Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Wydział Leśny i Technologii Drewna

Katedra Mechanicznej Technologii Drewna

mgr inż. Jakub Kawalerczyk

Wykorzystanie zrębków narażonych na działanie grzybów pleśniowych do produkcji płyt zrębkowych

Praca doktorska

Promotor

prof. UPP dr hab. Dorota Dziurka

Poznań, grudzień 2021

Serdeczne podziękowania dla prof. UPP dr hab. Doroty Dziurki oraz prof. UPP dr hab. Radosława Mirskiego za pomoc w realizacji pracy doktorskiej. Ponadto dziękuję wszystkim pracownikom oraz doktorantom Katedry Mechanicznej Technologii Drewna za okazaną życzliwość i miłą atmosferę w codziennej pracy.

Podziękowania składam również Rodzicom oraz Alicji, Bartkowi, Julii, Klaudii, Sylwii i Wojtkowi za nieustające wsparcie i doping w trudnych momentach.

Badania zostały zrealizowane w ramach projektu badawczego BIOSTRATEG3/344303/14/NCBR/2018 „Poprawa efektywności procesowej i materiałowej w przemyśle tartacznym”, finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

Spis treści

1. WSTĘP 10

2. PRZEGLĄD LITERATURY 12

2.1 SKŁADOWANIE ZRĘBKÓW DRZEWNYCH 12

2.1.1 Rodzaje składowisk 13

2.1.2 Czas składowania 15

2.1.3 Procesy zachodzące podczas składowania zrębków 16

2.2 GRZYBY PLEŚNIOWE 19

2.2.1 Czynniki wpływające na rozwój grzybów pleśniowych 20

2.2.2 Wpływ grzybów pleśniowych na drewno 21

2.3 WYKORZYSTANIE DREWNA ZDEGRADOWANEGO PRZEZ GRZYBY 24

2.4 PŁYTY ZRĘBKOWE 25

3. CEL I ZAKRES PRACY 29

4. MATERIAŁY I METODY 31

4.1 METODYKA ETAPU I 31

4.1.1 Składowanie zrębków 31

4.1.2 Charakterystyka wymiarowa pozyskanych zrębków 32

4.1.3 Analiza jakościowa grzybów 33

4.1.4 Oznaczanie stopnia porośnięcia zrębków 34

4.1.5 Oznaczenie zawartości ergosterolu 35

4.1.6 Oznaczanie zawartości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej 36

4.2 METODYKA ETAPU II 37

4.2.1 Surowiec drzewny 37

4.2.2 Przygotowanie inokulum oraz inokulacja zrębków 39

4.2.3 Oznaczenie stopnia porośnięcia zrębków 40

4.2.4 Oznaczenie zawartości ergosterolu 40

4.2.5 Badanie mikroskopowe (SEM) 40

4.2.6 Oznaczanie składu chemicznego 40

4.2.7 Analiza spektralna FTIR 42

4.2.8 Określenie ubytku masy zrębków 42

4.2.9 Określenie higroskopijności zrębków 43

4.3 METODYKA ETAPU III 44

4.3.1 Przygotowanie surowców do wytwarzania płyt 44

4.3.2 Wytwarzanie płyt zrębkowych 45

4.3.3 Badania właściwości płyt 46

4.4 ANALIZA STATYSTYCZNA WYNIKÓW 47

5. WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA 49

5.1 WYNIKI BADAŃ ETAPU I 49

5.1.1 Analiza jakościowa grzybów 49

5.1.2 Stopień porośnięcia 53

5.1.3 Stężenie ergosterolu 55

5.1.4 Zawartość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej 57

5.2 WYNIKI ETAPU II 60

5.2.1 Charakterystyka zrębków 60

5.2.2 Stopień porośnięcia zrębków 62

5.2.3 Stężenie ergosterolu 65

5.2.4 Badanie mikroskopowe (SEM) 66

5.2.5 Skład chemiczny 68

5.2.6 Analiza spektralna FTIR 70

5.2.7 Ubytek masy 73

5.2.8 Higroskopijność zrębków 75

5.3 WYNIKI ETAPU III 77

5.3.1 Gęstość nasypowa zrębków 77

5.3.2 Gęstość i budowa płyt 78

5.3.3 Stężenie ergosterolu w płytach 82

5.3.4 Wytrzymałość płyt 83

5.3.5 Spęcznienie i nasiąkliwość płyt 87

5.3.6 Zawartość formaldehydu 90

5.3.7 Rozkład płyty przez grzyby 91

6. WNIOSKI 93

BIBLIOGRAFIA 95

WYKAZ NORM 115

STRESZCZENIE 116

SUMMARY 117

ANEKS 118

Wykaz skrótów i oznaczeń

0 – wariant płyty niezawierający zrębków inokulowanych

3-30 – wariant płyty zawierający 30% zrębków inkubowanych przez 3 tygodnie

3-50 – wariant płyty zawierający 50% zrębków inkubowanych przez 3 tygodnie

3-70 – wariant płyty zawierający 70% zrębków inkubowanych przez 3 tygodnie

6-30 – wariant płyty zawierający 30% zrębków inkubowanych przez 6 tygodni

6-50 – wariant płyty zawierający 50% zrębków inkubowanych przez 6 tygodni

6-70 – wariant płyty zawierający 70% zrębków inkubowanych przez 6 tygodni

9-30 – wariant płyty zawierający 30% zrębków inkubowanych przez 9 tygodni

9-50 – wariant płyty zawierający 50% zrębków inkubowanych przez 9 tygodni

9-70 – wariant płyty zawierający 70% zrębków inkubowanych przez 9 tygodni

a – grubość zrębków

ANOVA – (*ang. analysis of variance*) analiza wariancji

ATR-FTIR – (*ang. attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy*) spektroskopia osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni

b – szerokość zrębków

CCA – chromowany arsenian miedzi

CTAB – bromek heksadecylotrimetyloamoniowy

dNTP – deoksynukleotydy

Dp – udział drewna późnego

EDX – (*ang. Energy-dispersive X-ray spectroscopy*) spektroskopia rentgenowska z dyspersją energetyczną

ERG – ergosterol

F – test Fishera

FAOSTAT – (*ang. Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database*) baza statystyczna ONZ do spraw żywienia i rolnictwa

FTIR – (*ang. Fourier-transform infrared spectroscopy*) spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera

