

Testiranje svojstava čvrstoće materijala na bazi micelija bukovače (*Pleurotus ostreatus*)

Šuljak, Filip

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:152179>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**Testiranje svojstava čvrstoće materijala na bazi
micelija bukovače (*Pleurotus ostreatus*)**

DIPLOMSKI RAD

Filip Šuljak

Zagreb, rujan, 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Poljoprivredna tehnika - Melioracije

**Testiranje svojstava čvrstoće materijala na bazi
micelija bukovače (*Pleurotus ostreatus*)**

DIPLOMSKI RAD

Filip Šuljak

Mentor:

doc. dr. sc. Marina Bubalo Kovačić

Zagreb, rujan, 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, Filip Šuljak, JMBAG 0178113970, rođen 03.03.1998. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

Testiranje svojstava čvrstoće materijala na bazi micelija bukovače (*Pleurotus ostreatus*)

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Filipa Šuljka**, JMBAG 0178113970 9 , naslova

Testiranje svojstava čvrstoće materijala na bazi micelija bukovače (*Pleurotus ostreatus*)

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | | |
|----|----------------------------------|----------|-------|
| 1. | doc.dr.sc. Marina Bubalo Kovačić | mentor | _____ |
| 2. | prof.dr.sc. Ivana Banjad Pečur | komentor | _____ |
| 3. | izv.prof.dr.sc. Ivan Širić | član | _____ |
| 4. | izv.prof.dr.sc. Monika Zovko | član | _____ |

Zahvala

Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Marini Bubalo Kovačić koja je prepoznala ovako inovativnu temu te aktivno surađivala na istoj. Pomogla mi je u svakoj situaciji od postavljanja pokusa do obrade podataka. Samoinicijativno me motivirala da širim svoje znanje vodeći me u razne proizvodnje gljiva gdje smo prikupljali informacije. Neumorno mi je pomagala u traženju literature te postavljanju pokusa. Hvala joj na uloženom trudu u laboratoriju i hvala joj na stvaranju ovog rada, jer bez nje ovaj rad ne bio to što jest.

Zahvaljujem se cjeloukupnom osoblju i zavodima Agronomskog fakulteta koji su uložili svoje vrijeme u analize i stvaranje ovog rada.

Zahvaljujem se svojoj obitelji, prijateljima, djevojci i kolegama sa Agronomskog fakulteta na lijepim, ali i na težim trenucima jer bez njih ne bio što sam danas.

Sažetak

Diplomskog rada studenta Filip Šuljak, naslova

Testiranje svojstava čvrstoće materijala na bazi micelija bukovače (*Pleurotus ostreatus*)

Biokompozit je podvrsta prirodnog kompozita koji je načinjen od prirodne matrice, biomase, i prirodnog ojačala, spleta isprepletenih hifa, zvanih micelij. Micelij je vegetativni podzemni dio gljiva koji ima veliku sposobnost razmnožavanja. Stoga su biokompoziti potpuno biološkog porijekla i biorazgradivi, a i primjer kružnog gospodarstva, isplativi i ekonomični. Biomasa, najčešće lignocelulozna, se prikuplja iz poljoprivredne ili šumarske industrije, usitnjava se i sterilizira da bi se stvorio pogodan medij za rast micelija, odnosno supstrat, koji mora biti kompatibilan sa odabranom vrstom gljive jer će samo tako rast biti uspješan. Nakon zasijavanja micelija, rast i razvoj odvijat će se samo uz povoljne uvjete, a to su temperatura viša od 20 °C i vlaga iznad 60 %. Nakon što supstrat potpuno pobijeli slijedi daljnja obrada materijala. Materijal se obrađuje na razne načine koji uključuju sušenje, hladno i vruće prešanje. Dobiveni biokompoziti mogu se koristiti u svakodnevnom životu kao što su: lagani materijali za pakiranje, namještaj, građevinski materijali, zvučna izolacija i zidna obloga, odjevni predmeti i mnogi drugi. Stoga, cilj ovog rada bio je dobiti postojani čvrsti biokompozit na bazi micelija bukovače. Utvrđeno je da nema značajnije razlike u proraštanju, a samim time i čvrstoći, koja je priručno testirana, između biokompozita od čiste slame i slame i konoplje. Potvrđeno je da na proraštanje utječe pH supstrata nakon sterilizacije i dotok svježeg zraka. Isto tako, dokazano je da različita završna obrada materijala utječe na krajnji proizvod.

Ključne riječi: biokompozit, biomasa, micelij, supstrat, bukovača

Summary

Of the master's thesis – student **Filip Šuljak**, entitled

Testing the strength properties of materials based on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) mycelium

Biocomposite is a subtype of natural composite that is made of a natural matrix, biomass, and natural reinforcement, a network of intertwined hyphae, called mycelium. Mycelium is the vegetative underground part of fungi that has a great ability to reproduce. Therefore, biocomposites are completely of biological origin and biodegradable, and an example of a circular economy, profitable and economical. Biomass, most often lignocellulosic, is collected from the agricultural or forestry industry, shredded and sterilized to create a suitable medium for the growth of mycelium, i.e. a substrate, which must be compatible with the selected type of mushroom, because this is the only way the growth will be successful. After sowing mycelium, growth and development will only take place under favorable conditions, namely a temperature higher than 20 °C and humidity above 60 %. After the substrate is completely whitened, further processing of the material follows. The material is processed in various ways that include drying, cold and hot pressing. The resulting biocomposites can be used in everyday life such as: lightweight packaging materials, furniture, building materials, sound insulation and wall cladding, clothing and many others. That was the goal of this work, to obtain a stable solid biocomposite based on mycelium of oyster mushroom. It was found that there is no significant difference in germination, and therefore strength, which was manually tested, between the biocomposite of pure straw and straw and hemp. It has been confirmed that germination is affected by the pH of the substrate after sterilization and the inflow of fresh air. Also, it has been proven that the different finishing of the material affects the final product.

Key words: biocomposite, biomass, mycelium, substrate, *Pleurotus ostreatus*

Sadržaj

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Uvod..... | 1 |
| 2 | Pregled dosadašnjih istraživanja..... | 2 |
| 2.1 | Prirodni kompoziti | 2 |
| 2.2 | Bukovača (Pleurotus ostreatus) | 5 |
| 2.3 | Kulture pogodne za supstrate | 7 |
| 2.4 | Testiranje čvrstoće materijala | 9 |
| 3 | Ciljevi istraživanja i hipoteze | 11 |
| 4 | Materijali i metode..... | 12 |
| 4.1 | Prikupljanje biomase i priprema supstrata | 12 |
| 4.2 | Proraštanje micelija u supstratu | 17 |
| 4.3 | Završna obrada dobivenog materijala | 19 |
| 4.4 | Završna obrada potpuno proraštenog supstrata | 21 |
| 4.5 | Laboratorijske analize uzoraka supstrata i mini replika pokusa | 23 |
| 4.6 | Statistička obrada rezultata..... | 26 |
| 5 | Rezultati..... | 27 |
| 5.1 | Analiza uzoraka iz kalupa | 27 |
| 5.1.1 | Testiranje čvrstoće dobivenih kompozita..... | 30 |
| 5.2 | Analiza uzoraka supstrata i mini replika pokusa | 33 |
| 6 | Rasprava | 35 |
| 7 | Zaključci | 39 |
| 8 | Literatura | 40 |
| 9 | Životopis..... | 44 |

1 Uvod

Masovna proizvodnja i loše gospodarenje plastičnim materijalima stvara sve veći problem modernom čovjeku. Globalnim povećanjem broja stanovnika, zahtjevi za plastikom sve su veći, a samim time stvara se sve više otpada koji, neadekvatno zbrinut, završava u morima, oceanima, šumama, poljoprivrednim površinama i slično. Time se direktno zagađuje tlo i voda zbog velikog vremenskog perioda razgradivosti tog materijala. Nakon određenog perioda raspada u tlu i vodi stvara se mikroplastika koja završava u probavnome sustavu riba i drugih vodenih životinja, ali i u biljkama (Rillig i sur., 2019) koje čovjek uzgaja na svome poljoprivrednom zemljištu. Posljedično, teški metali koji se nalaze u sastavu mikroplastike ulaze u ljudski organizma te narušavaju zdravlje.

Uzrok konstantnog gomilanja otpada, između ostalog, jest i model linearnog gospodarstva. Linearno gospodarstvo nalaže da se sirovina uzme, iskoristi i baci. To je neekonomičan i neodgovoran model koji su ljudi stoljećima primjenjivali. S druge strane, postoji alternativa linearnom gospodarstvu, a to je kružno gospodarstvo. Prema navodima Europskog parlamenta¹ definicija kružnog gospodarstva glasi: „Kružno gospodarstvo je model proizvodnje i potrošnje koji uključuje dijeljenje, posudbu, ponovno korištenje, popravljanje, obnavljanje i reciklažu postojećih proizvoda i materijala što je dulje moguće kako bi se stvorila dodatna - duža - vrijednost proizvoda. Na ovaj način produljuje se životni vijek proizvoda te istovremeno smanjuje količina otpada.“ Prikupljanjem otpada iz poljoprivredne i šumske industrije (slama, sječka, piljevina, itd.) moguće je dobiti proizvode određenih poboljšanih svojstava, primjerice čvršće i/ili izdržljivije proizvode, bez upotrebe kemijskih sredstava.

Kroz prošlo desetljeće počelo se težiti kružnom gospodarenju, energiji iz obnovljivih izvora i općenito ekološki prihvatljivijem načinu života. Početkom ovog desetljeća vidljivi su i prvi rezultati, a to su sve veća upotreba električnih automobila, dobivanje energenata iz obnovljivih izvora, zelena gradnja i slično. Dolazi do napretka u bioinženjeringu te se dobivaju proizvodi biološkog porijekla.

Ovaj rad će prikazati razvoj i testiranje svojstava čvrstoće proizvoda potpuno biološkog porijekla dobivenog kružnom proizvodnjom.

¹ <https://www.europarl.europa.eu/news/hr/headlines/economy/20151201STO05603/kruzno-gospodarstvo-definicija-vrijednosti-i-korist>

2 Pregled dosadašnjih istraživanja

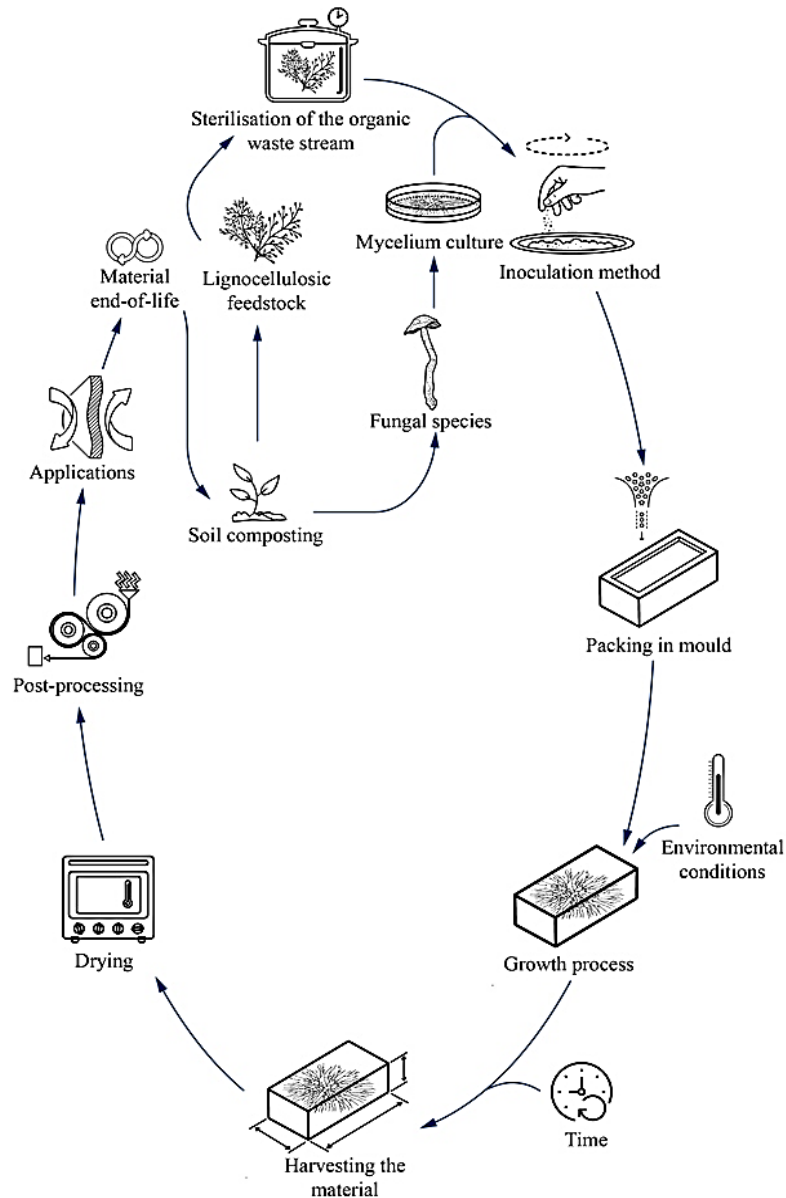
2.1 Prirodni kompoziti

Biokompoziti se definiraju kao kompozitni materijali sastavljeni od prirodnih ojačala i prirodnih matrica. Prirodna ojačala mogu biti: djelomično biorazgradivi uz korištenje nerazgradive polimerne matrice poput plastomera (polietilen, polipropilen) i duromera (epoksi, poliester) ili mogu biti potpuno biorazgradivi korištenjem obnovljivih polimera (celuloza, škrob) i biorazgradivih polimernih matrica na bazi fosilnih goriva (<https://biokompoziti.eu/>). Prirodna ojačala u prirodi se nalaze u biljnim i životinjskim organizmima te neživoj prirodi (minerali). To su prirodna vlakna koja se mogu podijeliti u tri skupine: „biljna vlakna građena od celuloze, životinjska vlakna građena od bjelančevina i vlakna silikatnog minerala“ (Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje, 2021). Kao prirodne matrice u proizvodnji biokompozita koriste se polimeri na prirodnoj bazi.

