

Cirkularna bioekonomija i biotehnologija filamentoznih gljiva

Zdenković, Ela

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:021357>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-07**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Biotehnologija**

**Ela Zdenković
8231/BT**

**CIRKULARNA BIOEKONOMIJA I
BIOTEHNOLOGIJA FILAMENTOZNIH GLJIVA**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Biotehnologija 2

Mentor: prof. dr. sc. Sunčica Beluhan

Zagreb, 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Biotehnologija

Zavod za biokemijsko inženjerstvo
Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju slada i piva

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje Biotehnologija

Cirkularna bioekonomija i biotehnologija filamentoznih gljiva

Ela Zdenković, 8231/BT

Sažetak: Ususret rastućim ekološkim problemima i pitanjem održivosti trenutačne ekonomije, javlja se potreba za novom cirkularnom bioekonomijom koja ima za cilj zamijeniti fosilne izvore s obnovljivim izvorima. U cirkularnoj bioekonomiji, veliki potencijal pokazuju filamentozne gljive koje se odlikuju sposobnošću transformacije organskog materijala u niz proizvoda korisnih za ljude. Osim proizvodnje visokovrijednih proizvoda, primjena biotehnologije filamentoznih gljiva ima istovremeni potencijal smanjenja utjecaja klimatskih promjena, posebno na području emisije štetnih plinova. Cilj ovog rada je predstaviti i opisati moguća područja primjene filamentoznih gljiva, te dati primjere organizama koji se istražuju u te svrhe. Nadalje, u radu su razmotrene negativne strane filamentoznih gljiva koje uključuju njihovu patogenost i lučenje mikotoksina. U sklopu rada uzeti su u obzir i izazovi koje je potrebno riješiti za uspješnu integraciju filamentoznih gljiva u cirkularnu bioekonomiju. Oni se tiču problema informatizacije podataka, korištenja suvremenih alata i tehnologija, te standardizacije procesa.

Ključne riječi: filamentozne gljive, cirkularna bioekonomija, biotehnologija

Rad sadrži: 33 stranica, 4 slike, 4 tablice, 50 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Sunčica Beluhan

Datum obrane: npr. 15. lipnja 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Biotechnology

Department of Biochemical Engineering
Laboratory for Biochemical Engineering, Industrial Microbiology and Malting and Brewing
Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Biotechnology

Circular bioeconomy and biotechnology of filamentous fungi

Ela Zdenković, 8231/BT

Abstract: In the face of growing environmental challenges and the question of sustainability of the current economy, there is a need for a new circular bioeconomy that aims to replace fossil resources with renewable resources. Filamentous fungi show great potential because of their ability to transform organic material into a number of products useful for humans. In addition to the production of high-value products, the application of biotechnology of filamentous fungi has a simultaneous potential of reducing the impact of climate change, especially in terms of harmful gas emissions. The aim of this thesis is to present and describe the possible areas of application of filamentous fungi, and to give examples of organisms that are researched for this purpose. Furthermore, the negative aspects of filamentous fungi, including their pathogenicity and secretion of mycotoxins, are discussed in the thesis. Challenges that need to be solved for the successful integration of filamentous fungi into circular bioeconomy are also taken into account. These include computerization of data, use of modern tools and technologies, and standardization of processes.

Keywords: filamentous fungi, circular bioeconomy, biotechnology

Thesis contains: 33 pages, 4 figures, 4 tables, 50 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Sunčica Beluhan, PhD, Full Professor

Thesis defended: June 15, 2023

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. TEHNOLOŠKI RAZVOJ I VRSTE EKONOMIJE	3
2.2. FILAMENTOZNE GLJIVE I NJIHOVA PRIMJENA	5
2.2.1. ALTERNATIVA MESU	8
2.2.2. BIOMATERIJALI	11
2.2.3. BIOEKONOMIJA TEMELJENA NA DRVETU	14
2.2.4. SMANJENJE PLASTIČNOG ZAGAĐENJA	16
2.3. ISTRAŽIVANI MIKROORGANIZMI	18
2.3.1. <i>A. NIGER</i>	18
2.3.2. <i>A. ORYZAE</i>	18
2.3.3. <i>A. TERREUS</i>	19
2.3.4. <i>P. CHRYSOGENUM</i>	19
2.3.5. <i>T. REESEI</i> I <i>T. THERMOPHILUS</i>	19
2.4. NEGATIVNE STRANE UZGOJA FILAMENTOZNIH GLJIVA	20
2.4.1. PATOGENI IZ GLJIVA	20
2.4.2. MIKOTOKSINI	21
2.5. MJERE ZA NAPREDAK BIOTEHNOLOGIJE FILAMENTOZNIH GLJIVA	23
2.5.1. INFORMATIZACIJA I PRISTUP PODACIMA	23
2.5.2. ALATI I TEHNOLOGIJE ZA PROUČAVANJE BIOLOGIJE GLJIVA	24
2.5.3. STANDARDIZACIJA PROCESA	25
3. ZAKLJUČCI.....	27
4. POPIS LITERATURE	28

1. UVOD

Od 1970-ih godina prošlog stoljeća istraživanja rekombinantne DNA i monoklonskih antitijela su promicala brzi razvoj moderne biotehnologije. Još na prijelazu tisućljeća predloženo je da se 21. stoljeće zove stoljeće biologije (Calicioglu i Bogdanski, 2021). S povećanom i sve brojnijom primjenom biotehnologije, ekonomski atributi biotehnologije su iskorišteni i ojačani, a industrije i industrijski klasteri bioenergije, biomedicine i srodnih područja su postupno uspostavljeni diljem svijeta. Napredak biotehnologije pokrenuo je nove načine proizvodnje, cirkulaciju (kruženje), razmjenu i potrošnju, kao i institucionalne sustave koji su uvelike promijenili ekonomsku i društvenu strukturu i doveli do novog gospodarskog oblika ekonomije, na temeljima poljoprivredne, industrijske i informacijske ekonomije. Bioekonomija je novi oblik ekonomije koja se razlikuje od industrijske i informacijske, a istovremeno predstavlja složen oblik ekonomije koji lančano povezuje različite industrije, kako u smislu produktivnosti, tako i proizvodnih odnosa (Kardung i sur., 2021).

Cirkularna ekonomija nastoji povećati udio obnovljivih izvora ili resursa koji se mogu reciklirati i smanjiti potrošnju sirovina i energije u gospodarstvu, a u isto vrijeme štititi okoliš kroz smanjenje emisija i minimiziranje materijalnih gubitaka. Sustavni pristupi, uključujući ekodizajn, dijeljenje, ponovnu uporabu, popravak, obnovu i recikliranje postojećih proizvoda i materijala, može imati značajnu ulogu u održavanju korisnosti proizvoda, sastojaka i materijala, te zadržavanju njihovih vrijednosti (EEA, 2016).

Cirkularna ekonomija može se nadopuniti bioekonomijom, kao konceptom koji može uključivati gospodarske aktivnosti povezane s izumima, razvojem, proizvodnjom i uporabom bioloških proizvoda i procesa za energiju, materijale i kemikalije (Platforma Biofuture, 2018). Rezultirajuće sjecište ove dvije ekonomije nazvano je "cirkularna bioekonomija". Iako može potencijalno predstavljati prijelaz na održiviju proizvodnju i potrošnju, koncept cirkularne bioekonomije je još uvijek u začecima, s mnogim preostalim izazovima i istraživačkim pitanjima na koje treba dati odgovore. Naime, razne organizacije i istraživači definiraju koncept na drukčiji način, što dovodi do zabune i poteškoća u njegovoj učinkovitoj implementaciji. Osim toga, akademska zajednica, industrija i kreatori politika često i netočno međusobno razmjenjuju pojmove "cirkularna bioekonomija" i "održivost" (Tan i Lamers, 2021).

Cirkularna bioekonomija predstavlja zatvoreni krug u kojem se početna sirovina i energija iskorištavaju u nizu faza (Franklin-Johnson, 2016). Ideja je da se bioprocenom dobiveni nusprodukti i otpad pretvaraju u izvore za proizvodnju novih dobara, čime se povećava učinkovitost iskorištavanja početnog resursa, uz istovremeno smanjivanje akumuliranog otpada.

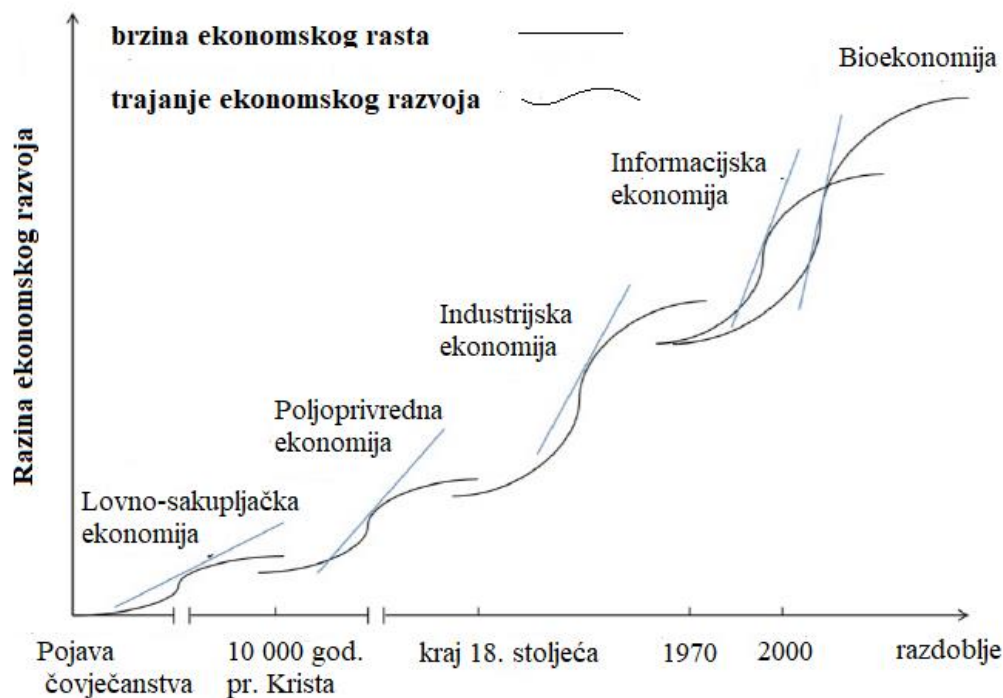
Filamentozne gljive imaju potencijal za ključnu ulogu u ostvarivanju ciljeva cirkularne bioekonomije, kao glavni katalizatori u procesima pretvorbe biomase u visokovrijedne proizvode. Smatra se da će se micelijski proizvodi pokazati konkurentnim na svjetskom tržištu jer će nuditi slične ili superiornije karakteristike u usporedbi s klasičnim proizvodima dobivenim procesima na bazi nafte. Dodatna prednost micelijskih proizvoda je njihova biorazgradivost uz istovremeni pozitivan učinak na okoliš, prvenstveno u vidu smanjenja emisije stakleničkih plinova (Meyer i sur., 2016).