HDF – płyty pilśniowe o wysokiej gęstości

KPPD – Koszalińskie Przedsiębiorstwo Przemysłu Drzewnego

KW-H – test Kruskala-Wallisa

l – długość zrębków

m – współczynnik szerokości

ML – (*ang. mass loss)* ubytek masy

O – suma opadów

P1 – płyta ogólnego stosowania użytkowana w warunkach suchych

P2 – płyta do wyposażenia wnętrz do użytkowania w warunkach suchych

P3 – płyty nieprzenoszące obciążeń do użytkowania w wilgotnych warunkach

PCR – (*ang. polymerase chain reaction)* reakcja łańcuchowa polimerazy

pMDi – polimeryczny metylenodifenylo-4,4'-diizocyjanian

Pożywka PDA – (*ang. potato dextrose agar*) agar glukozowo-ziemniaczany

Pożywka RBC – (*ang.* rose-bengal-chloramphenicol) pożywka agarowa z chloramfenikolem

PVC – poli(chlorek winylu)

RH – (*ang. relative humidity*) wilgotność względna powietrza

s – przeciętna szerokość przyrostu rocznego

SAP – (*ang. shrimp alkaline phosphatase*) alkaliczna fosfataza z krewetek

S-A – składowisko wybetonowane, zadaszone

S-B – składowisko wybetonowane, niezadaszone

S-C – składowisko niewybetonowane, niezadaszone

S-D – silos

SEM – (*ang. scanning electron microscope*) skaningowy mikroskop elektronowy

SW-W – test Shapiro-Wilka

T - temperatura

UPLC – (*ang. ultra-performance liquid chromatography*) ultrasprawna chromatografia cieczowa

W – wilgotność bezwzględna zrębków

WA – (*ang. water absorption*) nasiąkliwość płyt

p – prawdopodobieństwo testowe

WPC – (*ang. wood polymer composites)* kompozyty polimerowo-drzewne

WW – warstwa wewnętrzna

WZ – warstwa zewnętrzna

XRD – (*ang. X-ray diffraction*) dyfrakcja rentgenowska

Z-0 – zrębki nieinokulowane

Z-3 – zrębki inokulowane, inkubowane przez 3 tygodnie

Z-6 – zrębki inokulowane, inkubowane przez 6 tygodni

Z-9 – zrębki inokulowane, inkubowane przez 9 tygodni

Żywica PF – żywica fenolowo-formaldehydowa

Żywica UF – żywica mocznikowo-formaldehydowa

λ – stopień smukłości

Ψ – stopień płaskości

1. Wstęp

Podstawową motywacją do rozpoczęcia produkcji płyt wiórowych było dążenie do zagospodarowania wiórów drzewnych stanowiących niewykorzystywany wówczas odpad, powstały podczas mechanicznej obróbki drewna. Uruchomienie produkcji płyt wiórowych w Polsce przypada na lata 1959-1960. Od tej pory Polska należy do grona światowych liderów w produkcji materiałów drewnopochodnych. Zdolność produkcyjna zakładów wytwarzających tworzywa drzewne determinuje m.in. dostępność surowca drzewnego. Popyt na surowiec ma natomiast charakter wtórny, co oznacza że jest on uzależniony bezpośrednio od zapotrzebowania na materiały drzewne. Wśród głównych odbiorców drewna można wyróżnić zasadniczo trzy gałęzie sektora drzewnego: przemysł tartaczny, celulozowy oraz płyt drewnopochodnych (Drouet 1992; Ratajczak 2014). Znaczną część masy surowca trafiającego do zakładów produkujących materiały drewnopochodne stanowią odpady z pierwiastkowego przerobu drewna. W przemyśle tworzyw drzewnych wykorzystuje się różne postacie surowca, a wśród najczęściej przerabianych Kozakiewicz i in. (2011) wymienia takie jak np. papierówka czy zrębki. W celu uzyskania wiórów o określonym kształcie i wymiarach, zrębki poddaje się procesowi rozdrabniania. Jest to operacja technologiczna wiążąca się jednak z dużym wydatkiem energetycznym. Alternatywną możliwością, pozwalającą na obniżenie kosztów procesu produkcyjnego mogłoby być wykorzystanie zrębków w postaci nierozdrobnionej, np. na liniach wytwarzających grube płyty znajdujące zastosowanie jako blaty kuchenne czy parapety (Mirski i in. 2018). Niezależnie od postaci surowca, w celu zapewnienia ciągłości produkcji konieczne jest zmagazynowanie odpowiedniej ilości jego zapasów. Surowce składowane są najczęściej w stosach na wolnym powietrzu, w ilościach uzależnionych od wielkości produkcji danego zakładu. Składowanie drewna w postaci zrębków w stosunku do składowania drewna nierozdrobnionego jest korzystne, gdyż pozwala zaoszczędzić miejsce na składowisku. Zdaniem Francescato i in. (2008) przestrzeń pozwalająca na składowanie 1 m^3 bali drewnianych pozwala na zmagazynowanie 3 nasypowych m^3 średnich zrębków leśnych (G50). Ponadto prowadzi również do ograniczenia kosztów związanych z przemieszczaniem surowca na terenie zakładu (Modrzejewski i in. 1969; Sztyber 2008). Składowanie zrębków ma jednak również szereg istotnych wad w porównaniu do magazynowania drewna nierozdrobnionego. Może prowadzić do dynamiczniej postępującego ubytku masy

drewna oraz do niekorzystnych zmian jego składu chemicznego (Mróz i Surewicz 1986; Pari i in. 2020). Ponadto zrębki są bardziej narażone na procesy pleśnienia. Drewno o wilgotności powyżej punktu nasycenia włókien, przechowywane w warunkach zewnętrznych staje się wysoce podatne na porastanie przez grzyby pleśniowe (Krajewski i Witomski 2005; Cofta i in. 2018). Powierzchniowa kolonizacja przez te mikroorganizmy uwarunkowana jest dostępnością do pożywienia, które w tym przypadku stanowi drewno, tlenu i wody oraz występowaniem odpowiedniej temperatury. Place składowania surowca stanowią zatem środowisko sprzyjające rozwojowi patogenów (Stuper-Szablewska i in. 2017). Pomimo iż pleśnienie drewna powoduje zazwyczaj penetrację wyłącznie powierzchniowych warstw materiału, może prowadzić do zmian jego niektórych właściwości. Ilość publikacji dostępnych na temat wykorzystania rozdrobnionego drewna porośniętego grzybami jest bardzo ograniczona i dotyczy głównie zastosowania do celów energetycznych (Piętka i in. 2019). Z uwagi na możliwe korzyści ekonomiczne i pogłębiający się deficyt surowca drzewnego poszukiwane są możliwości alternatywnego przeznaczenia dla takiego materiału, np. w produkcji tworzyw drzewnych. W związku z tym konieczne jest również wskazanie w jakim stopniu substytucja niezdegradowanych zrębków, zrębkami porośniętymi grzybami pleśniowymi wpływa na właściwości fizykomechaniczne wytworzonych płyt zrębkowych.

