

IZDELAVA VELIKIH GLIVNIH BIOKOMPOZITOV Z NIZKO GOSTOTO PRODUCTION OF LARGE LOW-DENSITY MYCELIUM COMPOSITES

Nej Bizjak^{IP}¹, Aleš Straže^{IP}¹, Davor Kržišnik^{IP}^{1*}

UDK članka: 630*835:606:582.28

Izvirni znanstveni članek / Original scientific article

Prispelo / Received: 21.7. 2024

Sprejeto / Accepted: 16.8.2024

Izvleček / Abstract

Izvleček: Z naraščajočo težnjo po prehodu na krožno gospodarstvo se povečuje tudi interes po novih trajnostnih materialih. Glivni biokompoziti predstavljajo trajnostno alternativo sintetičnim penam. Za komercializacijo te tehnologije je ključno znanje, kako izdelati večje količine tega materiala z ustreznimi lastnostmi. V okviru eksperimentalnega dela smo izdelali večji glivni biokompozit z nizko gostoto, prostornino 47 litrov in dolžino dveh metrov. Končni glivni biokompozit smo izdelali s trostopenjskim gojenjem micelija; najprej v vrečah za gojenje, nato v dveh večjih modelih, ki smo ju v tretji fazi spojili. Uporabili smo kulturo glive *Ganoderma resinaceum* ter posebej formuliran substrat za doseganje nizke gostote. Končni biokompozit z gostoto 80 kg/m³ je ustrezal ciljnim dimenzijam, ostal brez okužb ter prenesel lažje obremenitve. Glavna pomanjkljivost materiala so bile manjše udrtine na površini, ki so nastale zaradi zračnih žepov v substratu ob prenosu z micelijem preraščenega substrata v modela.

Ključne besede: glive, biokompoziti, materiali iz micelija, micelij

Abstract: As the need for a circular economy grows, so does the need for new sustainable materials. Biocomposites made from fungi are a sustainable alternative to synthetic foams. The key to commercializing this technology is knowing how to produce large quantities of such materials with the appropriate properties. As part of our experimental work, we have produced a larger mycelium biocomposite with a low density, a volume of 47 litres and a length of two metres. The final fungal biocomposite was produced by growing the mycelium in three stages; first in culture bags, then in two larger moulds, which were combined in a third stage. We used a culture of *Ganoderma resinaceum* and a specially formulated substrate to achieve a low density. The final biocomposite with a density of 80 kg/m³ met the target dimensions, remained infection-free and withstood lighter loads. The main disadvantage of the material was the small surface indentations caused by air inclusions in the substrate when the mycelium-laden substrate was transferred to the moulds.

Keywords: fungi, biocomposites, mycelium materials, mycelium

1 UVOD

1 INTRODUCTION

Z naraščajočo težnjo po prehodu na krožno gospodarstvo in zmanjševanjem odvisnosti od fosilnih virov se povečuje potreba po novih trajnostnih materialih. Ena izmed obetavnih rešitev so glivni biokompoziti, ki v zadnjih letih pridobivajo vse večjo pozornost raziskovalcev. Ta naravni material zaradi svoje strukture predstavlja alternativo sintetičnim polimernim penam, kot sta poliuretan in polistiren, za uporabo v različnih aplikacijah, od termoizolacije stavb do embalaže. Tehnologija izkorišča naravno sposobnost micelija, da raste na lignoceluloznih kmetijskih ostankih, kar omogoča izdelavo kompozitov z nizkim okoljskim vplivom in majhnim ogljič-

nim odtisom, hkrati pa zagotavlja ugodne fizikalne lastnosti, kot so nizka gostota ter zvočna in topotna izolativnost (Jones et al., 2020). Lastnosti biokompozita se lahko prilagodijo končnemu namenu uporabe. Z izbiro vhodnega substrata, predhodno obdelavo tega ter vrsto glive lahko namreč prilagajamo gostoto, tlačno in upogibno trdnost, trajnost ter druge lastnosti, pomembne za specifično uporabo (Hannef et al., 2017). V materialu micelij funkcionalno deluje kot vezivo, ki delce substrata poveže v enoten porozen material. Micelij sestavlja med seboj prepletene filamentozne strukture, imenovane hife (Hannef et al., 2017). Hife so sestavljene iz ene ali več podolgovatih glivnih celic, ki so med seboj lahko razdeljene s septami. Celična stena gliv-