Izvori biomase mogu biti različiti, a uključuju, primjerice, ostatke poljoprivredne proizvodnje, prehrambene i drvne industrije. Trenutna istraživanja posvećena su nedovoljno iskorištenoj biomasi lignina kao novom izvoru sirovine za primjenu u biotehnologiji filamentoznih gljiva. Filamentozne gljive raznolika su skupina organizama, karakteristična po dugačkim nitastim strukturama hifa koje tvore micelij. Imaju ključnu ulogu u ekosustavu zbog sposobnosti pretvorbe organskog materijala u različite metabolite, enzime i materijale (Cairns i sur, 2018). U ovom su radu razmatrana područja primjene filamentoznih gljiva koja uključuju proizvodnju alternativa mesu, biomaterijala različitih svojstava i područja primjene, te rješavanje problema plastičnog zagađenja. Ukazano je na istraživanja njihove primjene u drvnoj industriji za dobivanje energije i drvnih proizvoda, uz istovremeno smanjenje emisije ugljičnog dioksida. Uočeno je da, unatoč velikom potencijalu, komercijalna primjena ovih organizama u određenim područjima još uvijek izostaje zbog niza ograničenja. Za ostvarivanje punog potencijala ovih organizama i primjenu u biorafinerijama potrebna su prije svega daljnja istraživanja i napredci na području znanosti i tehnologije uz suradnju biologa, kemičara, bioinformatičara, procesnih inženjera, ali i stručnjaka s područja cirkularne bioekonomije i politike.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Tehnološki razvoj i vrste ekonomije

Tijekom povijesti čovječanstva, potaknut znanstvenim i tehnološkim revolucijama, gospodarski razvoj je prolazio kroz pet faza: ekonomija lovaca i sakupljača, poljoprivredna ekonomija, industrijska ekonomija, informacijska ekonomija i bioekonomija (Slika 1) (Wei i sur., 2022).



Slika 1. Evolucija pet vrsta ekonomije (Wei i sur., 2021)

Od pojave ljudskih bića prije otprilike 5 milijuna godina, ljudi su uglavnom preživljavali loveći životinje i sakupljajući plodove, oslanjajući se na svoju fizičku snagu kao dominantno sredstvo za proizvodnju i neka jednostavna oruđa koja su se kasnije pojavila. Proizvodne aktivnosti u velikoj su mjeri ovisile o prirodi i pokazale su izvorni "sklad čovjeka i prirode" u odnos prema lovu i fazi sakupljanja i bez očite vodeće tehnologije u ovoj fazi. Oko 10.000 godina pr. Krista, s razvojem sadnje usjeva, te uzgoja stoke i peradi, zemlja je postala glavno sredstvo rada, zajedno s poljoprivrednim oruđem kao, primjerice, brončano i željezno oruđe, a ljudsko društvo ušlo je u poljoprivrednu ekonomiju. Krajem 18. stoljeća velike razvijene zemlje dovršile su industrijsku revoluciju; stoga su pogonski strojevi u velikoj mjeri zamijenili ručni rad (Marsh,

2012). Pod industrijskom ekonomijom, posjedovanje i dodjela prirodnih resursa kao što su fosilna goriva, odigrali su potpornu ulogu u razvoju proizvodnje i tako postala odlučujući čimbenik stupnja gospodarskog razvoja. Rad i kapitalni višak vrijednosti bit su industrijske ekonomske proizvodnje, a sa sve većim ograničenjem energije i resursa, informacije su postale glavna snaga ekonomskog razvoja. Od 1970-ih godina pojavila su se velika računala, mikroprocesori i Internet. Uz podršku kapitala, napredak informacijskih tehnologija se velikom brzinom povećava, a umjetna inteligencija uvelike ojačava i može čak zamijeniti ljudski mentalni rad; stoga viša umjetna inteligencija počinje smanjivati ulogu djelatne snage (Davis i Meyer, 2000).

Bioekonomija se počela razvijati nešto kasnije od informacijske ekonomije, ali se razvija brže od ostalih oblika ekonomija. Do 2000. godine, kada je izrađena mapa ljudskog genoma, primjena biotehnologije postaje su sve opsežnija, a bioekonomija se postupno razvija i sazrijeva. Moderna biotehnologija, predstavljena genetskom modifikacijom, uređivanjem gena i sintetskom biologijom, uvelike skraćuje proces poboljšanja biljnih, životinjskih i mikrobnih vrsta. Usvajanje biotehnologije (bioproces i biorafinerija tehnologija) za proizvodnju biokemikalija, biomaterijala i bioenergije u osnovi smanjuje ovisnost o fosilnim sirovinama i energiji. U isto vrijeme, stvaranje novih sorti visoke kvalitete i visokog prinosa, smanjuje ovisnost tradicionalne poljoprivrede o zemljištu, klimi i drugim resursima, poboljšava održivost poljoprivrede i industrije, te demonstrira novi skladni odnos čovjeka i prirode (Tablica 1).

Tablica 1. Karakteristike i osnovne postavke glavnih ekonomskih oblika (Wei i sur, 2021)

Ekonomski oblik	Dominantna tehnologija	Ključna svojstva
Lovno-sakupljačka ekonomija	Primjena kamenog oruđa	Rad + jednostavno oruđe
Poljoprivredna ekonomija	Korištenje poljoprivrednih alata, navodnjavanje, upotreba gnojiva, tehnike uzgoja	Zemlja + poljoprivredni alati (+ inteligencija)
Industrijska ekonomija	Korištenje parnog stroja, mehanizirana oprema	
Informacijska ekonomija	Elektronička znanost, komunikacijska tehnologija, internetska tehnologija	Umjetna inteligencija + kapitalizam
Bioekonomija	Tehnologija sekvenciranja, transgenska tehnologija, sintetička biologija	Biološki resursi + biotehnologija + kapital

2.2. Filamentozne gljive i njihova primjena

Filamentozne gljive opisane su kao „jedinствене“. skupina organizama, različita od svih drugih po svom ponašanju i staničnoj organizaciji. Evolucijom su postale sposobne učinkovito razgraditi organske i polimerne tvari (Spatafora i sur., 2017). Polisaharidi iz biljne biomase čine većinu biomase na Zemlji; 450 od ukupno 550 gigatona ugljika (Bar-On i sur., 2018) i predstavljaju glavni izvor ugljika koji potiču rast filamentoznih gljiva. Njihove stanice luče enzime, kao što su celulaze, amilaze, pektinaze, inulaze, proteaze i lipaze, u okolišne podloge i hidroliziraju (razgrađuju) biljne polisaharide (npr. celulozu, škrob, pektin, inulin), proteine i lipide.

Sa svojim jedinstvenim oblicima i funkcijama imaju središnju ulogu u razgradnji otpada i biogeokemijskom kruženju, kao i doprinosu obradi i strukturi tla. Filamentozne gljive vežu čestice tla u agregate putem mreže hifa. Neke gljive prodiru u biljne stanice i rastu između njih da bi oblikovale mikorizne i endofitne odnose, dok druge koriste resurse dostupne u filosferi, rizosferi i na rizoplanu. Filamentozne gljive, ukratko, su odgovorne za širok raspon važnih funkcija u prirodi koje mogu imati suptilni utjecaj na razini ekosustava (Deshmukh i sur.,

2016).

Prirodni metabolički kapacitet filamentoznih gljiva je iznimno raznovrstan i upravo to čini ove organizme jedinstvenim u prirodi. Proizvodi koji se mogu dobivati iz filamentoznih gljiva ne čine samo već tradicionalna proizvodnja limunske kiseline i enzima. U tablici 2 navedene su vrste filamentoznih gljiva i važni proizvodi koji se iz njih mogu izolirati i dobiti biotehnoškim procesom. Na temelju podataka navedenih u tablici vidljivo je da se iz filamentoznih gljiva mogu izolirati različiti korisni proizvodi za čovjeka koji uključuju: organske kiseline, kemikalije, antibiotike i druge lijekove, proteine, enzime, alternative mesu, polinezasićene masne kiseline, složene materijale, umjetnu kožu. Posebno je važna njihova primjena u farmaceutskoj industriji za dobivanje različitih lijekova. U tablici 3 navedeni su neki od lijekova koji se dobivaju iz filamentoznih gljiva, te njihova primjena u farmaceutici.

Tablica 2. Vrste filamentoznih gljiva i proizvodi koji se iz njih dobivaju (Meyer, 2020)

Vrsta filamentozne gljive	Važni proizvodi
<i>Acremonium chrysogenum</i>	β -laktamski antibiotici (cefalosporini)
<i>Aspergillus niger</i>	enzimi (glukoamilaze, proteaze, fitaze, glukoza oksidaze) organske kiseline (limunska, glukonska)
<i>A. oryzae</i>	enzimi (amilaze)
<i>A. terreus</i>	enzimi (ksilanaze), organske kiseline (itakonska), sekundarni metaboliti (lovastatin)
<i>Blakeslea trispora</i>	vitamini (β -karoten)
<i>Fusarium venenatum</i>	mikoproteini kao alternativa mesu
<i>Ganoderma lucidum</i>	složeni materijali (ambalaža i građevinski materijal) umjetna koža
<i>Mortierella alpina</i>	polinezasićene masne kiseline korištene kao aditivi hrani
<i>Mucor circinelloides</i>	polinezasićene masne kiseline korištene kao aditivi hrani
<i>Penicillium brevicompactum</i>	mikofenolna kiselina
<i>P. camemberti</i>	proizvodnja sira
<i>P. chrysogenum</i>	β -laktamski antibiotici (penicilini) enzimi (glukoza oksidaze)
<i>P. nalgiovense</i>	mesni proizvodi s plemenitom plijesni
<i>P. roqueforti</i>	proizvodnja sira
<i>P. solitum</i>	mevastatin
<i>Pleurotus ostreatus</i>	hrana složeni materijali (ambalaža i građevinski materijal)
<i>Rhizopus oligosporus</i>	proizvodnja tempeha
<i>Thermothelomyces thermophilus</i>	enzimi (celulaze, fitaze, lakaze)
<i>Trichoderma reesei</i>	enzimi (celulaze, hemicelulaze)
<i>Umbelopsis isabellina</i>	polinezasićene masne kiseline korištene kao biodizel

Tablica 3. Odabrani lijekovi dobiveni iz filamentoznih gljiva i njihove primjene (Meyer, 2020)