2. Przegląd literatury

2.1 Składowanie zrębków drzewnych

Surowiec drzewny może być składowany w formie zarówno nierozdrobnionej (np. kłody, dłużyce), jak i rozdrobnionej (np. zrębki drzewne przedstawione na Rycinie 1).

Ryc. 1. Surowiec w postaci zrębków sosnowych

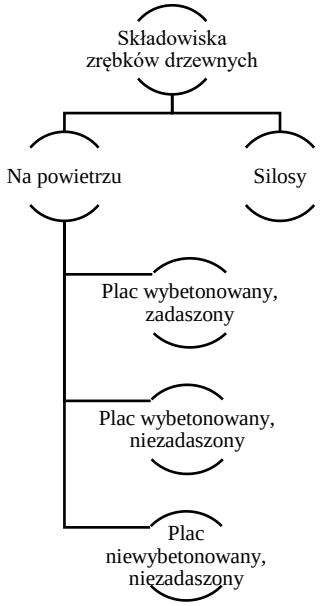
Niezależnie od postaci surowca, składowiska surowców mają trzy podstawowe zadania: zmagazynowanie odpowiednich zapasów materiałów pozwalających na zapewnienie ciągłości produkcji, doprowadzenie ich do określonej wilgotności – sezonowanie oraz możliwie jak najskuteczniejszą ochronę surowca przed degradacją biotyczną (Drouet 1992). Zrębki drzewne mogą być dostarczane bezpośrednio z lasu, gdzie powstają np. w procesie przerabiania drewna gałęziowego lub z przemysłu drzewnego, gdzie powstają jako odpad np. podczas pierwiastkowego przerobu drewna w zakładach tartacznych (Drouet 1992; Cichy 2012). Z uwagi na strukturę gatunkową lasów najpopularniejsze są zrębki gatunków iglastych, takich jak sosna i świerk. Jednakże, realizując założenia tzw. zarządzania adaptacyjnego w gospodarce leśnej, zakładającego m.in. różnicowanie składu gatunkowego prawdopodobnie możemy spodziewać się zwiększenia udziału gatunków liściastych w przyszłości (Gendek i in. 2018; Zajączkowski i in. 2013). Krajewski i Witomski (2005) stwierdzili, iż drewno gatunków liściastych najczęściej charakteryzuje się niższą odpornością na działanie mikroorganizmów w porównaniu z większością gatunków iglastych. Ze względu na ich wykorzystanie, zrębki można podzielić na opałowe oraz przemysłowe. Opałowe znajdują zastosowanie w przemyśle energetycznym oraz kotłowniach jako biopaliwo. Przemysłowe zrębki natomiast wykorzystywane są np. w zakładach tworzyw drzewnych oraz w zakładach przemysłu celulozowo-papierniczego (Auriga 2017a).

Składowanie drewna w postaci zrębków zostało zapoczątkowane we wczesnych latach pięćdziesiątych w Stanach Zjednoczonych (Modrzejewski i in. 1969). Początkowo zrębki były wykorzystywane głównie w zakładach papierniczych, które przez wiele lat pozostawały głównym odbiorcą surowca drzewnego w takiej postaci. Wraz z upływem czasu jednak, określenie zrębki drzewne stało się powszechnie wykorzystywane w wielu innych gałęziach przemysłu, czego konsekwencją było powstawanie coraz większej ilości składowisk drewna w postaci rozdrobnionej (Fobes 1959). Pari i in. (2017) stwierdzili, że główną zaletą składowania zrębków są zmniejszone koszty wynikające z transportu i innych aspektów logistycznych, takich jak np. oszczędność miejsca na składowisku (Manfredi 2011; Jasiulewicz i Janiszewska 2012). Wiąże się to jednak również z negatywnymi następstwami, np. zwiększonym ubytkiem ciężaru właściwego drewna, większą podatnością na działanie mikroorganizmów oraz niekorzystnymi zmianami składu chemicznego (Auriga 2017b). Ogólnie składowiska zrębków można podzielić na: składowiska w silosach oraz na wolnym powietrzu. Wybór miejsca i metody składowania jest zazwyczaj uzależniony od czynników ekonomicznych oraz logistycznych charakterystycznych dla danego zakładu (Anerud i in. 2020; Drouet 1992).

Dostępność publikacji dotyczących przemysłowego składowania zrębków, w szczególności prac powstałych w ostatnim dwudziestoleciu, jest bardzo ograniczona i zazwyczaj dotyczy wykorzystania zrębków w charakterze biopaliwa. Ponadto Auriga (2017a) zauważa również, że z uwagi na istotny wpływ lokalnych warunków klimatycznych na procesy zachodzące w trakcie składowania, uniwersalność konkluzji niektórych zagranicznych publikacji może być niewielka.

2.1.1 Rodzaje składowisk

Ze względu na przeznaczenie składowiska zrębków można podzielić na buforowe oraz bazowe (Sztyber 2008). Zadaniem składów buforowych jest zapewnienie ciągłości produkcji lub podaży paliwa. Przeznaczeniem składów bazowych natomiast jest magazynowanie dużych ilości zrębków, najczęściej przez długi okres. Na podstawie prac Aurigi (2017a), Droueta (1992) oraz Suchomel i in. (2014) zaproponowano podział składowisk przedstawiony na Rycinie 2.



Ryc. 2. Rodzaje składowisk zrębków drzewnych

Zrębki mogą być przechowywane w żelbetowych silosach o przykładowej średnicy 12 m, wysokości 12 – 40 m, mających pojemność 2,5 – 40 tys. m^3 (Auriga 2017a; Sahoo i in. 2018). W celu długoterminowego przechowywania zrębków, odpowiadającego składom bazowym stosuje się najczęściej odkryte składowiska surowca w hałdach oraz stosach (Sztyber 2005). Składowanie surowca na odkrytym placu zapewnia przepływ powietrza, nie wymaga dużych nakładów finansowych i umożliwia magazynowanie materiału przez długi okres. Konsekwencją tego typu składowania jest jednak oddziaływanie zmiennych warunków otoczenia, a w rezultacie narażenie na degradację biotyczną przez grzyby (Gendek i Głowacki 2009; Broda 2020). Wpływ niekorzystnych warunków atmosferycznych można jednak zmniejszyć, ograniczając kontakt surowca drzewnego z gruntem poprzez wybetonowanie placu oraz wyposażenie składowiska w zadaszenie (Balsari i Manzone 2010). Ponadto instalacja konstrukcji dachowej wiąże się również z korzyściami ekonomicznymi w przypadku zrębków opałowych (Harris 1988).

