9.4.** Principali parametri chimico- fisici individuati nei substrati analizzati nella primavera 2015. I risultati sono accorpate per tipo di substrato considerato.

SMS	Cloruri	Nitrati	Fosfati	Solfati	Sodio	Ammonio	Potassio	Calcio	Magnesio
	(mg/kg ss)								
PP	10629 a	331 ab	778 b	21681 a	5394 a	857 a	10961 b	5703 a	1665 a
PL	4026 b	521 a	986 b	21254 a	1570 b	667 ab	11331 b	5610 a	1586 a
PPL	7068 ab	132 b	2879 a	22274 a	2289 b	561 b	21955 a	3860 b	1874 a

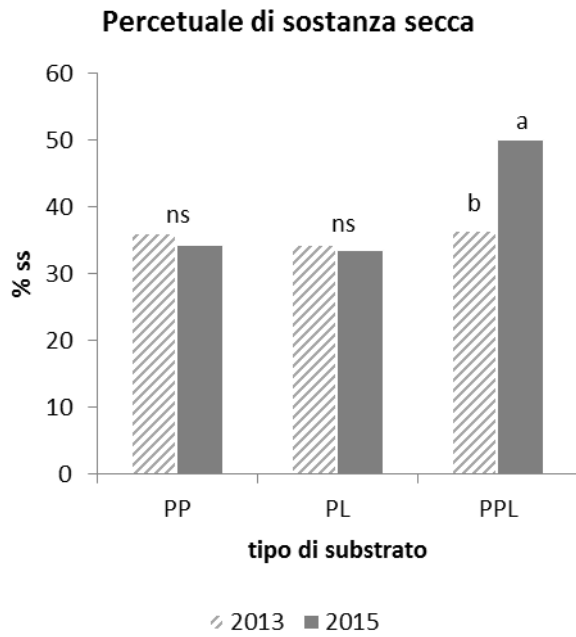
**Tabella 9.5.** Principali anioni e cationi riscontrati nei substrati analizzati nella primavera 2015. I risultati sono accorpate per tipo di substrato considerato.

SMS	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	K	P
	(mg/kg ss)							
PP	0,17 a	7,67 a	24,76 a	7,13 a	5,97 a	122 ab	11925 b	5908 ab
PL	0,16 a	7,57 a	19,2 ab	7,00 a	6,58 a	99 b	11065 b	4151 ab
PPL	0,09 b	7,06 a	17,47 b	6,98 a	3,60 b	151 a	19860 a	7808 a

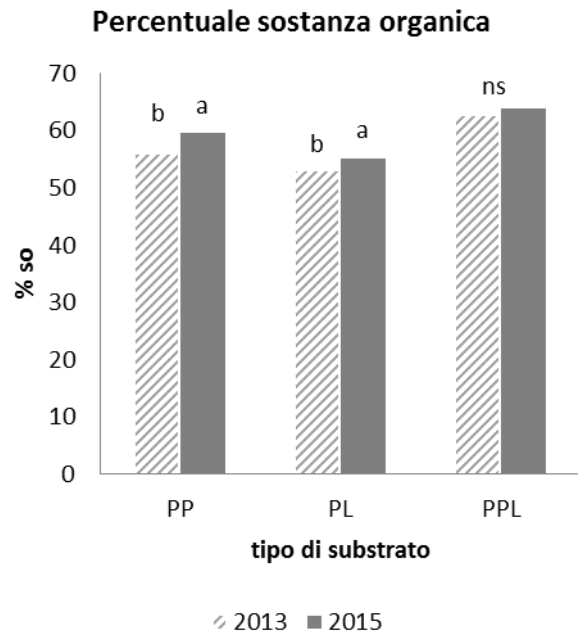
**Tabella 9.6.** Tenore di metalli pesanti nei substrati analizzati nella primavera 2015. I risultati sono accorpate per tipo di substrato considerato.

## Caratterizzazione dei substrati

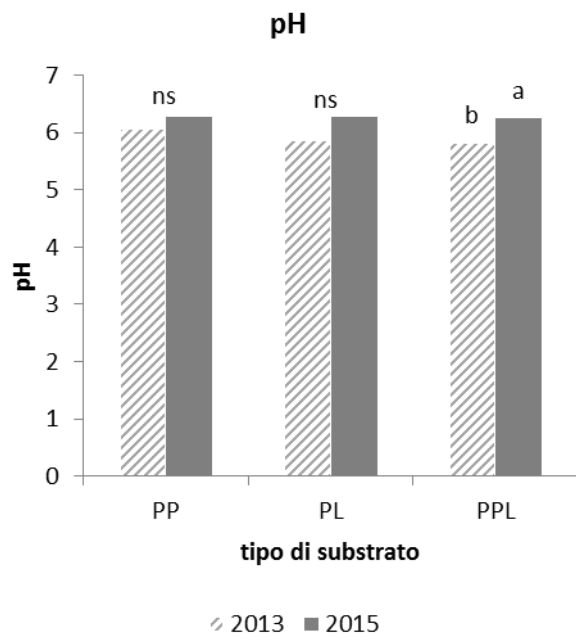
*Confronto 2013 - 2015*



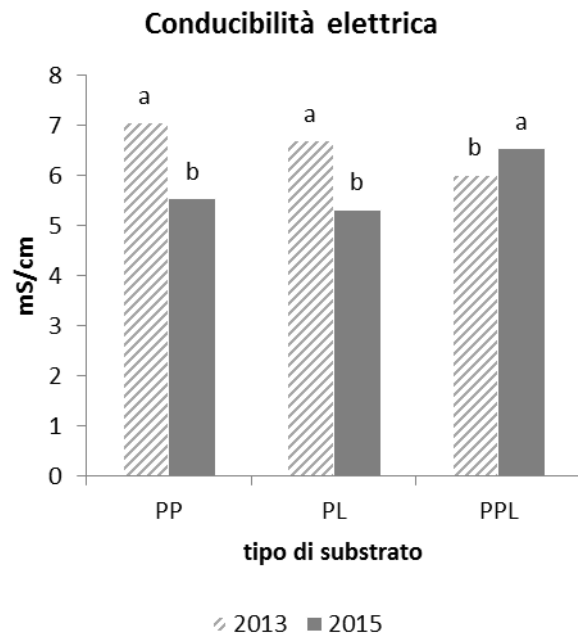
**Figura 9.3.** Percentuale di sostanza secca presente nei vari substrati analizzati. I risultati sono accorpati per tipo di substrato considerato.



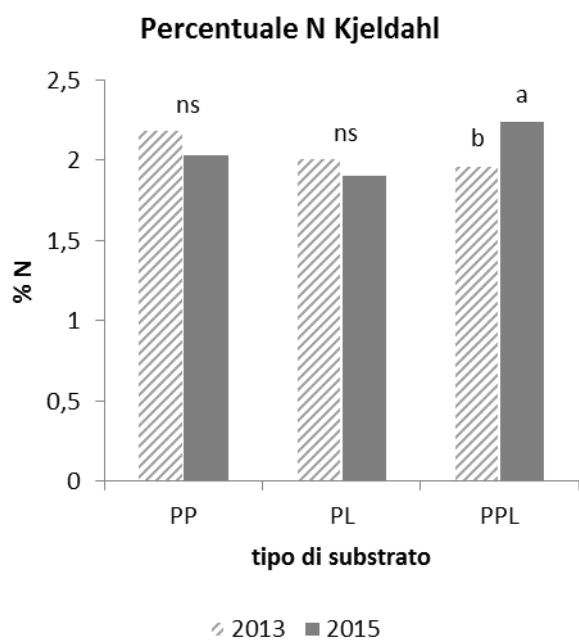
**Figura 9.4.** Percentuale di sostanza organica presente nei vari substrati analizzati. I risultati sono accorpati per tipo di substrato considerato.



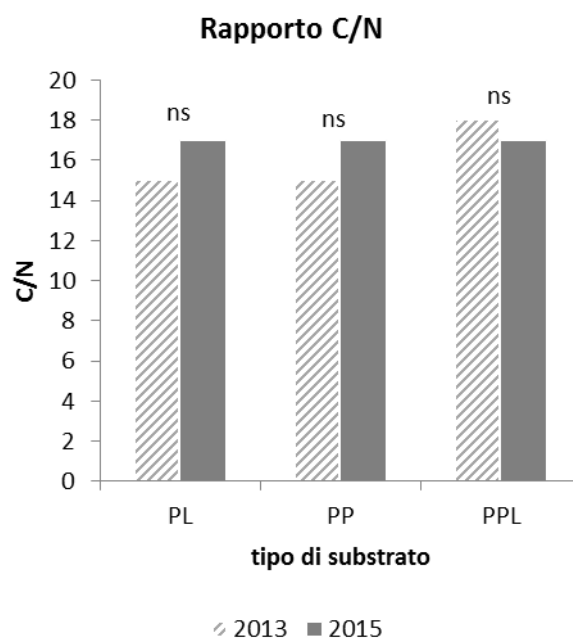
**Figura 9.5.** Valore di pH presente nei vari substrati analizzati. I risultati sono accorpati per tipo di substrato considerato.



**Figura 9.6.** Valore di conducibilità elettrica presente nei vari substrati analizzati. I risultati sono accorpati per tipo di substrato considerato.



**Figura 9.7.** Percentuale di azoto presente nei vari substrati analizzati. I risultati sono accorpati per tipo di substrato considerato.



**Figura 9.8.** Rapporto C/N presente nei vari substrati analizzati. I risultati sono accorpati per tipo di substrato considerato.

Stoccaggio di  
Spent mushroom substrate

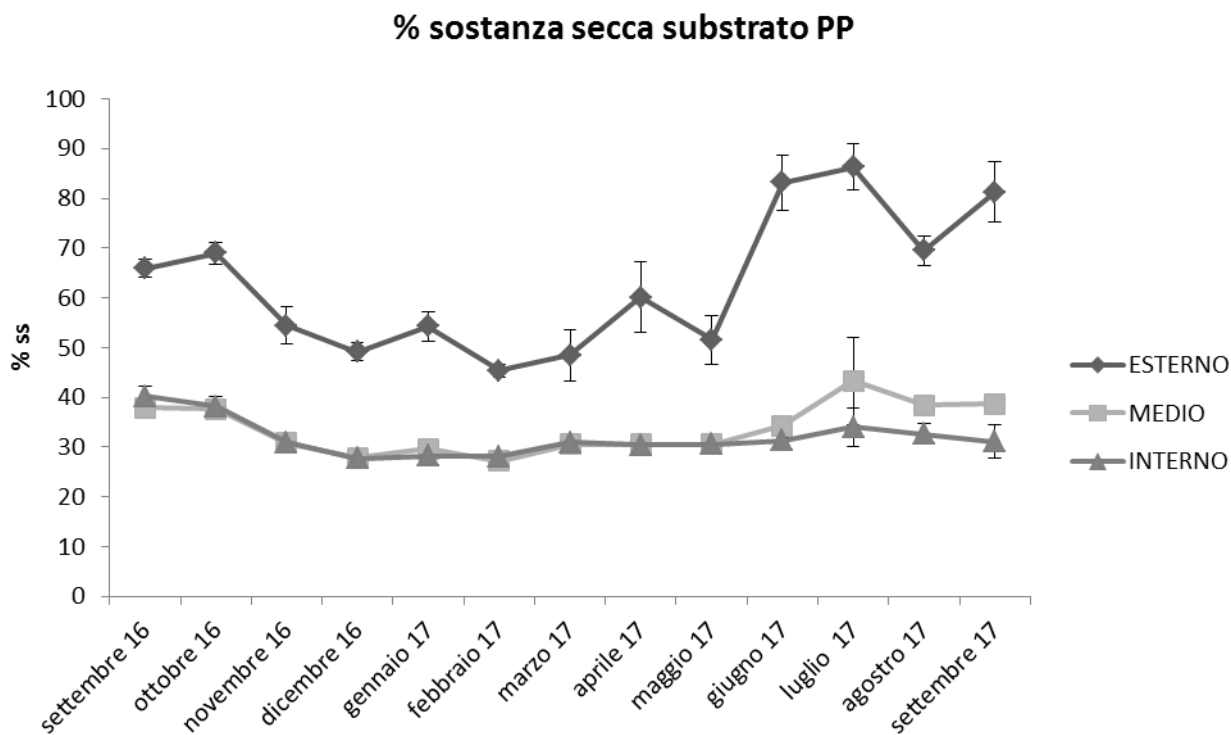


Figura 9.9. Percentuale di sostanza secca registrata nel substrato PP.