Biokompozit na bazi micelija odlikuje potpuno biološko porijeklo i potpuna biorazgradivost. Kako navode Vukelić i sur. (2017), „biorazgradnja je prirodan proces u kojem neku organsku tvar, jednostavnu ili složenu, mikroorganizmi poput bakterija, gljivica ili algi, koriste kao izvor hrane kako bi dobili energiju potrebnu za svoje životne procese. Postoje dva tipa biorazgradnje: aerobna i anaerobna razgradnja. U aerobnoj biorazgradnji prisutan je kisik pri čemu se stvara ugljikov dioksid. Anaerobna biorazgradnja odvija se bez prisutnosti kisika gdje nastaju ugljikov dioksid, metan ili sumporovodik. Na proces biorazgradnje utječe više čimbenika. Najvažniji su: toplina, Sunčeva energija, kisik, voda, mehanička naprezanja i enzimi.“

Proces dobivanja biokompozita na bazi micelija prikazan je shematski (slika 1). Prvi korak je prikupljanje željenog supstrata koji mora biti usitnjen na određenu veličinu čestica. Zatim slijedi sterilizacija ili pasterizacija supstrata (Etinosa, 2019). Nakon toga u supstrat se dodaje micelij (micelij se najčešće prodaje inokuliran na određeno zrno žitarice). Supstrat se stavlja u željeni kalup te slijedi proraštanje koje traje određeni period. Uvjeti rasta su: temperatura od 25 do 30 °C te vlaga od 60 % do 90 % (STOWA, 2019). Nakon proraštanja koje se vizualno detektira jer je supstrat potpuno bijel, slijedi vađenje iz kalupa te daljnji proces proizvodnje. Kompozit se može sušiti ili vruće prešati. Sušenjem se zaustavlja vegetativni rast micelija, uklanja se voda te samim

time proizvod gubi na svojoj masi. Vrućim prešanjem proizvod se komprimira visokom temperaturom i jakom pritiskom silom. Opisanim postupkom povećava se čvrstoća kompozita.



Slika 1. Shematski prikaz proizvodnje biokompozita

(<https://medium.com/@leonardomassa/fungi-startup-kingdom-e892f266cda7>)

Takvi biokompoziti imaju široku primjenu te se koriste kao: termoizolacijska zidna obloga, ploče za zvučnu izolaciju, materijali za pakiranje, namještaj, nosivi predmeti, odjevni predmeti i obuća, građevinski materijal (cigla), elektronika na bazi micelija, monolitne zgrade, itd. (Adamatzky i Gandia, 2021, slika 2).



Slika 2. Prikaz bioproizvoda na bazi micelija: A) materijali za pakiranje (izvor: [Mushroom Mycelia-Based Material: An Environmental Friendly Alternative to Synthetic Packaging | SpringerLink](#)); B) tenisice na bazi micelija (izvor: [Bro.do x Mylea Better Shoes are made from mushroom leather \(inhabitat.com\)](#)); C) monolitni objekt (izvor: [7 Different products that are made with mushroom mycelium. \(incrediblemushrooms.com\)](#)); D) namještaj na bazi micelija (izvor: [Making Furniture from Fungi - Scientific American Blog Network](#))

2.2 Bukovača (*Pleurotus ostreatus*)

Bukovača, *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P.Kumm. (1871), je viša gljiva iz odjeljka stapčarki (Basidiomycota). Jestiva je i ukusna gljiva visoke nutritivne vrijednosti i jedne od najpopularnijih vrsta gljiva u svijetu. Prema Golak-Siwulska i sur. (2018) rod *Pleurotus* je treća najčešća vrsta uzgojenih gljiva na svijetu uz šampinjon (*Agaricus bisporus*) i shiitake (*Lentinula edodes*). Od 1997. do 2010. globalna proizvodnja bukovače porasla je sa 0,876 milijuna tona na 6,288 milijuna tona (Cunha Zied i Pardo-Giménez, 2017). Razlog povećane proizvodnje ove gljive, osim potražnje, jest njen jednostavan način uzgoja. Brzorastući micelij uspješno prorašta supstrate visokog udjela celuloze, hemiceluloze i lignina te ostvaruje visoke prinose (Ričko, 2021).

Morfološki, bukovača se sastoji od klobuka sa listićima i stručka (slika 3). „Klobuk je širok, ekscentričan i asimetričan, iznad stručka malo ulegnut, sjajan, prilično promjenjive boje; u mladosti crnkast, s vremenom siv, smeđast pa čak i žućkast, rub je uvijen, malo vijugav i debelo mesnat. Listići su gusti, bijeli, potom sivkasti, a pod starost žućkasti, spuštaju se niz stručak, račvast i srašteni. Stručak je redovito ekscentrično postavljen u odnosu na klobuk, kratak, pun, bijele boje, prema kraju obučen u sjajne bijele čekinje, 2-4 cm dug. Meso je bijelo, čvrsto, miris ugodan, okus slatkast. Raste u kasnu jesen i zimi busenasto na panjevima i živom listopadnom drveću. Jestiva je te jako cijenjena gljiva“ (Božac, 2007).

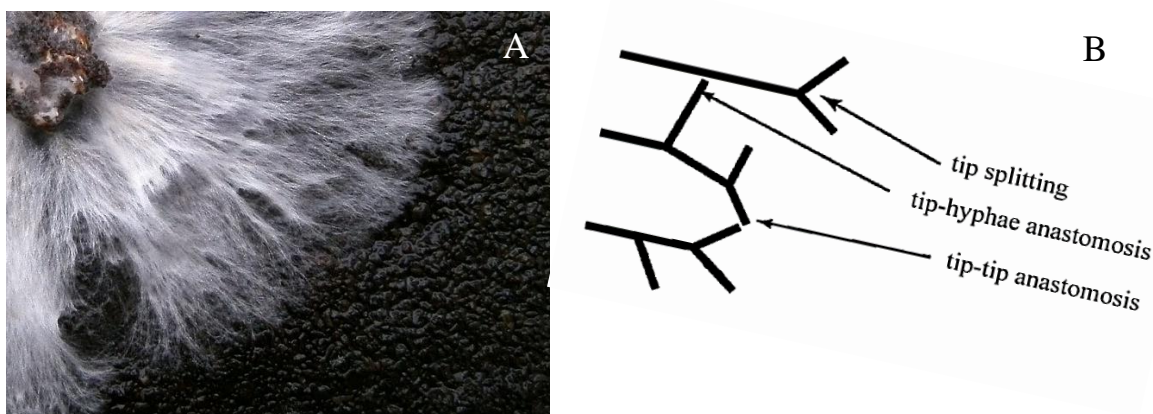


Slika 3. Prikaz bukovače (*Pleurotus ostreatus*) (izvor:

<https://gardenseedsmarket.com/bukovaca.html>)

Plodišta bukovače (nadzemni dio) imaju visoku nutritivnu i zdravstvenu vrijednost. Izvor su tvari visoko molekularne mase kao što su polisaharidi, peptidi i proteini te spojeva niske molekularne mase. Bioaktivne tvari koje se nalaze u miceliju i plodnome tijelu pokazuju imunostimulirajuća, antidijabetička, protuupalna, antibakterijska i antioksidativna svojstva. Bukovača se može koristiti za proizvodnju dodataka prehrani, povećavajući imunitet organizma. Nadalje, koristi se za proizvodnju kozmetike te se može dodavati u hranu kao probiotik ili koristiti kao prirodni konzervans.

Podzemni, vegetativni dio gljiva naziva se micelij. To je rahla paučinasta tvar bijele boje sastavljena od spleta niti odnosno hifa (slika 4). Micelij se također odlikuje „izuzetno visokom aktivnom površinom što proizlazi iz činjenice da u jednom kubnom centimetru ima 40 kilometara hifa” (http://www.fungi-perfecti.hr/micelij_na_zrnu_zitarice.htm). Micelij bukovače fizičkim pritiskom prodire u svoje hranidbene supstrate, a enzimskim lučenjem razgrađuju biološke polimere na lako apsorbirajuće i transportne hranjive tvari kao što je glukoza (Haneef i sur., 2017). Tudryn i sur. (2017) navode činjenicu da je rast hifa apikalalan. To znači da se hife šire vršno, to jest radijalno prema van od mjesta inokulacije. Taj rast će se nastaviti samo u uvjetima dostupnih hranjiva. Kada se hranjiva iscrpe, prijenos tvari kroz mrežu će biti smanjen te će rast biti usporen ili će potpuno prestati. Kada se ispred hifa nalazi prepreka (zrno pšenice, kukuruza i slično), vrhovi se granaju te se ponovno spajaju sa mrežom (slika 4). Taj proces se naziva anastomoza.



Slika 4. Prikaz micelija bukovače: A) Micelij (izvor: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/31/Oyster_mushroom_%28Pleurotus_ostreatus%29_mycelium_in_petri_dish_on_coffee_grounds.JPG); B) Anastomoza (izvor: Schnepf i sur. (2007))

2.3 Kulture pogodne za supstrate

Lignocelulozna biomasa najčešći je supstrat koji se koristi u proizvodnji biokompozita. Razlog tome je uspješna razgradnja celuloze i lignina u metabolizmu gljiva, a krajnji proizvod ima zadovoljavajuća svojstva (Haneef i sur., 2017; Girometta i sur., 2019). Lignin je „treća velika komponenta stanične stjenke drva (20-40%), smješten je u staničnoj stjenci i srednjoj lameli kao obložna tvar, slijedeći tvorbu polisaharida, a služi kao cement između drvnih vlakana, kao sredstvo ukrućivanja unutar vlakana, kao brana enzimatskoj razgradnji stanične stjenke, te je njegova fizikalna uloga ojačanje drvene strukture” (Stanešić, 2016). Celuloza u prirodi je najzastupljeniji polimer, a pronaći se može u otpadnoj poljoprivrednoj biomasi i otpadu iz šumske industrije. „Najčišća celuloza u prirodi je vlakno pamuka, koje sadrže 95-99% celuloze iskazano na apsolutno suhu tvar, lan sadrži 80-90% celuloze, konoplja 65-75%, juta 60-70% i ramija oko 85% celuloze. Celuloza, kao glavni građevni element drva, tvori oko 40% suhe tvari u većini vrsta drva (i u četinjačama i u listačama), te je predominantno smještena u sekundarnoj staničnoj stjenki. Celuloza je netopiva u vodi i organskim otapalima, što ju čini idealnim materijalom za stvaranje trajnih, a za vodu propusnih sustava kao što su biljne stanice. S tehničkog gledišta, celulozna vlakna imaju i znatnu mehaničku čvrstoću (Stanešić, 2016).

Sam supstrat mora sadržavati hranjive tvari za rast gljive i direktno utječe na mehaničke karakteristike materijala. Butu i sur. (2020) navode supstrate na kojima će se uspješno odvijati proraštavanje. Neki od njih mogu biti: slama, piljevina, sječka (hrasta, bora, jabuke, eukaliptusa, vinove loze), celuloza, pamučna vlakna, konoplja, kokosov prah, pšenične mekinje, šećerna trska, kukuruzno zrno, zobena ljuska i mnogi drugi.

Određene vrste gljiva mogu rasti na određenim (kompatibilnim) supstratima. Micelij gljive fizičkim pritiskom prodiru u svoje hranidbene supstrate, a enzimskim lučenjem razgrađuju biološke polimere na lako apsorbirajuće i transportne hranjive tvari kao što je glukoza (Haneef i sur., 2017).

Zbog visokog udjela celuloze, koji je pogodan za rast gljiva, u ovome su se radu kao supstrati koristili slama pšenice i industrijska konoplja. Kemijski sastav slame pšenice: celuloza 31,20 %, hemiceluloza 37,62 %, lignin 22,28 %, voda 6,66 % i ostatak (Grubor i sur., 2015). Prema Kovačević i Rastija (2014), sadržaj elemenata u slami pšenice: N – 0,60 %, P – 0,08 %, K

– 0,8 %, Ca – 0,30 %, Mg – 0,10 %. Industrijska konoplja, promatrajući cijelu biljku, sadrži od 55 do 65 % celuloze te 15 % hemiceluloze. Količina vlakna u stabljici varira između 25 i 30 % (Pospšil, 2013; Tucman, 2020).