Auriga i Boruszewski (2013) zbadali wpływ typu składowiska zrębków na właściwości wytworzonych z nich płyt wiórowych. Analizowano zrębki pochodzące z placu wybetonowanego niezadaszonego, wybetonowanego zadaszonego oraz silosu z wymuszonym obiegiem powietrza. Badania pokazały, iż w przypadku zrębków przechowywanych w silosach wilgotność drewna obniżała się dużo szybciej niż w przypadku materiału składowanego na placu. Płyty wiórowe wytworzone z wiórów

skrawanych ze zrębków, które wcześniej były przechowywane na niezadaszonym składowisku charakteryzowały się obniżoną wytrzymałością na zginanie. Auriga (2017a) stwierdził, iż udział celulozy w zrębkach sosnowych składowanych na niezadaszonym placu jest niższy, niż np. w przypadku surowca przechowywanego w silosie. Badania przeprowadzone przez Baharoglu i in. (2013) pokazały natomiast, iż skład chemiczny surowca, w tym zawartość celulozy, wpływa na właściwości fizykomechaniczne wytworzonych płyt wiórowych. Rodzaj składowiska zrębków może mieć zatem istotny wpływ na właściwości tworzyw drzewnych.

2.1.2 Czas składowania

Biorąc pod uwagę następstwa składowania drewna w postaci rozdrobnionej, takie jak zwiększenie niejednorodności materiału pod względem jego wilgotności, zmian składu chemicznego, działalności mikroorganizmów oraz dynamiczniej postępującego ubytku masy istotną kwestią jest czas składowania surowca (Modrzejewski i in. 1976; Afzal i in. 2010; Hofmann i in. 2017). Sztyber (2005) podaje, iż zrębki przemysłowe są często przechowywane przez okres kilku miesięcy. Okres przechowywania zrębków opałowych może być natomiast znacznie dłuższy, nawet do roku lub dwóch lat. Dla zakładów przemysłu celulozowego okres przechowywania nie powinien być dłuższy niż 2 miesiące w sezonie letnim oraz 4 miesiące w sezonie zimowym (Modrzejewski i in. 1969). Autorzy wskazują także, iż przy planowaniu dłuższego okresu składowania należy wziąć pod uwagę możliwości zabezpieczenia zrębków przed degradacją biotyczną mikroorganizmów. Zdaniem niektórych badaczy (Morze i Struk 1988), z uwagi na destrukcję wiązań oraz ubytek masy, zrębki przeznaczone do przerobu na płyty wiórowe nie powinny być przechowywane dłużej niż 8 tygodni (zrębki sosnowe) oraz 10 tygodni (zrębki brzozowe). Wyniki badań przeprowadzonych przez Aurigę (2017a) wskazują, iż czas składowania zrębków nie powodujący istotnego pogorszenia wytrzymałości na zginanie płyt wiórowych różni się w zależności od typu składowiska. Wynosi on 12 miesięcy dla składowisk murowanych z cyrkulacją powietrza, 9 miesięcy dla składowisk zadaszonych oraz 3 miesiące dla otwartych placów. Ponadto stwierdzono również, iż czas składowania zrębków nie wpływa w sposób istotny na geometrię pozyskanych wiórów oraz spęcznienie i nasiąkliwość wytworzonych płyt (Auriga 2017a). Ergul i Ayrilmis (2014) badali natomiast wpływ składowania zrębków na

właściwości wytworzonych płyt HDF (płyt pilśniowych o wysokiej gęstości). Autorzy stwierdzili, iż z uwagi na skutki działalności mikroorganizmów oraz obniżonego pH drewna składowanego w stosie, zarówno właściwości mechaniczne, jak i higieniczność płyt uległy pogorszeniu. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono również, że zrębki przeznaczone do produkcji płyt HDF nie powinny być składowane dłużej niż przez miesiąc. Jako uzasadnienie Autorzy podają szereg negatywnych następstw wynikających z działalności grzybów oraz bakterii takich jak np. degradacja polimerów strukturalnych, obniżanie pH oraz obniżanie wytrzymałości ścian komórkowych.

Oprócz czasu składowania, z punktu widzenia właściwości zrębków, istotny jest również okres kalendarzowy ich składowania. Brand i in. (2011) stwierdzili, iż ze względu na dynamikę obniżania się wilgotności surowca w stosie oraz jego wartość opałową najkorzystniejsze jest składowanie surowca latem. Modrzejewski i in. (1976) stwierdzili, iż zmiany występujące w składzie chemicznym surowca w okresach wiosenno-letnich oraz zimowo-wiosennych kojarzone są głównie z działalnością grzybów termofilnych, w okresie jesiennym natomiast – grzybów mezofilnych. Ponadto Autorzy wykazali, iż największy ubytek masy zrębków wystąpił w okresie zimowo-wiosennym. Procesy zachodzące w trakcie składowania, wpływające na jakość magazynowanego surowca są jednak zagadnieniem kompleksowym, uzależnionym między innymi od: warunków atmosferycznych, gatunku surowca, czasu składowania, konstrukcji składowisk itd. (Liesovsky i in. 2017; Modrzejewski i in. 1969; Brand i in. 2010; Lenz i in. 2017).

2.1.3 Procesy zachodzące podczas składowania zrębków

W trakcie składowania zrębków występuje szereg procesów mających wpływ na właściwości drewna, szczególnie w formie rozdrobnionej, takich jak m.in.: ubytek masy (Lenz i in. 2016; Kuptz i in. 2020), zmiany temperatury w stosie (Fuller 1985; Krigstin i in. 2019), zmiany wilgotności materiału (Daassi-Gnaba i in. 2018; Alakoski i in. 2016), zmiany składu chemicznego (Auriga 2017a; Pecenka i in. 2018) oraz działalność mikroorganizmów. Morze i Struk (1988) wyróżniają następujące grupy drobnoustrojów wyizolowane ze składowanych zrębków:

- grzyby powodujące zgniliznę białą lub zgniliznę brunatną,
- grzyby powodujące pleśnienie i zabarwienie drewna,

- grzyby powodujące zgniliznę szarą,
- drożdże oraz bakterie.