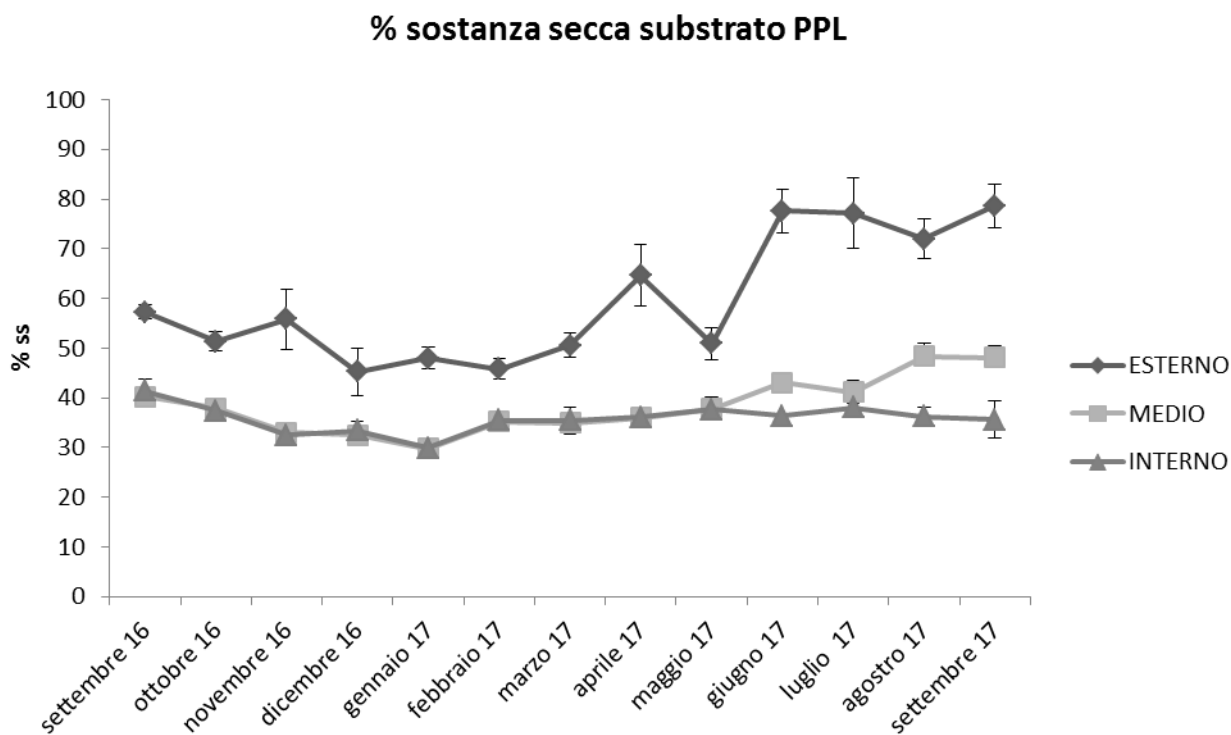


Figura 9.10. Percentuale di sostanza secca registrata nel substrato PPL.

### % Sostanza organica substrato PP

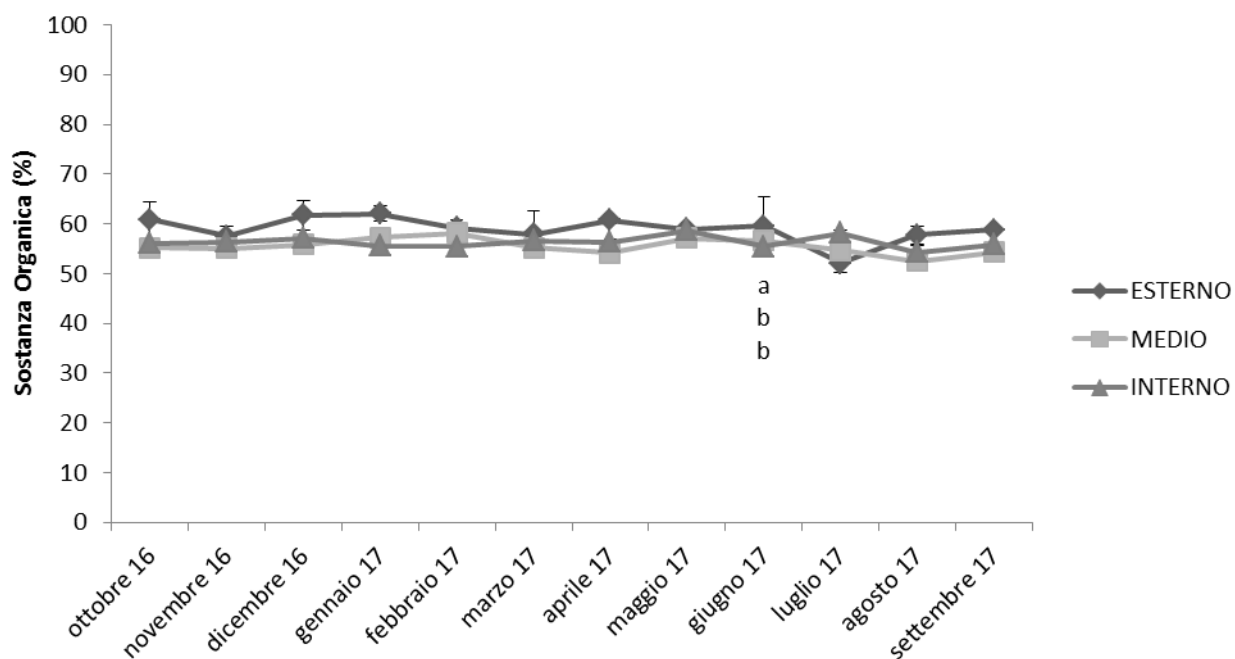


Figura 9.11. Percentuale di sostanza organica riscontrata nel substrato PP.

### % Sostanza organica substrato PPL

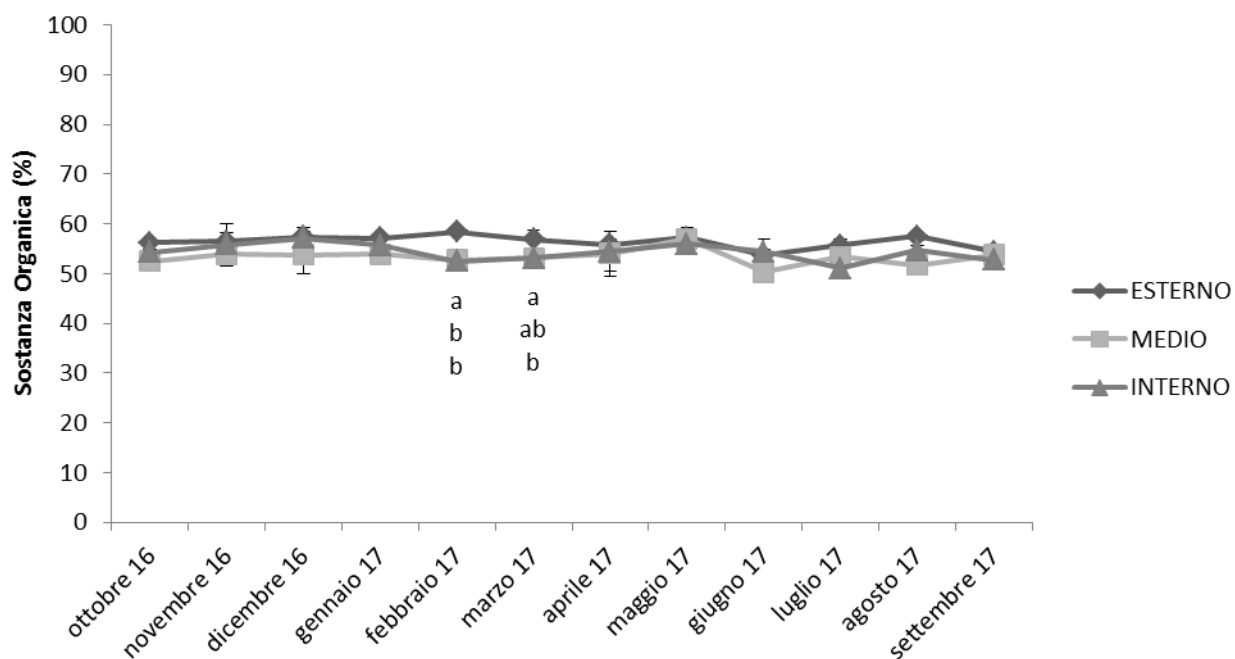


Figura 9.12. Percentuale di sostanza organica riscontrata nel substrato PPL.

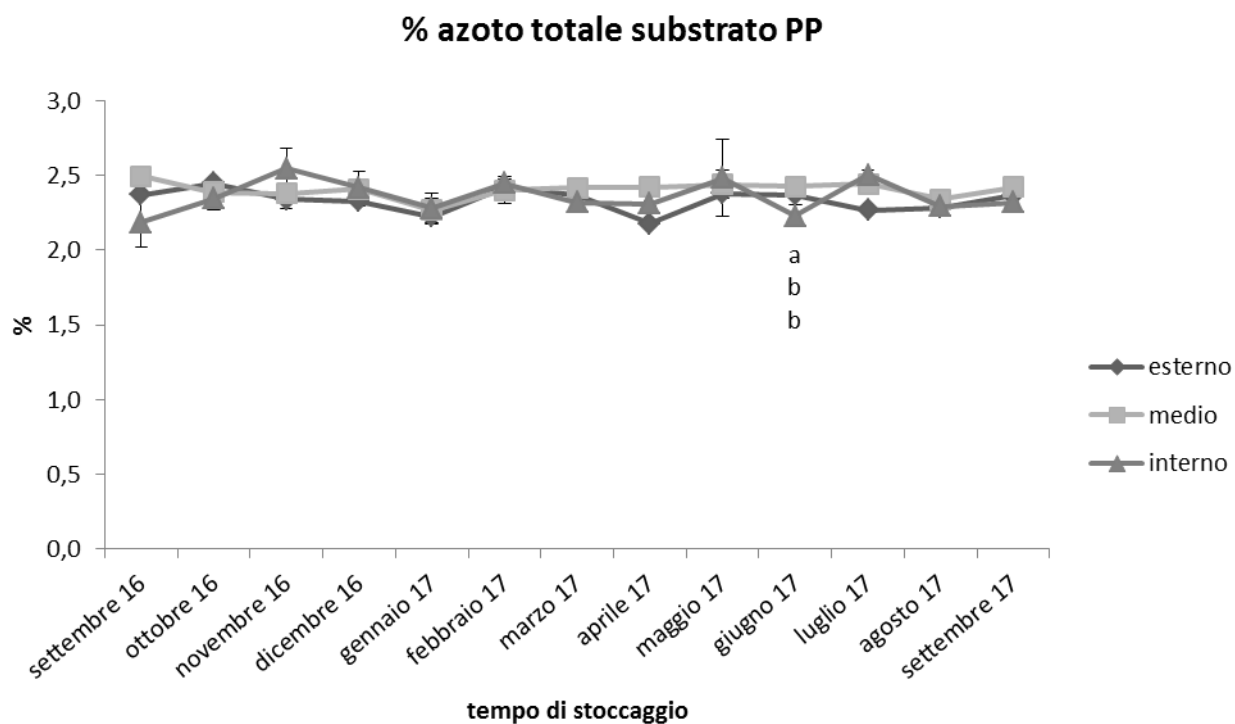


Figura 9.13. Percentuale di azoto riscontrato nel substrato PP.

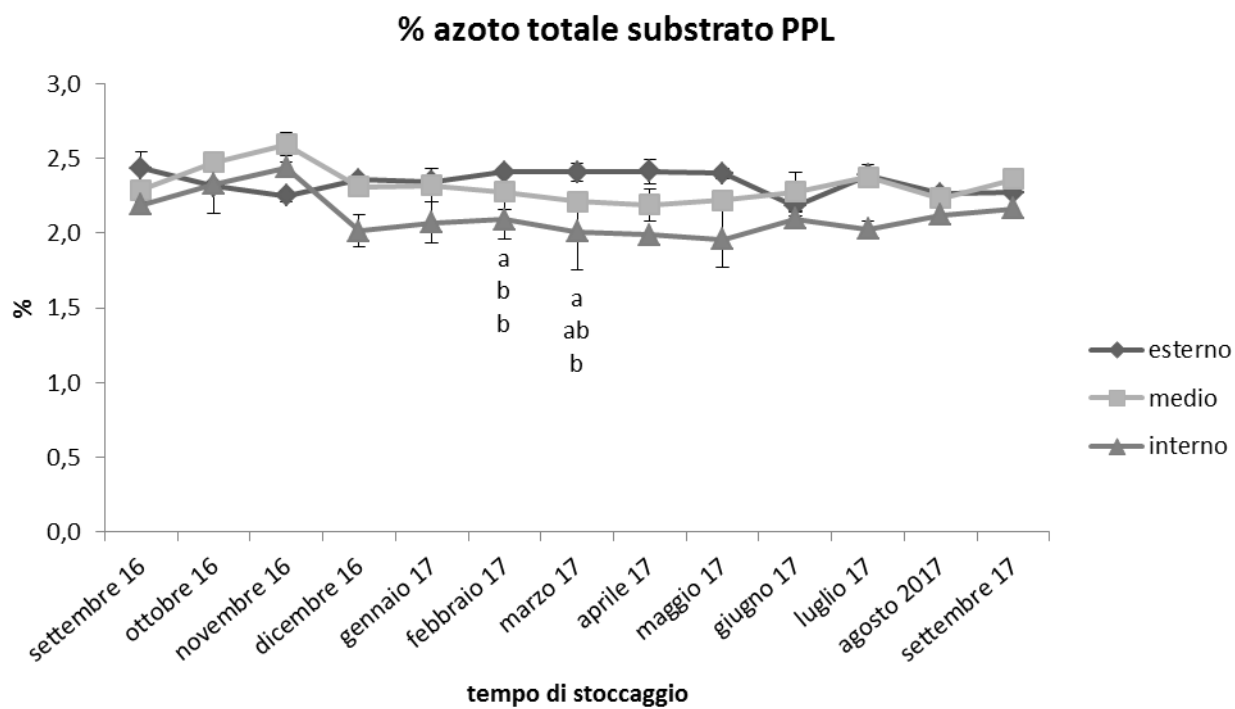


Figura 9.14. Percentuale di azoto riscontrato nel substrato PPL.