2.4 Testiranje čvrstoće materijala

U tehničkim poručjima, znanost o čvrstoći materijala analizira stanja i promjene stanja čvrstih defomabilnih tijela izloženih vanjskim opterećenjima. Znanost o čvrstoći proučava:

- čvrstoću elemenata – sposobnost podnošenja opterećenja bez pojava plastičnih deformacija, lokalnih oštećivanja i lomova,
- krutost elemenata – otpornost prema defomiranju,
- stabilnost elemenata – sposobnost podnošenja opterećenja uz očuvanje početnog ravnotežnog oblika.

Svaki materijal je opisan vlastitim mehaničkim svojstvima. Svojstva i mehaničke karakteristike materijala mogu se podijeliti na: čvrstoću, tvrdoću, žilavost, elastičnost, duktilnost i krhkost. Čvrstoća opisuje sposobnost tijela da prenese opterećenja bez pojave oštećenja (plastične deformacije, pukotine, lom).

Čvrstoća na savijanje ili savojna čvrstoća je najveće unutrašnje naprezanje koje se javlja ako na to tijelo djeluje sila koja ga nastoji slomiti ili saviti (Rede, 2014).

Savojna čvrstoća računa se prema izrazu:

$$\sigma_s = \frac{3 \cdot F \cdot L}{2 \cdot b \cdot h^2} \quad (\text{jedn. 1})$$

gdje su: F – sila (opterećenje), (N)

L - razmak između oslonaca, (mm)

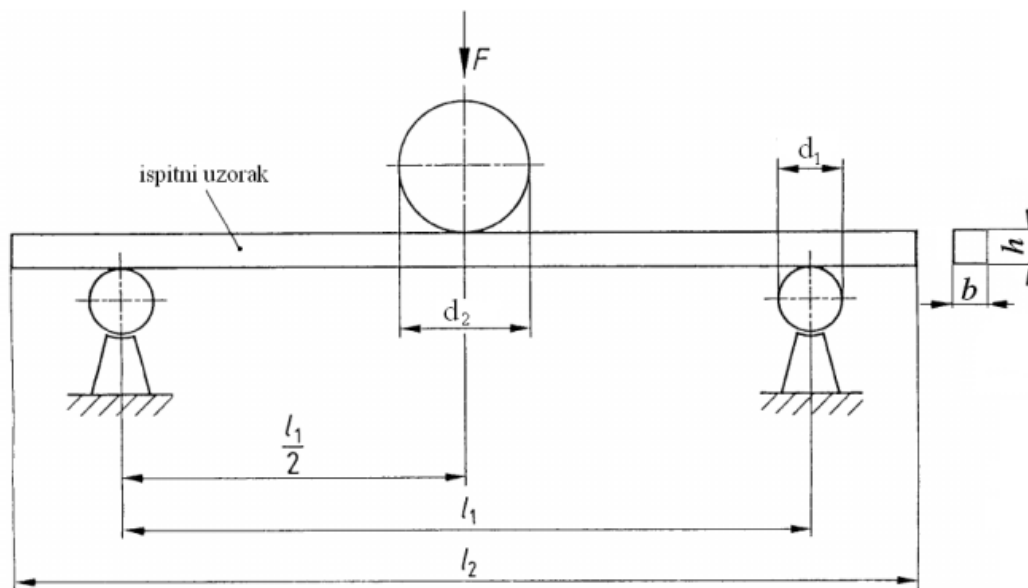
b - širina gredice, (mm)

h - visina gredice, (mm)

Čvrstoća na savijanje predstavlja kombinirani otpor drva djelovanju sila. Značajna je za sve konstrukcije u građevini, brodogradnji, mostogradnji te stolariji i izradi namještaja. Kod savijanja se javljaju tlačna naprezanja u gornjem dijelu nosača, neutralno naprezanje u sredini te vlačno naprezanja u donjem dijelu nosača. Prilikom određivanja savojne čvrstoće koristi se Navierova formulacija koja pretpostavlja da su naprezanja linearno i simetrično raspoređena po presijeku grede. Ovakve pretpostavke vrijede za idealna čvrsta tijela, kojima je jedna od temeljnih

postulata izotropnost. Kod anizotropnih materijala poput drva, linearna raspodjela naprezanja vrijede samo do granice proporcionalnosti (Balaton, 2016).

Savojna čvrstoća ispituje se najčešće, kada je to moguće, na malim gredicama pravokutnog presjeka. Dužina grede je, prema normi, jednaka ili veća od $18h$ (h =visina grede). Grede je poduprta na dva oslonca, s međusobnim razmakom od $15h$. Mehanička sila F djeluje na sredini na uzorak. Postupak određivanja čvrstoće na savijanje prikazan je na slici 5.



Slika 5. Shematski prikaz ispitivanja savojne čvrstoće (izvor: Balaton, 2016)

3 Ciljevi istraživanja i hipoteze

Opći cilj ovog rada je dobivanje postojanog prirodnog kompozitnog materijala jer je u procesu proizvodnje korištena samo biomasa i micelij bukovače te nisu dodavani nikakvi pojačivači i dodatna kemijska veziva biomase zbog čega je konačni proizvod u potpunosti bio-razgradiv.

Specifični ciljevi su:

1. Utvrditi utjecaj odabira supstrata na proces proraštanja micelija u supstratu.
2. Utvrditi utjecaj pripreme i završne obrade supstrata na kompaktnost i čvrstoću krajnjeg proizvoda.

Prema pregledu dosadašnjih istraživanja na ovu temu postavljene su hipoteze istraživanja.

Hipoteze istraživanja:

1. *Biokompozitni materijal na bazi micelija bukovače ima zadovoljavajuću čvrstoću i kompaktnost za provođenje testiranja.*
2. *Komponente proizvodnog procesa utječu na krajnji proizvod.*
3. *Metode pripreme supstrata utječu na krajnji proizvod.*

4 Materijali i metode

4.1 Prikupljanje biomase i priprema supstrata

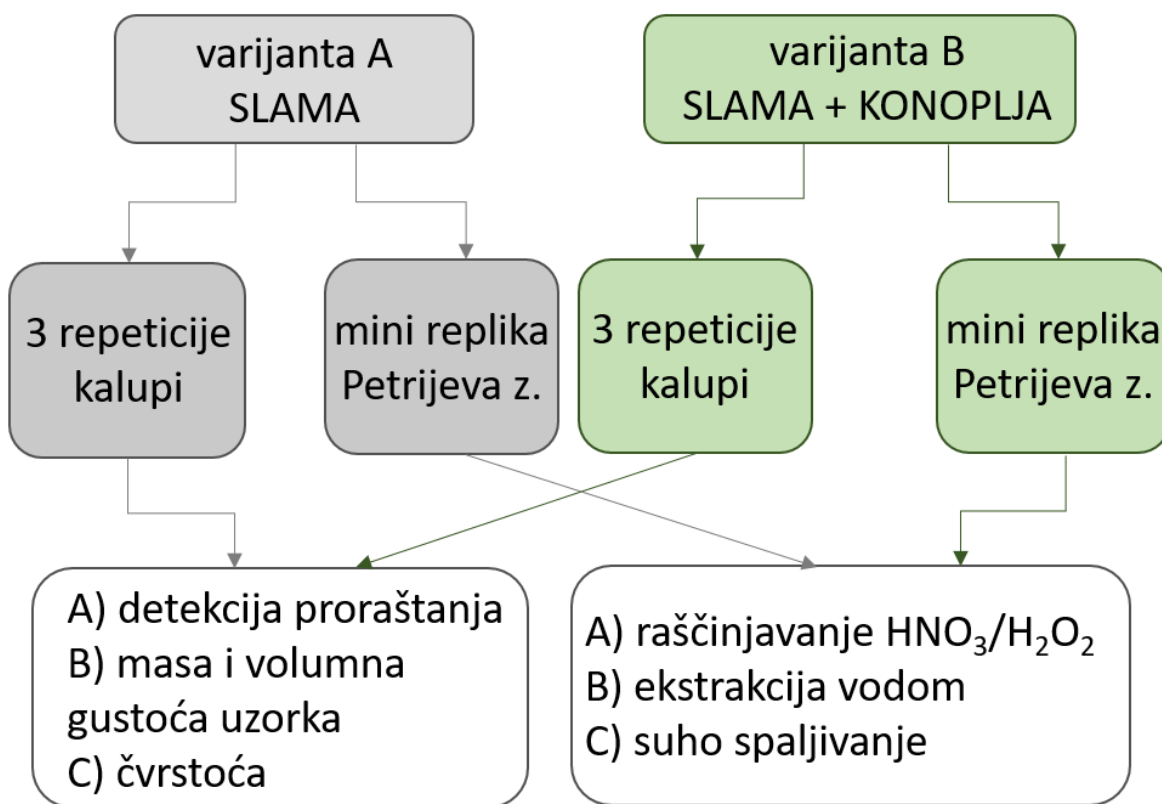
Kako je prethodno opisano, prvi korak u proizvodnji biokompozita je prikupljanje željenog supstrata koji mora biti usitnjen na određenu veličinu čestica, u ovom pokusu veličine 1-2 cm. Odabir supstrata u ovom istraživanju proizašao je iz inicijalne ideje da supstrat bude lako dostupan, jeftin i da se potiče iskorištenje otpada u različitim segmentima poljoprivredne proizvodnje. Prema Romić i sur. (2014) utvrđeno je da su, nakon kukuruza, žitarice s površinom od 322.359 ha, druga najzastupljenija kategorija uzgajanih poljoprivrednih kultura u Republici Hrvatskoj. Iz tog razloga, ali i zbog zadovoljavajuća svojstva za uspješno proraštanje micelija u supstratu odabrana je slama žitarice, konkretno pšenice. Za proizvodnju ulja od industrijske konoplje za što se u našim uvjetima konoplja najčešće uzgaja, koriste se samo sjemenke konoplje, a stabljika se baca. Na ovakav način iskoristio bi se i otpad, što je u duhu kružnog gospodarstva. Za potrebe istraživanja raspolagali smo sa slamom pšenice i biomasom industrijske konoplje koju smo dobili sa pokušališta Agronomskog fakulteta „Šašinovec“ (slika 6).



Slika 6. Prikaz biomase: slama (A) i industrijska konoplja (B)

Pokus je bio postavljen u dvije varijante, varijanta A i varijanta B. Svaka varijanta imala je tri replikacije. U varijanti A supstrat je bila slama pšenice, a u varijanti B smjesa slame pšenice

i konoplje u omjeru 1:1. Masa je bila određena na 200 grama po uzorku zbog veličine odabranog kalupa, a da isti bude u potpunosti ispunjen. Stoga je uzeto sveukupno 600 grama slame za varijantu A (po 200 grama za tri uzorka) i 600 grama smjese slame i konoplje za varijantu B (po 100 grama slame i 100 grama konoplje za tri uzorka). Glavni cilj varijante pokusa u kalupima je potpuno proraštanje micelija u supstratu, odnosno kompaktan biokompozit pogodan za testiranje čvrstoće dobivenog proizvoda. Budući da takav proizvod nije poželjno podvrgnuti rezanju ili usitnjavanju prije samog testiranja čvrstoće za potrebe kemijskih analiza nakon proraštanja, napravljena je mini replika eksperimenta sa naciepljenom biomasom u dvije Petrijeve zdjelice (u jednoj slama, u drugoj smjesa slame i konoplje; shema 1). Za kalupe su korištene pravokutne posude od tvrde plastike na kojima su sa donje strane bile probušene rupe radi cijeđenja supstrata nakon sterilizacije. Poklopci se nisu koristili nego je omotana prozirna folija na kojoj su probušene rupe sa gornje i donje strane.



Shema 1. Prikaz varijanti i repeticija pokusa i naznaka provedenih analiza

Priprema supstrata je iznimno važna zbog uspješnosti proraštanja micelija. Supstrat mora biti sterilan, odnosno mora biti lišen svih mogućih patogena koji mogu zaraziti micelij. Iz tog je

razloga odabrana metoda kuhanja cjelokupne mase supstrata u posudi na 100 °C u vremenskom periodu od 30 minuta (slika 7). Supstratu je nakon sterilizacije izmjeren pH i vlaga koji moraju biti optimalni za proraštanje. Nakon toga supstrat se stavljao u pripremljene sterilizirane kalupe (prebrisani 96 % alkoholom uz korištenje sterilnih rukavica) kako bi se ocijedila suvišna voda, a i da bi se masa supstrata ohladila na sobnu temperaturu.