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Slovenija

* e-pošta: davor.krzisnik@bf.uni-lj.si



nih celic je sestavljena iz notranje plasti polimera hitina, vmesne plasti glukanov, ki se razlikujejo med vrstami, ter površinske plasti proteinov hidrofobnih (Hannef et al., 2017). Najpogosteje se uporablajo saprofitske glive iz skupine bele trohnobe, zlasti vrste *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* in *Ganoderma lucidum* (Elsacker et al., 2020). Za glive povzročiteljice bele trohnobe je značilna sposobnost popolne razgradnje lignina skupaj z drugimi prisotnimi polisaharidi (Elsacker et al., 2020). Po razkroju lesa ostane le celuloza, ki ima značilno belo barvo. Poleg gliv bele trohnobe poznamo še glive rjave in mehke trohnobe. Glive rjave trohnobe nimajo peroksidaz, potrebnih za razgradnjo lignina, medtem ko so glive mehke trohnobe v primerjavi z glivami bele trohnobe manj učinkovite pri razkroju lignina, a imajo boljše celulolitične, hemicelulolitične in pektinolitične sposobnosti. Prisotnost gliv mehke trohnobe na razpadajočem lesu se pokaže kot sivkasto obarvanje (Elsacker et al., 2020). Večina uporabljenih substratov za rast micelija vsebuje lignocelulozo. Najpogosteje se uporablajo kmetijski ostanki kot so slama, luščine žit in ostanki predelave bombaža, industrijske konoplje, koruze, lana ter drugi kmetijsko pomembni rastlinski materiali in lesni stranski proizvodi kot sta žagovina in lesni sekanci (Huang et al., 2024; Yang et al., 2021). Zaradi naraščajoče količine industrijskih ostankov se raziskuje tudi možnost uporabe celuloznih materialov kot so karton, papir, bombažni ostanki in živilski ostanki, kot sta kavna usedlina in pivovarske tropine (Huang et al., 2024). Ne glede na vhodni material se ta najprej ustrezno hidrira, saj je optimalna vлага ključna za rast glive in se je med samim bioprocесom ne dodaja. Surovinam se navadno doda približno 30 masnih odstotkov vode (Ross, 2016). Navlažen substrat se nato sterilizira, da se odstranijo že prisotni mikroorganizmi, ki bi konkurirali izbrani glivi. Lignocelulozni substrat se nato inokulira z dodatkom pripravljenega glivnega inokuluma. Micelij se lahko pripravi kot inokulum v tekoči kulturi, na zrnih žita ali na hrnilnem gojišču v Petrijevi plošči (Elsacker et al., 2020). Inokuliran substrat se nato prenese v kalup z zeleno končno obliko. Inkubacija navadno poteka v nadzorovanem okolju z visoko zračno vlažnostjo in temperaturo med 25 in 27 °C (Elsacker et al., 2020). Inkubacija lahko traja od 5 do 42 dni, odvisno od vrste glive, substrata ter želenih lastnosti materiala (Elsacker et al., 2020). Daljša