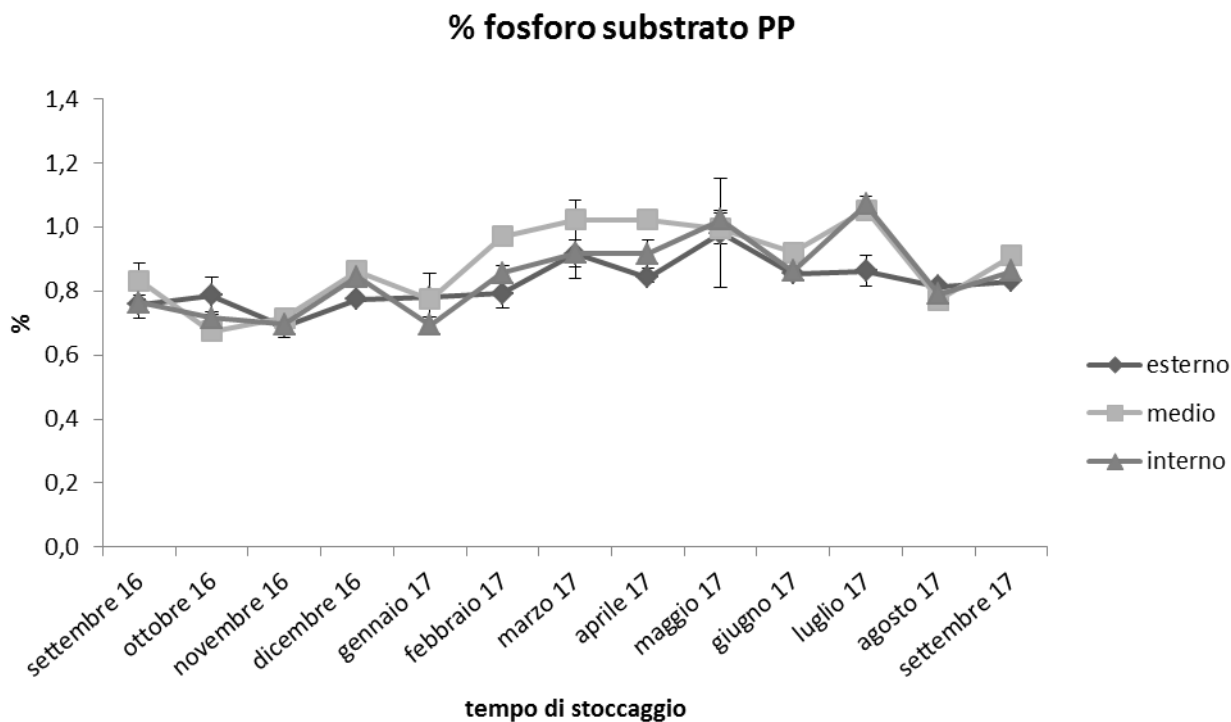


Figura 9.15. Percentuale di fosforo riscontrato nel substrato PP.

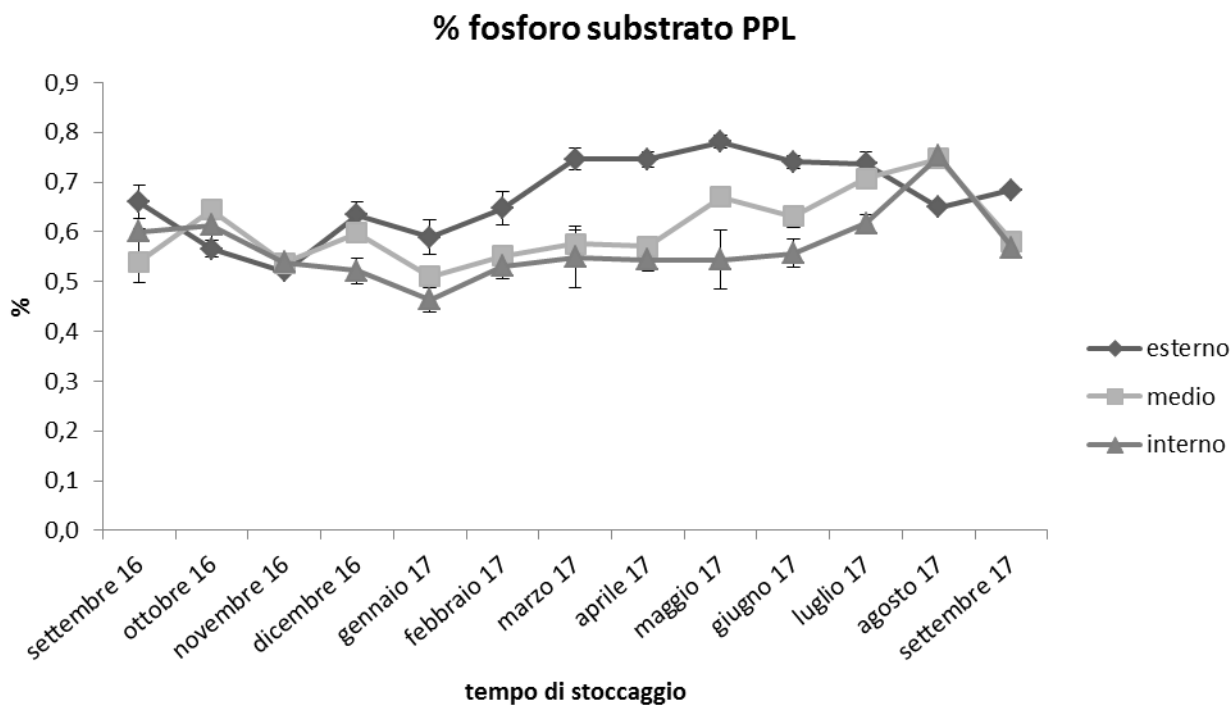


Figura 9.16. Percentuale di fosforo riscontrato nel substrato PPL.

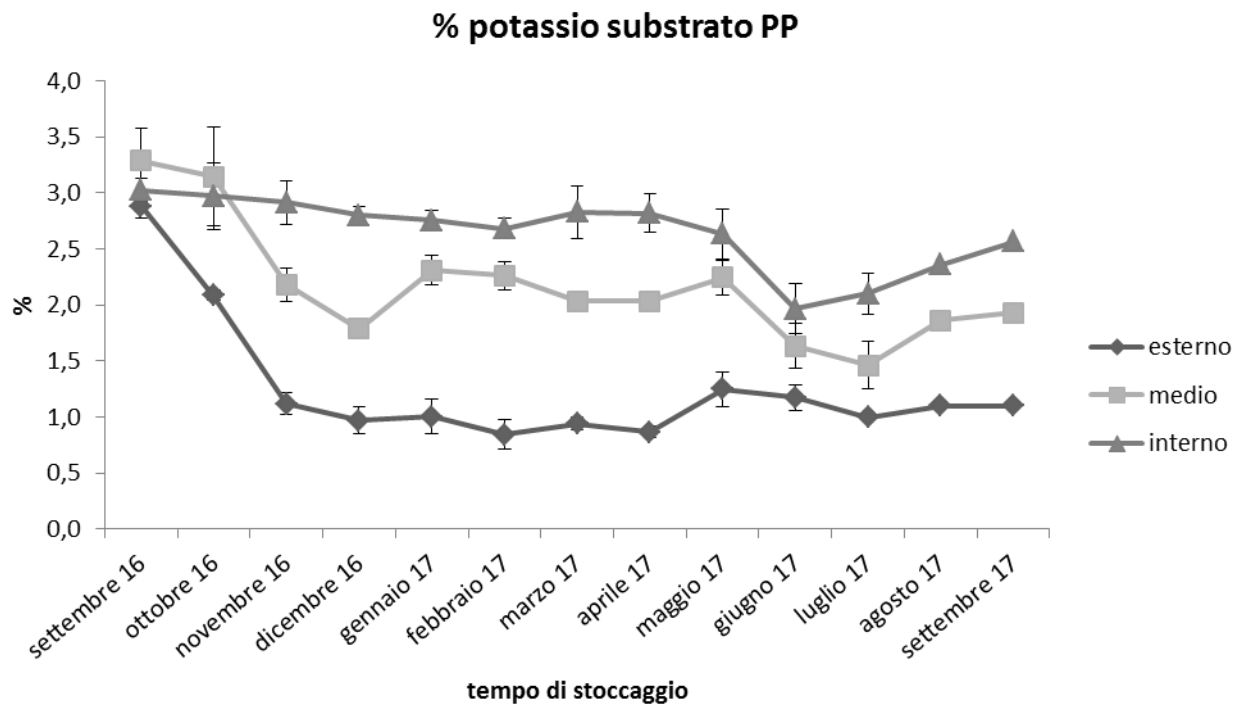


Figura 9.17. Percentuale di potassio riscontrato nel substrato PP.

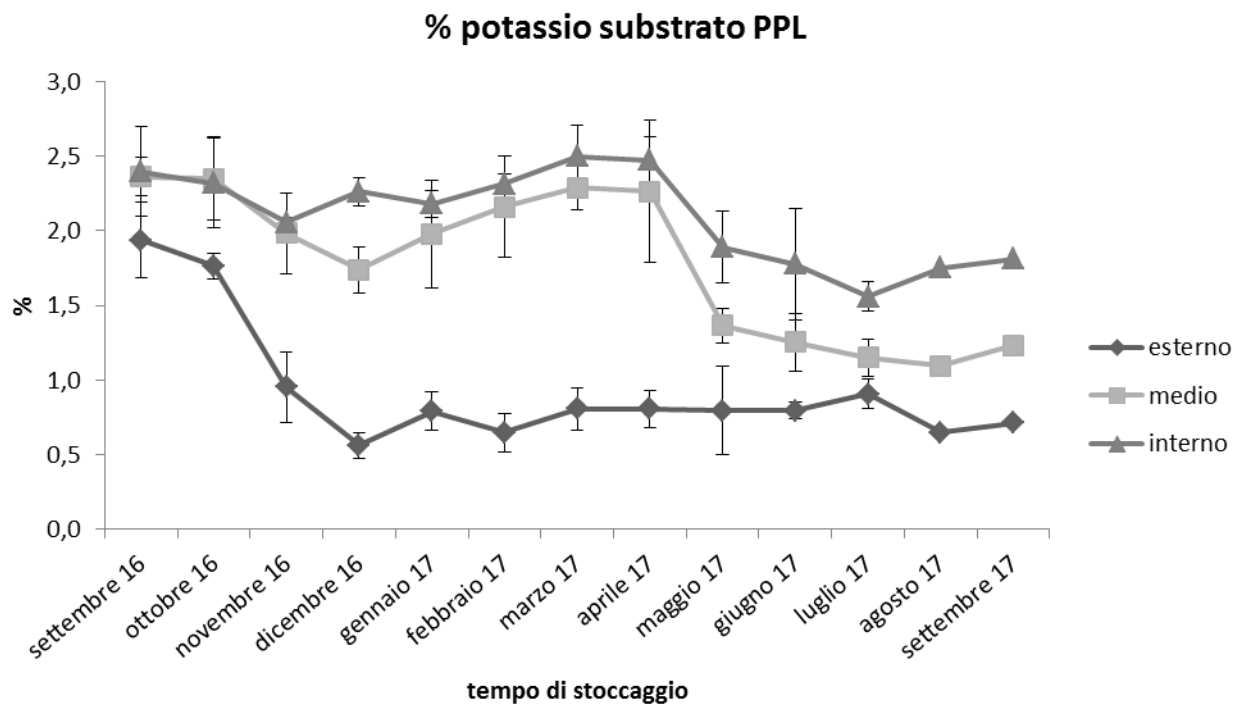


Figura 9.18. Percentuale di potassio riscontrato nel substrato PPL.