Slika 7. Shematski prikaz postavljanja eksperimenta

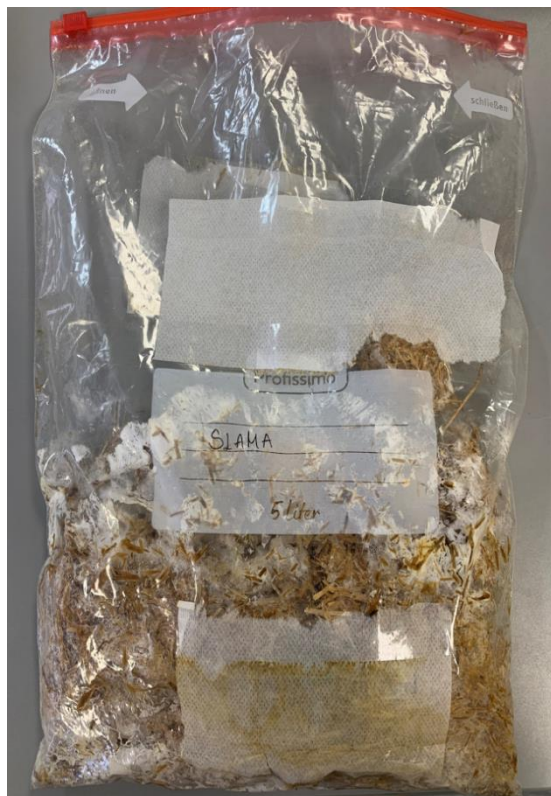
Nakon što se supstrat ohladio, u svaki kalup (slika 8A) je dodan micelij nacijepljen na zrno prosa na način da se slagao sloj supstrata pa sloj micelija naizmjenice do vrha kalupa. Svaki sloj pritiskao se rukama do maksimalne visine od 3 cm radi bolje čvrstoće krajnjeg kompozita. Nakon toga, uzorci su bili stavljeni u komore gdje se pod konstantnim uvjetima odvijalo proraštanje micelija (slika 8B).



Slika 8. A) Prikaz supstrata sa micelijem u kalupima
B) Prikaz kalupa stavljenih u komore

Nakon završetka prvog pokusa, uslijedila je priprema za drugi pokus. U drugome pokusu odabrani supstrat za proraštanje micelija bila je slama. Priprema supstrata za drugi pokus razlikovala se u odnosu na prvi pokus. Slama je usitnjena na komade sitnije frakcije (do maksimalno 3 cm) za razliku od prvoga pokusa. Pripremljeni supstrat je potpuno steriliziran na temperaturi višoj od 100 °C u sušioniku u trajanju od 2 sata. Potom se hladio na sobnu temperaturu. Sterilizirana slama stavljena je u hermetičku vreću te je dodana masa destilirane vode koja je iznosi 65% suhe tvari supstrata (prema Tudryn i sur., 2018) i sadržaj u vreći je dobro promiješan.

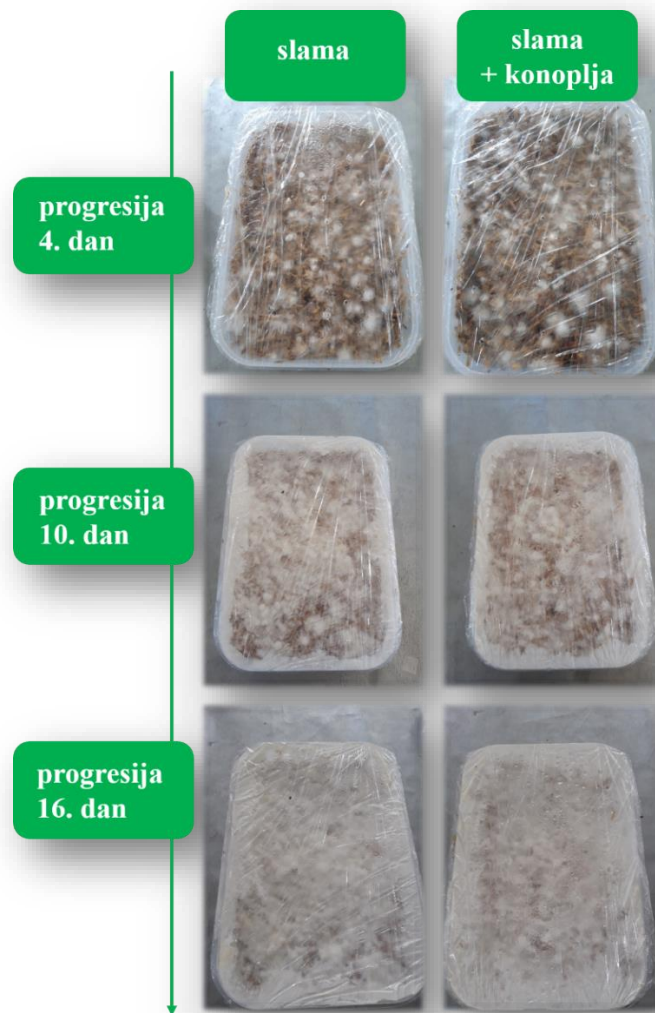
Usljedilo je zasijavanje micelija nacijepljenog na zrno pšenice. Na vreći je napravljen je manji otvor za zrak na koji je zalijepljen filtar papir da se spriječi kontaminacija (slika 9), a zatim se vreća zatvorila i stavljena je u komoru na proraštanje.



Slika 9. Prikaz vreće s pripremljenim supstratom u drugom pokusu

4.2 Proraštanje micelija u supstratu

Proraštanje micelija u supstratu odvijalo se u komorama rasta zbog znanstvenog pristupa u ovom istraživanju. Komore su bile namještene na konstantne uvjete rasta koji su odabrani kao preporuka iz literature: konstantna temperatura od 25 °C, konstantna vlaga iznosila je 70 % i bez svjetlosti. Proraštanje u supstratu u posudama se odvijalo kroz 20 dana, a u Petrijevim zdjelicama kroz 10 dana. Vizualna kontrola i slikanje napretka vršili su se svaka dva dana (slika 10).



Slika 10. Prikaz progresije proraštanja micelija u kalupima

U drugome pokusu detekcijom bijele paučinaste tvari u supstratu (u hermetičkoj vreći) započela je homogenizacija supstrata. Homogenizacija se radila ručno kidanjem grumena supstrata (slika 11) te stavljanjem u identične plastične posude na kojima su sa svih strana izbušeni otvori za zrak.



Slika 11. Prikaz homogenizacije supstrata

4.3 Završna obrada dobivenog materijala

U prvom pokusu, nakon što je vizualnom detekcijom utvrđeno da su uzorci s površine potpuno bijeli što znači maksimalno prorašteni (slika 12), uslijedilo je vađenje iz kalupa i premještanje u sušionik (slika 13).



Slika 12. Prikaz uzoraka nakon 20 dana proraštanja

Sušionik Memmert UNE 200-800 je bio namješten na poznatu konstantnu temperaturu od 95 °C. Uzorke je bilo potrebno osušiti zbog izvlačenja vode i zaustavljanja vegetativnog rasta micelija. Sušenje uzoraka iz kalupa trajalo je tri dana, a uzoraka u Petrijevim zdjelicama jedan dan, a zaustavljeno je kada se dosegla konstantna izvagana masa svake repeticije. Nakon sušenja uslijedilo je ispitivanje biokompozita na određena svojstva.

U drugom pokusu, nakon 23 dana suspratat je bio potpuno bijel. Uzorak se izvadio iz kalupa te je stavljen na sušenje u sušionik također na 95 °C do konstantne mase (slika 14).



Slika 13. Prikaz uzoraka u sušioniku

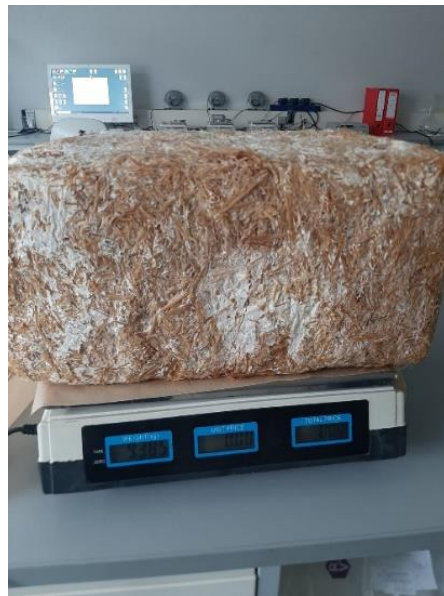


Slika 14. Prikaz uzorka drugog pokusa

4.4 Završna obrada potpuno proraštenog supstrata

Budući da dobiveni kompozit u prvom pokusu nije bio u potpunosti jednoliko prorastao sa svih strana, odnosno dolazilo je do rubnog osipanja, nije bilo moguće dodatno prešati dobiveni materijal da bi se utvrdilo koliko prešanje povećava čvrstoću kompozita. U tu svrhu, za usporedbu svojstava čvrstoće, OPG² Tucman ustupio je blok od 10 kilograma već proraštenog supstrata (slika 15). Blok je bio narezan na manje pravokutne isječke radi mogućnosti hladnog i vrućeg prešanja. Prvi uzorak je prošao hladno prešanje, a drugi hladno zatim vruće prešanje. Pritisna sila kod oba prešanja je bila 3,2 MPa, a kod vrućeg prešanja primijenila se i temperatura od 180 °C. Postupak prešanja je trajao 6 minuta te je prikazan shematski (slika 16).

U drugom pokusu dobiveni kompozit je bio u potpunosti prorašten sa svih strana i nakon sušenja na dodir znatno čvršći od uzorka iz prvog pokusa bez osipanja te je utvrđeno da nije potrebna dodatna završna obrada kompozita.



Slika 15. Prikaz proraštenog bloka

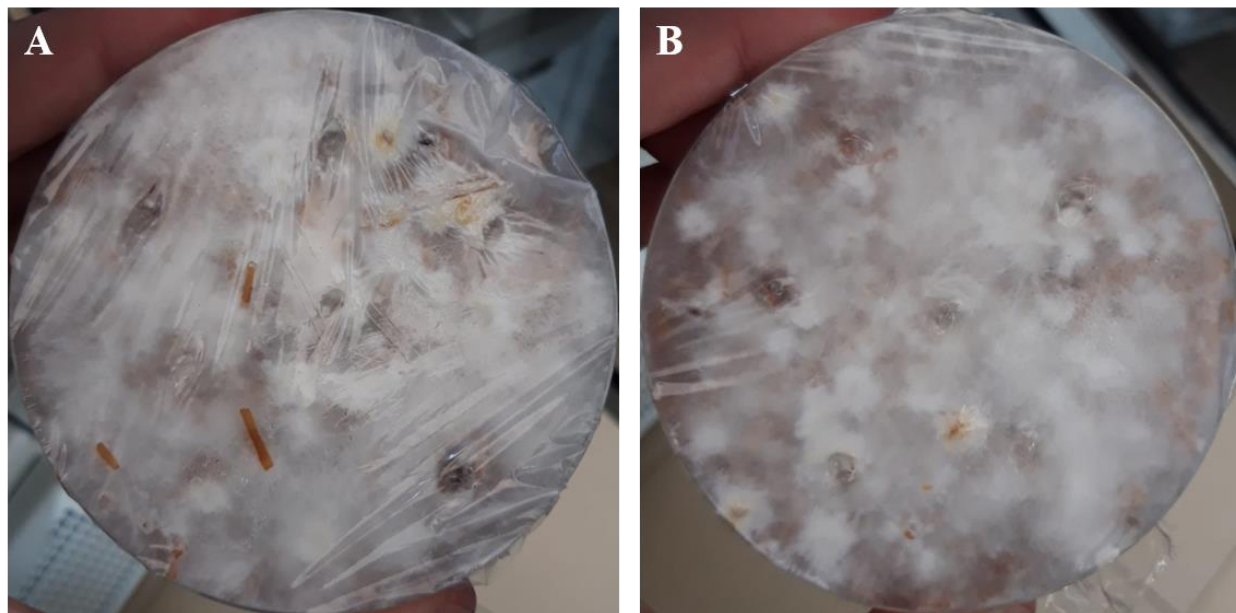
² Obiteljsko poljoprivredno gospodarstvo Tucman, Pojatno (Zaprešić), Hrvatska



Slika 16. Shematski prikaz prešanja uzoraka

4.5 Laboratorijske analize uzoraka supstrata i mini replika pokusa

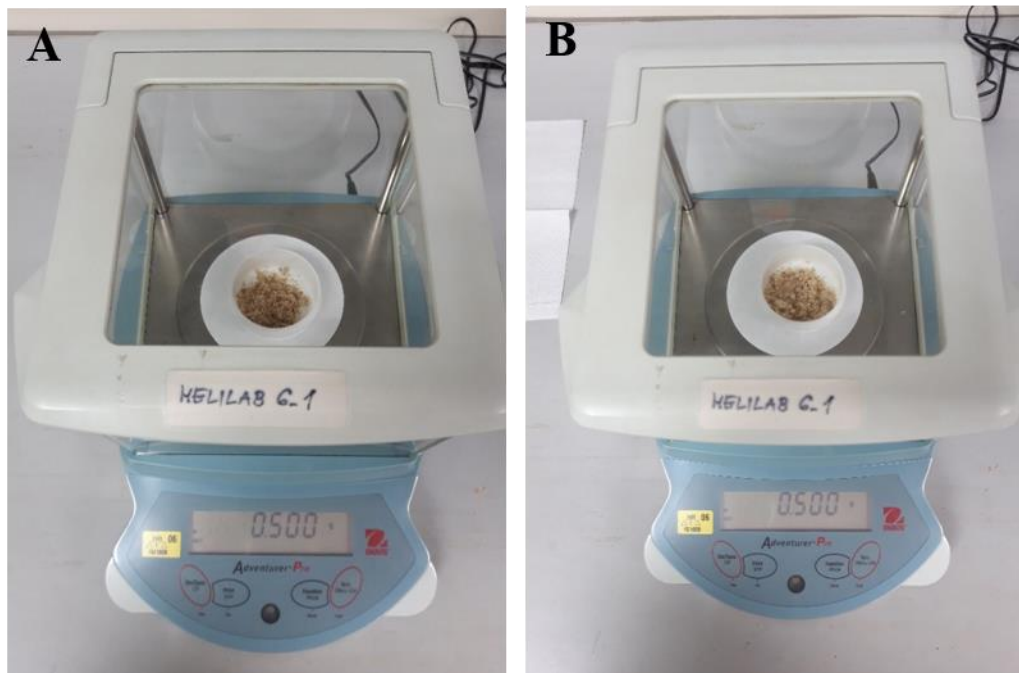
Za kemijsku analizu uzoraka koristili su se uzorci iz Petrijevih zdjelica nakon proraštanja. Prva Petrijeva zdjelica sadržavala je uzorak varijante A (slama, slika 17), a druga Petrijeva zdjelica varijantu B (slama i konoplja). U obje zdjelice se nalazila umanjena replika pokusa. Nakon sušenja, uzorci su bili usitnjeni za daljnje ispitivanje.