W przypadku występowania korzystnych warunków (wilgotność powyżej 20%, przedział temperatur pomiędzy 15°C a 45°C) oraz dostępności tlenu, drewno jest podatne na degradację przez różnego rodzaju grzyby (Broda 2020; Zabel i Morrell 2012). Istnieje wiele czynników mających wpływ na narażenie surowca na ich działanie: lokalny klimat, warunki ekspozycji, wymiary zrębków, ale to właśnie temperatura oraz wilgotność drewna w szczególności wpływają na rozwój grzybów. Umożliwiają im metabolizowanie oraz degradację składowych ściany komórkowej drewna (Meyer i Brischke 2015; Idler i in. 2019). Składowanie zrębków w stosach na powietrzu, często w warunkach podwyższonej wilgotności, czasami w kontakcie z gruntem stwarza zatem dobre warunki do rozwoju mikroorganizmów (Liesovsky i in. 2017; Noll i Jirjis 2012). Ponadto temperatura wewnątrz stosu zazwyczaj utrzymuje się na wysokim poziomie, nawet przez wiele miesięcy ze względu m.in. na trwające procesy utleniania i oddychania (Modrzejewski i in. 1969). Zdaniem Schmidt (2006) postęp kolonizacji zależy od wzajemnie oddziaływujących czynników fizycznych, chemicznych oraz biologicznych. Oprócz dostępności wody, tlenu oraz odpowiedniej temperatury wśród nich można wyróżnić m.in. ilość i rodzaj dostępnych składników pożywienia, wartość pH, ekspozycję na światło słoneczne oraz interakcje pomiędzy organizmami (mogą działać zarówno synergistycznie, jak i antagonistycznie). Każda z wyróżnionych przez Morzego i Struka (1988) grup grzybów wiąże się innym typem rozkładu chemicznego substancji wchodzących w skład struktury drewna, co najczęściej ma bezpośredni wpływ na jego fizykomechaniczne właściwości (Krajewski i Witomski 2005). Grzyby kolonizujące drewno oraz niektóre następstwa wynikające z ich działalności można w skrócie podzielić w sposób zaprezentowany w Tabeli 1.

Tabela 1. Główne typy grzybów kolonizujących oraz degradujących drewno (Broda 2020)

Grzyby	Rodzaj drewna oraz jego składników	Wpływ na drewno
Grzyby rozkładu brunatnego (*Basidiomycota*)	Głównie gatunki iglaste, degradacja hemiceluloz, celulozy, demetylacja ligniny.	Drewno kurczy się oraz pęka na pryzmatyczne kostki, brunatny kolor (nierozłożona lignina), obniżenie wytrzymałości mechanicznych.
Grzyby rozkładu białego (*Basidiomycota*)	Głównie gatunki liściaste, ale również iglaste, degradacja ligniny, hemiceluloz i celulozy.	Białe przebarwienie (pozostałości celulozy), właściwości mechaniczne obniżają się wraz z postępem rozkładu.
Grzyby rozkładu szarego (*Ascomycota, Deuteromycota*)	Hemicelulozy i celuloza, lignina – mniej intensywnie.	Zmiana barwy drewna, pęknięcia zbliżone do rozkładu brunatnego, obniżenie wytrzymałości drewna.
Grzyby powodujące pleśnienie (*Zygomycota, Ascomycota*)	Łatwo dostępne cukry, brak degradacji polimerów strukturalnych.	Powierzchniowe przebarwienia, ciemne zabarwienie bielu, degradacja błony jamek zwiększająca przepuszczalność wody.
Grzyby powodujące siniznę (*Ascomycota, Deuteromycota*)		

Oprócz wpływu na właściwości fizyczne, mechaniczne oraz estetyczne drewna, istotnym zagrożeniem są również zanieczyszczenia powietrza występujące w wyniku działalności mikroorganizmów. Wdychanie pyłu drzewnego zanieczyszczonego przez grzyby stanowi zagrożenie ludzi pracujących przy składowiskach (Suchomel i in. 2012). Zdaniem Suchomela i in. (2014) szczególnie podczas długotrwałego składowania surowca trwającego od 3 do 6 miesięcy, unoszące się w powietrzu zarodniki mogą powodować choroby układu oddechowego oraz liczne reakcje alergiczne.

Grzyby pleśniowe nie wpływają znacząco na właściwości mechaniczne drewna w porównaniu np. z grzybami rozkładu brunatnego lub białego. Pomimo to, z uwagi na szereg czynników Idler i in. (2019) stwierdzili, iż występowanie grzybów pleśniowych w stosach jest istotne z punktu widzenia składowania drewna rozdrobnionego, szczególnie w przypadku świeżo pozyskanych zrębków (de Castro i in. 2019).

2.2 Grzyby pleśniowe

Grzyby pleśniowe (grzyby mikroskopowe, potocznie zwane pleśniami) pochodzą z różnych grup systematycznych. Wśród nich występują zróżnicowane reakcje fizjologiczne w zależności od temperatury, dostępności wody, wartości pH itd. (Schmidt 2006). Dzięki temu posiadają one zdolność kolonizowania różnych podłoży np. drewna, materiałów drewnopochodnych, płyt gipsowych, materiałów ceramicznych itd. (Nielsen i in. 2004). Grzyby pleśniowe stanowią niejednorodną grupę, w związku z tym nie są zaklasyfikowane do jednego, wspólnego taksonu. Zaliczają się do nich grzyby wymienione w Tabeli 2.

Tabela 2. Grzyby zaliczane do grzybów pleśniowych (Piontek 1999)

Grzyby pleśniowe	
Grzyby komórczakowe z gromady *Zygomycota* i rzędu *Mucorales* reprezentowanej najczęściej przez następujące rodzaje: *Mucor* lub *Rhizopus*.	Grzyby posiadające stadium bezpłciowe należące do gromady *Ascomycota* najczęściej reprezentowanej przez następujące rodzaje: *Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Fusarium,*

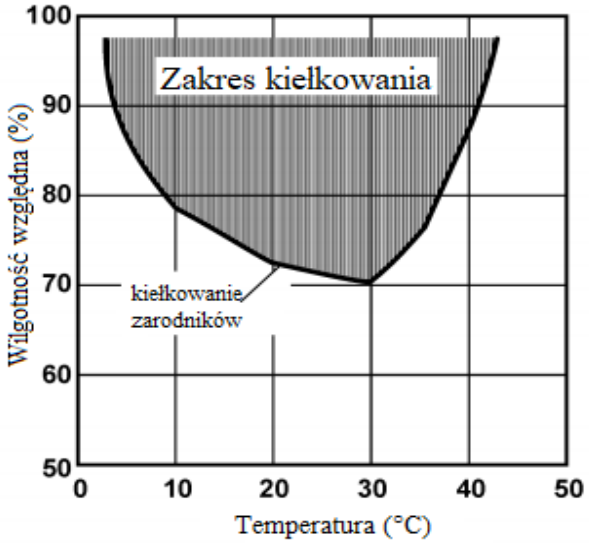
	Paecilomyces, *Penicillium* oraz gromady *Deuteromycota* (*Fungi imperfecti*).