## Risultati agronomici

### *Lattuga*

Tesi	Produzione totale (t/ha)	Produzione commerciale (t/ha)	Scarto (t/ha)
T0	33,3 a	26,3 b	7,1 a
TMIN	41,4 ab	33,5 a	7,9 a
T50	45,6 a	34,9 a	10,6 a
T100	43,6 ab	34,3 a	9,3 a
<b>SMS</b>			
PP	39,2 a	30,5 a	8,8 a
PL	42,5 a	32,8 a	9,7 a
PPL	41,1 a	33,4 a	7,7 a

**Tabella 9.7** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sulla produzione di lattuga. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tesi	% sostanza secca	% azoto
T0	6,3 a	2,4 b
TMIN	5,7 a	3,1 a
T50	5,3 a	3,2 a
T100	5,9 a	3,0 a
<b>SMS</b>		
PP	6,1 a	2,8 a
PL	5,1 a	3,0 a
PPL	5,8 a	3,0 a

**Tabella 9.8** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di sostanza secca e azoto in lattuga. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

	Cloruri	Nitrati	Fosfati	Solfati	Sodio	Ammonio	Potassio	Magnesio	Calcio
Tesi	mg/kg ps								
T0	4610 c	757 d	6458 a	2989 b	1042 b	407 a	51253 b	1523 b	6430 a
TMIN	3852 c	5579 a	5790 a	3766 a	1087 ab	354 a	60737 a	1716 a	6488 a
T50	6170 b	4741 b	6403 a	4081 a	1135 ab	443 a	61983 a	1762 a	6673 a
T100	7832 a	3834 c	6423 a	4264 a	1179 a	451 a	60881 a	1687 ab	6520 a
<b>SMS</b>									
PP	5307 a	2715 c	6247 a	3595 a	1120 a	324 b	56915 a	1647 a	6495 a
PL	5764 a	4549 a	6244 a	3787 a	1092 a	473 a	59735 a	1664 a	6531 a
PPL	5778 a	3920 b	6314 a	3944 a	1121 a	444 a	59490 a	1705 a	6557 a

**Tabella 9.9** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di anioni e cationi nella biomassa della lattuga. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

## Risultati agronomici

### *Porro*

Tesi	Produzione totale (t/ha)	Produzione commerciale (t/ha)	Scarto (t/ha)	diametro (mm)	lunghezza (cm)
T0	20,9 b	12,2 b	2,6 b	43,97 c	77,82 c
TMIN	31,3 a	18,1 a	3,1 ab	49,40 a	89,69 a
T50	31,7 a	17,4 ab	3,7 a	48,09 ab	85,07 b
T100	33,4 a	17,9 a	4,0 a	47,80 b	91,70 a
<b>SMS</b>					
PP	29,4 a	16,3 a	3,5 a	47,31 a	88,57 a
PL	31,2 a	17,0 a	3,6 a	47,46 a	85,17 b
PPL	27,4 a	15,9 a	2,9 a	47,16 a	84,48 b

**Tabella 9.10** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sulla produzione di porro. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tesi	% sostanza secca	% azoto
T0	16,7 a	1,88 b
TMIN	15,8 a	2,37 a
T50	14,8 a	2,16 ab
T100	15,3 a	2,12 ab
<b>SMS</b>		
PP	16,2 a	2,17 a
PL	15,2 a	2,17 a
PPL	15,5 a	2,05 a

**Tabella 9.11** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di sostanza secca e azoto in porro. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tesi	Cloruri	Nitrati	Fosfati	Solfati	Sodio	Ammonio	Potassio	Magnesio	Calcio
	mg/kg ps								
T0	2748 b	160 b	4752 a	1944 a	918 a	527 a	22024 a	1116 a	5369 a
TMIN	2634 b	670 a	5250 a	2384 a	862 a	693 a	25059 a	1164 a	5497 a
T50	4394 a	396 ab	5305 a	2254 a	911 a	565 a	24825 a	1156 a	5603 a
T100	5019 a	260 ab	4847 a	1817 a	923 a	631 a	24482 a	1139 a	5616 a
<b>SMS</b>									
PP	3735 a	418 a	5221 a	1995 a	885 a	586 a	24250 a	1168 a	5359 a
PL	3872 a	271 a	4999 a	2201 a	889 a	661 a	24378 a	1086 a	5466 a
PPL	3489 a	470 a	4895 a	2104 a	936 a	564 a	23665 a	1178 a	5739 a

**Tabella 9.12** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di anioni e cationi nella biomassa di porro. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

## Risultati agronomici

### *Pomodoro*

Tesi	Produzione biomassa (t/ha)	Peso immaturi (t/ha)	Peso invaiati (t/ha)	Peso maturi (t/ha)	Peso sovramaturi (t/ha)
T0	38,2 b	13,7 ab	39,5 a	93,3 a	21,7 a
TMIN	66,0 a	21,3 a	39,7 a	104,8 a	18,4 a
T50	49,1 ab	11,0 b	27,7 a	122,5 a	14,3 a
T100	54,3 ab	15,1 ab	41,2 a	124,6 a	17,6 a
<b>SMS</b>					
PP	50,0 a	16,1 a	37,5 a	116,7 a	19,2 a
PL	52,1 a	14,7 a	36,1 a	107,7 a	19,0 a
PPL	53,5 a	15,0 a	37,4 a	109,4 a	15,9 a

**Tabella 9.13** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sulla produzione di pomodoro. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tesi	% sostanza secca	% azoto	pH	EC (mS/cm)	°Brix	Acidità titolabile (% acido citrico su pf)
T0	4,7 a	1,69 b	4,43 a	5,07 b	4,39 a	0,037 a
TMIN	4,9 a	2,59 a	4,47 a	5,87 a	4,68 a	0,040 a
T50	4,8 a	2,00 a	4,41 a	5,49 ab	4,56 a	0,037 a
T100	4,9 a	1,82 a	4,39 a	5,63 ab	4,56 a	0,037 a
<b>SMS</b>						
PP	4,9 a	1,89 a	4,43 ab	5,43 a	4,56 a	0,035 a
PL	4,6 a	2,13 a	4,47 a	5,57 a	4,54 a	0,036 a
PPL	4,8 a	2,06 a	4,38 b	5,53 a	4,53 a	0,043 a

**Tabella 9.14** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di sostanza secca e azoto in pomodoro. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

	Cloruri	Nitrati	Fosfati	Solfati	Sodio	Ammonio	Potassio	Magnesio	Calcio
Tesi	mg/kg ps								
T0	3762 b	--	14252 a	3568 a	385 a	28 a	36877 a	1465 b	4746 b
TMIN	3285 b	--	16467 a	4376 a	463 a	33 a	48172 a	1984 a	5795 a
T50	4876 a	--	14882 a	3857 a	453 a	25 a	43539 a	1750 ab	5372 ab
T100	4703 a	--	13825 a	4058 a	511 a	13 b	41868 a	1648 ab	5208 ab
<b>SMS</b>									
PP	4222 a	--	14620 a	3850 a	524 a	26 a	43569 a	1714 a	5629 a
PL	3971 a	--	14725 a	3782 a	438 ab	11 b	42427 a	1738 a	5011 a
PPL	4276 a	--	15224 a	4263 a	398 b	31 a	41846 a	1683 a	5203 a

**Tabella 9.15** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di anioni e cationi nella biomassa di pomodoro. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.



## Risultati agronomici

### *Spinacio*

Tesi	Produzione biomassa (t/ha)	% sostanza secca	% azoto
T0	17,6 a	18,08 a	3,90 a
TMIN	19,3 a	17,90 a	4,26 a
T50	18,4 a	17,82 a	3,91 a
T100	20,6 a	17,63 a	3,94 a
<b>SMS</b>			
PP	18,2 a	18,37 a	3,9 a
PL	18,9 a	17,91 a	4,1 a
PPL	19,8 a	18,25 a	4,0 a

**Tabella 9.16** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sulla produzione, sul contenuto di sostanza secca e azoto in spinacio. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

	Cloruri	Nitrati	Fosfati	Solfati	Sodio	Ammoni o	Potassio	Magnesi o	Calcio
	mg/kg ps								
<b>Tesi</b>									
T0	5555 b	7411 b	12997 b	4791 a	1228 a	839 a	66035 a	6293 a	1477 a
TMIN	4978 b	13449 a	14927 a	4885 a	999 a	819 a	70269 a	6376 a	1447 a
T50	7116 a	7693 b	14345 ab	4949 a	1091 a	747 a	67848 a	6366 a	1316 a
T100	7613 a	9329 ab	14339 ab	4482 a	1737 a	620 a	67823 a	6392 a	1298 a
<b>SMS</b>									
PP	6183 a	8829 a	13393 b	4667 a	1262 a	515 b	65880 a	6195 a	1771 a
PL	6505 a	9881 a	14624 a	4878 a	1203 a	1132 a	68525 a	6411 a	1166 b
PPL	6258 a	9701 a	14440 ab	4786 a	1327 a	622 b	69575 a	6464 a	1215 b

**Tabella 9.17** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di anioni e cationi nella biomassa di spinacio. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

## Risultati agronomici

### *Finocchio*

Tesi	Produzione totale (t/ha)	Produzione commerciale (t/ha)	Scarto (t/ha)
T0	47,15 b	16,1 b	31,0 b
TMIN	65,84 a	24,6 a	41,2 a
T50	62,11 a	24,3 a	37,8 a
T100	62,08 a	21,9 a	40,2 a
<b>SMS</b>			
PP	55,9 a	21,2 a	34,8 a
PL	60,9 a	21,8 a	39,1 a
PPL	60,9 a	22,2 a	38,8 a

**Tabella 9.18** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sulla produzione di pomodoro. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tesi	% sostanza secca	% azoto
T0	13,01 a	1,44 b
TMIN	9,30 c	2,35 a
T50	11,76 b	1,72 b
100	12,59 ab	1,57 b
<b>SMS</b>		
PP	12,02 a	1,61 a
PL	11,63 a	1,85 a
PPL	11,35 a	1,84 a

**Tabella 9.19** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di sostanza secca e azoto in pomodoro. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tesi	Cloruri	Nitrati	Fosfati	Solfati	Sodio	Ammonio	Potassio	Magnesio	Calcio
mg/kg ps									
T0	1765 b	149 b	8936 a	6182 b	5171 ab	251 a	48677 b	2453 a	10130 a
TMIN	2414 b	15288 a	8828 a	12423 a	6097 a	430 a	56730 ab	2329 a	7540 b
T50	4562 a	1445 b	9359 a	12050 a	4378 ab	288 a	59127 a	2245 a	8949 ab
T100	6226 a	155 b	10007a	11255 a	3106 b	218 a	58872 a	2234 a	9332 ab
<b>SMS</b>									
PP	3919 a	4911 a	10053 a	11113 a	4934 a	203 b	56380 a	2596 a	10082 a
PL	3793 a	4933 a	8957 a	10696,a	4698 a	459 a	56330 a	2158 b	8381 b
PPL	3513 a	2934 a	8838 a	9624 a	4433 a	228 b	54845 a	2191 b	8501 b

**Tabella 9.20** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di anioni e cationi nella biomassa di spinacio. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Risultati agronomici

*Radicchio di Chioggia*

Tesi	Produzione totale (t/ha)	Produzione commerciale (t/ha)	Scarto (t/ha)
T0	65,8 ab	37,1 a	28,7 b
TMIN	64,9 b	37,6 a	27,3 b
T50	74,8 a	42,9 a	31,9 a
T100	67,4 ab	37,1 a	30,3 ab
<b>SMS</b>			
PP	68,4 a	38,6 a	29,8 a
PL	67,6 a	39,2 a	28,4 a
PPL	68,6 a	38,1 a	30,5 a

**Tabella 9.21** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sulla produzione di radicchio. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tesi	% sostanza secca	% azoto	pH	EC (mS/cm)	°Brix	Acidità titolabile (% acido citrico su pf)
T0	8,76 a	2,60 a	6,08 a	7,68 b	5,9 a	0,102 a
TMIN	8,47 a	2,35 a	6,05 a	7,58 b	5,7 a	0,099 a
T50	8,25 a	2,43 a	6,01 a	8,06 ab	5,5 a	0,109 a
T100	9,30 a	2,26 a	5,98 a	8,40 a	5,8 a	0,112 a
<b>SMS</b>						
PP	8,41 a	2,36 a	6,05 a	7,86 a	5,8 a	0,106 a
PL	8,63 a	2,26 a	6,06 a	8,05 a	5,8 a	0,105 a
PPL	9,04 a	2,36 a	5,98 a	7,88 a	5,7 a	0,106 a