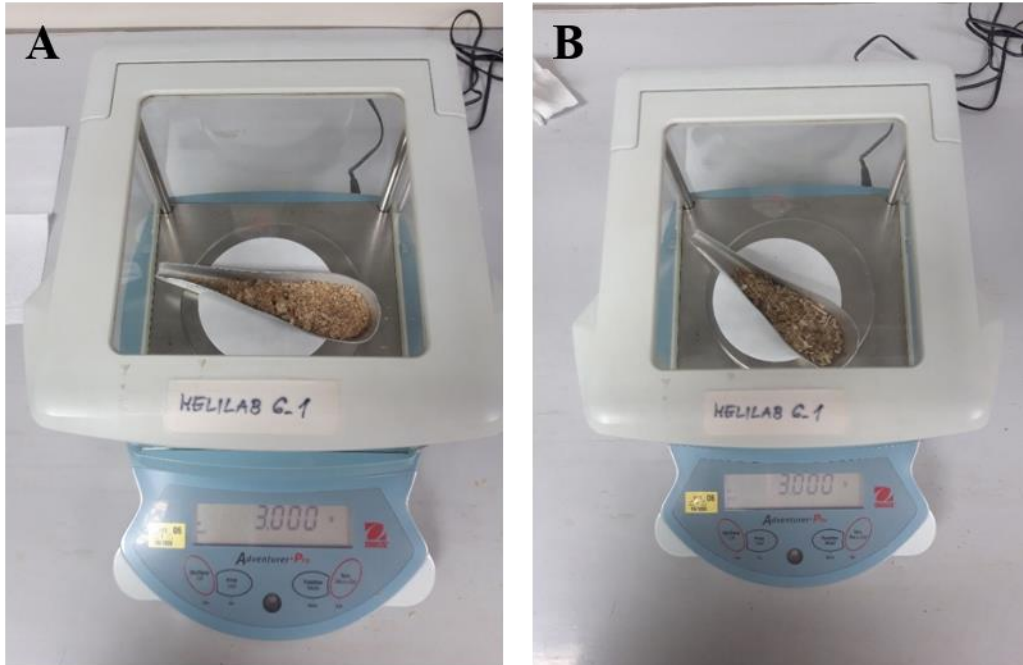
Slika 17. Prikaz replike pokusa (A) varijante A - slama i (B) varijante B – smjesa slame i konoplje u Petrijevoj zdjelici nakon 10 dana proraštanja

Prvo su im izvagane mase, a potom su uzorci podvrgnuti sljedećim postupcima: raščinjavanje $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, ekstrakcija vodom i suho spaljivanje. Raščinjavanje je postupak pretvorbe netopljivoga uzorka u otopinu na visokoj temperaturi uz dodatak taljiva (Mrežno izdanje: <http://struna.ihj.hr/naziv/rascinjavanje/3218/>). Ekstrakcija je postupak odjeljivanja tvari iz vodenih otopina s pomoću otapala ili u njemu otopljenih ekstraktanata, tj. organskih reaktanata (Mrežno izdanje: <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=17468>). Određivanje ukupnog ugljika, vodika, dušika i sumpora provedeno je simultano, metodom suhog spaljivanja na Vario, Macro CHNS analizatoru, Elementar prema sljedećim protokolima ISO normi: HRN ISO 15178:2005 – za sumpor, HRN ISO 10694: 2004 – za ugljik i HRN ISO 13878: 2004 – za dušik.

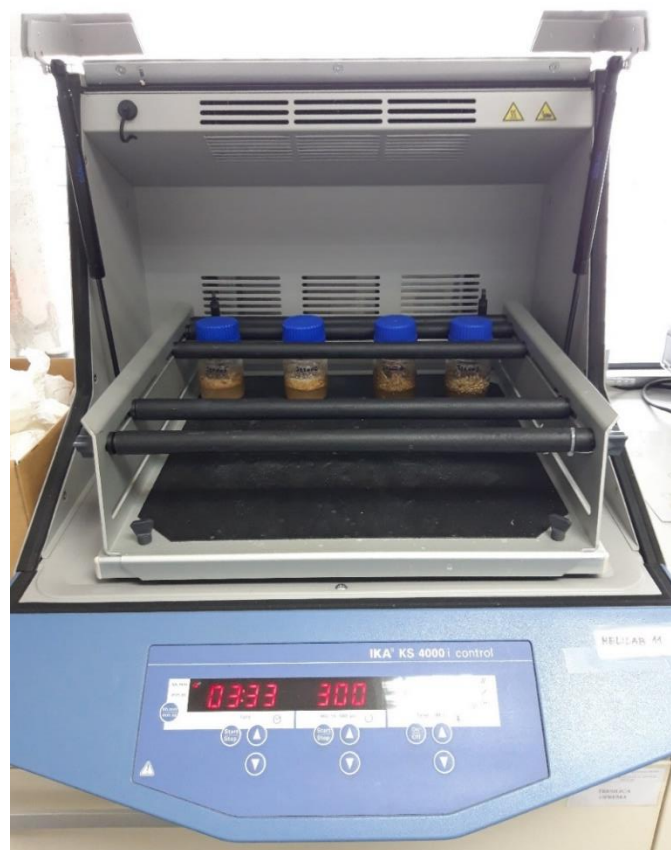
Analiza je obuhvaćala uzorke iz Petrijevih zdjelica i uzorke čiste biomase radi usporedbe. Uzorak varijante A (slama) označen je kraticom S_p , a uzorak varijante B (slama i konoplja) $S + K_p$. Uzorci čiste biomase označeni su kraticom S (slama) i $S + K$ (slama i konoplja). Uzorcima S_p i $S + K_p$ određena je poznata masa 0,5 g (slika 18). Uzorcima S te $S + K$ određena je masa 3 g (slika 19). Sva četiri uzorka pretvorena su vodenu u otopinu te su bili postavljeni u inkubatorsku tresilicu (slika 20) na jedan dan. Ostaci S_p i $S + K_p$ te čiste biomase podvrgnuti su postupku raščinjavanja.



Slika 18. Prikaz pripremljenih uzorka iz Petrijevih zdjelica: varijanta A – slama (A) i varijanta B – slama i konoplja (B)



Slika 19. Prikaz ladica sa čistom biomasom: slama (A) te slama i konoplja (B)



Slika 20. Prikaz vodene otopine pripremljenih uzoraka u inkubatorskoj tresilici

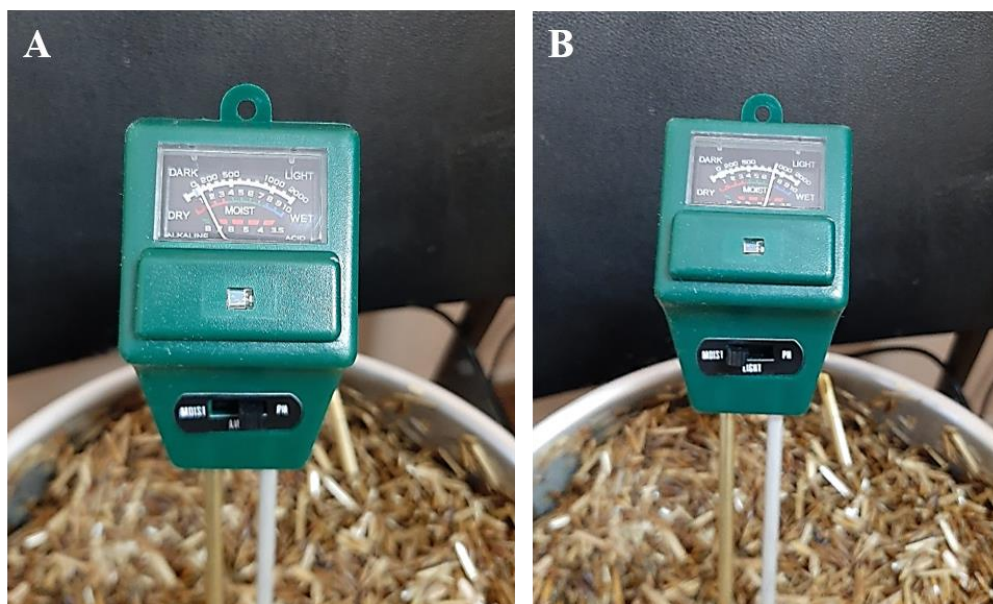
4.6 Statistička obrada rezultata

Statistička analiza rezultata dijela pokusa provedenog u kalupima obavljena je pomoću SAS 9.3 (SAS Institute Inc, 2011.) računalnog paketa. Učinak različitih supstrata na promatrane varijable ispitan je analizom varijance (ANOVA), a razlike srednjih vrijednosti između pojedinih varijanti su utvrđene Fischer-ovim t- testom.

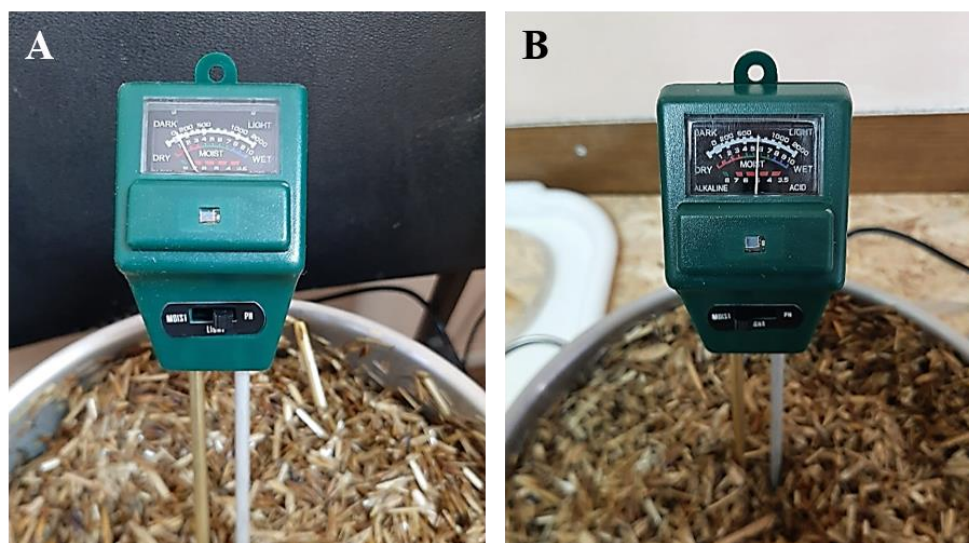
5 Rezultati

5.1 Analiza uzoraka iz kalupa

Nakon sterilizacije supstrata varijante A i varijante B u prvom pokusu, ispitana su dva glavna parametra; pH i vlaga. Prosječna vrijednost od 3 uzastopna mjerenja uranjanjem kontaktne sonde u cjelokupni sterilizirani uzorak pH slame (varijanta A) iznosio je 7,2, a vlaga 70 % (slika 21), dok je pH varijante B iznosio 7,2, a vlaga 55 % (slika 22).



Slika 21. Prikaz mjerenja vrijednosti pH (A) i vlage (B) supstrata varijante pokusa A



Slika 22. Prikaz mjerenja vrijednosti pH (A) i vlage (B) supstrata varijante pokusa B

Prije postavljanja drugog pokusa, izvršena je analiza pH reakcije supstrata u laboratorijskim uvjetima te je utvrđeno da pH iznosi 6,9.