inkubacija ustvari gostejše, manj porozne in termično bolj stabilne kompozite, saj se zapolnijo prostori med vlakni, obenem pa se substrat močneje poveže (Elsacker et al., 2020). Po obdobju rasti se biokompozitni material toplotno obdela, dehidrira in s tem prekine rast glive (Elsacker et al., 2020; Jones et al., 2020). Obdelava poteka pri minimalno 70 °C kar poleg dehidracije materiala zagotovi popolno inaktivacijo oziroma smrt micelija. Inaktivacija zagotovi mikrobiološko stabilnost materiala in one-mogoči kakršnokoli nadaljnjo rast ali kontaminacijo izdelkov iz ostalih bioloških materialov kot je leseno pohištvo (Elsacker et al., 2020). Zaradi hitrosti sta najpogosteje uporabljena postopka konvekcijsko komorsko sušenje ter vroče stiskanje biokompozita. Stiskanje zmanjša poroznost, poveča gostoto in obenem dodatno utrdi ter izboljša nekatere mehanske lastnosti materiala (Jones et al., 2020). Glivni biokompoziti iz nizkogostotnih substratov, kot so luščine žit ali slame (59 kg/m^3) (Xing et al., 2018), so po gostoti konkurenčni običajnim sintetičnim pentam, kot so polistiren ($11\text{--}50 \text{ kg/m}^3$) in poliuretan ($30\text{--}100 \text{ kg/m}^3$) (Jones et al., 2020). Po mehanskih lastnostih so glivni biokompoziti primerljivi polistirenu z natezno trdnostjo med 0,03 in 0,18 MPa, tlačno trdnostjo med 0,17 in 1,1 MPa in upogibno trdnostjo med 0,05 in 0,29 MPa (Jones et al., 2020). Ena od pomanjkljivosti glivnih biokompozitov je absorpcija vode, ki znaša od 40 do 580 masnih odstotkov, kar je bistveno več od 0,03 do 9 masnih odstotkov pri polistirenu (Jones et al., 2020). Kljub očitnim prednostim glivnih biokompozitov se njihovo sprejemanje med potrošniki sooča z dvojnimi merili. Študenti industrijskega oblikovanja, starci med 19 in 24 let, sicer podpirajo uporabo glivnih biokompozitov za izdelavo pohištva, vendar jih sami ne bi uporabili v lastnem domu (Bonenberg et al., 2023). Njihovi zadržki izhajajo iz skrbi, da bi glive lahko še naprej rasle, kar bi lahko povzročilo zdravstvene težave (Bonenberg et al., 2023). Ker so glivni biokompoziti relativno nova tehnologija, so takšni pomislenki zaradi nepoznavanja tehnologije razumljivi. Kljub temu se njihovo sprejemanje povečuje, predvsem zaradi naraščajočega zanimanja za trajnostne in okolju prijazne materiale (Bonenberg et al., 2023).

Cilj raziskave je bil izdelati večji glivni biokompozit. Namen je bil preizkusiti metodologijo za izdelavo večjih količin materiala ter pridobiti vpogled v omejitve in izzive, ki se pojavijo ob prehodu iz la-

boratorijskega na pilotni raziskovalni nivo. Kot primer aplikacije smo izbrali uporabo tega materiala v sredicah desk za deskanje na valovih. Za ta namen smo določili ciljne lastnosti biokompozita in sicer: prostornino (47 litrov), dolžino (2 metra) in gostoto (med 60 in 100 kg/m³).

2 MATERIALI IN METODE

2.1 PRIPRAVA GLIVNE KULTURE TER SUBSTRATA

2.1 FUNGUS CULTURE AND SUBSTRATE PREPARATION

Uporabili smo tekočo kulturo glive bele trohnobe *Ganoderma resinaceum* (smolena pološčenka) z oznako ZIM L177 (slika 1A). Gliva je bila pridobljena iz zbirke gliv Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani ter je na voljo raziskovalnim ustanovam. Podrobni podatki o izvoru in identifikaciji izolata glive so navedeni v katalogu (Raspor et al., 1995). Kot glavni substrat smo pripravili mešanico, ki je vsebovala 65 masnih odstotkov mlete slame (KGS Krajnc d. o. o. in Oddelek za lesarstvo), 13 masnih odstotkov kokosovih vlaken (Humko ko-ko block, HUMKO d. o. o.), 15 masnih odstotkov pivovarskih tropin (pridobljeno iz pivovarne Laško Union d. o. o.), 5 masnih odstotkov pšenične moke (Mlinotest d. d.) in 2 masna odstotka kavne usedline (BF, Oddelek za lesarstvo). Dvanajst kilogramov mešanice sestavin (slika 1B) smo navlažili z dodatkom 60 mas-

nih % vode. Pripravljen substrat smo nato 3,5 ure sterilizirali z avtoklaviranjem v vrečah za gojenje, pri temperaturi 121 °C in tlaku 150 kPa.

2.2 PRVA STOPNJA PRERAŠČANJA

2.2 FIRST STAGE OF GROWTH

Vsako vrečo s substratom smo inokulirali s približno 30 ml tekoče kulture. Preraščanje micelija je nato potekalo v inkubacijski komori pri temperaturi 25 °C in 85 % relativni zračni vlažnosti. Vsake 3 dni smo vreče pregledali za znake rasti micelija ali morebitnih okužb. Po 13 dneh od inokulacije smo ocenili, da je micelij v zadostni meri prerasel substrat, da ga lahko prenesemo v končna modela (slika 1C).