Lijek	Komentar i primjena
β -laktat	Penicilini i cefalosporini čine više od 30 % globalnog tržišta antibiotika
Ciklosporin	Imunosupresiv koji sprječava odbacivanje organa pri transplantaciji
Drospirenon	Steroidni hormon u kontracepcijskim tabletama Slynd; u kombinaciji s estrogenom prodaje se pod trgovačkim nazivom Yasmin
Ehinokandin	Kasopofungin, mikafungin i anidulafungin koriste se u liječenju infekcija izazvanih gljivica roda <i>Candida</i>
Griseofulvin	Antifungalni lijek za liječenje infekcija kože
Mikofenolna kiselina	Imunosupresiv koji sprječava odbacivanje organa pri transplantaciji, prodaje se pod imenom CellCept
Miriocin	Kemijski analog molekule koristi se za liječenje multiple skleroze
Psilobicin	Inkaloid koji je trenutno u drugoj fazi kliničkih testiranja za liječenje kliničke depresije, FDA smatra da se radi o važnom preokretu u terapiji
Statini	Lovastatin, simvastatin i pravastatin namijenjeni za liječenje kardiovaskularnih bolesti tako što snizuju razinu kolesterola

2.2.1. Alternativa mesu

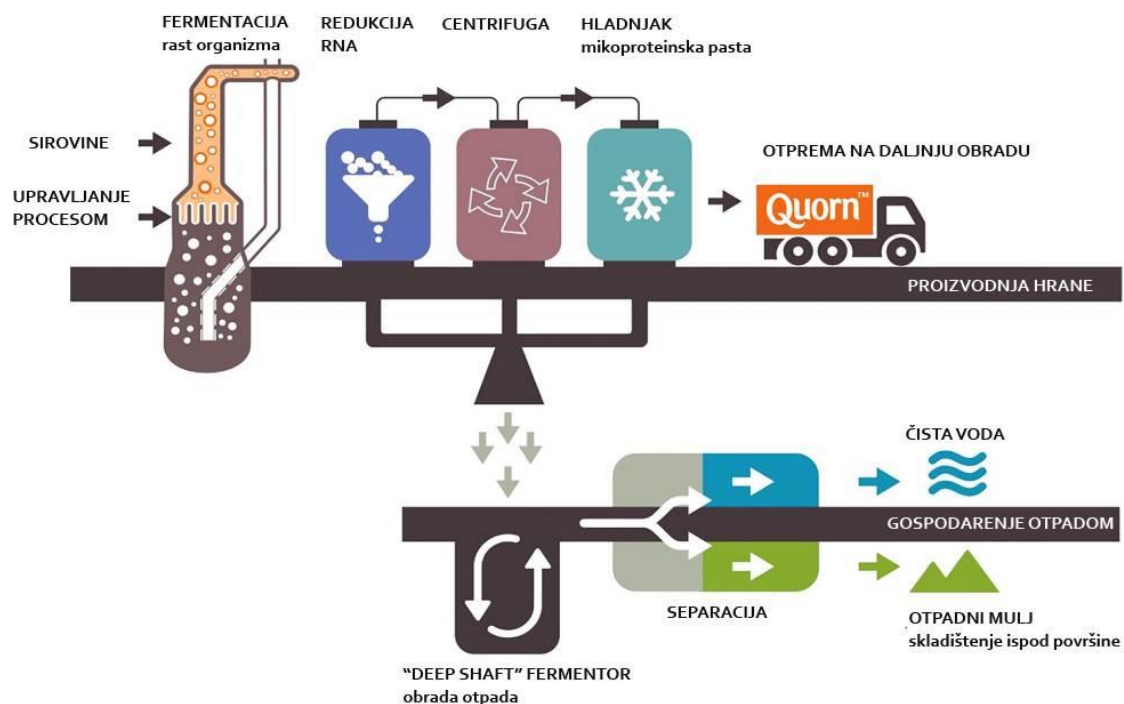
Ususret rastućim problemima održivosti mesne industrije i sve jasnijem štetnom utjecaju mesa i mesnih proizvoda na ljudsko zdravlje, nastoje se pronaći alternativni izvori proteina koji bi barem djelomično, ako ne i u potpunosti zamijenili meso u prehrani. Jedan od potencijalnih izvora alternative mesu su filamentozne gljive. Gljive su dio čovjekove prehrane već tisućljećima, a koriste se i za proizvodnju dodataka prehranbenim proizvodima. Filamentozne gljive pokazuju potencijal u proizvodnji proizvoda nalik mesu koji bi mogli biti prikladna zamjena po pitanju nutritivnih, funkcionalnih i senzornih svojstava.

Mikoproteini su definirani kao prehrambeni proizvod koji se sastoji od biomase gljiva dobivene procesom fermentacije. Što se tiče samog nutritivnog sastava mikoproteina, oni su bogati lizinom, ali nedostatni cisteinom i metioninom, te sadrže glutation, tiamin folnu kiselinu i riboflavin kao molekule od nutritivog značaja (Derbyshire, 2021). Mikoproteini su dobar izvor masnih kiselina i vlakana. Mast je zastupljena u obliku višestruko nezasićenih masnih kiselina kao što su linolna and linolenska. Ne sadrže kolesterol s obzirom na to da su steroli gljiva različiti od životinjskih (Cheung, 2010). U usporedbi sa životinjskim proteinima, proteini dobiveni iz gljiva sadrže niži udio vitamina B12 i željeza. Nadalje, prema toksikološkim istraživanjima, konzumiranje mikoproteina nema negativan učinak na zdravlje čovjeka ili životinja (Hashempour-Baltork i sur., 2021). Udjel proteina kod uzgoja filamentoznih gljiva na različitim supstratima prikazan je u tablici 4. Postotak bjelačevina se proteže u rasponu od 10 % do 63 %, a ovisi o supstratu koji se koristi za kultivaciju organizma.

Tablica 4. Udjel proteina dobiven uzgojem filamentoznih gljiva na različitim supstratima (Ritala i sur., 2017)

Vrsta	Supstrat	Udjel proteina (%)
<i>Aspergillus flavus</i>	Rižine mekinje	10
	Jabučna komina	17-20
	Otpadci banana	18
<i>A. niger</i>	Rižine mekinje	11
	Otpadna voda u proizvodnji	49
	Otpadci proizvodnje krumpirova škroba	38
	Otpadna voda	50
<i>A. ochraceus</i>	Rižine mekinje	10
<i>A. oryzae</i>	Rižine mekinje (oduljene)	24
<i>Neurospora (Chrysonilia) sitophila</i>	Lignin	39
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Rižine mekinje	10
<i>Fusarium semitectum</i>	Rižine mekinje	10
<i>Monascus ruber</i>	Rižine mekinje	10
<i>Penicillium citrinum</i>	Rižine mekinje	10
<i>Pleurotus floridans</i>	Slama (pšenična)	63
<i>Trichoderma harzianum</i>	Filtrat sirutke	34
<i>T. viride</i>	Pulpa citrusa	32

Proizvodnja proizvoda nalik mesu započinje uzgojem organizma gljive u fermentorima na jednostavnim solima i glukozi kao izvoru ugljika. Na slici 2 prikazan je proces fermentacije proizvođača Quorn™. To je jedan od najpoznatijih proizvođača alternativa mesu koji koristi filamentoznu gljivu *Fusarium venenatum* za uzgoj u air-lift tlačnim fermentorima. Fermentori su visine 30 m i imaju radni volumen od otprilike 150 m³. Konstrukcija i dimenzije fermentora napravljeni su da u usporedbi s klasičnim fermentorima imaju operacijske i kontrolne prednosti, kao što je mala sila smicanja radi rasta duljih hifa. Nakon uzgoja u fermentoru, dobiveni produkt se izdvaja i zagrijava do određene temperature s ciljem uništavanja proteaza i reduciranja sastava RNA. Nakon toga micelij se formira u pastu, kuha i zamrzava.



Slika 2. Quorn™ fermentacijski proces. (Appels i sur., 2019)

Kao izvor glukoze mogu se koristiti različite sirovine. Trenutno se koristi škrob iz pšenice ili kukuruz koja se enzimatski razgrađuje glucoamilazom dobivenom iz *A. niger*. U budućnosti se razmatra korištenje lignocelulozne sirovine kao izvora glukoze. Kod hranjiva za životinje nužan je dodatak proteina, dok sintezu proteina kod uzgoja filamentoznih gljiva vrše filamentozne gljive, pa nije potreban dodatak proteina.

Osim različitih nutritivnih vrijednosti, prehrambeni proizvodi dobiveni iz gljiva, za razliku od proizvoda iz biljaka ili životinja, imaju jeftiniju i ekološki orijentiraniju proizvodnju. Razlog jeftinije proizvodnje je uzgoj na jeftinim supstratima koji su nusprodukti ili otpadci prehrambene, drvne ili poljoprivredne industrije. Također, za proizvodnju mikoproteina potrebne su manje količine vode, u usporedbi s proizvodnjom životinjskih proteina. Daljnja područja istraživanja i unaprjeđenja proizvodnje proizvoda nalik mesu uključuju smanjenje korištenja vode, izbor ugljikohidrata, optimizaciju fermentora te iskorištavanje nusprodukta.

2.2.2. Biomaterijali

Gljive su odgovorne za razgradnju umrlog biljnog materijala. Razgradnja tkiva biljaka započinje razbijanjem molekule celuloze, lignina i drugih sastojaka. Uz pomoć gljivičnih

enzima nastale molekule se reorganiziraju u molekule koje gljive koriste za rast svoje biomase. Staničnu stijenku gljiva čine lanci hitina i glukana, koji uz celulozu i keratin, stvaraju prirodne polimere koji izgrađuju najčvršća organska tkiva. Hitin se osim u gljivama nalazi u izdržljivim egzoskeletima insekata i školjkaša.

Razlikujemo dvije vrste materijala koje dobivamo iz gljiva različitim procesima. Prva vrsta materijala je čisti fungalni materijal. On se dobiva na dva načina: potpunom razgradnjom supstrata ili uklanjanjem tkiva gljiva iz supstrata. Druga vrsta materijala je kompleksni materijal dobiven inaktivacijom gljiva prije same razgradnje supstrata koja primjerice može uključivati inaktivaciju sušenjem ili toplinom. Dobiveni materijal sastoji se od nakupina organskog supstrata međusobno povezanih preko mreže hifa (Grimm i Wösten, 2018).

Čisti i kompleksni materijali dobiveni iz micelija gljiva mogu se koristiti u različite svrhe. Svojstva kompleksnih i čistih materijala dobivenih iz micelija gljiva ovise o supstratu, vrsti gljive, uvjetima rasta i naknadnoj obradi materijala. Ovisno o odabiru uvjeta, moguće je napraviti širok spektar micelijskih materijala različitih svojstava. Potencijal micelija gljiva kao izvora materijala potječe iz toga što takvi materijali mogu apsorbirati i raspršivati širok spektar energetske sile, koje uključuju zvučne i seizmičke valove ili balistiku (Pelletier i sur., 2019). Ujedno se radi i o materijalima koji su prirodno otporni na plamen, dobri toplinski izolatori, te se mogu uzgajati s ciljem postizanja željene fleksibilnosti ili tvrdoće (Jones i sur., 2018). Prednost ovih materijala je u tome što su iznimno visoke čvrstoće i izdržljivosti, ali se isto tako mogu razgraditi na temeljne sastojke i jednostavno vratiti u ekosustav. Također, materijali dobiveni procesom fermentacije i razgradnje zahtijevaju znatno manje energije, vode te drugih resursa nego materijali dobiveni uobičajenim metodama proizvodnje.