Mase varijanata A i B u prvom pokusu te njihove repeticije izvagane su nakon cijedenja suvišne vode da bi se utvrdilo jesu li repeticije podjednake masa, a prikazane su u tablici 1.

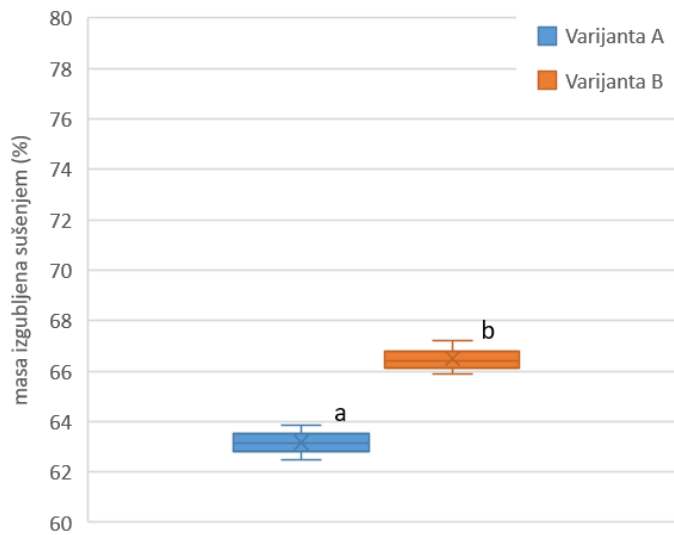
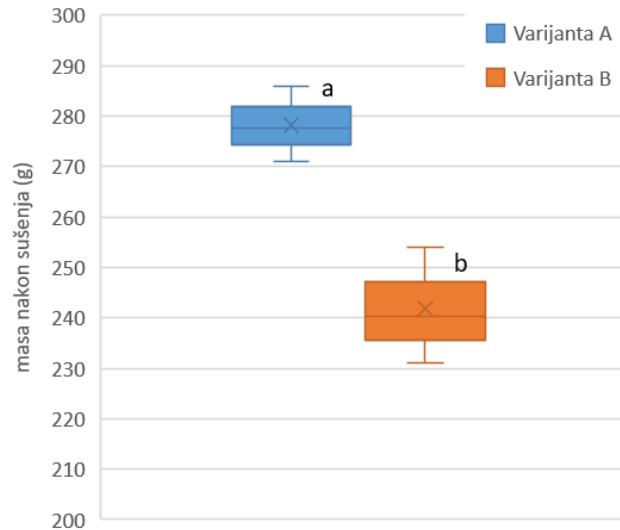
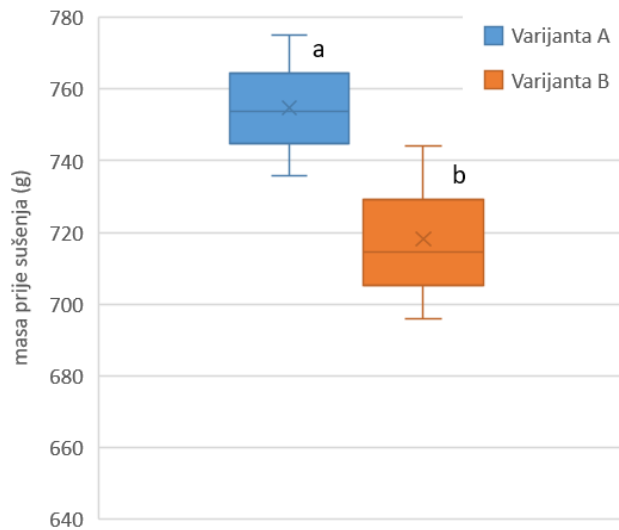
Tablica 1. Prikaz mase uzoraka prije i poslije sterilizacije u prvom pokusu

| Uzorak | Prije sterilizacije | Varijanta A | Varijanta B |
|----------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Poslije sterilizacije | Poslije sterilizacije |
| m ₁ | 200 g | 999 g | 922 g |
| m ₂ | | 1011 g | 927 g |
| m ₃ | | 786 g | 931 g |

Iz gornje tablice je vidljivo da su ujednačenije bili podijeljeni u kalupe repeticije smjese slame i konoplje jer su varijacije u masi manje, ali prosječne vrijednosti mase repeticija obje varijante su približno iste; kod varijante A iznosi 932 g, a kod varijante B 927 g.

U drugom pokusu masa suhog supstrata je iznosila 300 g, dodano je 195 g destilirane vode pa je ukupna masa pripremljenog uzorka iznosila 495 g.

Nakon 20 dana proraštanja micelija bukovače u supstratu, uzorci su izvađeni iz kalupa te su im izvagane mase. Pri sušenju se masa uzorka vagala svakih 8-12 sati da bi se uzorci osušili do potpuno suhe mase. Nakon tri dana sušenja u sušioniku ponovno su im izvagane mase da bi se ustanovilo koliko vode se izgubilo iz uzoraka. Mase prije i poslije sušenja prikazane su na grafikonu 1 te je gubitak mase izražen u postocima.



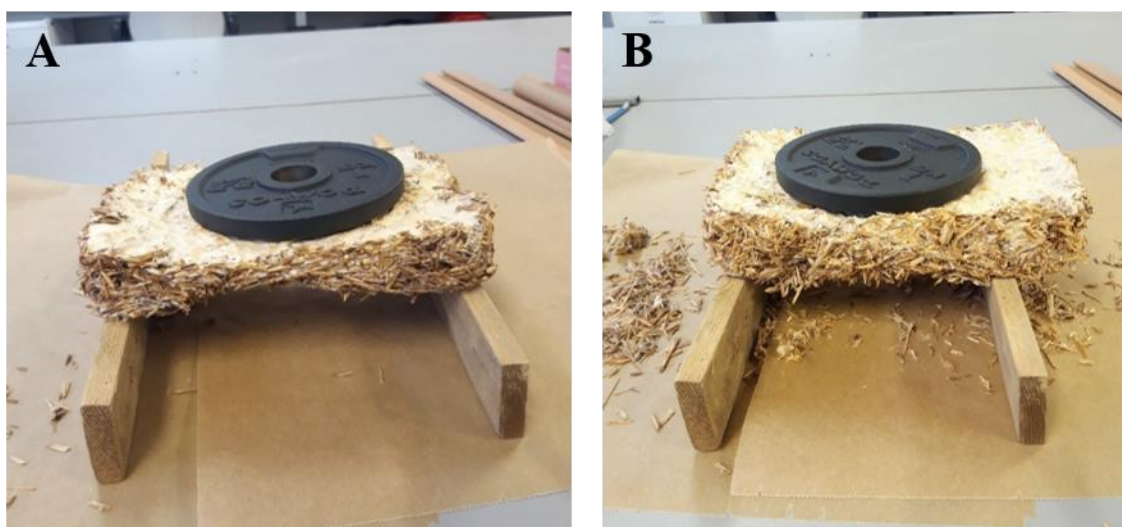
Grafikon 1. Prikaz rezultata mase uzoraka prije, nakon sušenja i izgubljene mase nakon sušenja u sušioniku uz naznaku rezultata post-hoc testa

Prema masi suhe tvari koja je za varijantu A prosječno iznosila 278 g, a za varijantu B 240 g i volumenu pojedinog uzorka koji je iznosio prosječno 2167,5 cm³, prosječna volumna gustoća varijante A iznosi 0,13 g/cm³, a varijante B 0,11 g/cm³, što predstavlja poželjno svojstvo materijala u pogledu daljnje manipulacije i transporta. Osim toga, postoji statistički značajna razlika mjerenih svojstava masa i mase izgubljene sušenjem između varijanti pokusa.

Masa kompozita nakon sušenja u drugom pokusu iznosila je 66 g, što znači da je sušenjem izgubljeno 87% mase. Konačne dimenzije dobivenog kompozita su bile 19 x 12,5 x 2 cm, što daje volumen od 475 cm³, odnosno volumnu gustoću od 0,14 g/cm³. Dobivena vrijednost je gotovo identična kao i u prvom pokusu za varijantu A.

5.1.1 Testiranje čvrstoće dobivenih kompozita

Budući da finalni kompoziti u prvom pokusu nisu imali glatke bridove sa svih ili minimalno dvije strane, što je preduvjet da bi se provelo testiranje čvrstoće na industrijskoj preši gdje se mjeri pri kojoj sili se počinje pojavljivati deformacija uzorka, testiranje čvrstoće je provedeno priručno uz pomoć metalnih utega poznate mase (svaki je imao 1 kg). Pri testiranju su kompoziti rubovima oslonjeni na povišenja te se na njih stavio uteg od 1 kg. Po jedna repeticija iz svake varijante je izdržala test podnošenja mase od 1 kg (slika 23). Zatim je na postojeći uteg dodano opterećenje od još 1 kg te uzorci nisu izdržali tu masu.



Slika 23. Prikaz testiranja čvrstoće finalnih kompozita A) varijanta A – slama; B) varijanta B – smjesa slame i konoplje

Da bi se utvrdio utjecaj završne obrade na čvrstoću materijala, vruće prešani uzorak je postavljen na jednaki test. Njegova nosivost je bila 4 kg (slika 24), dakle četiri puta veća nego nosivost neprešanih uzoraka.



Slika 24. Prikaz testiranja čvrstoće vruće prešanog uzorka ustupljenog od OPG Tucman

Kompozit iz drugog pokusa je bio dovoljno kompaktan i čvrst da bi se podvrgnuo jednom od testova čvrstoće na kidalici. Zbog debljine uzorka koja je iznosila 2 cm, utvrđeno je da je najprikladnije izvršiti test čvrstoće na savijanje pa je uzorak uzdužno prerezan na dva dijela (slika 25) te su oba dijela podvrgnuta testiranju.



Slika 25. Prikaz poprečnog presjeka kompozita pripremljenog za testiranje savojne čvrstoće

Ispitivanje savojne čvrstoće i modula elastičnosti provedeno je na uzorcima dimenzija 19 x 6,3 x 2 cm metodom savijanja u jednoj točki na kidalici Schenck Trebel (slika 26). Uzorci su opterećivani do loma. Razmak između oslonaca bio je 110 mm. Promjer valjka kojim je

opterećivana ispitna proba bio je 10 mm. Lom je postignut u prema normi propisanom vremenu od 90 sekundi, uz konstantnu brzinu opterećenja.



Slika 26. Kidalica za provođenje testa savojne čvrstoće

Rezultati prosječnih vrijednosti izmjerenih na kidalici su: maksimalna primijenjena sila iznosila je 26,1 N, čvrstoća na savijanje testiranog kompozita iznosi 0,224 MPa, a modul elastičnosti na savijanje 7,642 N/mm², odnosno 0,007 GPa.

5.2 Analiza uzoraka supstrata i mini replika pokusa

Rezultati kemijskih analiza oba supstrata prije i nakon proraštavanja (oznake objašnjene u metodologiji) prikazani su u tablicama 3 i 4 i na grafikonu 2.

Tablica 3. Rezultati dobiveni postupkom raščinjavanja HNO₃/H₂O₂

| Oznaka uzorka | Ca g/kg | Cu mg/kg | Mg g/kg | P g/kg | Zn mg/kg |
|--------------------|------------|-------------|------------|-----------|-------------|
| S _p | 5,11 | 5,07 | 1,35 | 1,84 | 23,8 |
| S + K _p | 5,73 | 4,63 | 1,00 | 1,61 | 23,8 |
| S | 1,88 | 2,47 | 0,675 | 1,10 | 12,3 |
| S + K | 2,81 | 3,36 | 0,623 | 1,05 | 11,3 |