2.3 IZDELAVA MODELOV ZA GOJENJE

2.3 FABRICATION OF GROWTH MOULDS

Modela za gojenje smo izdelali kot negativa deske za deskanje na valovih, saj smo želeli, da ima končni glivni kompozit specifično obliko. Desko za deskanje na valovih smo ovili v plastično folijo in na njeno površino petkrat izmenično nanesli plast armirane fasadne mrežice (MERKUR trgovina d.o.o., šifra izdelka: 3380683) ter fasadnega lepila (MERKUR trgovina d.o.o., šifra izdelka: 1819826). Nato smo pustili, da se plasti strdijo pri sobni temperaturi 72 ur (slika 1D). Postopek smo ponovili za spodnjo in vrhnjo površino deske. Med nanosom lepila in mrežice smo dodatno ločili sprednjo in zadnjo polovico, tako da smo na koncu dobili štiri pokrove



Slika 1. Prikaz korakov izdelave glivnega biokompozita: (A) tekoča kultura glive *Ganoderma resinaceum*, (B) mešanica sestavin za substrat, (C) substrat preraščen z micelijem, (D) izdelava modelov za gojenje (Foto: N. Bizjak).

Figure 1. Illustration of the production steps of the mycelium composite: (A) liquid culture of the fungi *Ganoderma resinaceum*, (B) mixture of the ingredients in the substrate, (C) substrate overgrown with mycelium, (D) making of moulds for cultivation (Photo: N. Bizjak).

za dva modela za gojenje: sprednji-vrhnji, sprednji-spodnji, zadnji-vrhnji, zadnji-spodnji. Za ustrezen pretok zraka smo po celotni površini pokrovov zvratali luknje premera 3 mm na razdalji 5 cm. Na ta

način smo naredili sprednji in zadnji model, vsak sestavljen iz spodnjega in vrhnjega pokrova (slika 2A). Skupna prostornina dveh modelov je znašala 47 litrov, dolžina pa 198 cm.



Slika 2. Prikaz korakov izdelave glivnega biokompozita: (A) spodnji in zgornji pokrov enega od modelov za gojenje, (B) prenos z micelijem preraščenega substrata v modela za gojenje, (C) inkubacija obeh zaprtih modelov v komori, (D) spojena biokompozita med fazo preraščanja spoja, (E) sušenje biokompozita brez modelov v konvekcijski komori za sušenje lesa (Foto: N. Bizjak).

Figure 2. Illustration of the production of the mycelium composite: (A) lower and upper covers of one of the cultivation models, (B) transfer of the substrate with mycelium into the cultivation moulds, (C) incubation of the two sealed moulds in the incubation chamber, (D) joined biocomposites during the growth phase, (E) drying of the biocomposite without moulds in the convective kiln drier (Photo: N. Bizjak).

2.4 PRENOS MICELIJA V MODELE

2.4 TRANSFER OF MYCELIUM INTO MOULDS

Pred prenosom z micelijem preraščenega substrata v modele smo pripravili dodaten substrat po prej opisani recepturi. Mešanico substrata in micelija smo najprej nanašali v spodnji pokrov sprednjega modela (slika 2B), po celotni površini brez tlačenja. Nato smo namestili vrhnji pokrov ter stik robov zlepili z lepilnim trakom. Zaprti model smo obrnili navpično in ga stresli, da se je mešanica posedla, nato pa smo z vrhnje odprtine zapolnili model s substratom. Model smo zaprli z vrhnje strani s plastično folijo in ga prenesli v inkubacijsko komoro (slika 2C). Enak postopek smo ponovili za zadnji (rejni) model.

2.5 DRUGA STOPNJA PRERAŠČANJA

2.5 SECOND STAGE OF GROWTH

Druga faza preraščanja je potekala pri 25 °C in 85 % relativni zračni vlažnosti. Po 14 dneh smo odprli modela, pregledali stopnjo preraščenosti in morebitne okužbe. Ugotovili smo, da sta modela dovolj preraščena, da ju lahko spojimo.

2.6 SPOJITEV MODELOV

2.6 COUPLING OF MOULDS

Oba modela smo prenesli na laboratorijski pult ter odstranili vrhnja pokrova. Biokompozita smo povezali z 20 cm dolgimi okroglimi lesenimi palicami. Spoj smo zapolnili s slamo in moko ter poškropili z vodo. Da bi ohranili visoko zračno vlažnost, ugodno za rast micelija, smo spojeni del ovili v plastično folijo (slika 2D) in celoten biokompozit dali v plastično vrečo. Po petih dneh se je spoj v celoti zarasel. Odločili smo se, da je rast biokompozita zaključena in je ta pripravljen za sušenje.