Pomimo iż grzyby pleśniowe z reguły nie powodują istotnych zmian właściwości materiałów, które porastają, to ich obecność może stwarzać istotne zagrożenie. Wiele spośród ok. 25 000 gatunków (Piontek 1999) tworzy kolonie wewnątrz obiektów budowlanych. W krajach rozwiniętych występuje tendencja spędzania przez ludzi dużej ilości czasu w zamkniętych pomieszczeniach, izolowanych od środowiska zewnętrznego (Cofta 2011). Grzyby pleśniowe często zasiedlają materiały budowlane, powierzchnie mebli, materiały wykończeniowe, skóry, tekstylia, tapety ścienne, zanieczyszczając tym samym otoczenie człowieka swymi metabolitami, stanowiąc tym samym poważne zagrożenie zarówno dla zdrowia ludzi, jak i zwierząt (Piontek 2004; Ammann 2016, Schmidt 2006). Mogą wywoływać ciężkie infekcje układu oddechowego, alergie, jak również mogą wykazywać neurotoksyczny, cytotoksyczny oraz kancerogenny wpływ na organizm człowieka. Konsekwencją ekspozycji na zarodniki pleśni może być obniżenie odporności organizmu oraz wystąpienie tzw. „zespołu chorego budynku" (Chróst 2016). W wyniku rosnącej świadomości, dotyczącej produkcji mykotoksyn oraz ich szkodliwości zaczęto zwracać uwagę na higieniczność pomieszczeń, wyznaczając normy dotyczące stężenia szkodliwych toksyn. Grzyby toksynotwórcze mogą zanieczyszczać również środowiska pracy (Buczyńska i in. 2007). Wśród pracowników narażonych wyróżnia się m.in. osoby pracujące w przemyśle drzewnym, np. w tartakach, zakładach meblarskich oraz produkujących tworzywa drzewne (Rogoziński i in. 2014; Sabino i in. 2019; Skóra i in. 2017).

2.2.1 Czynniki wpływające na rozwój grzybów pleśniowych

Zdaniem Schmidt (2006) wśród czynników fizycznych oraz chemicznych mających wpływ na rozwój grzybów pleśniowych wyróżnia się: dostępność pożywienia, wilgotność, przepływy powietrza, temperaturę, światło słoneczne oraz wartość pH. Powszechnie wiadomo, iż grzyby mikroskopowe rozwijają się w warunkach podwyższonej temperatury i wilgotności względnej powietrza. Generalnie wykazują one zdolność rozwoju w przedziale temperatur pomiędzy 0°C a 50°C (Sedlbauer 2001). Jednakże Viitanen (1995) stwierdził, iż optimum dla

większości gatunków stanowi przedział pomiędzy 20°C a 35°C. Viitanen i in. (2011) wskazali ponadto, iż wilgotność względna powietrza ok. 80% stanowi minimum wymagane do rozwoju grzybów pleśniowych. W przypadku niższej wilgotności ok. 70% kiełkowanie zarodników jest możliwe jedynie w korzystnej temperaturze (Ryc. 3).



Ryc. 3. Temperatura i wilgotność względna powietrza wymagana do rozwoju grzybów pleśniowych (Sedlbauer 2001)

W przypadku drewna istotna jest również dostępność składników odżywczych. Pożywienie grzybów pleśniowych stanowią cukry, skrobia oraz białka z komórek miękiszowych (Schmidt 2006). Zawartość tych substancji w drewnie może się znacznie różnić nie tylko w zależności od gatunku drzew, ale również pomiędzy drzewami tego samego gatunku, czy nawet w obrębie jednego drzewa. Wśród właściwości drewna wpływających na kolonizację przez pleśnie można wymienić również np. strukturę powierzchni (Lie 2019). Ponadto zawartość substancji ekstrakcyjnych ma istotny wpływ na wielkość i dynamikę degradacji drewna przez grzyby (Eaton i Hale 1993; Zhao i in. 2020). Część związków zaliczanych do grupy substancji ekstrakcyjnych (np. terpeny czy flawonoidy) wykazują zdolność hamowania wzrostu grzybów (Valette i in. 2017).

2.2.2 Wpływ grzybów pleśniowych na drewno

Grzyby pleśniowe wykazują zdolność rozwoju na powierzchni drewna, w szczególności w komórkach bielu o wyższej wilgotności, przechowywanego w warunkach zewnętrznych lub niewystarczająco wysuszonego (Schmidt 2006).

Drewno o wilgotności powyżej 20% staje się podatne na degradację przez grzyby mikroskopowe (Broda 2020; Cofta i in. 2018). W porównaniu do grzybów rozkładu brunatnego lub białego nie powodują one istotnych zmian właściwości mechanicznych z uwagi na to, iż rozwijają się wyłącznie w warstwach powierzchniowych, sięgających do kilku milimetrów (Idler i in. 2019). Ich występowanie na powierzchni prowadzi do obniżania walorów dekoracyjnych drewna poprzez zmiany zabarwienia (Lie i in. 2019a; Lie i in. 2019b; Lie i in. 2019c). Zazwyczaj przebarwienia mają kolor czarny, szary, fioletowy, zielony lub czerwony (Zabel i Morell 1992) i wynikają z występowania barwnych zarodników oraz strzępek grzybów pleśniowych (Huh i in. 2011). W przypadku drewna gatunków iglastych strzępki penetrujące w głąb drewna zazwyczaj można usunąć poprzez szczotkowanie lub zestruganie powierzchni. Gatunki liściaste charakteryzują się większą porowatością, a zatem istnieje ryzyko, że strzępki mogą wniknąć zbyt głęboko, aby dało się je w ten sposób usunąć (Rowell 2005).