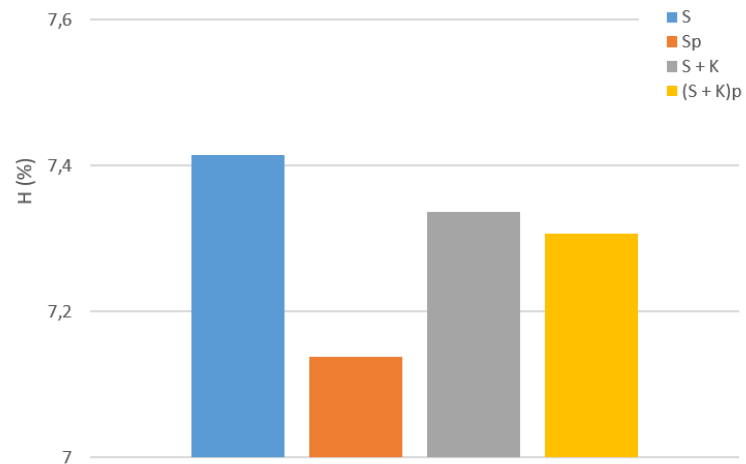
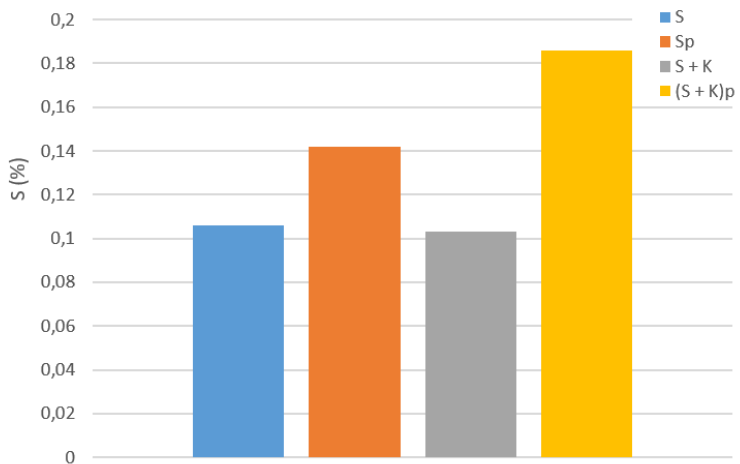
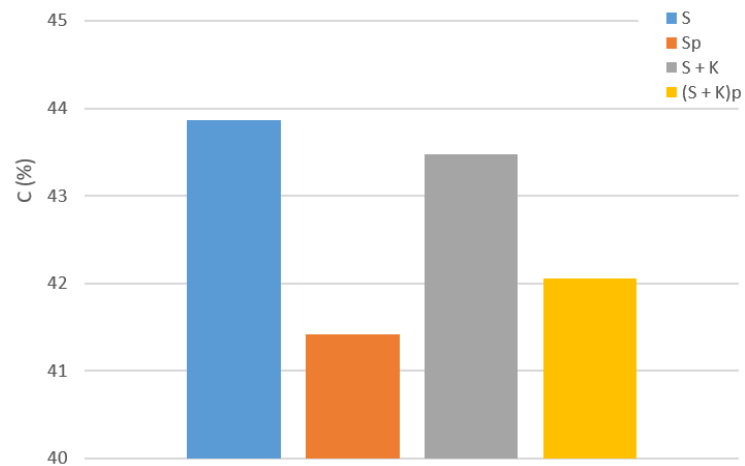
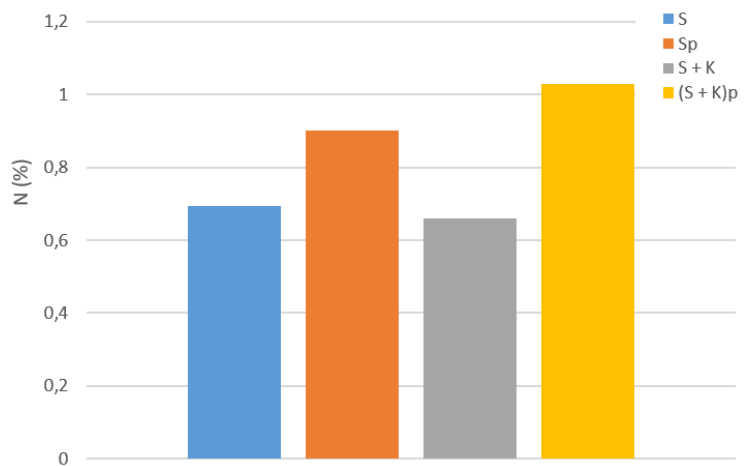
Tablica 4. Rezultati dobiveni postupkom ekstrakcije vodom

| Oznaka uzorka | pH 25°C | E.C./ 25°C dS / m | NH ₄ - N | NO ₃ - N | NO ₂ - N | PO ₄ - P | Cl ⁻ | Ca g/kg | Mg g/kg | Na mg/kg |
|--------------------|------------|----------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|------------|------------|-------------|
| | | | mg/kg | | | | | | | |
| S _p | 5,3 | 1,49 | 398 | <1,3 | 0,67 | 856 | 2233 | 1,19 | 0,624 | 325 |
| S + K _p | 5,2 | 0,97 | 448 | <1,3 | 0,76 | 637 | 2245 | 2,25 | 0,633 | 321 |
| S | 5,8 | 0,39 | 127 | <1,3 | 6,2 | 1111 | 4700 | 0,997 | 0,568 | 457 |
| S + K | 5,8 | 0,11 | 82 | 1,4 | 8,1 | 811 | 3253 | 0,903 | 0,378 | 318 |

Iz tablice 3 vidljivo je da su analizirani parametri viši u obje varijante pokusa nakon proraštavanja micelija u supstratu, ali razlika između varijanti pokusa nakon proraštavanja nije značajna, dok je u inicijalnoj biomasi ipak uočljiva.

Rezultati ekstrakcije vodom prikazani u tablici 4 pokazuju na povećanje EC, NH₄-N, Ca i Mg, dok je za ostale analizirane parametre uočljivo smanjenje nakon proraštavanja.

Iz grafikona 2 je vidljivo da nema većih razlika u udjelu C, H, N i S metodom suhog spaljivanja u inicijalnoj biomasi (plavi i sivi stupci). Nakon proraštavanja dolazi do povećanja udjela N i S; povećanje udjela N za 30 % kod slame i 55 % kod slame i konoplje, a smanjenja C i H. Povećanje udjela nakon proraštavanja je uočljivije kod S (iznosi 34 % kod slame i 80 % kod slame i konoplje), a smanjenje kod C koje iznosi 6 % kod slame i 3 % kod slame i konoplje. Za druga dva pokazatelja nema uočljivih razlika između varijanti pokusa.



Grafikon 2. Prikaz udjela N, C, S i H dobivenih analizom suhog raščinjavanja

6 Rasprava

Cilj je ovog rada bio uspješno dobivanje postojanog i čvrstog materijala potpuno biološkog porijekla. Uvidom u dostupnu literaturu na našem području nisu pronađena slična istraživanja te je ideja za metodu i materijale proizašla iz strane literature koja daleko prednjači u usporedbi s domaćim istraživanjima i literaturom. Jedan od razloga krije se u boljoj razvijenosti tehnologije proizvodnje.

Proraštanje micelija u supstratu bilo je 20 dana što je dugotrajno za komercijalnu proizvodnju, ali je unutar raspona razdoblja proraštanja koji se navode u literaturi. Istraživanje danske STOWA-e (The Foundation for Applied Water, 2019) pokazalo je da je nakon devetoga dana supstrat bio potpuno prorastao. Jones i sur. (2020) navode da je za rast micelija potrebno između 5 i 14 dana, dok Gou i sur. (2021) navode da je za rast bukovače bilo potrebno 37 dana. Stoga, prema vlastitom istraživanju dalo se zaključiti koji parametri utječu na duljinu proraštanja micelija i čvrstoću materijala, a to su: 1. Temperatura i vlaga, 2. Vrsta supstrata, 3. vrijednost pH supstrata, 4. Količina svježeg zraka, 5. Komprimiranost samog supstrat prije zasijavanja micelija. U nastavku poglavlja će biti opisano na koji su način određeni parametri utjecali na rast micelija u ovome eksperimentu te će se to usporediti s već postojećim podacima iz raznih istraživanja i prakse.

1. Temperatura i vlaga najvažniji su faktor rasta micelija. U našem eksperimentu temperatura je bila stalna, 25 °C te je proraštanje trajalo 20 dana. U istraživanju koje su proveli Attias i sur. (2019), temperatura je također bila konstantna, ali 23 °C i proraštanje je trajalo 12 dana. Ipak treba uzeti u obzir da je masa supstrata u kalupu bila dvostruko manja u odnosu na naše istraživanje. Za potrebe eksperimenta ovog rada, relativna vlaga zraka u komori gdje se odvijalo proraštanje bila je stalna, 70 %. Iz toga se može zaključiti da je vlagu potrebno izmjeriti u samome supstratu tokom proraštanja.

2. Izbor supstrata uvelike će utjecati na vrijeme proraštanja i mehaničku čvrstoću biokompozita. Prema istraživanju Ly i Jitjak (2020) supstrat visokog sadržaja lignoceluloznih vlakana dao je najbolje rezultate. Ispitani su dva supstrata: kokosova vlakna i rižina ljuska. Čestice kokosovih vlakana bile su manje nego rižine ljuske što je utjecalo na bolju proraštenost supstrata. Iz tog razloga, biomasu je potrebno usitniti na manje čestice kako bi hife brže i uspješnije prolazile

kroz supstrat. S druge strane, veće čestice matrice produžuju vrijeme proraštanja micelija, ali daju bolju mehaničku čvrstoću (Bitting i sur., 2022). Iz rezultata ovog istraživanja, vidljivo je da nije bilo razlike u proraštanju niti u čvrstoći konačnog proizvoda između dva različita supstrata. Djelomično objašnjenje za takav rezultat je i činjenica da je slama pšenice korištena u istraživanju dugo stajala te kao takva nije bila optimalna za proraštanje micelija.

3. vrijednost pH pogodnog supstrata prema izvorima varira između 5,5 i 7 (Cunha Zied i Pardo-Giménez, 2017; Juranić, 2020). pH izmjeren na početku eksperimenta bio je optimalan - 7. Kako navode Attias i sur. (2019) vrijednosti pH (na supstratu vinove loze i piljevine jabuke) je pao s obzirom na vrijednosti pH izmjeren na početku eksperimenta zbog enzimatske aktivnosti micelija. Rezultatima dobivenih postupkom ekstrakcije vodom, utvrđeno je da je pH biomase bez micelija pao na 5,8; što je donja granica optimuma. Cunha Zied i Pardo-Giménez (2017) navode da je za niži pH potrebno dodati kalcijevog sulfata ili kalcijevog karbonata. pH supstrata sa micelijem, pao je ispod granice optimuma, a sniženje pH dogodilo se tijekom proraštanja micelija. Na sniženje pH utjecala je sama biomasa. Ta biomasa bila je pohranjena na pokušalištu Šašinovec dvije godine te su na njoj aplicirani pesticidi (aktivne tvari) standardni za proizvodnju. Iz tog je razloga, potrebno koristiti netretiranu, svježju sirovinu u supstratu.

4. Kako navode Yang, Park i Qin (2021) velika količina svježeg zraka je povoljan uvjet za rast micelija. U ovom istraživanju, rupe na kalupima za dotok zraka nalazile su se na gornjoj stranici kalupa te je tamo proraštenost bila najbolja. Površina je bila potpuna bijela što je cilj u proizvodnji. Bočne stranice i donja strana kalupa nisu bile toliko proraštene zbog nemogućnosti dotoka zraka, ali micelij se proširio unutar samog supstrata te se time potvrđuje da veća količina svježeg zraka utječe na bolje proraštanje.

5. Posljednji je parametar komprimiranost samog supstrata. Butu i sur. (2020) su u svom istraživanju zaključili da je gusto zbijeni supstrat rezultirao većom gustoćom i čvrstoćom materijala u odnosu na nestlačeni supstrat. Uzorci ovog pokusa nisu bili stlačeni nakon zasijavanja micelija. Bili su pritisnuti rukama sloj po sloj što nije mjerljiva sila pritiska. Uzorak sa OPG-a Tucman bio je pritisnut hidrauličkom prešom. Upravo je to, stlačivanje odnosno nestlačivanje, dovelo do razlika u čvrstoći i nosivosti krajnjih proizvoda dobivenih u ovom pokusu i proizvoda dobivenih od OPG-a Tucman.

Povećanje mase uzoraka nakon sterilizacije očituje se u sposobnosti upijanja vode pojedinog supstrata. Veće povećanje mase imala je varijanta A (slama). Nadalje, gubitak mase uzoraka nakon sušenja bio je očekivan zbog evaporacije vode iz uzoraka. Postotak izgubljene mase kretao se između 62,50 % i 67,19 % u prvom pokusu, a 89 % u drugom pokusu. U istraživanju Yang, Park i Qin (2021) navodi se da gubitak vode iz biokompozita na bazi micelija može biti 90 %, što odgovara rezultatima drugog pokusa. Time se dobiva lagani materijal pogodan za proizvodnju materijala za pakiranje, sličan stiroporu, čija je volumna gustoća nešto manja i iznosi do 48 kg/m³ (Attias i sur., 2019). Dobivena volumna gustoća od 130 kg/m³ i 140 kg/m³ za slamu i 110 kg/m³ za smjesu slame i konoplje je usporediva s literaturnim navodima gdje su utvrđen rasponi od 59 do 318 kg/m³ za kompozite na bazi micelija (Attias i sur., 2019). Također, sušenje je potrebno zbog zaustavljanja vegetativnog rasta micelija. Nakon sušenja nije zabilježen razvitak micelija u supstratu.

Uzorci varijante A i varijante B bili su postavljeni na primitivni test čvrstoće i nosivosti. Postavljeni na povišenu razinu, samo jedna replikacije iz svake varijante izdržala određenu masu. Prešani uzorak dao je bolje rezultate te je izdržao 4 puta veću masu. Detaljnija ispitivanja u prvom pokusu na kidalici nisu provedena zbog nedovoljne čvrstoće materijala. U istraživanjima danske STOWA-e (The Foundation for Applied Water, 2019), na testu kompresije, najgore rezultate dali su neprešani uzorci (u procesu zasijavanja), a najbolje rezultate dali su vruće prešani uzorci. Time se dokazuje široki spektar mogućnosti komercijalne proizvodnje biokompozita na bazi micelija; od materijala za pakiranje do materijala za izolaciju.