2.7 SUŠENJE

2.7 DRYING

Sušenje je potekalo v laboratorijski konvekcijski komori za sušenje lesa. Biokompozit smo namestili na tirno podlogo in ga podprli, da smo ohranili žeeno ukrivljeno obliko deske (slika 2E). Na treh točkah po dolžini smo namestili sonde za elektrouporovno merjenje vlage. Postopek sušenja smo spremljali z elektrouporovnim merjenjem vlažnosti biokompozita, in je vključeval naslednje stopnje: segrevanje, glavno fazo sušenja in ohlajanje. Segrevanje je potekalo postopno s hitrostjo 15 °C/h. Glavna faza sušenja se je začela pri nižji temperaturi (40 °C), nato pa se je temperatura s padanjem vlažnosti glivnega biokompozita postopno dvigovala do končne temperature sušenja (70 °C). Sušenje smo zaključili po 10 urah, ko je biokompozit pri 70 °C na vseh merilnih mestih dosegel vlažnost 10 %. Po glavni fazi sušenja smo predvideli še 8-urno fazo ohlajanja biokompozita v zaprti sušilni komori do sobne temperature (20 °C).

2.8 MERJENJE GOSTOTE

2.8 DENSITY MEASUREMENT

Gostoto posušenega glivnega biokompozita smo določili iz razmerja suhe mase in prostornine referenčnega laboratorijskega biokompozita, ki smo ga naredili v Petrijevi plošči s prostornino 0,75 l. V izdelani deski za deskanje gostote glivnega biokompozita nismo določali gravimetrično, zaradi destruktivnosti metode.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

3 RESULTS AND DISCUSSION

Končni izdelek je dosegel načrtovano dolžino, prostornino in gostoto oz. maso. Uspešno smo izdelali 198 cm dolg glivni biokompozit s prostorni-



Slika 3. Končni glivni biokompozit (Foto: N. Bizjak).

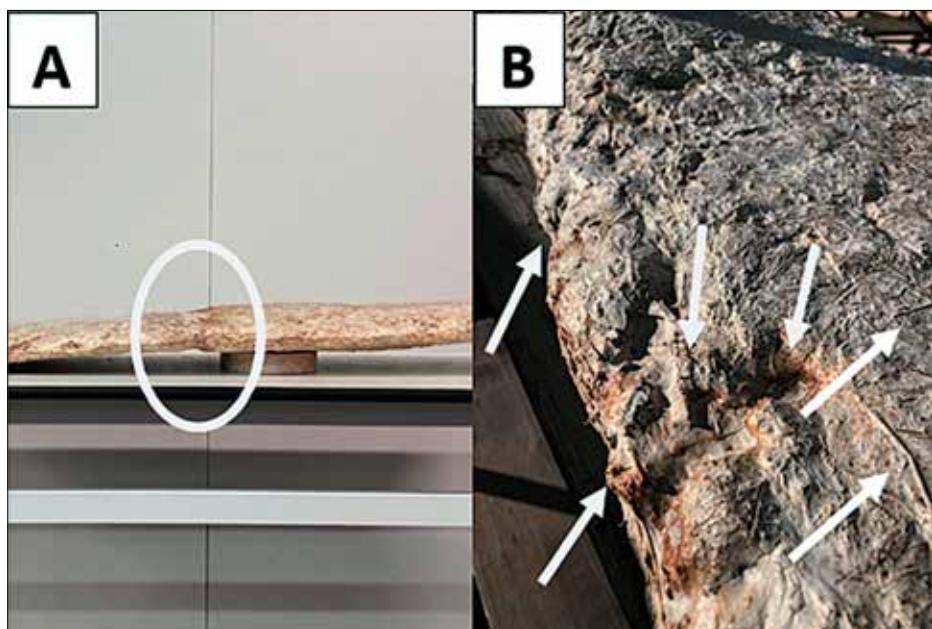
Figure 3. Final fungal biocomposite (Photo: N. Bizjak).

no 47 litrov (slika 3). Celoten biokompozit je ostal neokužen, kar je ključno, saj so okužbe poglaviti razlog za neuspešno izdelavo večjih glivnih biokompozitov. Gostota referenčnega biokompozita je bila 80 kg/m^3 . Vrednost je višja od nekaterih zabeleženih vrednosti v literaturi (59 kg/m^3) (Xing et al., 2018) in višja od gostote polistirena ($11\text{--}50 \text{ kg/m}^3$) (Jones et al., 2020), vendar še vedno sodi med nižje, saj ima večina glivnih biokompozitov gostoto v območju 150 kg/m^3 (Jones et al., 2020).