Pomoću filamentoznih gljive je moguće dobiti materijale čije su karakteristike slične karakteristikama proširenih polistirena ili drugih pjena. Oni se dobivaju zaustavljanjem rasta gljiva prilikom kolonizacije supstrata (Islam i sur., 2018). Isti se mogu koristiti za pakiranje ili za toplinsku i zvučnu izolaciju. Osim navedenog primjera, materijali dobiveni iz gljiva imaju potencijalnu primjenu kao zamjena za kožu, tekstil ili određene vrste plastike. Istražuje se i razvoj materijala sličnih elastomerima, složenim materijalima, metalima i keramici. Nadalje, korištenjem postupka toplinskog tlačenja moguće je proizvesti materijale s većom homogenosti, čvrstoćom i tvrdoćom. Takvi materijali gube svojstva materijala sličnih pjenama i prelaze u materijale slične plutu ili čak drvetu. (Appels i sur., 2019). Za dobivanje takvih materijala potrebno je premazati micelijske materijale da se spriječi upijanje vode i neželjen gubitak organskih molekula materijala. Premazivanje materijala može se zaobići ako se

primjenjuju odabrani sojevi organizama koji su prethodno modificirani metodama genetičkog inženjerstva. Na slici 3 prikazani su materijali dobiveni iz micelijske biomase. Na lijevoj strani slike nalaze se primjeri materijala analognih drvnim i proširenim polistirenskim pjenama. Na desnoj strani slike prikazan je micelijski analog životinjske kože.



Slika 3. Materijali dobiveni iz micelijske biomase (Meyer i sur., 2020).

Primjena genetičkog inženjerstva za dobivanje biomaterijala iz filamentoznih gljiva može se objasniti na primjeru *S. commune* iz čijeg se micelija divljeg tipa dobivaju materijali karakteristika sličnih prirodnim materijalima drveta ili kože (Appels i sur., 2018). Ako se iz genoma deletira gen koji kodira za protein hidrofobin, dobiva se soj koji nema mogućnost uklanjanja vode iz plodnog tijela gljive. Iz takvog soja može se proizvesti materijal koji je po čvrstoći sličan termoplastici. Razlika u svojstvima materijala nastalih iz ova dva soja je što kod soja s deletiranim genom za hidrofobin dolazi do boljeg pakiranja hifa što rezultira većom gustoćom micelija. Također, odsutnost proteina hidrofobina znači da takav soj ima micelij koji nije otporan na vodu, te posljedično apsorbira više vode i sporije se suši u odnosu na divlji tip (Appels i sur., 2018). Materijali dobiveni iz micelija gljiva mogu imati željena mehanička svojstva i određenu biološku funkciju kao što je ograničavanje dostupnosti vode objašnjeno na primjeru *S. commune*. Praćenjem mehaničkih svojstava i bioloških funkcija micelijskih materijala otvara se novi izvor inovativnih materijala poboljšanih svojstava.

Fleksibilnost i estetiku materijala napravljenih iz gljiva prvi su prihvatili umjetnici i dizajneri koji su ih počeli koristiti za izradu živućih umjetničkih djela. Micelij se ponaša slično kao cement i gips tako da se veže, stvrdne i zadržava u različitim očvrnutim oblike. Osim toga, dizajneri i umjetnici uočili su potencijal u korištenju materijala dobivenih iz gljiva koji su nalik pjenama i plastici. Kao rezultat, tvrtke poput Myco Works, Ecovative Design, NEFFA i MOGU

krenule su s proizvodnjom micelijskih materijala. Istraživački programi pokrenuti u MycoWorks-u pokazali su da se iz micelijskog materijala može dobiti tekstura poliesterskih vlakana, životinjske kože i pjene s raznim površinama koje mogu biti primjerice baršunaste, mekane, kožnate, gumene ili sjajne. Nakon uzgoja micelija, on se može rezati i obrađivati kao i mnogi ostali materijali. Potražnju za ovom vrstom materijala ujedno je potaknula i zabrinutost oko problema stabilizacije cijena opskrbnih lanaca u budućnosti. Jedno od prvih tržišta za koje je primjena micelijskih materijala idealno rješenje je modna industrija, na kojem već postoji potražnja za zamjenom životinjske kože i plastike ne samo od strane tržišta nego i od strane potrošača. Kao odgovor na potražnju, stvoren je čvrsti micelijski materijal oblikovan u ploče koje se naknadno obrađuju, sličnim procesima kao u proizvodnji i obradi životinjske kože.

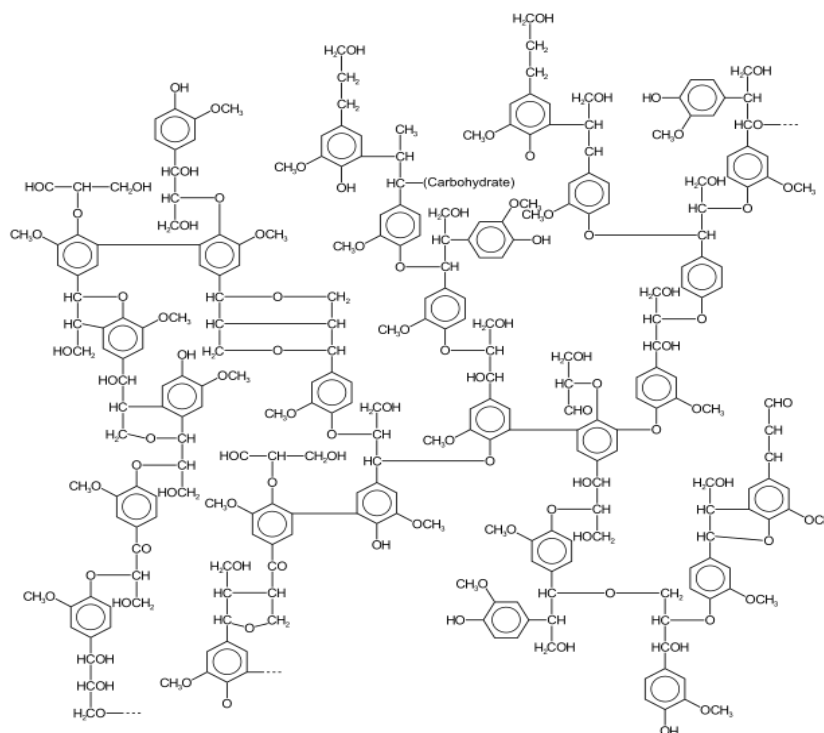
2.2.3. Bioekonomija temeljena na drvetu

Velik broj zemalja svijeta, uključujući i zemlje Europske unije nastoji se boriti protiv globalnog zatopljenja i povećanja emisije CO₂ tako da trenutnu ekonomiju temeljenu na upotrebi fosilnih izvora pretvore u ekonomiju koja koristi obnovljive prirodne izvore. Pri tome se stavlja poseban naglasak na održivosti izvora koji će zamijeniti fosilne izvore. Šume imaju sposobnost aktivnog pohranjivanja ugljika, što je upravo i preduvjet za ekonomiju koja teži biti ugljik neutralna. Zahvaljujući tome što šume i drveni proizvodi imaju mogućnost hvatanja i pohranjivanja ugljika razmatra se primjena drveta kao resursa za postizanje ekoloških ciljeva i ciljeva cirkularne ekonomije.

Trenutno iskorištavanje drveta uključuje tri glavne grane: energiju, drvene proizvode, te drvene celuloze i papir. Implementacija cirkularne ekonomije za cilj ima omogućiti ne samo pohranjivanje ugljika u materijalima što je duže moguće, nego i recikliranje i prenamjenu drvnih proizvoda prije krajnjeg iskorištavanja istih sa svrhom dobivanja energije.

Tranzicija ekonomije na ekonomiju temeljenoj na prirodnim izvorima drveta rezultirat će povećanom potražnjom i nedostatkom drveta. Stoga će od izrazite važnosti u budućnosti biti postizanje što veće učinkovitosti iskorištavanja drveta. U skladu s time, visoko kvalitetna drvena sirovina primarno se koristi za dobivanje čvrstih proizvoda i materijala. U kasnijim koracima iskorištavanja sirovine, fokus je na korištenju osnovnih vlakana, polimera i monomernih molekula, kao što su primjerice šećeri i lignini. Važnu ulogu u ostvarivanju takvog načina iskorištavanja drvene sirovine pokazuju filamentozne gljive zahvaljujući sposobnosti da selektivno i efektivno razgrađuju i/ili modificiraju sve glavne drvene sastavnice. Povećanju

učinkovitosti pridonosi mogućnost korištenja više sirovina kao što su sirovine koje dolaze iz procesa proizvodnje drvene celuloze, nusproizvodi pilana ili recikliranog materijala. Mnoge vrste takvog tipa supstrata nisu prikladne za kemijsko pročišćavanje zbog niske čistoće, te bi njihovo pročišćavanje zahtijevalo provođenje skupih pa time i neisplativih procesa. S druge strane, primjena filamentoznih gljiva omogućuje rješavanje tog problema zahvaljujući otpornosti organizama i njihovoj mogućnosti transformacije ciljanih molekula koje su sastavnice kompleksnih smjesa. U slučaju drvnih sirovina radi se ponajviše o pretvorbi molekula derivata lignina. Lignin je ujedno i najmanje korišten zbog svoje kompleksne strukture koja otežava njegovu razgradnju. Kompleksna struktura lignina sastoji se od amorfne mreže jedinica fenil propana povezanih s hemicelulozom esterskim vezama. Na slici 4 prikazana je kompleksna struktura lignina. Osim kompleksne strukture, razlog zbog koje lignin nije u upotrebi je njegova slaba topivost. Iza celuloze, lignin je drugi najzastupljeniji materijal na zemlji. Godišnja proizvodnja lignina iznosi oko 100 milijuna tona (Bajwa i sur., 2019). Od toga se većina dobivenog lignina spaljuje direktno u postrojenjima za dobivanje celuloze s ciljem obnavljanja utrošene energije. U obradi lignina obećavajuću ulogu imaju bazidiomicete zahvaljujući njihovoj sposobnosti da modificiraju i/ili mineraliziraju strukturu ovog polifenola.