**Tabella 9.22** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di sostanza secca e azoto in radicchio. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tesi	PT (mg GAE kg ps)	CAT (mg Fe <sup>2+</sup> kg ps)	L*	a*	b*
T0	7997 a	84080 a	30,71 a	20,25 a	-2,31 b
TMIN	7538 a	79939 a	33,04 a	18,78 a	-1,35 a
T50	7991 a	85882 a	30,65 a	21,08 a	-2,44 b
T100	8078 a	87012 a	31,37 a	20,15 a	-2,15 b
<b>SMS</b>					
PP	8077,3 a	85064 a	31,87 a	19,53 a	-1,96 a
PL	8123,7 a	89379 a	31,43 a	19,74 a	-2,01 a
PPL	7502,4 a	78242 a	30,06 a	20,92 a	-2,22 a

**Tabella 9.23** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di sostanza secca e azoto in radicchio. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

	Cloruri	Nitrati	Fosfati	Solfati	Sodio	Ammonio	Potassio	Magnesio	Calcio
	mg/kg ps								
<b>Tesi</b>									
T0	2497 c	3282 a	6742 a	2833 a	577 a	515 a	38106 b	1947 a	6032 a
TMIN	2763 bc	4403 a	6765 a	2384 a	366 b	539 a	38552 ab	1860 a	5750 a
T50	4155 b	3485 a	6152 a	2364 a	427 ab	490 a	40449 a	1887 a	6115 a
T100	7299 a	3418 a	8044 a	2940 a	423 ab	618 a	40143 ab	1968 a	6027 a
<b>SMS</b>									
PP	4690 a	3914 a	7004 a	2869 a	488 a	423 b	40213 a	1940 a	6193 a
PL	4300 ab	3679 a	7211 a	2662 a	433 a	655 a	38450 b	1891 a	6003 a
PPL	3547 b	3348 a	6562 a	2360 a	425 a	544 ab	39274 ab	1915 a	5746 a

**Tabella 9.24** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di anioni e cationi in radicchio. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

## Risultati agronomici

### *Fagiolino*



Tesi	Produzione totale (t/ha)	Peso Commerciale rilievo 1 (t/ha)	Peso Commerciale rilievo 2 (t/ha)	Peso Commerciale rilievo 3 (t/ha)
T0	13,88 a	1,56 a	7,07 a	6,48 a
TMIN	15,94 a	1,07 a	7,12 a	6,60 a
T50	13,71 a	1,38 a	6,66 a	6,65 a
T100	14,48 a	1,78 a	7,08 a	7,02 a
<b>SMS</b>				
PP	15,97 a	1,59 a	7,56 a	7,20 a
PL	14,77 a	1,42 a	7,31 a	6,43 a
PPL	12,77 a	1,33 a	6,07 a	6,42 a

**Tabella 9.25** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sulla produzione di pomodoro. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tesi	% sostanza secca	% azoto	pH	EC (mS/cm)	°Brix	Acidità titolabile (% acido citrico su pf)
T0	9,18 a	3,30 ab	5,76 a	5,56 a	5,04 a	0,11 a
TMIN	9,19 a	3,41 a	5,80 a	5,85 a	5,04 a	0,11 a
T50	9,09 a	3,19 b	5,82 a	5,80 a	4,88 a	0,11 a
T100	9,31 a	3,20 b	5,81 a	5,89 a	5,04 a	0,11 a
<b>SMS</b>						
PP	9,12 a	3,28 a	5,82 a	3,28 a	4,95 a	0,11 a
PL	9,23 a	3,25 a	5,81 ab	3,25 a	5,04 a	0,11 a
PPL	9,23 a	3,29 a	5,76 b	3,29 a	5,01 a	0,11 a

**Tabella 9.26** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di sostanza secca e azoto in pomodoro. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

	Cloruri	Nitrati	Fosfati	Solfati	Sodio	Ammonio	Potassio	Magnesio	Calcio
	mg/kg ps								
<b>Tesi</b>									
T0	1328 b	5669 a	6075 a	1626 a	215 a	568 a	28157 b	3451 a	4814 a
TMIN	1240 b	6236 a	6113 a	1609 a	186 a	593 a	30231 a	3184 b	4464 ab
T50	1826 a	5674 a	6435 a	1658 a	184 a	567 a	29582 ab	3323 ab	4670 ab
T100	1917 a	5054 a	6272 a	1646 a	195 a	472 a	29925 a	3261 b	4316 b
<b>SMS</b>									
PP	1648 a	5718 a	6199 a	1622 a	209 a	515 a	29707 a	3350 a	4794 a
PL	1572 a	5575 a	6094 a	1554 a	189 a	573 a	29079 a	3234 a	4365 b
PPL	1513 a	5680 a	6378 a	1729 a	188 a	561 a	29635 a	3330 a	4539 ab

**Tabella 9.27** - Effetto della concimazione (tesi) e del tipo di substrato (SMS) sul contenuto di sostanza secca e azoto in pomodoro. Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

## ALLEGATO

## «Sezione I: Nitrato

Prodotti alimentari <sup>(1)</sup>		Tenori massimi (mg NO <sub>3</sub> /kg)	
1.1	Spinaci freschi ( <i>Spinacia oleracea</i> ) <sup>(2)</sup>		3 500
1.2	Spinaci in conserva, surgelati o congelati		2 000
1.3	Lattuga fresca ( <i>Lactuca sativa</i> L.) (coltivata in ambiente protetto e in campo aperto), esclusa la lattuga di cui al punto 1.4	Raccolta fra il 1° ottobre e il 31 marzo: lattuga in coltura protetta	5 000
		lattuga coltivata in campo aperto	4 000
1.4	Lattuga di tipo "Iceberg"	Raccolta fra il 1° aprile e il 30 settembre: lattuga in coltura protetta	4 000
		lattuga coltivata in campo aperto	3 000
1.5	Rucola ( <i>Eruca sativa</i> , <i>Diplonaxis</i> sp., <i>Brassica tenuifolia</i> , <i>Sisymbrium tenuifolium</i> )	Raccolta fra il 1° ottobre e il 31 marzo:	7 000
		Raccolta fra il 1° aprile e il 30 settembre:	6 000
1.6	Alimenti a base di cereali e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini <sup>(3)</sup> <sup>(4)</sup>		200*

**Figura 9.19** – Estratto dell'allegato del regolamento (ue) N. 1258/2011 per quanto concerne i tenori massimi ammissibili di nitrati nei prodotti alimentari.

Caratterizzazione di  
*Agaricus bisporus*

data rilievo	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
<b>L</b>								
Bianco Intero (W)	83,1	84,7	84,3	84,0		83,6		81,0
Bianco sgambato (SC)	86,1	86,7	84,6	83,9		81,6		82,0
Bianco affettato (S)	83,7	85,4	84,3	82,4	77,5	79,9	78,6	76,7
Crema Intero (PW)	52,6	56,9	56,7	57,1		55,3		54,5
<b>a</b>								
Bianco Intero (W)	0,3	0,2	0,5	0,4		1,0		1,4
Bianco sgambato (SC)	0,2	0,1	0,7	0,8		1,3		0,9
Bianco affettato (S)	0,5	0,8	0,9	0,7	1,4	1,4	1,2	1,6
Crema Intero (PW)	8,9	9,2	9,4	9,9		9,4		8,9
<b>b</b>								
Bianco Intero (W)	12,2	12,4	13,4	16,0		15,3		16,8
Bianco sgambato (SC)	9,8	11,3	13,4	14,3		14,9		15,6
Bianco affettato (S)	11,6	11,1	11,5	12,8	14,7	14,6	15,2	16,3
Crema Intero (PW)	20,1	21,4	22,7	24,2		23,0		21,0

**Tabella 9.28** – Valori delle coordinate colore L\*a\*b nelle referenze di *A. bisporus* nel corso della conservazione.

Referenze	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
bianco intero (W)	0	-1,93	-2,62	-3,83	-4,95	-6,03	-7,90	-9,31
bianco sgambato (SC)	0	-1,26	-2,45	-3,70	-4,92	-5,95	-7,59	-8,78
bianco affettato (S)	0	-1,09	-2,21	-3,18	-4,29	-5,17	-6,63	-7,50
crema intero (PW)	0	-1,29	-2,76	-4,13	-5,46	-6,67	-8,80	-10,14

**Tabella 9.29** – Decremento di umidità registrato nelle diverse referenze di *A. bisporus* nel corso della conservazione. I valori sono espressi in grammi di acqua persa. Le confezioni di W, SC e PW pesavano mediamente 500 g. La referenza S pesava mediamente 300g.

Referenze	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
bianco intero (W)	8,48	8,34	8,39	8,69		8,23		7,90
bianco sgambato (SC)	7,32	6,79	7,25	6,71		6,45		7,62
bianco affettato (S)	6,79	6,54	7,00	7,01	7,35	6,66	6,29	6,46
crema intero (PW)	6,34	6,74	6,93	7,38		6,37		6,81

**Tabella 9.30** – Percentuale di sostanza secca registrata nelle diverse referenze di *A. bisporus* nel corso della conservazione. I valori sono espressi in percentuale (%).

Referenze	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
bianco intero (W)	6,81	6,76	6,78	6,62		6,75		6,66
bianco sgambato (SC)	6,78	6,74	6,75	6,78		6,74		6,54
bianco affettato (S)	6,65	5,79	5,82	5,20	5,45	5,29	5,40	5,25
crema intero (PW)	6,72	6,85	6,65	6,57		6,65		6,68

**Tabella 9.31** – Valori di pH registrati nelle diverse referenze di *A. bisporus* nel corso della conservazione. I valori sono espressi in valori pH.

Referenze	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
bianco intero (W)	10,30	10,91	11,22	10,86		11,56		11,77
bianco sgambato (SC)	11,05	10,82	11,00	11,45		11,87		10,99
bianco affettato (S)	11,10	11,86	12,28	12,13	13,42	13,87	13,64	13,67
crema intero (PW)	9,63	10,26	9,59	9,74		10,08		10,49

**Tabella 9.32** – Valori di conducibilità elettrica registrati nelle diverse referenze di *A. bisporus* nel corso della conservazione. I valori sono espressi in mS/cm.

Referenze	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
bianco intero (W)	0,017	0,016	0,017	0,019		0,015		0,017
bianco sgambato (SC)	0,016	0,015	0,016	0,015		0,019		0,019
bianco affettato (S)	0,018	0,029	0,032	0,037	0,038	0,038	0,040	0,041
crema intero (PW)	0,014	0,012	0,015	0,016		0,015		0,015

**Tabella 9.33** – Valori di acidità titolabile registrati nelle diverse referenze di *A. bisporus* nel corso della conservazione. I valori sono espressi in % di acido citrico su peso fresco.

Referenze	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
bianco intero (W)	6,60	6,77	6,90	7,03		6,97		6,80
bianco sgambato (SC)	5,80	5,53	5,57	5,47		5,73		4,97
bianco affettato (S)	5,70	5,60	5,70	5,60	5,60	5,60	5,07	4,90
crema intero (PW)	5,30	5,50	5,43	5,43		5,33		5,37

**Tabella 9.34** – Contenuto di solidi solubili registrati nelle diverse referenze di *A. bisporus* nel corso della conservazione. I valori sono espressi in °Brix.

Referenze	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
bianco intero (W)	2136	1969	1613	1873		1932		2186
bianco sgambato (SC)	2455	2254	2361	2343		2466		2335
bianco affettato (S)	1685	1988	2160	2074	2111	2185	2581	2577
crema intero (PW)	2743	1637	2116	1766		2223		1545

**Tabella 9.35** – Valori di polifenoli totali (PT) registrati nelle diverse referenze di *A. bisporus* nel corso della conservazione. I valori sono espressi in mg GAE/kg ps.

Referenze	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
bianco intero (W)	18906	14039	15333	14606		17067		16597
bianco sgambato (SC)	20382	22868	17609	17811		16537		18119
bianco affettato (S)	18303	20327	20450	23195	22885	20911	23204	23043
crema intero (PW)	23400	20361	18053	22705		20455		17775

**Tabella 9.36** – Valori di capacità antiossidante totale (CAT) registrati nelle diverse referenze di *A. bisporus* nel corso della conservazione. I valori sono espressi in mg Fe<sup>2+</sup> E/kg ps.