Zdaniem Brody (2020) grzyby pleśniowe nie powodują degradacji polimerów strukturalnych drewna, a zatem nie wpływają istotnie na właściwości mechaniczne materiału. Aby wygenerować energię potrzebną do rozwoju wykorzystują one głównie zawarte w komórkach cukry, białka oraz skrobię. Według Idler i in. (2019) grzyby pleśniowe posiadają zdolność degradacji celulozy i hemiceluloz, jednakże nie jest to możliwe kiedy w ścianie komórkowej zaszedł proces lignifikacji. Darwish i in. (2013) badali właściwości drewna figowca sykomora (*Ficus sycomorus* L.) inokulowanego oraz inkubowanego przez 8 tygodni. Autorzy doszli do wniosku, że inokulacja takimi gatunkami grzybów pleśniowych, jak np. *Trichoderma longibrachiatum, Aspergillus candidus, Aspergillus ustus* i *Aspergillus terreus* spowodowała obniżenie krystaliczności celulozy, oznaczanej z wykorzystaniem XRD (dyfrakcji rentgenowskiej). Badania przeprowadzono również z wykorzystaniem FTIR (spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera), która jest powszechnie stosowaną techniką pozwalającą na określenie krystaliczności celulozy (Kruer-Zerhusen i in. 2018; Siuda i in. 2019). Wyniki różniły się od tych uzyskanych metodą XRD – wystąpiło mniejsze obniżenie krystaliczności na skutek działalności grzybów. Różnił się również wpływ konkretnych gatunków na indeks krystaliczności (Darwish i in. 2013). Ponadto Darwish i in. (2013) na podstawie widm FTIR drewna stwierdzili, iż gatunki *Aspergillus candidus* oraz *Aspergillus ustus* spowodowały obniżenie

intensywności pasm pochodzących od drgań wiązań obecnych w ligninie oraz węglowodanach.

Zdaniem Idler i in. (2019) rozwój grzybów pleśniowych w stosach składowanych zrębków nie wpływa bezpośrednio na ubytek masy drewna. Jednakże ich obecność, zdaniem Autorów, może przyczyniać się do tego poprzez synergistyczny wpływ na działalność innych, degradujących drewno mikroorganizmów.

Rowell (2005) stwierdził, iż materiał drzewny narażony na działanie grzybów pleśniowych może charakteryzować się zwiększoną absorpcją wody, co czyni go bardziej podatnym na działanie grzybów rozkładających drewno. Clausen (2010) zauważył, iż zwiększona chłonność drewna na skutek powstałych kolonii, może przyczyniać się do trudności w dalszych procesach technologicznych, np. podczas jego klejenia, malowania oraz impregnacji. Ponadto Piao i in. (2010) stwierdzili, iż zmiana hydrofilowości powierzchni drewna może mieć wpływ np. na jej zwilżalność.

Dostępność literatury dotyczącej wpływu grzybów pleśniowych na właściwości powierzchni drewna jest bardzo ograniczona. Salem (2016) badał wpływ grzybów pleśniowych takich jak *Penicillium selerotigenum, Paecilomyces variotii* i *Aspergillus niger* na zmiany zachodzące w drewnie sosny (*Pinus rigida* Mill.), orzecha czarnego (*Juglans nigra* L.) oraz buka (*Fagus sylvatica* L.). Wpływ inokulacji na skład pierwiastkowy drewna określono przy pomocy EDX (spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energetyczną). Badania pokazały, że kolonizacja powierzchni drewna przez grzyby pleśniowe powoduje zmniejszenie zawartości węgla oraz zwiększenie zawartości miedzi, chloru i glinu. Wpływ na inne pierwiastki, takie jak siarka, krzem, cynk, wapń i żelazo różnił się w zależności od gatunku grzyba oraz gatunku drewna. Przy pomocy SEM (skaningowej mikroskopii elektronowej) stwierdzono, iż zarodniki różnych gatunków tworzą na powierzchni drewna rozgałęzione struktury, wizualnie różniące się od siebie oraz charakteryzujące się różnym stopniem penetracji strzępek w zależności od gatunku mikroorganizmu. Technika SEM została wykorzystana również przez Hamed i in. (2018) w celu oceny wpływu następujących grzybów: *Aspergillus niger, Trichoderma viride, Penicillium chrysogenum, Alternaria alternata* oraz *Chaetomium globosum* na ultrastrukturę modrzewia (*Larix decidua* Mill.) oraz buka (*Fagus sylvatica* L.). Zdaniem Autorów wszystkie spośród przebadanych grzybów powodowały degradację na poziomie ultrastruktury drewna. Stwierdzono, iż wpływ kolonizacji grzybów różni się w zależności od rodzaju drewna (oraz związanej

z nim zawartości komórek różniących się składem chemicznym oraz morfologią), aktywności enzymatycznej grzybów i czasu inkubacji.

2.3 Wykorzystanie drewna zdegradowanego przez grzyby

Według komunikatu COM/2014/15 (2014) wydanego przez Komisję Europejską kraje członkowskie powinny do 2030 roku generować 27% energii z zasobów odnawialnych (Moskalik i Gendek 2019). Oznacza to, że coraz większa ilość zrębków będzie przeznaczana do celów energetycznych. W przypadku zrębków widocznie zdegradowanych można przypuszczać, że zostaną one uznane za materiał niepełnowartościowy oraz przeznaczone do spalenia (Knoll i in. 1993). Z uwagi na postępujące deficyty surowca (Taghiyari i in. 2020), różnorodność biomasy energetycznej (Aron i in. 2020) oraz założenia zrównoważonej gospodarki (Kawamura i Yang 2020) poszukiwane są alternatywne możliwości wykorzystania drewna zdegradowanego przez grzyby.

Przykładem wykorzystania drewna degradowanego przez grzyby mogą być np. środki wabiące (*ang.* attractants) termity. W 1962 r. powstał patent opisujący możliwość takiego zastosowania (Esenther i in. 1962). Badania przeprowadzone przez Su (2005) potwierdzają, iż wykorzystanie tego rodzaju środków wabiących może zmieniać kierunek przemieszczania się termitów w drewnie.

W 1954 r. Heritage przyznany został patent zakładający wykorzystanie zdegradowanego drewna w składzie klejów. Wyróżniono dwa rodzaje środków wiążących. Pierwszy posiadał w składzie żywicę fenolowo-formaldehydową (PF), metale alkaliczne oraz drewno narażone na działanie grzybów rozkładu brunatnego. Drugi środek wiążący, oprócz takiego samego drewna i żywicy PF, posiadał w składzie również wodorotlenek sodu, wodę oraz węglan sodu. Li i Geng (2005) badali możliwość wykorzystania drewna zdegradowanego w produkcji klejów syntezowanych bez udziału formaldehydu. Autorzy opracowali skład środka wiążącego na bazie zdegradowanego drewna traktowanego borowodorkiem sodu oraz polimeru zawierającego grupy aminowe (polietylenoiminy). Kawamura i Wang (2020) upłynniali zdegradowane drewno z wykorzystaniem glikolu polietylenowego oraz gliceryny. Następnie przy użyciu glicydolu wprowadzone zostały grupy epoksydowe i przeprowadzono syntezę żywicy epoksydowej. Badania pokazały, iż

właściwości otrzymanej żywicy nie różniły się od tej syntezowanej z wykorzystaniem drewna niezdegradowanego.