Glavni izviv pri formulaciji substrata in razlog za višjo gostoto od najnižje je prav delež slame v substratu. Xing et al. (2018) so sicer s preraščanjem čiste slame z glivo *Ganoderma resinaceum* izdelali biokompozit z gostoto 59 kg/m^3 , vendar zgolj s prostornino $0,04 \text{ l}$, pri čemer je preraščanje trajalo 56 dni. Predvidevali smo, da bi čista slama pri tako veliki prostornini lahko povzročila neenakomerno preraščanje, zato smo dodali ostale surovine, ki so sicer negativno vplivale na gostoto, a so zagotovile boljše pogoje za rast. Kokosova vlakna smo dodali za boljšo absorpcijo vode in zaradi njihove vitke oblike, pivovarske tropine, moko ter kavno usedljeno pa kot vire enostavnih sladkorjev ter ostalih mikro- in makrohranil (Campos-Vega et al., 2015). Ob podrobнем pregledu površine biokompozita po sušenju smo opazili napake, ki so nastale ob prenosu z micelijem preraščenega substrata v modele. Na površini biokompozita smo opazili lokalno manjša pogreznjena mesta, ki so nastala zaradi

neenakomerne posedanja substrata v modelih (slika 4B). Neenakomerno posedanje je vodilo v nastanek zračnih žepov v notranjosti substrata ali na sami površini. Opazili smo tudi, da je na spoju biokompozitov zadnji del tanjši kot sprednji (slika 4A). Razlika je nastala zaradi napake pri nastavitevi vrhnjega pokrova zadnjega dela, ki smo ga preveč stisnili. Tako ugreznjeni deli na površini kot razlika v debelini na spoju predstavljajo težavo za nadaljnje korake obdelave, kot so prekrivanje biokompozita s stekleno volno in epoksi smolo, saj metoda zahteva ravno, enakomerno ukrivljeno površino.

Biokompozit smo zaradi velikosti, namesto v laboratorijskem sušilniku, sušili v konvekcijski komori za sušenje lesa. Za osnovo vodenja postopka smo uporabili blažji program sušenja, primeren za težje sušeče lesne vrste, razdeljen po fazah, s postopnim naraščanjem temperature od začetne 40°C do končne 70°C . Glivne biokompozite se суši pri temperaturah med 60 in 110°C (Arifin & Yusuf, 2013; Islam et al., 2018, 2017; Teixeira et al., 2018), kjer se višje temperature uporablja v kombinaciji s kontaktnim segrevanjem in tlačnim stiskanjem v stiskalnicah. S tem dosežemo propad glive, kar preprečuje rast gob iz končnega izdelka, obenem pa ne poškodujemo micelija, kar je ključno za doseganje ustreznih končnih lastnosti materiala. Elektroporovno spremljanje vlage v biokompozitu (SIST EN 13183-2: 2003) se je izkazalo kot primerno, saj je omogočalo prilagajanje pogojev sušenja (tempera-



Slika 4. Nepravilnost končnega izdelka: (A) obkrožena razlika v debelini med sprednjim in zadnjim delom, (B) bele puščice označujejo udrutine in grobo površino biokompozita (Foto: N. Bizjak).