Uzorak drugog pokusa bio je čvršći nego uzorci iz prvog pokusa te je podvrgnut testiranju čvrstoće na savijanje na kidalici. Rezultati testiranja pokazali su da savojna čvrstoća dobivenog kompozita iznosi 0,224 MPa, a modul elastičnosti na savijanje 0,007 GPa. Kako navode Jones i sur. (2019) homogenizirani uzorci povećavaju površinu rasta micelija te samim time i čvrstoću krajnjeg proizvoda, što se pokazalo i ovom radu. Također, Yang i sur. (2017) su potvrdili kako metodom homogenizacije, bioproizvodu povećavaju gustoću, elastičnost i tlačnu čvrstoću. Ipak, u istraživanju koje su proveli Elsacker i sur. (2022), detektirana čvrstoća na savijanje iznosi 1,47 MPa, što je 6,5 puta više u odnosu na rezultate dobivene u ovom radu, ali uzme li se u obzir da je u istom istraživanju i volumna gustoća testiranog uzorka čak 3 puta veća, može se zaključiti da je veća čvrstoća očekivana.

U literaturi koja je korištena pri pisanju ovog rada ne navode se rezultati kemijskih analiza samog supstrata, a ni uzoraka nakon proraštanja, što je još jedan dodatni doprinos ovog istraživanja. Rezultati dobiveni postupkom raščinjavanja $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, pokazali su povećanje koncentracije svakog navedenog elementa u odnosu na biomasu bez micelija. Gljive su heterotrofni organizmi te su joj potrebni biogeni elementi za sintezu složenijih molekula. Prodiranjem hifa u supstrat, bukovača je usvojila te elemente te su koncentracije proraštenog supstrata očekivano veće. „Gljive imaju dvije vrste degradacijskih sustava: intracelularni i vanjski stanični ovojni sloj, koji je neophodan za razgradnju polisaharida. Štoviše, u ekstracelularnom sloju hidrolitički enzimi su odgovorni za razgradnju polisaharida, a oksidativni enzimi su odgovorni za razgradnju lignina“ (Yang, Park i Qin, 2021: 6). Suprotno našim očekivanjima, vrijednosti C, H, $\text{NO}_2 - \text{N}$, Cl i Na (u varijanti A) bile su manje u odnosu na biomasu bez micelija. Mogući razlog tome je mala inicijalna masa uzorka jer je analiza provedena na uzorcima iz Petrijevih zdjelica.

7 Zaključci

Sukladno definiranim ciljevima i hipotezama istraživanja može se zaključiti sljedeće:

1. Dobiven je postojani biokompozit na bazi micelija, zadovoljavajućih svojstava za primitivno ispitivanje čvrstoće nosivosti materijala. Uzorci nisu izdržali značajne mase te je potrebno daljnje istraživanje.
2. Komponente proizvodnog procesa utječu na krajnji proizvod zbog razlike u čvrstoći biokompozita dobivenih različitim postupcima.
3. Priprema supstrata uvelike utječe na pH te brzinu rasta i razvoja micelija i samu čvrstoću biokompozita.
4. Proces proizvodnje biokompozita na bazi micelija jednostavan je i jeftin te nisu potrebni skupi uređaji za proces proizvodnje, ali je potrebno održavati navedene uvjete za uspješan rast micelija u supstratu.
5. Biokompozit na bazi micelija potpuno je biološkog porijekla jer je proizveden od prirodne matrice i prirodnog ojačavala.
6. Proizvodnja ovakvog biokompozita predstavlja dobru alternativu otpadu iz poljoprivredne proizvodnje jer je u duhu kružne poljoprivredne proizvodnje.

8 Literatura

1. Adamatzky, A., Gandia, A. (2021). Living mycelium composites discern weights. arXiv preprint arXiv:2106.00063.
2. An initiative of HOLCIM, 2022., <https://www.holcimfoundation.org/media/news/forum/smart-people-thinking-about-rotten-things>. Pristupljeno 12. svibnja 2022.
3. Attias, N., Danai, O., Tarazi, E., Pereman, I., Grobman, Y. J. (2019). Implementing bio-design tools to develop mycelium-based products. *The Design Journal*, 22(sup1), 1647-1657.
4. BBC News, 2014., <https://www.bbc.com/news/magazine-28712940>. pristupljeno 5. svibnja 2022.
5. Balaton, A. (2016). Utjecaj usmjerenosti strukture na savojnu čvrstoću drva (diplomski rad). Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zagreb
6. Bitting, S., Derme, T., Lee, J., Van Mele, T., Dillenburger, B., Block, P. (2022). Challenges and Opportunities in Scaling up Architectural Applications of Mycelium-Based Materials with Digital Fabrication. *Biomimetics*, 7(2), 44, 1-22.
7. Božac, R. (2007). Gljive: morfologija sistematika toksikologija. Školska knjiga.
8. Butu, A., Rodino, S., Miu, B., Butu, M. (2020). Mycelium-based materials for the ecodesign of bioeconomy. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 15(4), 1129-1140.
9. Ecovative LLC., 2022. <https://www.ecovative.com/>. Pristupljeno 15. svibnja 2022.
10. Eden power corp, 2022., <https://edenpowercorp.com/products/pre-order-mycelium-brick>. Pristupljeno 10. svibnja 2022.
11. Ekstrakcija. Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2021. Pristupljeno 26. 6. 2022. <<http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=17468>>.
12. Elsacker, E., De Laet, L., Peeters, E. (2022). Functional Grading of Mycelium Materials with Inorganic Particles: The Effect of Nanoclay on the Biological, Chemical and Mechanical Properties, *Biomimetics*, 7 (2), 57, doi: <https://doi.org/10.3390/biomimetics7020057>

13. Epicurious, 2022. <https://www.epicurious.com/>. Pristupljeno 26. lipnja 2022.
14. Etinosa, O. P. (2019). Design and Testing of Mycelium Biocomposite (doktorska disertacija). Afričko sveučilište znanosti i tehnologije, Nigerija.
15. Fungi Perfecti, 1998. <http://www.fungi-perfecti.hr/>. Pristupljeno 20. svibnja 2022.
16. Girometta, C., Picco, A. M., Baiguera, R. M., Dondi, D., Babbini, S., Cartabia, M., Savino, E. (2019). Physico-mechanical and thermodynamic properties of mycelium-based biocomposites: a review. *Sustainability*, 11(1), 281, 1-22.
17. Golak-Siwulska, I., Kałużewicz, A., Spiżewski, T., Siwulski, M., Sobieralski, K. (2018). Bioactive compounds and medicinal properties of Oyster mushrooms (sp.). *Folia Horticulturae*, 30(2), 191-201.
18. Gou, L., Li, S., Yin, J., Li, T., Liu, X. (2021). Morphological and physico-mechanical properties of mycelium biocomposites with natural reinforcement particles. *Construction and Building Materials*, 304, 124656, 1-12.
19. Grubor, M., Krička, T., Jurišić, V., Bilandžija, N., Voća, N., Matin, A., Antunović, A. (2015). Iskoristivost slame žitarica za proizvodnju zelene energije. *Krmiva: Časopis o hranidbi životinja, proizvodnji i tehnologiji krme*, 57(2), 63-68.
20. Haneef, M., Ceseracciu, L., Canale, C., Bayer, I. S., Heredia-Guerrero, J. A., Athanassiou, A. (2017). Advanced materials from fungal mycelium: fabrication and tuning of physical properties. *Scientific reports*, 7(1), 1-11.
21. Insider, 2016., <https://www.businessinsider.com/mycoworks-2016-7>. pristupljeno 15. svibnja 2022.
22. Islam, M. R., Tudryn, G., Bucinell, R., Schadler, L., & Picu, R. C. (2017). Morphology and mechanics of fungal mycelium. *Scientific reports*, 7(1), 1-12.
23. Jones, M., Mautner, A., Luenco, S., Bismarck, A., John, S. (2020). Engineered mycelium composite construction materials from fungal biorefineries: A critical review. *Materials & Design*, 187, 108397, 2-16.
24. Juranić, Z. (2020). Uzgoj micelija gljive *Pleurotus ostreatus* na različitim ostacima iz poljoprivrede i prehrambene industrije (doktorska disertacija). Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Hrvatska.
25. Kovačević, V., Rastija, M. (2014). Žitarice, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.

26. Ly, L., Jitjak, W. (2020). Formation of 3-dimensional bio-composite from local mushroom mycelia. The 5th TICC International Conference 2020 in Multidisciplinary Research Towards a Sustainable Society; Khon Kaen University International Collage, Thailand, 154-170.
27. Mushroom® Packaging, 2022., <https://mushroompackaging.com/>. Pristupljeno 4. svibnja 2022.
28. Popular science, 2016., <https://www.popsci.com/furniture-made-from-mushrooms-could-be-in-your-future/>. Pristupljeno 30. travnja 2022.
29. Pospišil, M. (2013). Ratarstvo II. dio–industrijsko bilje. Zrinski dd, Čakovec, 1, 370.
30. Raščinjavanje. Struna, Hrvatsko strukovno nazivlje. Institut za hrvatski jezik i jezikoslovlje, 2011. Pristupljeno 26. 6. 2022. <<http://struna.ihjj.hr/naziv/rascinjavanje/3218/>>.
31. Rede, V. (2014). Autorizirane vježbe iz kolegija „keramika, beton, drvo“, Fakultet Strojstva i Brodogradnje, Zagreb 2014/2015.
32. Ričko, L. (2021). *Smjernice za suvremenu proizvodnju gljive bukovače (Pleurotus ostreatus) u Hrvatskoj* (doktorska disertacija). Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
33. Rillig, M.C., Lehmann, A., Machado, A.A., Yang, G. (2019). Microplastic effects on plants. *New Phytologist*, 223 (3), 1066-1070
34. Robert, V., Stegehuis G. & Stalpers, J. (2005). The MycoBank engine and related databases. <https://www.MycoBank.org/>. Pristupljeno 25. lipnja 2022.
35. Romić, D., Husnjak, S., Mesić, M., Salajpal, K., Barić, K., Poljak, M., Romić, M., Konjačić, M., Vnućec, M., Bakić, H., Bubalo, M., Zovko, M., Matijević, L., Lončarić, Z., Kušan, V., Brkić, Ž., Larva, O. (2014). Utjecaj poljoprivrede na onečišćenje površinskih i podzemnih voda u Republici Hrvatskoj (studija). Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Hrvatska.
36. Stanešić, J. (2016). Utjecaj veličine čestice drva crne topolovine (*Populus nigra* L.) na sadržaj i svojstva bio-ulja i bio-ugljena (rad za Rektorovu nagradu). Šumarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Hrvatska.
37. Stowa (2019). From biomass to mycelium composite. An exploration on cellulose and weed residues.

38. Tucman, I. (2020). Prirodni kompoziti (završni rad). Fakultet strojarstva i brodogradnje, Sveučilište u Zagrebu, Hrvatska.
39. Vlakna. Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2021. Pristupljeno 26. 6. 2022. <<http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=65055>>.
40. Vukelić, T., Pavunc Samaržija, M., & Vujašinović, E. (2017). Normizacija metoda ispitivanja biorazgradivosti polimera i postupak certificiranja. Tekstil: časopis za tekstilnu i odjevnu tehnologiju, 66(5-6), 113-126.
41. Yang, L., Park, D., & Qin, Z. (2021). Material Function of Mycelium Based Bio-composite: A Review. Frontiers in Materials, 8, 374.
42. Zied, D. C., & Pardo-Giménez, A. (Eds.). (2017). Edible and medicinal mushrooms: technology and applications. John Wiley & Sons.

Životopis

Filip Šuljak rođen je 03. ožujka 1998. godine u Zagrebu. Pohađao je Osnovnu školu Retkovec u Zagrebu, a srednju školu „Prirodoslovna škola Vladimira Preloga“ smjer ekološki tehničar završio je 2017. godine. Potom, te iste godine upisuje preddiplomski studij, smjer Agroekologija na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Na preddiplomskom studiju bio je uključen u „Klub studenata Agronomskog fakulteta“. Sudjelovao je u izvannastavnoj aktivnosti „Agroenergetska grupa“ gdje je aktivno vršio mjerenja na pokušalištu Šašinovec na energetskejoj kulturi *Miscanthus x giganteus*. Nakon završetka preddiplomskog studija, 2020. godine upisuje diplomski studij Poljoprivredna tehnika - smjer Melioracije.

POPIS KRATICA

KRATICA

Opis

| | |
|-----------------------------------|--------------------------|
| N | dušik |
| P | fosfor |
| K | kali |
| Ca | kalci |
| Mg | magnezij |
| Cu | bakar |
| Zn | cink |
| Na | natrij |
| H | vodik |
| Cl | klor |
| HNO₃ | nitratna kiselina |
| H₂O₂ | vodikov peroksid |
| NH₄ | amonijak |
| NO₂ | dušikov(IV) oksid |
| NO₃ | dušikov(VI) oksid |
| PO₄ | fosfat |
| g | gram |
| kg | kilogram |
| cm | centimetar |
| MPa | megapaskal |
| E.C. | električna konduktivnost |