Slika 4. Struktura lignina (Glazer i Nikaido, 1995)

Gljive kao heterotrofni organizmi mogu razgraditi biljnu lignoceluloznu biomasu i pretvoriti šećere u molekule bogate energijom. Korištenje koktela filamentoznih gljiva može se primjeniti za povećanje postotka iskorištenja drveta u biorafinerijama s ciljem dobivanja biogoriva i kemikalija druge generacije. Trenutno se za tu svrhu kao supstrat ponajviše koristi slama. Rijetki su primjeri biorafinerija kao što je Borregaard koja koristi drvenu sirovinu s ciljem dobivanja bioetanola (Ragauskas i sur., 2014). Jedan od razloga je to što je teža razgradivost drvo zbog većeg sadržaja lignina. Integracijom gljiva u postojeće biotehnološke procese u tvornicama drvne celuloze i papira koji provode separaciju drveta temeljenu na kemijskim postupcima kao što je sulfatni Kraft postupak imala bi značajnije tehnološke i ekonomske prednosti (Heteraki, 2014). Biorafinerije bazirane na takvom procesu već postoje najviše na području Skandinavije i istočne Europe. Unatoč tome, većina njih još uvijek je daleko od toga da postanu tvornice sa širokim rasponom proizvoda. U optimalnom slučaju takve biorafinerije imaju za cilj integrirati procese i opremu potrebne za pretvorbu biomase. Integracijom se omogućava proizvodnja bioenergije i niza proizvoda koji uključuju drvenu celulozu, kemikalije za hranu i farmaceutsku primjenu, biogorivo, struju i toplinu.

Filamentozne gljive pokazuju potencijal, ali još uvijek nisu istraženi konkretni procesi i proizvodi koji bi se pokazali najefikasnijim i najodrživijim za uspostavu biorafinerija drvnih sirovina sa smanjenim ugljičnim otiskom i emisijom štetnih plinova. Stoga je prvenstveno važno istražiti i pronaći rješenje za nepoznanice i poteškoće koje se javljaju pri korištenju te tehnologije. Jedan od problema je nedostatak istraživanja i literature koja se bave razgradnjom drvne biomase, u odnosu na količinu istraživanja lakoragradive biomase kao što su poljoprivredni ostaci i slama. Nadalje, potrebno je uzeti u obzir prednosti korištenja recikliranih sirovina poput drvnih proizvoda, ostataka drvne industrije, otpadnih nusprodukata proizvodnje drvne celuloze. Utjecaj klimatskih promjena očituje se i u promjeni populacije drveta, pa se može očekivati da će drveće poput bukve ili hrasta zamijeniti vrste koje su osjetljivije na suše i patogene kao što je primjerice smreka. Promjena okolišnih uvjeta odrazit će se i na izmjene u sastavu drveća što će posljedično utjecati i na gljive kao razgrađivače. Primjena metoda usmjerenog inženjerstva omogućit će optimizaciju organizma i koktela enzima gljiva kako bi se premostile nastale razlike i osigurala efikasnost iskorištenja drvne sirovine.

2.2.4. Smanjenje plastičnog zagađenja

Plastika se koristi diljem svijeta zbog niske cijene, fleksibilnosti primjene, izdržljivosti i male

težine. Visoka stabilnost i niska stopa recikliranja plastike rezultira time da se milijuni tona plastike godišnje akumuliraju u okolišu. Time predstavljanju ekološku prijetnju za prirodu i ljudsko zdravlje. Procjenjuje se da se godišnje proizvodi barem 350-400 milijuna tona plastike, te da se proizvodnja godišnje povećava za 7 % (Danso i sur., 2019). Glavne vrste plastike su polietilen, polipropilen, polivinil klorid i polistiren. Učinkovito recikliranje i spaljivanje plastike provodi se samo u nekoliko zemalja, dok većina zemalja koristi odlagališta otpada za pohranu plastike. Plastika koja se pohranjuje na odlagalištima podložna je fotooksidaciji, degradaciji i mehaničkom raspadanju, te dolazi do stvaranja malih fragmenata, tj. takozvane mikroplastike. Mikroplastika, plastifikatori, plastični aditivi, dodani monomeri i oligomeri mogu se pronaći u površinskim ili podzemnim vodama i u okoliš mogu ispuštati toksične tvari. Godišnje procjene su da između 5 i 13 milijuna tona plastičnog otpada dospije u oceane (Jambeck i sur., 2015). Jedan od načina kako plastika dopijeva u hranidbeni lanac je i da ju konzumiraju morske životinje. Najzastupljeniji tip mikroplastike u vodenom okolišu su vlakna koja potječu od pranja sintetičkih tekstila. Zamjenom sintetičkih tekstila s tekstilima na bazi micelija izravno bi se spriječilo ispuštanje mikroplastike u okoliš što bi imalo veliki utjecaj na smanjenje plastične polucije.

Plastifikatori se koriste u cementnoj industriji kako bi se povećala funkcionalnost cementa. Oni omogućavaju korištenje manje količine vode, a da pritom nema gubitka viskoznosti cementa. Dobiva se materijal visoke tvrdoće i čvrstoće kao finalni proizvod. Plastifikatori najčešće nisu kovalentno povezani s polimerima, što je jedan od razloga njihovog ispuštanja u okoliš. Trenutne plastifikatore cementa potencijalno bi mogli zamijeniti ligninom kojem je topivost povećana upotrebom fungálnih ili bakterijskih lakaza ili drugih oksidativnih enzima. Lignin ima izrazito hidrofobni karakter u vodi i alkoholu, ali je topiv u lužnatim otopinama. Nedostatak korištenja lakaza iz askomiceta ili bazidiomiceta gljiva za promjenu hidrofobnosti lignina je to što imaju najveću aktivnosti pri pH vrijednosti 3-5,5 (Novoa i sur., 2019). Stoga je potrebno koristiti lakaze koje imaju pomaknutu optimalnu pH vrijednost prema lužnatom pH ili genetski modificirati postojeće lakaze. Jedan od uspješnih primjera genetske modifikacije lakaze je enzim izoliran iz askomiceta *Melanocarpus albomyces*. Primjenom metoda usmjerene evolucije uspješno je povećana aktivnost izolirane lakaze organizma za tri puta pri pH vrijednosti 9,8 (Novoa i sur., 2019). No unatoč tome, izravna komercijalna upotreba modificiranih enzima filamentoznih gljiva još uvijek izostaje radi lake dostupnosti i niske cijene plastifikatora na osnovi fosila.

U literaturi danas ne postoji puno informacija o razgradivosti polimera naftnih derivata i

plastike pomoću gljiva. Bazidiomiceti su općenito poznati po svojoj sposobnosti razgradnje policikličnih aromatskih ugljikovodika, te se koriste u procesima bioremedijacije kontaminiranih tla i tekućina. Gljive koje razgrađuju plastiku su za sada uspješno izolirane iz plastičnog otpada morskih staništa i ustanova za zbrinjavanje otpada. Glavni predstavnici rodova gljiva do sada izoliranih i korištenih u laboratorijima za razgradnju plastike, ponajviše PET i poliuretana su: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Debaryomyces*, *Emericella*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Mucor*, *Nectria*, *Neonectria*, *Penicillium*, *Phoma*, *Plectosphaerella*, *Rhizopus*, *Thrichoderma* (Pathak, 2017). Također, osim navedenih organizama, koriste se i enzimi izolirani iz sljedećih bazidiomiceta: *Agrocybe aegerita*, *Auricularia auricular-judae*, *Bjerkandera adusta*, *Nematoloma frowardii*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Stropharia rugosoannulata*. Među konkretnim enzimima koji pokazuju najveći potencijal za razgradnju PET i poliuretana su esteraze, kutinaze, lipaze, različitih depolimerizacijski i hidrolitički enzimi koji uključuju peroksidaze, lakaze, glukoza oksidaze i citokrome P450 (Danso i sur., 2019). Istraživanja su fokusirana na razgradnju plastike uz primjenu čistih ili miješanih kultura organizama u kombinaciji s pročišćenim enzimima.

2.3. Istraživani mikroorganizmi

2.3.1. *A. niger*

A. niger poznat je kao organizam za proizvodnju limunske kiseline. Trenutno se istražuje kao potencijalni proizvođač drugih organskih kiselina kao što su itakonska i galakturonska. Itakonska kiselina može zamijeniti poliakrilnu kiselinu dobivenu na bazi nafte koja se koristi kao molekula prekursor za dobivanje polimera. Također se može koristiti za dobivanje apsorbirajućih polimera, poliesterske smole i sintetskog lateksa. Galakturonska kiselina je namijenjena kao alternativno rješenje za trenutno korišteni polietilen tereftalan (PET) koji je isto na bazi nafte, a koristi se u proizvodnji plastike (Karaffa i Kubicek, 2019).

2.3.2. *A. oryzae*

A. oryzae se već preko tisuću godina koristi u proizvodnji azijske hrane i pića. Nedavno je postala zanimljiva zbog mogućnosti proizvodnje malata, koji je široko primjenjiv u prehrambenoj, kemijskoj i farmaceutskoj industriji. U prehrambenoj industriji može se koristiti kao sredstvo za zakiseljavanje ili kao pojačivač okusa. U kemijskoj industriji malat se koristi

za proizvodnju poliesterske smole, dok se u farmaceutskoj industriji najčešće koristi kao sredstvo za zakiseljavanje. *A. oryzae* je još uvijek među sojevima s najvišim prinosom malata unatoč pokušajima primjene genetičkog inženjerstva na bakterije, kvasce i druge filamentozne gljive s ciljem poboljšanja prinosa malata.

2.3.3. *A. terreus*

A. terreus se koristi za proizvodnju itakonske kiseline, primjenjive u industriji polimera. Koristi se i za proizvodnju lijeka lovastatina namijenjenog za snižavanje razine kolesterola. Lovastatin se koristi i kao početna molekula u proizvodnji polusintetskih statina, kao što je primjerice simvastatin. Simvastatin je ujedno i drugi nazastupljeniji statin na tržištu. Trenutna istraživanja su fokusirana na preusmjeravanje procesa biosinteze lovastatina na proizvodnju jednog od biosintetskih intermedijera, molekulu monakolina J koja je pogodnija molekula prekursor za dobivanje simvastatina (Liang i sur., 2018). Proizvodnju molekule monakolin J moguće je postići genetskom modifikacijom *A. oryzae*, pomoću koje se dobiva prinos od 5,5 g/L. Dobivena koncentracija je značajno viša nego kod proizvodnje uz pomoć heterolognih domaćina kao što je *Saccharomyces cerevisiae*, gdje prinos iznosi svega 75 mg/L ili *Pichia pastoris*, gdje prinos iznosi 600 mg/L (Huang i sur., 2019).

2.3.4. *P. chrysogenum*

P. chrysogenum se koristi za proizvodnju antibiotika penicilina i polusintetskih derivata. Koncentracija dobivenog antibiotika pomoću ovog organizma može iznositi visokih 55 g/L (van den Berg, 2011). Kao što je to bio slučaj s biosintetskim putem lovastatina, genetički se izmjenjuje i biosintetski put dobivanja penicilina s ciljem dobivanja farmaceutski zanimljive molekule pravastatina.