Figure 4. Irregularities of the final product: (A) circled difference in thickness between front and back, (B) white arrows indicate depressions and the rough surface of the biocomposite (Photo: N. Bizjak).

tura, zračna vlažnost, hitrost gibanja zraka). S stopnjevanjem pogojev sušenja smo preprečili pojав morebitnih napak sušenja, kot je kolaps, kot posledica velike kapilarne tenzije in notranjih napetosti v materialu. Znano je, da se pri višjih temperaturah sušenja glivni biokompoziti bolj krčijo, predvsem glivni miceliji, poroznost in delež praznih prostorov med micelijem in substratom pa se povečuje (Santos et al., 2021). Vlažnost v materialu je bila ob začetku sušenja 80 %, po 24 urah pa je znašala 10 %. Postopek sušenja je vključeval 8-urno začetno segrevanje ter enako dolgo ohlajanje na koncu postopka sušenja, ki prepreči pokanje in krivljenje materiala, ki bi lahko nastalo zaradi prehitrega ali neenakomernega sušenja in ohlajanja površine ter notranjosti biokompozita. Mehanskih lastnosti (natezna, tlačna in upogibna trdnost) ter ostalih fizikalnih lastnosti, kot sta absorpcija vode in toplotna prevodnost med raziskavo nismo določali, saj smo se osredotočili na samo izdelavo večjega biokompozita. V nadalnjem delu in raziskavah se bomo osredotočili na znižanje končne gostote biokompozita ter vrednotenje mehanskih in fizikalnih lastnosti.

4 ZAKLJUČEK

4 CONCLUSIONS

Z eksperimentalnim delom smo izdelali večji glivni biokompozit z želenimi lastnostmi, kar nam je omogočilo vpogled v primernost tehnologije glivnih biokompozitov za komercializacijo in proizvodnjo večjih izdelkov. S sprotnim načrtovanjem in prilagajanjem smo raziskali širok spekter možnih proizvodnih korakov za izdelavo večjih biokompozitov s specifično obliko in materialnimi lastnostmi. Končni postopek izdelave je zajemal tristopenjsko gojenje micelija: najprej v vrečah za gojenje, nato v dveh večjih modelih, ki smo ju v tretji stopnji spojili skupaj, ter končno sušenje v laboratorijski komori za sušenje lesa. Kljub nekaterim nepravilnostim na površini biokompozita predstavlja izdelek uspešen primer uporabe tehnologije glivnih biokompozitov za izdelavo kompozitov večjih dimenzij.

5 POVZETEK

5 SUMMARY

As the need for a circular economy increases, so does the demand for new sustainable materials.

Fungal biocomposites are a sustainable alternative to synthetic foams for applications ranging from packaging to building insulation. The technology utilises the mycelium's ability to grow on lignocellulosic agricultural residues to produce biocomposites with similar material properties to synthetic foams. White-rot fungi such as *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, and *Ganoderma lucidum* are commonly used due to their ability to digest lignin (Elsacker et al., 2020). The substrates are obtained from lignocellulosic agricultural residues such as straw, grain husks, sawdust, and other by-products from cotton, hemp, and other industrial crops. Increasingly, lignocellulosic by-products from industrial waste, such as cardboard, and food waste such as spent coffee grains and brewer's spent grains, are also being researched as substrates (Huang et al., 2024; Yang et al., 2021). The mycelium acts as an adhesive that binds the substrate particles together to form a uniform, porous material. Understanding how to produce large quantities of these materials is crucial for product development. In our experimental work, we produced a large fungal biocomposite with a low density, a volume of 47 litres and a length of two metres. We used a liquid culture of *Ganoderma resinaceum* labelled ZIM L177 in combination with a specially formulated low-density substrate. The fungal culture comes from the fungal collection of the Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, which is available to research institutions on request. Detailed information on the origin and identification of the fungal isolate can be found in the related catalogue (Raspor et al., 1995). The substrate consisted of 65% wheat straw (KGS Krajnc d.o.o. and Department of Wood Science and Technology), 13 % coconut fibre (Humko ko-ko block, HUMKO d.o.o.), 15% brewer's spent grains (Laško Union d.o.o.), 5 % wheat flour (Mlinotest d.d.), and 2% spent coffee grounds (Department of Wood Science and Technology). We added 60% water to the ingredients and autoclaved the substrate in culture bags for 3 hours and 30 minutes at 121 °C and 150 kPa. Each bag received 30 ml of the liquid mycelium culture. We started the growth of the mycelium in culture bags at 25 °C and 85% RH. After 13 days, we transferred the mycelium from the bags into specially prepared growth moulds. After 14 days of incubation, we fused the biocomposites in the two moulds. After 5 days, the biocomposites were