<i>A. bisporus</i> bianco intero (W)	giorni di conservazione	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
Cloruri	mg/kg ps	6853	7246	7322	7439		7910		7066
Nitrati		708	617	1082	897		1253		965
Fosfati		21543	25299	22006	21535		25867		24131
Solfati		1320	1549	2010	1855		1719		1683
Sodio		450	476	525	433		574		430
Potassio		46420	47098	47120	46468		49396		49069
Magnesio		2008	2059	1996	2220		2298		2128
Calcio		1390	760	754	808		986		882

**Tabella 9.37** – Contenuto dei principali anioni e cationi registrati nella *A. bisporus* bianco intero (W) nel corso della conservazione. I valori sono espressi in mg/kg ps.

<i>A. bisporus</i> bianco sgambato (SC)	giorni di conservazione	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
Cloruri	mg/kg ps	9324	9896	9213	9436		9333		9814
Nitrati		951	599	811	994		886		901
Fosfati		23883	26904	27753	28038		29491		28830
Solfati		2454	2806	3055	3002		3221		2705
Sodio		506	508	563	500		439		490
Potassio		52359	53378	53172	53091		54507		55301
Magnesio		2095	2191	2308	2416		2341		2292
Calcio		1253	760	786	718		739		618

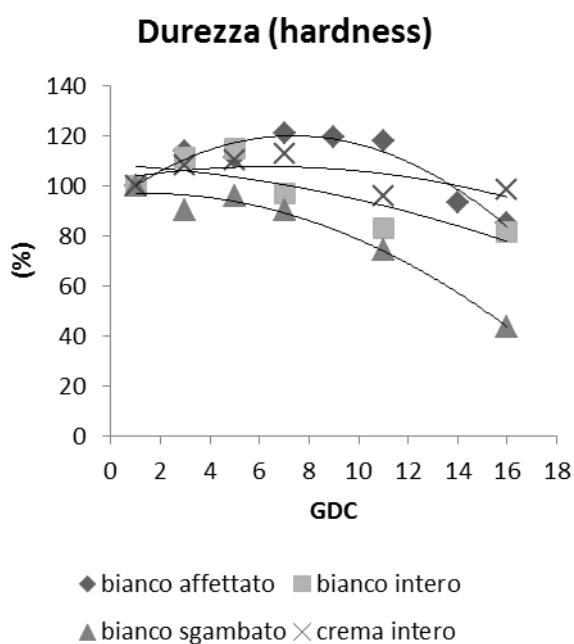
**Tabella 9.38** – Contenuto dei principali anioni e cationi registrati nella *A. bisporus* bianco sgambato (SC) nel corso della conservazione. I valori sono espressi in mg/kg ps.

<i>A. bisporus</i> bianco affettato (S)	giorni di conservazione	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
Cloruri	mg/kg ps	10717	10625	10256	9866	10137	10889	11020	10137
Nitrati		524	970	1289	312	840	367	918	204
Fosfati		25773	28988	28859	29991	31468	34050	31329	30944
Solfati		2752	3363	3678	3677	3681	2834	3573	3403
Sodio		661	602	588	613	544	578	662	648
Potassio		53543	54579	53511	53595	51242	55935	59858	57062
Magnesio		2359	2350	2433	2135	2331	2136	2199	2000
Calcio		777	564	594	498	674	446	2111	478

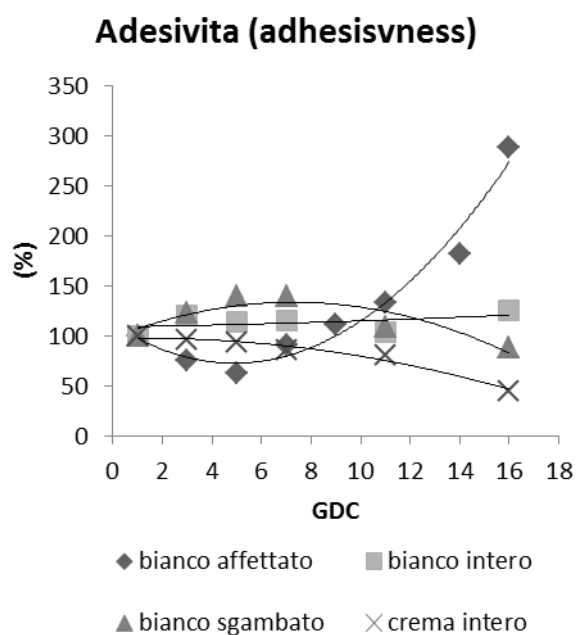
**Tabella 9.39** – Contenuto dei principali anioni e cationi registrati nella *A. bisporus* bianco affettato (S) nel corso della conservazione. I valori sono espressi in mg/kg ps.

<i>A. bisporus</i> crema intero (PW)	giorni di conservazione	0d	2d	4d	6d	8d	10d	12d	14d
Cloruri	mg/kg ps	11457	10565	10805	10146		10649		10693
Nitrati		576	134	486	985		1073		780
Fosfati		24461	27241	24994	24475		25489		27068
Solfati		1615	1662	2062	1714		2095		1976
Sodio		468	435	482	434		466		489
Potassio		52135	48692	50613	47928		50243		52656
Magnesio		2064	1977	2254	2097		2144		2187
Calcio		898	482	712	611		680		722

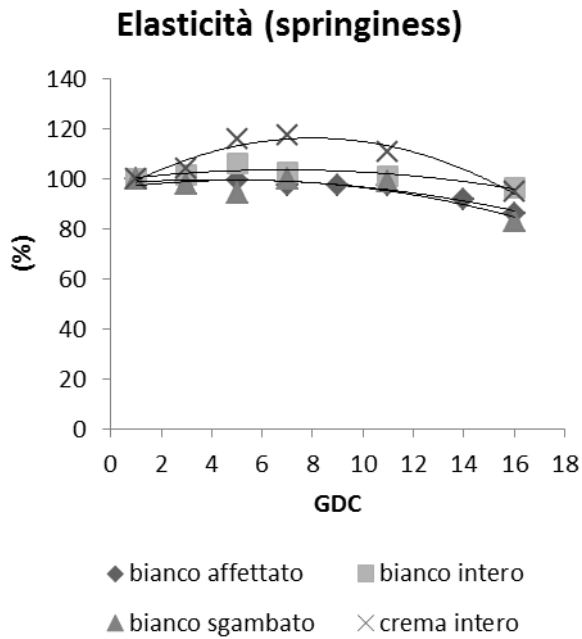
**Tabella 9.40** – Contenuto dei principali anioni e cationi registrati nella *A. bisporus* crema intero (PW) nel corso della conservazione. I valori sono espressi in mg/kg ps.



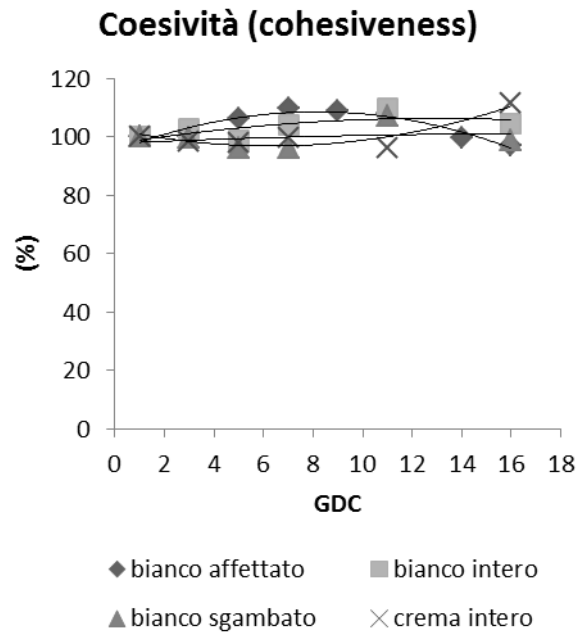
**Figura 9.20.** Variazione di valore del parametro “durezza” rilevato nelle referenze di *Agaricus bisporus* considerate nella prova di caratterizzazione del prodotto.



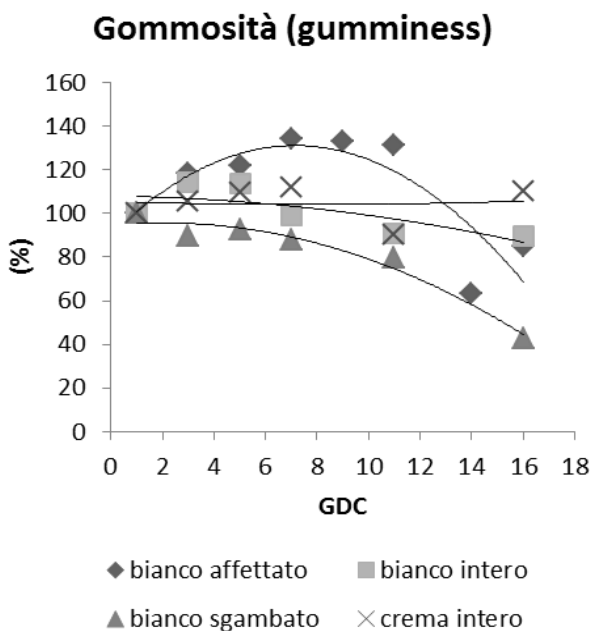
**Figura 9.21.** Variazione di valore del parametro “adesività” rilevato nelle referenze di *Agaricus bisporus* considerate nella prova di caratterizzazione del prodotto.



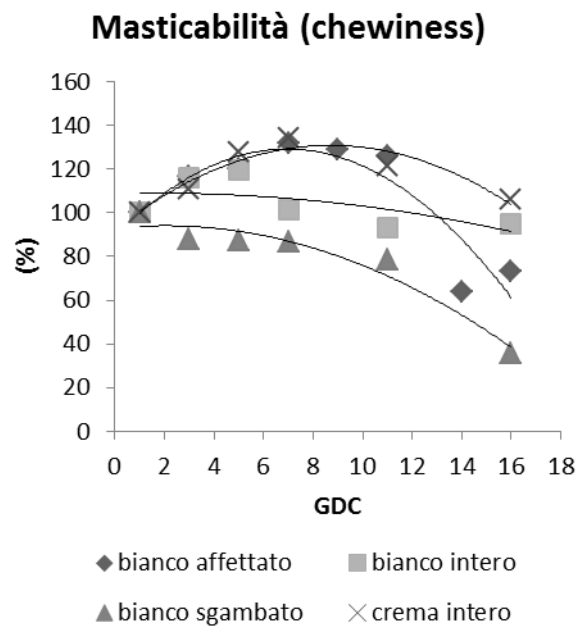
**Figura 9.22.** Variazione di valore del parametro “elasticità” rilevato nelle referenze di *Agaricus bisporus* considerate nella prova di caratterizzazione del prodotto.



**Figura 9.23.** Variazione di valore del parametro “coesività” rilevato nelle referenze di *Agaricus bisporus* considerate nella prova di caratterizzazione del prodotto.

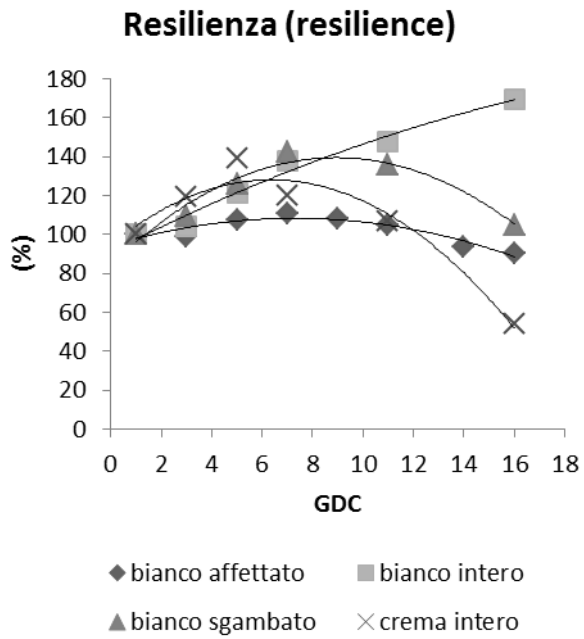


**Figura 9.24.** Variazione di valore del parametro “gommosità” rilevato nelle referenze di *Agaricus bisporus* considerate nella prova di caratterizzazione del prodotto.