2.3.5. *T. reesei* i *T. thermophilus*

T. reesei i *T. thermophilus* imaju sposobnost sekrecije celulaza i hemicelulaza. Radi se od dva ključna enzima za pretvorbu lignocelulozne biomase u biogorivo. Sastavne molekule lignoceluloze su celuloza, hemiceluloza i lignin. Lignocelulozna biomasa nastaje kao nusproizvod u poljoprivredi i šumarstvu. U poljoprivredi se izdvaja u obliku slame, ostataka proizvodnje šećerne trske ili kukuruzovine, a u šumarstvu u obliku ostataka piljevine. U procesu razgradnje lignoceluloze praktičnu primjenu imaju termostabilne hemicelulaze i

celulaze izolirane iz *T. thermophilus*. Termostabilnost enzima omogućava neometano provođenje procesa u biorafinerijama gdje se koriste visoke temperature da bi se smanjila viskoznost i povećala topljivost lignocelulozne biomase. U posljednjih dvadesetak godina uspostavljena je proizvodnja celulaze pomoću genetske modifikacije organizama, te se trenutno dobiva iznimno visoka koncentracija celulaze od 100 g/L. To je ujedno i najveća koncentracija dobivena za sekreciju proteina, te se radi o koncentraciji proteina koja je 10 do 1000 puta veća od vrijednosti koje se mogu postići sa stanicama bakterija, kvasaca ili sisavaca (Burdette i sur., 2018). *T. thermophilus* je genetički izmijenjena i s ciljem dobivanja kemikalija kao što je primjerice fumarat. Zahvaljujući tome, moguće je dobiti fumarat direktno iz obnovljivih sirovina i tako zamijeniti kemikalije koje se dobivaju procesima na bazi nafte. Fumarat se koristi u proizvodnji sintetskih smola, biorazgradivih polimera i malata. Ovaj organizam dodatno je modificiran s ciljem korištenja u proizvodnji cjepiva, terapijskih enzima, proteina i biosličnih lijekova.

2.4. Negativne strane uzgoja filamentoznih gljiva

Procjenjuje se da carstvo Fungi čini oko 6 milijuna vrsta, od kojih je samo mali postotak poznat. Od toga se svega nekoliko desetaka vrsti koristi u biotehnologiji (Taylor i sur., 2014). Iskorištavanje metaboličkih kapaciteta gljiva ključno je za uspješno ostvarivanje ciljeva cirkularne ekonomije i poboljšanja kvalitete života. Unatoč tome što filamentozne gljive pokazuju veliki potencijal za unaprjeđenje kvalitete života čovjeka, istovremeno predstavljaju i veliku prijetnju. To je bilo detaljno prikazano u izvještaju prvog EUROFUNG-a 2016. godine, gdje je navedeno kako godišnje velik broj gljiva koje su uzročnik bolesti kod biljaka uništavaju usjeve dostatne za nahraniti oko 600 milijuna ljudi. Neupitno je da će i trenutne klimatske promjene samo otežati rješavanje rastućeg problema zadovoljavanja svjetskih potreba za hranom. Nadalje, gljive koje su uzročnici bolesti kod čovjeka godišnje ugrožavaju živote oko 1,2 milijarda ljudi od koji oko 1,5 do 2 milijuna slučajeva završava smrtno. Usporedbe radi, navedene brojke ugroženih premašuju brojke zaraženih malarijom ili tuberkulozom (Denning i Bromley, 2015).

2.4.1. Patogeni iz gljiva

Problem gladi dodatno je potenciran širokim spektrom bolesti biljaka uzrokovanih različitim skupinama postojećih i novonastalih fungalnih patogena. Jedan od izazova je i brzina kojom

velik broj vrsta gljivičnih patogena evoluirao i postaje otporan na postojeće metode kontrole sigurnosti. Stoga postoji konstantna potreba za pronalaskom novih fungicida i inovativnih pristupa da bi se smanjili gubici u proizvodnji. Međutim, za razvoj novih molekula za borbu protiv patogena potrebne su velike novčane investicije, te više od 10 godina da bi neka molekula prošla proces identifikacije i naposljetku postala dostupna na tržištu (Nishimoto, 2019).

Prije su se istraživanja novih molekula za borbu protiv patogena provodila nasumičnim odabirom stotina tisuća kemijskih tvari. Zbog veoma niske učinkovitosti ovog pristupa, danas metoda selekcije tvari nije nasumična nego se zasniva na određenim hipotezama. Međutim procjena i odabir prioriteta se u velikoj mjeri radi na temelju informacija modelnih fungalnih organizama kao što su primjerice *S. cerevisiae* i *Neurospora crassa* koji nisu uzročnici bolesti biljaka (Rodriguez-Moreno i sur., 2018). Nedostatak ovakvog pristupa je što se ne uzimaju u obzir podaci iz fungalnih patogena koji su uzročnici velikih gubitaka prinosa usjeva. Posljedično tome, oslanjanje na klasične modele fungalnih organizama ne dovodi do zadovoljavajućih rezultata u pronalasku novih pristupa za kontrolu gljivičnih bolesti. Razlog neuspjeha ove metode je činjenica da su modelni organizmi od stvarnih gljivičnih biljnih patogena filogenetski udaljeni milijunima godina, te imaju razvijene različite vrste patogenosti (Ohm i sur., 2012). Za učinkovitije strategije kontrole gljivičnih patogena potrebno je bolje razumijevanje genetike i metabolizma organizma koji uzrokuje određenu bolest biljke.

2.4.2. Mikotoksini

Problem koji se javlja kod iskorištavanja filamentoznih gljiva jest prisutnost mikotoksina. Određene sveprisutne filamentozne gljive koje nisu same po sebi patogene i koje rastu na biljnom materijalu mogu predstavljati prijetnju za ljudsko zdravlje u slučaju konzumacije proizvoda koji potječu iz zagađenih usjeva. Filamentozne gljive su odgovorne za sintezu raznovrsnih sekundarnih metabolita od kojih se mikotoksini klasificiraju kao štetna skupina. Oni su toksični, kancerogeni i/ili mutageni metaboliti koji mogu biti prisutni u visokim koncentracijama u ljudskoj hrani i hrani za životinje. Sekundarne metabolite mogu proizvoditi gljive koje rastu izravno na uzgajanoj biljci, a da pri tome ne ometaju rast biljke ili tek nakon žetve. Proizvode se putem sporednih biosintetskih puteva važnih za niz procesa koji omogućavaju razvoj i preživljavanje spora, te komunikaciju među gljivama.

Mikotoksini imaju značajan ekonomski utjecaj na različite vrste usjeva. Najčešće su, ali ne

izričito, kontaminirani usjevi žitarica (kukuruz, pšenica, ječam), kikirikija, orašastih plodova, repe, grožđa i kave. Organizacija za hranu i poljoprivredu (eng. *Food and Agriculture Organization*; FAO) procijenila je da je kojima je 25% svjetskih usjeva kontaminirano neprihvatljivom razinom mikotoksina. Ekonomske gubitke su nije lako kvantificirati, ali na temelju izvješća koja postoje, gubici su nevjerovatni (Mitchell i sur., 2016).

Većina uobičajenih mikotoksina nastaje kao produkt malog broja vrsta iz rodova askomiceta poput *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* i *Alternaria*. Glavni mikotoksini su aflatoksin, citrinin, ciklopiazonska kiselina, ergot alkaloidi, fumonizini, okratoksin, patulin, trihotecen i zearalenon (Tannous i sur., 2019). Svi navedeni spojevi ovisno o konzumiranoj količini, dobi i spolu imaju štetan utjecaj na kralježnjake. Osim navedenog, ovi sekundarni metaboliti mogu biti toksični i pri inhalaciji, primjerice ako postoji plijesan na zidovima. Aflatoksin B₁ je najistraživaniji mikotoksin čiji je mehanizam djelovanja dobro poznat, a njegova konzumacija uzrokuje rak jetre (Moudgil i sur., 2013). Trihotecen često uzrokuje probleme u područjima gdje se proizvodi pšenica, a djeluje tako da ometa sintezu proteina kod čovjeka i životinja. Patulin je problematičan jer se može pronaći u jabukama i proizvodima iz jabuka kao što su dječja hrana ili sok od jabuke (Tannous i sur., 2019).

Problematika sprječavanja kontaminacije hrane i hranjiva životinja mikotoksinima još uvijek je prisutna unatoč tome što je molekularna genetika mnogih mikotoksina poznata. Trenutni tradicionalni pristup kao što su oplemenjivanje biljaka s ciljem postizanja rezistencije i/ili detoksifikacija kontaminiranih proizvoda nisu dovoljno učinkoviti. Četiri su glavne prepreke u rješavanju problema zagađenosti mikotoksinima. Njih čine: maskirani mikotoksini, klimatske promjene, novi mikotoksini i simultano pojavljivanje više vrsta mikotoksina. Maskirani toksini su biljni derivati nastali iz fungalnih mikotoksina. Trenutna istraživanja posvećena su proučavanju učinka klimatskih promjena na sintezu mikotoksina različitih gljiva. Novi mikotoksini su toksične molekule koje se često pojavljuju u proizvodima, ali se rijetko kontrolira njihova prisutnost. Radi se o, primjerice, eniatinima, alternariolu, emodinu i sterigmatocistinu (Guber Dorninger i sur., 2017). Iako se radi o skupini rjeđe prisutnih mikotoksina, treba postojati određena kontrola i nadzor prisutnosti tih molekula. Pojava više toksina u jednom usjevu je česta, ali se pri kontroli usjeva diljem svijeta promatra toksičnost samo jednog od prisutnih mikotoksina. Malo je podataka o samom načinu djelovanja i učinku kombinacija mikotoksina. Potrebna su daljnja istraživanja koja će odrediti kako djeluju i da li djeluju antagonistički, sinergistički ili aditivno (Smith i sur., 2016).

2.5. Mjere za napredak biotehnologije filamentoznih gljiva

Korištenje filamentoznih gljiva u svrhu uspostavljanja učinkovite i održive cirkularne bioekonomije zahtijeva znatna poboljšanja u istraživanju i razvoju na znanstvenoj i društvenoj razini. Na području znanosti potrebno je poboljšati razumijevanje fungalne biologije različitih vrsta i sojeva što uključuje vrste istraživane u laboratoriju (referentne) i industriji, te ekološki značajne vrste. Znanstvena zajednica treba težiti sintezi znanja stečenih istraživanjem filamentoznih gljiva, poboljšanjem međusektorskog i interdisciplinarnog obrazovanja i obuke za vrijeme preddiplomskog i diplomskog studija, te većim angažmanom znanstvenika i edukatora na području upoznavanja društva s potencijalom filamentoznih gljiva. Znanost o filamentoznim gljivama uvijek je zaostajala za drugim organizmima, kao što su primjerice kvasci i bakterije. Genetska transformacija gljiva manje je učinkovita i traje duže nego što je to kod jednostaničnih bakterija i kvasaca. Nadalje, na sporiji razvoj znanosti filamentoznih gljiva utjecala je i činjenica da su sekvence genoma filamentoznih gljiva postale dostupne javnosti desetljeće nakon otkrivanja genoma modelnog organizma kvasca *S. cerevisiae* te modelnog organizma bakterije *E. coli*. Također je utjecala i činjenica da filamentozne gljive sadrže veći broj gena, između 9000 i 14000 u odnosu na *E. coli* koja sadrži oko 4000 gena i *S. cerevisiae* koji sadrži oko 6000 gena. Jedna od najproučavanijih vrsta filamentoznih gljiva je *A. niger* koji se diljem svijeta istražuje u svega tridesetak istraživačkih laboratorija (Cains i sur., 2018). Radi se o jako malom broju laboratorija, u usporedbi sa *S. cerevisiae* koji je proučavan u više od 1800 istraživačkih laboratorija registriranih u bazi podataka *Saccharomyces* Genome Database.