bound together by the mycelium so that we could dry the biocomposite and inactivate the fungus. Due to its size, drying was carried out in a convective kiln drier used for timber drying. We used electrical resistance measurements to determine the moisture content (MC) of the material during the drying process to achieve an MC of 10 %. The drying process lasted 40 hours, with the main drying phase taking place at 70 °C for 24 hours. Through this three-stage growth process, we were able to produce a fungal biocomposite with a density of 80 kg/m³ that met the size specifications, remained free of contamination, and could tolerate lighter loads. Although we did not achieve the lowest density of 59 kg/m³ reported by Xing et al. (2018), we consider 80 kg/m³ to be a success given the large volume of material produced. A lower density could be achieved with a higher proportion of straw in the substrate, but this would increase the risk of contamination. The main drawback of the material was the small surface depressions caused by air pockets in the substrate during the transfer of the mycelium-laden substrate into the moulds.

ZAHVALA ACKNOWLEDGEMENT

Avtorji se zahvaljujejo podpori Javne agencije za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS) v okviru programa P4-0430 (Gozdno-lesna veriga in podnebne spremembe: prehod v krožno biogospodarstvo).

VIRI REFERENCES

- Arifin, Y. H., & Yusuf, Y. (2013). Mycelium fibers as new resource for environmental sustainability. *Procedia Engineering*, 53, 504–508. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2013.02.065>
- Bonenberg, A., Sydor, M., Cofta, G., Doczekalska, B., & Grygorowicz-Kosakowska, K. (2023). Mycelium-based composite materials: Study of acceptance. *Materials*, 16, 2164. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma16062164>
- Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., Vergara-Castañeda, H. A., & Oomah, B. D. (2015). Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science & Technology*, 45 (1), 24–36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.012>
- Elsacker, E., Vandelook, S., Van Wylick, A., Ruytinx, J., De Laet, L., & Peeters, E. (2020). A comprehensive framework for the production of mycelium-based lignocellulosic composites. *Science of The Total Environment*, 725, 138431. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138431>
- 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, 41292. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep41292>
- Holt, G. A., McIntyre, G., Flagg, D., Bayer, E., Wanjura, J. D., & Pelletier, M. G. (2012). Fungal mycelium and cotton plant materials in the manufacture of biodegradable molded packaging material: Evaluation study of select blends of cotton byproducts. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 6 (4), 431–439. DOI: <https://doi.org/10.1166/jbmb.2012.1241>
- Huang, Z., Wei, Y., & Hadigheh, S. A. (2024). Variations in the properties of engineered mycelium-bound composites (MBCs) under different manufacturing conditions. *Buildings*, 14, 155. DOI: <https://doi.org/10.3390/buildings14010155>
- Islam, M. R., Tudry, G., Bucinell, R., Schadler, L., & Picu, R. C. (2018). Mechanical behavior of mycelium-based particulate composites. *Journal of Materials Science*, 53, 16371–16382. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10853-018-2797-z>
- Islam, M. R., Tudry, G., Bucinell, R., Schadler, L., & Picu, R. C. (2017). Morphology and mechanics of fungal mycelium. *Scientific Reports*, 7, 13070. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13295-2>
- 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. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.108397>
- Raspor, P., Smole-Možina, S., Podjavoršek, J., Pohleven, F., Gogala, N., Nekrep, V. F., & Hacin, J. (1995). ZIM: Collection of industrial microorganisms. Catalogue of Cultures (Ljubljana: University of Ljubljana, Biotechnical Faculty).
- Ross, P. (2016). Method for producing fungus structures. US9410116B2. URL: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/046126926/publication/US-9410116B2?q=pn%3DUS9410116B2> (20.5.2024)
- SIST EN 13183-2 (2003). Delež vlage v žaganem lesu—Ocena z metodo električne upornosti. Slovenski Inštitut za standardizacijo.
- Teixeira, J. L., Matos, M. P., Nascimento, B. L., Griza, S., Holanda, F. S. R., & Marino, R. H. (2018). Production and mechanical evaluation of biodegradable composites by white rot fungi. *Ciência e Agrotecnologia*, 42, 676–684. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-70542018426022318>
- Xing, Y., Brewer, M., El-Gharabawy, H., Griffith, G., & Jones, P. (2018). Growing and testing mycelium bricks as building insulation materials. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 121, 022032. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/121/2/022032>
- Yang, L., Park, D., & Qin, Z. (2021). Material function of mycelium-based bio-composite: A review. *Frontiers in Materials*, 8, 737377. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmats.2021.737377>