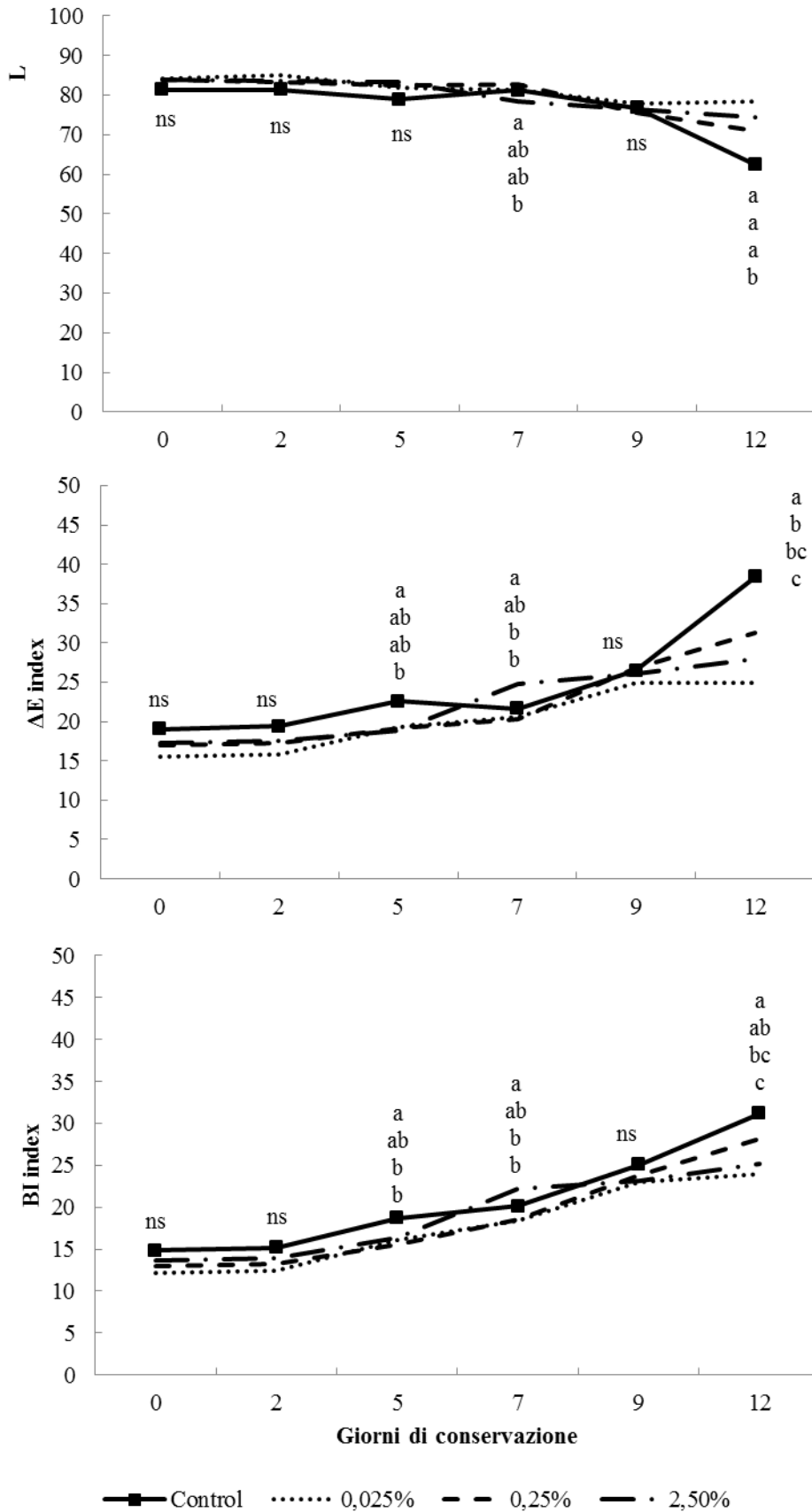
**Figura 9.25.** Variazione di valore del parametro “masticabilità” rilevato nelle referenze di *Agaricus bisporus* considerate nella prova di caratterizzazione del prodotto.



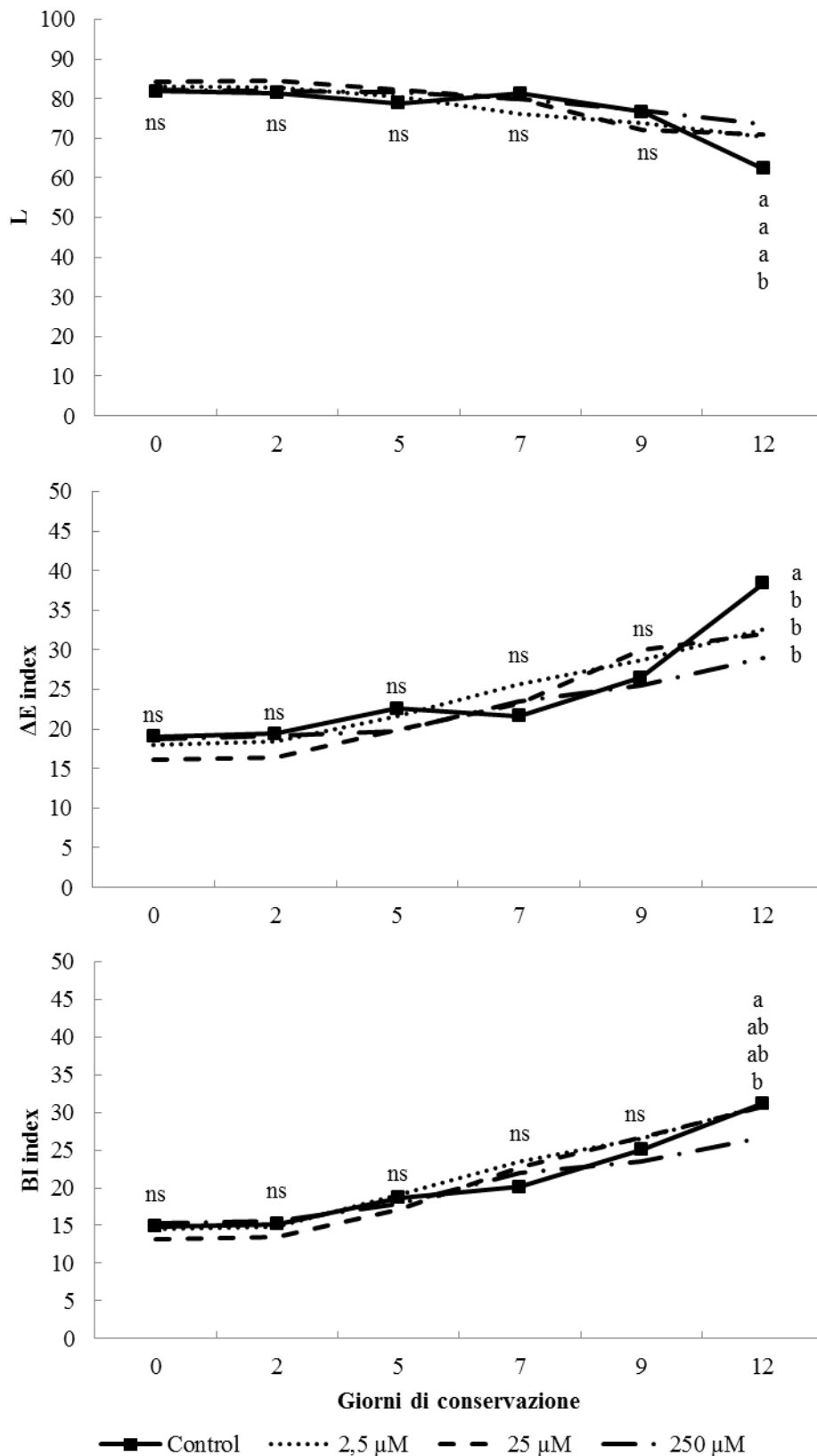


**Figura 9.26.** Variazione di valore del parametro “resilienza” rilevato nelle referenze di *Agaricus bisporus* considerate nella prova di caratterizzazione del prodotto.

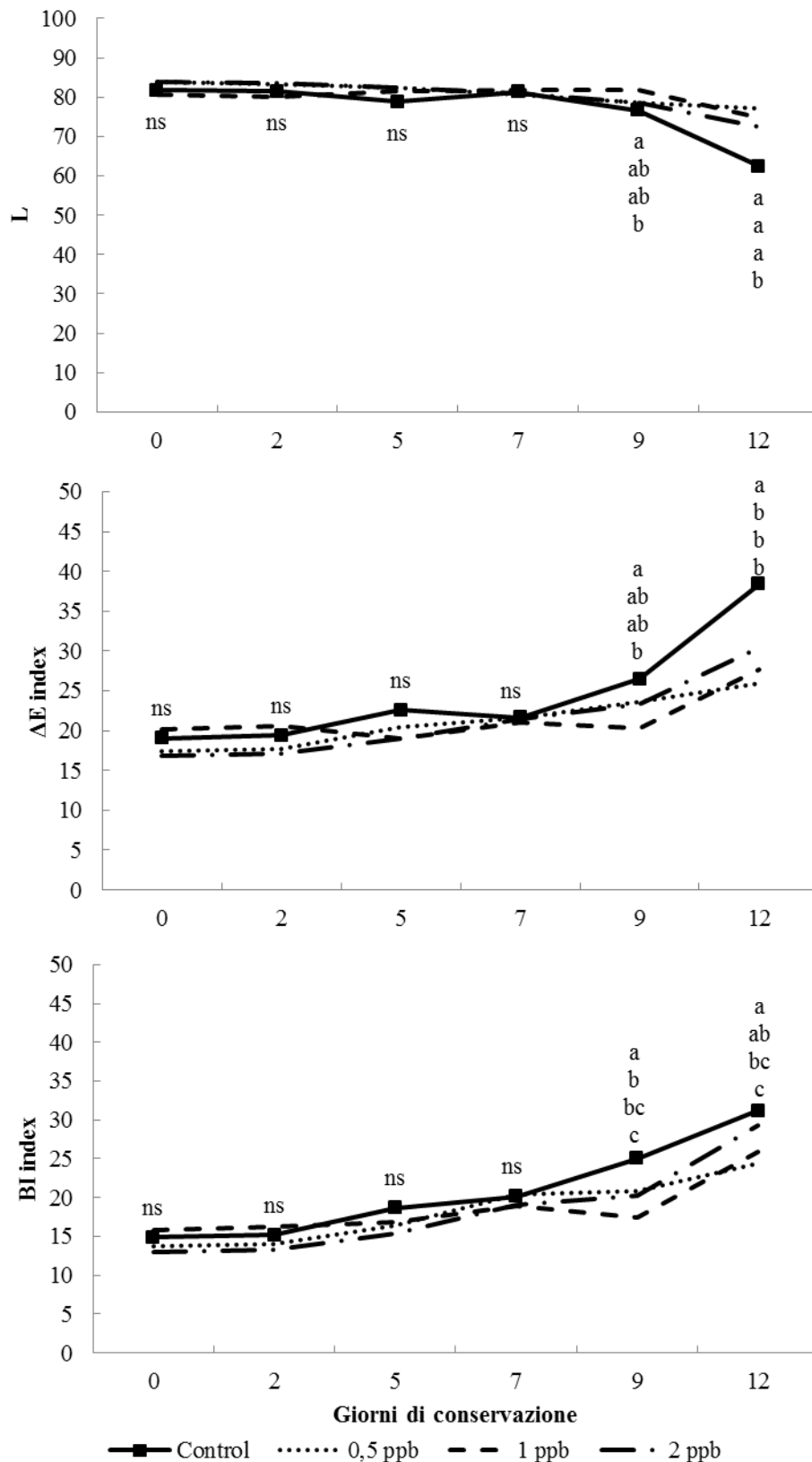
## Aumento shelf-life di *Agaricus bisporus*



**Figura 9.27.** Andamento del parametro colore L (secondo il metodo HunterLab), dell'indice ΔE e dell'indice BI riferiti al trattamento con acido citrico e le relative concentrazioni. Nell'ambito del singolo rilievo, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.



**Figura 9.28.** Andamento del parametro colore L (secondo il metodo HunterLab), dell'indice  $\Delta E$  e dell'indice BI riferiti al trattamento con acido salicilico e le relative concentrazioni. Nell'ambito del singolo rilievo, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.