2.5.1. Informatizacija i pristup podacima

Razvoj tehnologije ima utjecaj na sva područja znanosti, pa tako i na biologiju. To se očituje u rapidnom rastu velikih skupova podataka koji uključuju genome, transkriptome, proteome, fenome i metabolome. Budućnost biologije temelji se na razumijevanju i korištenju tih podataka, ali to istovremeno zahtijeva visoko učinkovitu infrastrukturu koja omogućava jednostavan pristup online tehnologijama i provođenje sveobuhvatnih analiza. Ovakva revolucija u znanosti predstavlja veliki tehnološki izazov i izazov za istraživačku zajednicu. Problematika s jedne strane leži u velikoj raznolikosti proučavanih organizama, a s druge strane postoji problem dostupnosti postojećih podataka.

Prikupljanje podataka s područja različitih –omika je vrlo važno, ali baratanje njima uvelike ovisi o dostupnosti i mogućnosti korištenja podataka za širu istraživačku zajednicu. Stoga su potrebna ulaganja da bi puni pristup pouzdanim genomskim informacijama bio dostupan svima. Dakako pristup različitim podacima iz biologije, koji uključuju primjerice informacije o fenotipu, unutarstaničnoj lokalizaciji, interakcijama proteina, geografskim lokacijama izolata nije jednostavno automatizirati niti pretvoriti u format koji bi omogućio jednostavno pretraživanje. Radi se ne samo o vremenski iscrpnom procesu, nego i o procesu koji zahtijeva visokoobrazovano osoblje sa znanjem biologije i informatike. Za usklađivanje baza podataka i osiguravanje da su informacije organizirane na logičan način, neophodna je suradnja istraživača i izdavača. Trenutno je dio podataka o genomskim sekvencama gljiva pohranjen u nekoliko baza podataka kao što su FungiDB, JGI MycoCosm i Ensembl Fungi, dok je velik dio pohranjen u privatnim bazama podataka poput NCBI, ENA i DDB. Glavni prioritet je osigurati slobodan pristup podacima, a to ujedno uključuje održavanje i kontinuiranu nadogradnju baza podataka za što je potrebno dugoročno financiranje. Kao najveći problem financiranja informatizacije podataka javlja se problem zadržavanja slobodnog pristupa podacima. Postojeće investicije još nisu dovoljne za osiguranje izvora dugoročnog investiranja, pa pokušaji informatizacije na ovom području često završavaju zatvaranjem ili zamrzavanjem projekta. Radi se o globalnom problemu čije rješenje nije jednostavno, a uključuje potporu i angažman agencija za financiranje i/ili vlade koji bi u suradnji s istraživačkom zajednicom pronašli odgovarajuće rješenje (Basenko i sur., 2018).

2.5.2. Alati i tehnologije za proučavanje biologije gljiva

Unazad nekoliko godina, molekularni i analitički alati za proučavanje filamentoznih gljiva su se značajno poboljšali, što ukazuje na visoki inovacijski potencijal unutar istraživačke zajednice koja se bavi ovim organizmima. Izmjene genoma pomoću CRISPR metode danas su postale rutina. Infracrvena spektroskopija s Fourierova transformacija postale su tehnologije za određivanje fenotipa s ciljem identifikacije sojeva gljiva i njihovih metabolički produkata (Shapaval i sur., 2019). Tehnologija dijagnostike bazirana na masenoj spektrometriji danas se koristi za prepoznavanje promjena koje nastaju kada filamentozne gljive i njihovi enzimi modificiraju netopljive lignocelulozne materijale (Tolbert i Ragauskas, 2017). Tehnologija mikrofluidike koristi se za proučavanje dinamike rasta gljiva i interakcije gljiva s bakterijama tla (Millet i sur., 2019), tehnologija rendgenskih zraka primjenjuje se za istraživanja prostornog

rasporeda hifa unutar micelija i difuzni transport mase (Schmideder i sur., 2019). Razvijene su genske i proteinske mreže kao pomoć za razumijevanje filamentoznih gljiva holistički (Schäpe i sur., 2019). Na temelju danih primjera tehnologija koje se koriste prikazano je kako tehnologija ne predstavlja kritičnu prepreku u istraživanju fungalne biologije. Područja u kojem tehnološki napredak i metode zaostaju su automatizirano kloniranje, kultivacija, te vizualizacija i dobivanje podataka iz sojeva gljiva.

2.5.3. Standardizacija procesa

Standardizacija je ključ uspjeha. Standardizirane norme prema kojim se izvode tehnike, mjere, koriste supstrati i materijali jamči pouzdanost i mogućnost opetovane proizvodnje karakteristične za napredne globalne industrije. Nadalje, standardizacija doprinosi implementaciji inženjerstva u biologiju pa time dovodi do napretka sintetske biologije. Također, primjena inženjerskih metoda u bioprocima s filamentoznim gljivama omogućava napredak analogan napredcima koji se događaju na području ostalih tehnologija. Istraživačka zajednica i industrija koja se bavi micelijskim materijalima unaprijeđena je ASTM i ISO standardima koji su primjenjivi u proizvodnji i razvoju proizvoda šumarske, tekstilne i industrije za zvučnu izolaciju. Ubrzani razvoj i usvajanje standardiziranih materijala, mjera i metoda na području tehnologije gljiva značajno doprinosi nadogradnji osnovnih saznanja o filamentoznim gljivama. Nove mogućnosti transporta micelijskih materijala koje smanjuju troškove transakcije, omogućuju redistribuciju materijala i komercijalnu proizvodnju mogle bi osigurati poticaj za široko usvajanje standardnih referenci, mjere i metode koje podržavaju pouzdanu izradu i reproducibilnost znanosti (Kahl i sur., 2018).

Pouzdanost i standardizacija omogućuju postizanje reproducibilnih znanstvenih rezultata. Znanost o mjerenju i mjernim sustavima formalizira kvalitetna mjerenja, te se napredak na ovom području znanosti odražava pozitivno na napredak na području biologije. Karakterizacija organizama, supstrata i okolišnih uvjeta proizvodnje u stvarnom vremenu mogla bi ubrzati razvoj naprednih proizvoda iz gljiva, dok bi istovremeno doprinosila osnovnoj znanosti i inženjerstvu bioloških sustava. Tako, primjerice, standardni mjerni materijal, kao što je dobro okarakterizirana jedinica 1 cm³ micelijskog materijala i korištenje mjernih metoda olakšavaju koordinaciju rada stručnjaka na različitim lokacijama. Rezultat ovakvog pristupa su smanjeni troškovi proizvodnje, smanjeno vrijeme potrebno da proizvod stigne na tržište, te širenje optimalne prakse. Nova inicijativa su virtualni laboratoriji koji omogućuju istraživačima

pristup automatiziranim laboratorijima bez ulaganja velikog kapitala (Perez i sur., 2019). Zahvaljujući napretku i standardizaciji na području automatiziranog konstruiranja sintetskih organizama, biotvornice su postale održivije i prepoznatljive unutar istraživačke zajednice prirodnih znanosti kao esencijalna infrastruktura za provođenje istraživanja. Tvrtke poput Gingko Bioworks i Ecovative Design su uložile značajan kapital u biotvornice za konstruiranje organizama. Za realizaciju biotvornica za konstruiranje organizama filamentoznih gljiva mogu se iskoristiti postojeća saznanja sinteze genoma bakterija *E. coli*, *C. crescentus* i kvasca *S. cerevisiae*. Izolacija bioloških sustava od evolucijskog pomaka može omogućiti primjenu inženjstva u biologiji izvan istraživačkog laboratorija ili komercijalnih bioreaktora, istovremeno smanjujući rizike biološke sigurnost (Calles u sur., 2019). Osnivanje biotvornica temeljenih na proizvodnji proizvoda gljiva obećavajuće su za primjerice distribuciju micelijskih materijala diljem svijeta koji svoju primjenu imaju u unaprjeđenju i potpori znanosti, inženjstva i proizvodnje.

3. ZAKLJUČCI

Na temelju ovog rada može se zaključiti sljedeće:

1. Implementacija cirkularne bioekonomije bazirane na filamentoznim gljivama ima potencijal za rješavanje globalnih problema, te može zamijeniti važeću ekonomiju koja se temelji na fosilnim gorivima.
2. Područja u kojima se istražuje i razvija upotreba filamentoznih gljiva uključuju prehrambenu industriju, proizvodnju biomaterijala, smanjenje plastičnog onečišćenja, te stvaranje ekološki neutralne drvne industrije.
3. Trenutno veliki potencijal pokazuju sljedeće vrste filamentoznih gljiva: *A. niger*, *A. oryzae*, *A. terreus*, *P. chrysogenum*, *T. reesei* i *T. thermophilus*.
4. Poznavanje načina djelovanja gljivičnih patogena koji napadaju biljke i mikotoksina, te njihova kontrola, ključni su parametri za smanjenje ekonomskih gubitaka i rješavanje problema nedostatka hrane.
5. Za ostvarivanje cirkularne ekonomije temeljene na filamentoznim gljivama, potrebni su značajni napredci na području znanosti i istraživačke zajednice. Nužna je informatizacija podataka, primjena suvremenih tehnologija, standardizacija procesa, te suradnja stručnjaka na ovom području.