**Figura 9.29.** Andamento del parametro colore L (secondo il metodo HunterLab), dell'indice ΔE e dell'indice BI riferiti al trattamento con EDTA e le relative concentrazioni. Nell'ambito del singolo rilievo, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tempo di conservazione

	Trattament i	0 d	2 d	5 d	7 d	9 d	12 d
Valore a	<b>0,025%</b>	0,87 a	0,86 a	1,34 a	1,63 a	1,83 a	1,88 b
	<b>0,25%</b>	1,36 a	1,35 a	1,29 a	1,36 a	2,18 a	2,68 ab
	<b>2,50%</b>	1,18 a	1,17 a	0,98 a	2,13 a	2,46 a	2,41 ab
	<b>Control</b>	1,30 a	1,26 a	1,22 a	1,42 a	1,88 a	3,65 a
Valore b	<b>0,025%</b>	9,83 a	9,78 a	11,70 a	12,97 a	14,57 a	15,85 a
	<b>0,25%</b>	9,94 a	9,89 a	11,50 a	13,53 a	15,07 a	16,24 a
	<b>2,50%</b>	10,68 a	10,62 a	12,35 a	13,83 a	15,07 a	16,17 a
	<b>Control</b>	10,45 a	10,40 a	12,57 a	14,39 a	15,84 a	16,88 a

**Tabella 9.41** - Effetto del trattamento con acido citrico sui valori delle coordinate colore a e b (secondo il metodo HunterLab). Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tempo di conservazione

	Trattament i	0 d	2 d	5 d	7 d	9 d	12 d
Valore a	<b>2,5<math>\mu</math>M</b>	1,99 a	1,98 a	2,10 a	2,63 a	2,92 a	2,58 ab
	<b>25<math>\mu</math>M</b>	1,52 a	1,50 a	1,44 a	2,17 ab	3,11 a	2,71 ab
	<b>250<math>\mu</math>M</b>	2,22 a	2,21 a	1,87 a	2,49 ab	2,10 ab	2,28 b
	<b>Control</b>	1,27 a	1,26 a	1,22 a	1,42 b	1,88 b	3,65 a
Valore b	<b>2,5<math>\mu</math>M</b>	10,99 a	10,93 a	12,69 a	14,56 ab	15,72 a	17,07 a
	<b>25<math>\mu</math>M</b>	10,02 a	9,97 a	12,38 a	15,39 a	15,25 a	17,27 a
	<b>250<math>\mu</math>M</b>	10,75 a	10,70 a	12,57 a	14,67 ab	14,82 a	16,31 b
	<b>Control</b>	10,45 a	10,40 a	12,58 a	14,39 b	16,34 a	14,88 b

**Tabella 9.42** - Effetto del trattamento con acido salicilico sui valori delle coordinate colore a e b (secondo il metodo HunterLab). Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tempo di conservazione

	Trattamenti	0 d	2 d	5 d	7 d	9 d	12 d
Valore a	<b>0,5 ppb</b>	1,28 a	1,28 a	1,28 a	1,77 a	2,50 a	1,71 b
	<b>1 ppb</b>	2,12 a	2,11 a	1,46 a	1,47 a	0,80 b	2,26 b
	<b>2 ppb</b>	1,06 a	1,05 a	1,26 a	1,73 a	1,82 ab	2,45 ab
	<b>Control</b>	1,27 a	1,26 a	1,22 a	1,42 a	1,88 ab	3,65 a
Valore b	<b>0,5 ppb</b>	10,32 a	10,27 a	12,12 a	14,15 a	13,86 ab	15,99 b
	<b>1 ppb</b>	10,20 a	11,15 a	11,91 a	13,78 a	12,95 b	15,82 b
	<b>2 ppb</b>	9,86 a	9,82 a	11,27 a	13,28 a	14,10 ab	17,35 ab
	<b>Control</b>	10,62 a	10,57 a	12,57 a	14,39 a	15,54 a	17,66 a

**Tabella 9.43** - Effetto del trattamento con EDTA sui valori delle coordinate colore a e b (secondo il metodo HunterLab). Nell'ambito delle colonne, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

Tempo di conservazione

	Trattamenti	0 d	2 d	5 d	7 d	9 d	12 d
	i						
% acido citrico su peso fresco	0,025%	0,09 a	0,09 a	0,11 b	0,12 b	0,12 b	0,13 b
	0,25%	0,09 a	0,09 a	0,10 b	0,11 b	0,12 b	0,13 b
	2,50%	0,08 a	0,08 a	0,10 b	0,11 b	0,12 b	0,14 b
	Control	0,09 a	0,09 a	0,13 a	0,14 a	0,16 a	0,19 a
°Brix	0,025%	4,84 a	4,90 a	5,50 a	5,55 a	5,60 a	5,20 a
	0,25%	4,86 a	4,93 a	5,63 a	5,67 a	5,70 a	5,60 a
	2,50%	4,81 a	4,83 a	5,63 a	5,73 a	5,83 a	5,53 a
	Control	4,80 a	4,80 a	5,50 a	5,20 b	5,80 a	5,60 a
EC	0,025%	6,22 a	6,27 a	6,65 a	6,74 a	6,82 a	6,92 a
	0,25%	6,19 a	6,21 a	6,65 a	6,83 a	7,01 a	7,05 a
	2,50%	5,84 a	5,90 a	6,82 a	6,88 a	6,94 a	6,96 a
	Control	5,47 a	5,59 a	6,57 a	6,67 a	7,23 a	7,02 a
pH	0,025%	6,81 a	6,83 a	6,80 a	6,82 a	6,83 a	6,73 ab
	0,25%	6,75 a	6,77 a	6,90 a	6,90 a	6,90 a	6,77 a
	2,50%	6,86 a	6,87 a	6,87 a	6,88 a	6,90 a	6,67 ab
	Control	6,85 a	6,90 a	6,80 a	6,90 a	6,70 b	6,40 b
% sostanza secca	0,025%	6,96 a	6,92 a	6,51 a	6,72 a	6,32 b	6,26 b
	0,25%	6,84 a	6,77 a	6,67 a	6,57 a	6,48 b	6,37 b
	2,50%	6,55 a	6,57 a	6,55 a	6,45 a	6,66 b	6,31 b
	Control	6,56 a	6,59 a	6,83 a	6,67 a	7,32 a	6,88 a
Polifenoli totali (mg GAE kg/ps)	0,025%	2828 a	2995 a	2369 a	2031 a	2139 a	2245 a
	0,25%	2760 a	2990 a	2380 a	1924 a	2050 a	2306 a
	2,50%	2864 a	3036 a	2471 a	2076 a	2056 a	2282 a
	Control	2866 a	3031 a	2426 a	2068 a	2282 a	2304 a
Capacità antiossidante totale (mg Fe <sup>2+</sup> E kg/ps)	0,025%	1990 a	2089 a	1839 a	2472 a	2185 a	1967 b
	0,25%	1906 a	1921 a	1873 a	1924 b	2111 a	1920 b
	2,50%	1971 a	1934 a	1908 a	2158 ab	2282 a	1926 b
	Control	1980 a	2080 a	1972 a	2250 ab	2453 a	2312 a

Tabella 9.44. Andamento dei principali parametri qualitativi riferiti al trattamento con acido citrico e le relative concentrazioni. Nell'ambito del singolo rilievo, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.

**Tempo di conservazione**

	Trattamenti	0 d	2 d	5 d	7 d	9 d	12 d
	i						
% acido citrico su peso fresco	2,5µM	0,08 a	0,09 a	0,19 a	0,19 a	0,19 a	0,19 ab
	25µM	0,08 a	0,08 a	0,12 b	0,13 b	0,15 b	0,21 a
	250µM	0,09 a	0,09 a	0,11 b	0,12 b	0,14 b	0,16 b
	Control	0,09 a	0,08 a	0,13 b	0,14 b	0,16 b	0,19 ab
°Brix	2,5µM	4,73 a	4,73 a	5,33 a	4,70 b	5,43 a	5,00 b
	25µM	4,72 a	4,70 a	5,63 a	5,00 a	5,70 a	5,27 a
	250µM	4,85 a	4,87 a	5,53 a	4,77 a	5,63 a	5,53 a
	Control	4,80 a	4,80 a	5,50 a	5,20 a	5,80 a	5,60 a
EC	2,5µM	6,15 a	6,19 a	6,84 a	6,40 a	6,97 a	6,96 a
	25µM	6,04 a	6,05 a	6,94 a	6,58 a	7,08 a	7,14 a
	250µM	6,00 a	5,98 a	6,75 a	6,34 a	6,82 a	7,09 a
	Control	5,91 a	5,89 a	6,57 a	6,67 a	7,23 a	7,02 a
pH	2,5µM	6,78 a	6,73 a	6,85 a	6,97 a	6,43 b	6,37 a
	25µM	6,80 a	6,83 a	6,88 a	6,93 a	6,82 a	6,23 a
	250µM	6,81 a	6,83 a	6,87 a	6,90 a	6,70 ab	6,47 a
	Control	6,85 a	6,8 a	6,80 a	6,90 a	6,70 ab	6,40 a
% sostanza secca	2,5µM	7,13 a	7,02 a	6,63 a	6,73 a	6,63 b	6,13 b
	25µM	6,90 a	6,74 a	6,93 a	6,73 a	6,84 ab	6,54 ab
	250µM	7,18 a	7,08 a	6,64 a	6,53 a	6,69 ab	6,69 a
	Control	6,78 a	6,59 a	6,83 a	6,67 a	7,32 a	6,88 a
Polifenoli totali (mg GAE kg/ps)	2,5µM	2752 a	2946 a	2567 a	2235 a	2300 a	2451 a
	25µM	2993 a	3068 a	2596 a	2119 a	2078 a	2560 a
	250µM	3004 a	3164 a	2578 a	2220 a	2099 a	2460 a
	Control	3041 a	2991 a	2426 a	2153 a	2282 a	2304 a
Capacità antiossidante totale (mg Fe <sup>2+</sup> E kg/ps)	2,5µM	1943 a	1976 a	2086 a	2381 a	2456 a	2212 ab
	25µM	2015 a	2080 a	2014 a	2196 a	2015 b	2008 c
	250µM	2103 a	2178 a	1945 a	2270 a	2310 a	2099 bc
	Control	1935 a	1945 a	1972 a	2250 a	2453 a	2312 a

**Tabella 9.45.** Andamento dei principali parametri qualitativi riferiti al trattamento con acido citrico e le relative concentrazioni. Nell'ambito del singolo rilievo, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.



Tempo di conservazione

	Trattamenti	0 d	2 d	5 d	7 d	9 d	12 d
% acido citrico su peso fresco	0,5 ppb	0,09 a	0,09 a	0,13 a	0,13 ab	0,13 b	0,14 b
	1 ppb	0,09 a	0,10 a	0,13 a	0,13 ab	0,13 b	0,13 b
	2 ppb	0,08 a	0,08 a	0,11 b	0,11 b	0,12 b	0,14 b
	Control	0,08 a	0,09 a	0,13 a	0,14 a	0,16 a	0,19 a
°Brix	0,5 ppb	5,02 a	5,03 a	5,8 ab	5,93 a	6,03 a	5,87 a
	1 ppb	5,13 a	5,00 a	6,07 a	5,90 a	5,73 b	5,43 a
	2 ppb	4,79 a	4,83 a	5,57 b	5,63 ab	5,70 b	5,50 a
	Control	4,77 a	4,80 a	5,50 b	5,20 b	5,80 ab	5,60 a
EC	0,5 ppb	6,11 a	6,21 a	6,73 a	6,91 a	7,10 a	7,00 a
	1 ppb	6,37 a	6,49 a	6,97 a	6,94 a	6,91 a	6,96 a
	2 ppb	6,00 a	6,14 a	6,84 a	6,91 a	6,97 a	7,01 a
	Control	5,44 a	5,59 a	6,57 a	6,67 a	7,23 a	7,02 a
pH	0,5 ppb	6,85 a	6,87 a	6,73 a	6,85 a	6,97 a	6,77 a
	1 ppb	6,68 a	6,73 a	6,73 a	6,65 a	6,56 a	6,77 a
	2 ppb	6,74 a	6,80 a	6,87 a	6,87 a	6,87 a	6,70 a
	Control	6,87 a	6,90 a	6,80 a	6,90 a	6,70 a	6,40 b
% sostanza secca	0,5 ppb	6,85 a	6,92 a	6,98 a	6,90 a	6,98 ab	6,77 ab
	1 ppb	6,98 a	6,65 a	6,87 a	6,91 a	6,57 b	6,23 b
	2 ppb	6,41 a	6,34 a	6,72 a	6,66 a	6,50 b	6,63 ab
	Control	6,78 a	6,59 a	6,83 a	6,67 a	7,32 a	6,88 a
Polifenoli totali (mg GAE kg/ps)	0,5 ppb	2841 a	2792 a	2239 a	1819 ab	2329 a	2313 a
	1 ppb	2763 a	2885 a	2172 a	2057 a	2423 a	2230 a
	2 ppb	2858 a	2911 a	2379 a	1729 b	2415 a	2249 a
	Control	2915 a	3068 a	2426 a	1668 b	2282 a	2304 a
Capacità antiossidante totale (mg Fe <sup>2+</sup> E kg/ps)	0,5 ppb	1972 a	2049 a	1854 a	2237 a	2379 a	2148 a
	1 ppb	2006 a	2202 a	1882 a	2152 a	2410 a	2205 a
	2 ppb	2085 a	2199 a	1896 a	2395 a	2727 a	2238 a
	Control	1975 a	2080 a	1972 a	2250 a	2453 a	2312 a

Tabella 9.46. Andamento dei principali parametri qualitativi riferiti al trattamento con acido citrico e le relative concentrazioni. Nell'ambito del singolo rilievo, i valori senza alcuna lettera in comune differiscono significativamente per  $P \leq 0.05$  secondo il Test HSD di Tukey.