4. POPIS LITERATURE

Appels FVW, Camere S, Montalti M, Karana E, Jansen KMB, Dijksterhuis J, i sur. (2019) Fabrication factors influencing mechanical, moisture and water-related properties of mycelium-based composites. *Mater Design* **161**, 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2018.11.027>

Appels FVW, Dijksterhuis J, Lukasiewicz CE, Jansen KMB, Wösten HAB, Krijgsheld P (2018) Hydrophobin gene deletion and environmental growth conditions impact mechanical properties of mycelium by affecting the density of the material. *Sci Rep* **8**, 4703. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23171-2>

Bajwa DS, Pourhashem G, Ullah AH, Bajwa SG (2019) A concise review of current lignin production, applications, products and their environmental impact. *Ind Crops Prod* **139**, 111526. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111526>

Bar-On YM, Phillips R, Milo R (2018) The biomass distribution on Earth. *Proc Natl Acad Sci USA* **115**, 6506–6511. <https://doi.org/10.1073/pnas.1711842115>

Basenko EY, Pulman JA, Shanmugasundram A, Harb OS, Crouch K, Starns D, i sur. (2018) FungiDB: an integrated bioinformatic resource for fungi and oomycetes. *J Fungi (Basel)* **4**, 39. <https://doi.org/10.3390/jof4010039>

Burdette LA, Leach SA, Wong HT, Tullman-Ercek D (2018) Developing Gramnegative bacteria for the secretion of heterologous proteins. *Microb Cell Fact* **17**, 196. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-1041-5>

Cairns TC, Nai C, Meyer V (2018) How a fungus shapes biotechnology: 100 years of *Aspergillus niger* research. *Fungal Biol Biotechnol* **5**, 13. <https://doi.org/10.1186/s40694-018-0054-5>

Calles J, Justice I, Brinkley D, Garcia A, Endy D (2019) Fail-safe genetic codes designed to intrinsically contain engineered organisms. *Nucleic Acids Res* **47**(19), 10439–10451. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz745>

Cheung P (2010) The nutritional and health benefits of mushrooms. *Nutr Bull* **35**, 292–299. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2010.01859.x>

Danso D, Chow J, Streit WR (2019) Plastics: environmental and biotechnological perspectives on microbial degradation. *Appl Environ Microbiol* **85**(19). <https://doi.org/10.1128/AEM.01095-19>

Denning DW, Bromley MJ (2015) Infectious disease. How to bolster the antifungal pipeline. *Science* **347**, 1414–1416. <https://doi.org/10.1126/science.aaa6097>

Derbyshire DE (2021) Fungal protein—What is it and what is the health evidence? A systematic review focusing on mycoprotein. *Front. Sust. Food Syst* **5**, 18. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.581682>

Deshmukh, R, Khardenavis, AA, Purohit, HJ (2016) Diverse metabolic capacities of Fungi for bioremediation, *Indian J Microbiol* **56**, 247-264. <https://doi.org/10.1007/s12088-016-0584-6>

Davis S., Meyer C. (2000) What will replace the Tech Economy? *Time* **155**, 76–77.

Franklin-Johnson E, Figge F, Canning L (2016) Resource duration as a managerial indicator for Circular Economy performance. *J Clean Prod* **133**, 589-598. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.05.023>

Glazer AW i Nikaido H (2007) *Microbial Biotechnology: fundamentals of applied microbiology*, 2. izd., Cambridge University Press, Cambridge str. 340.

Grimm D, Wösten HAB (2018) Mushroom cultivation in the circular economy. *Appl Microbiol Biotechnol* **102**, 7795–7803. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9226-8>

Gruber-Dorninger C, Novak B, Nagl V, Berthiller F (2017) Emerging mycotoxins: beyond traditionally determined food contaminants. *J Agric Food Chem* **65**, 7052–7070. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03413>.

Hashempour-Baltork F, Khosravi-Darani K, Hosseini, H, Farshi P, Reihani SFS (2020) Mycoproteins as safe meat substitutes. *J Clean Prod* **253**, 119958. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.119958>

Huang X, Tang S, Zheng L, Teng Y, Yang Y, Zhu J, i sur. (2019) Construction of an efficient and robust *Aspergillus terreus* cell factory for monacolin J production. *ACS Synth Biol* **8**(4), 818–825. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.8b00489>

Jambeck JR, Geyer R, Wilcox C, Siegler TR, Perryman M, Andrady A, i sur. (2015) Marine pollution. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* **347**, 768–771. <https://doi.org/10.1126/science.126035>

Jones M, Bhat T, Kandare E, Thomas A, Joseph P, Dekiwadia C, i sur. (2018) Thermal degradation and fire properties of fungal mycelium and mycelium—biomass composite materials. *Sci Rep* **8**,17583. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36032-9>

Kahl L, Molloy J, Patron N, Matthewman C, Haseloff J, Grewal D, i sur. (2018) Opening options for material transfer. *Nat Biotechnol* **36**, 923–927. <https://doi.org/10.1038/nbt.4263>

Karaffa L i Kubicek CP (2019) Citric acid and itaconic acid accumulation: variations of the same story? *Appl Microbiol Biotechnol* **103**(7), 2889-2902. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-09607-9>

Lauri Hetemäki (ed) (2014) Future of the European forest-based sector: Structural changes towards bioeconomy. What Science Can Tell Us 6. European Forest Institute.

Liang B, Huang X, Teng Y, Liang Y, Yang Y, Zheng L, i sur. (2018) Enhanced Single-Step Bioproduction of the Simvastatin Precursor Monacolin J in an Industrial Strain of *Aspergillus terreus* by Employing the Evolved Lovastatin Hydrolase. *Biotechnol J* **13**(6), 1800094. <https://doi.org/10.1002/biot.201800094>

Marsh, P. The New Industrial Revolution: Consumers, Globalization and the End of Mass Production; Yale University Press: New Haven, CT, USA, 2012.

Meyer V, Andersen MR, Brakhage AA, Braus GH, Caddick MX, Cairns TC, i sur. (2016) Current challenges of research on filamentous fungi in relation to human welfare and a sustainable bio-economy: a white paper. *Fungal Biol Biotechnol* **3**, 6. <https://doi.org/10.1186/s40694-016-0024-8>

Meyer V (2020) Metabolic engineering of filamentous fungi. U: Lee, Nilesen, Stephanopoulos, (ured.) Metabolic engineering. Concepts and applications. Wiley, str. 765-801.

Meyer V, Basenko EY, Benz, J, Braus GH, Caddick MX, Csukai M, i sur. (2020) Growing a circular economy with fungal biotechnology: a white paper. *Fungal Biol Biotechnol* **7**, 5. <https://doi.org/10.1186/s40694-020-00095-z>

Millet LJ, Aufrecht J, Labbé J, Uehling J, Vilgalys R, Estes ML, i sur. (2019) Increasing access to microfluidics for studying fungi and other branched biological structures. *Fungal Biol Biotechnol* **6**(1). <https://doi.org/10.1186/s40694-019-0071-z>

Mitchell NJ, Bowers E, Hurburgh C, Wu F (2016) Potential economic loss to the US corn industry from aflatoxin contamination. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* **33**, 540–550. <https://doi.org/10.1080/19440049.2016.1138545>

Moudgil V, Redhu D, Dhanda S, Singh J (2013) A review of molecular mechanisms in the development of hepatocellular carcinoma by aflatoxin and hepatitis B and C viruses. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* **32**, 165-175.

Novoa C, Dhoke GV, Mate DM, Martinez R, Haarmann T, Screiter M, i sur. (2019) KnowVolution of a fungal lacasse toward alkaline pH. *Chem Biochem* **20**, 1458.-1466. <http://dx.doi.org/10.1002/cbic.201800807>

Ohm RA, Feau N, Henrissat B, Schoch CL, Horwitz BA, Barry KW, i sur. (2012) Diverse lifestyles and strategies of plant pathogenesis encoded in the genomes of eighteen *Dothideomycetes* fungi. *PLoS Pathog* **8**(12). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003037>

Pathak VM (2017) Navneet Review on the current status of polymer degradation: a microbial approach. *Biores Bioproc* **4**, 15. <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0145-9>

Pelletier MG, Holt GA, Wanjura JD, Greetham L, McIntyre G, Bayer E, Kaplan-Bie J (2019) Acoustic evaluation of mycological biopolymer, an all-natural closed cell foam alternative. *Ind Crops Prod* **139**, 111533. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111533>

- Pelletier MG, Holt GA, Wanjura JD, Lara AJ, Tapia-Carillo A, McIntyre G, i sur. (2017) An evaluation study of pressure-compressed acoustic absorbers grown on agricultural by-products. *Ind CropsProd* **95**, 342-347. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.042>
- Perez R, Luccioni M, Gaut N, Stirling F, Kamakaka R, Adamala KP, i sur. (2019) Enabling community-based metrology for wood-degrading fungi. *Fungal Biol Biotechnol* **7**, 2. <https://doi.org/10.1186/s40694-020-00092-2>
- Ragauskas AJ, Beckham GT, Bidy MJ, Chandra R, Chen F, Davis MF, i sur. (2014) Lignin valorization: improving lignin processing in the biorefinery. *Science* **344** (6185). <https://doi.org/10.1126/science.1246843>.
- Ritala A, Häkkinen ST, Toivari M, Wiebe MG (2017) Single cell protein—State-of-the-art, industrial landscape and patents 2001–2016. *Front Microbiol* **13**, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02009>
- Rodriguez-Moreno L, Ebert MK, Bolton MD, Thomma BP (2018) Tools of the crook— infection strategies of fungal plant pathogens. *Plant J* **93**, 664–674. <https://doi.org/10.1111/tpj.13810>
- Schäpe P, Kwon MJ, Baumann B, Gutschmann B, Jung S, Lenz S, i sur. (2019) Updating genome annotation for the microbial cell factory *Aspergillus niger* using gene co-expression networks. *Nucleic Acids Res* **47**, 559–569. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1183>
- Schmideder S, Barthel L, Friedrich T, Thalhammer M, Kovačević T, Niessen L, i sur. (2019) An X-ray microtomography-based method for detailed analysis of the three-dimensional morphology of fungal pellets. *Biotechnol Bioeng* **116**, 1355–1365. <https://doi.org/10.1002/bit.26956>
- Shapaval V, Brandenburg J, Blomqvist J, Tafintseva V, Passoth V, Sandgren M, i sur. (2019) Biochemical profiling, prediction of total lipid content and fatty acid profile in oleaginous yeasts by FTIR spectroscopy. *Biotechnol Biofuels* **12**, 140. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1481-0>

Spatafora JW, Aime MC, Grigoriev IV, Martin F, Stajich JE, Blackwell M (2017) The fungal tree of life: from molecular systematics to genome-scale phylogenies. *Microbiol Spectr* **5**, 5. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0053-2016>

Tannous J, Keller NP (2019) Mycotoxins. U: Carroll KC, Pfaller MA, Landry ML, McAdam AJ, Patel R, Richter SS, i sur. (ured.). *Manual of clinical microbiology*, 12 izd., ASM Press, poglavlje 129.

Taylor DL, Hollingsworth TN, McFarland JW, Lennon NJ, Nusbaum C, Ruess RW (2014) A first comprehensive census of fungi in soil reveals both hyperdiversity and fine-scale niche partitioning. *Ecol Monogr* **84**, 3–20. <https://doi.org/10.1890/12-1693.1>

Tolbert A, Ragauskas AJ (2017) Advances in understanding the surface of lignocellulosic biomass via time-of-flight secondary ion mass spectrometry. *Energy Sci Eng* **5**, 5–20. <https://doi.org/10.1002/ese3.144>

van den Berg MA (2011) Impact of the *Penicillium chrysogenum* genome on industrial production of metabolites. *Appl Microbiol Biotechnol* **92**, 45–53. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3476-z>

Izjava o izvornosti

Ja Ela Zdenković izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.


Vlastoručni potpis