Ayrilmis i in. (2014, 2015) badali możliwość wykorzystania zdegradowanego przez grzyby drewna jako wypełniacza w kompozytach polimerowo-drzewnych (WPC). Kompozyty z udziałem drewna porośniętego grzybami rozkładu brunatnego oraz polipropylenu szczepionego bezwodnikiem maleinowym wytwarzano w wytłaczarce ślimakowej. Pomimo iż Autorzy badając zdegradowany materiał zauważyli znaczne obniżenie zawartości holocelulozy, wytworzone kompozyty charakteryzowały się podobnymi właściwościami wytrzymałościowymi do materiałów wytworzonych z udziałem drewna niezdegradowanego. Ge i in. (2018) badali możliwość wytwarzania kompozytów posiadających w składzie zdegradowane drewno, chitozan, polichlorek winylu (PVC) oraz różne postacie węgla (węgiel aktywny, zwęglony bambus, nanorurki węglowe i grafen). Stwierdzono, że WPC o najkorzystniejszych właściwościach chemicznych, termicznych i mechanicznych posiadały w składzie zdegradowane drewno, PVC, nanorurki węglowe i chitozan.

Nemli i in. (2018) badali wpływ zastosowania wiórów skrawanych z drewna sosny degradowanego wyłącznie przez owady oraz przez owady, a następnie przez grzyby. Działalność żadnego z analizowanych czynników biotycznych nie wpłynęła na długość włókien drzewnych. Wpłynęła ona natomiast na zwiększenie rozpuszczalności drewna w ciepłej i zimnej wodzie, mieszaninie alkoholowo-benzenowej oraz w roztworze NaOH. Ponadto działanie insektów w połączeniu z działalnością grzybów spowodowało obniżenie zawartości celulozy, hemiceluloz i ligniny oraz zmniejszenie grubości ścian cewek. Wykorzystanie wiórów poddanych zarówno działaniu samych owadów, jak i owadów wraz z grzybami spowodowało poprawę właściwości takich jak: nasiąkliwość, spęcznienie na grubość oraz emisja formaldehydu. Jednakże doprowadziło równocześnie do pogorszenia wytrzymałości oraz jakości powierzchni (kąt zwilżania, chropowatość) wytworzonych materiałów. Autorzy uznali dodatek zdegradowanych wiórów w ilości 10% za optimum, które nie powoduje znacznego obniżenia właściwości mechanicznych płyt.

2.4 Płyty zrębkowe

Z danych statystycznych zgromadzonych przez FAOSTAT (*ang.* Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database) wynika, iż produkcja płyty

wiórowej w skali światowej nieprzerwanie rośnie. W latach 2015 – 2018 wielkość produkcji wzrosła z ok. 85 mln m^3 do ok. 97 mln m^3. Z uwagi na docierające informacje o powstawaniu nowych linii produkcyjnych i fabryk można przypuszczać, że dynamika wzrostu będzie się utrzymywać (Ostrowska 2020). Polska znajduje się wśród liderów zarówno w zakresie produkcji, jak i importu płyt wiórowych. W latach 2015 – 2018 odnotowano wzrost wielkości produkcji z 4,4 mln m^3 do 4,8 mln m^3. O dużym zapotrzebowaniu na płyty świadczy wzrost importu z 1,4 mln m^3 do 2,5 mln m^3, podczas gdy eksport utrzymywał się na stabilnym poziomie ok. 0,4 – 0,5 mln m^3 (Ostrowska 2020).

Wióry drzewne przeznaczone do produkcji płyt często pozyskiwane są w procesie skrawania zrębków (Drouet 1992), który ma na celu uzyskanie cząstek o pożądanych wymiarach (zwłaszcza grubości ok. 0,2 – 0,6 mm) i geometrii. Mają one wpływ m.in. na proces zaklejania wiórów oraz na właściwości fizykomechaniczne wytworzonych płyt (Cosereanu i in. 2014; Dai i in. 2007; Chen i in. 2008). Zrębki przeznaczone do skrawania wiórów mogą być pozyskiwane na terenie zakładów produkujących płyty, ale znacznie częściej surowiec w takiej postaci jest dostarczany, stanowiąc produkt uboczny w innych gałęziach przemysłu drzewnego, zwłaszcza tartacznego. Mirski i in. (2019) stwierdzili, iż biorąc pod uwagę średnią roczną wielkość przerobu tartacznego drewna iglastego można oszacować, że w ciągu roku w polskich zakładach powstaje ok. 4 mln m^3 zrębków gatunków iglastych. Z uwagi na wielkość produkcji oraz dodatkową energię zużywaną na procesy skrawania zrębków na wióry zapoczątkowano badania dotyczące ich zastosowania jako podstawowego surowca do produkcji płyt. Zrębki posiadają znacznie większe wymiary, co ogranicza możliwość ich wykorzystania w produkcji płyt o małej lub średniej grubości (Mirski i in. 2019). Istnieje jednak możliwość ich zastosowania do wytwarzania płyt o znacznej grubości, przeznaczonych np. na parapety czy blaty kuchenne (Mirski i in. 2019; Mirski i in. 2020a). Według Ellefson i Kilgore (2010) produkcja mebli kuchennych jest jedną z najbardziej opłacalnych finansowo branż w meblarstwie. Zakup blatów stanowi natomiast ok. 10% kosztów przemeblowania kuchni (Koenig 2017). Ponadto według prognoz The Freedonia Group (2017) globalne zapotrzebowanie na blaty kuchenne wzrośnie w 2021 do prawie 500 mln m^2. Można zatem przypuszczać, że płyty zrębkowe o znacznej grubości mają szansę na znalezienie odbiorców i będą materiałem pożądanym na rynku.

Mirski i in. (2019) badali możliwość wykorzystania zrębków oraz trocin pochodzących z zakładów przemysłu pierwiastkowego przerobu drewna jako surowców do produkcji płyt. Badania pokazały, iż płyty jednowarstwowe muszą charakteryzować się gęstością o 50 – 100 kg/m^3 wyższą, aby osiągnąć wymagane właściwości mechaniczne. Jednakże stwierdzono również, że na poprawę wytrzymałości płyt wpłynęła obecność warstw zewnętrznych (WZ) wykonanych z mikrowiórów – a tak wytworzone trójwarstwowe płyty osiągały właściwości na poziomie wartości przewidzianych normą dla płyt typu P2 (10 N/mm^2). Natomiast jeśli warstwy środkowe (WW) wytwarzano z mieszaniny trocin i zrębków w stosunku masowym 70:30, to płyty wykazywały lepsze właściwości w porównaniu do tych wytwarzanych jedynie ze zrębków. Zdaniem Autorów trociny stanowiły wypełnienie pustych przestrzeni w strukturze płyty i czyniły ją bardziej jednolitą. Mirski i in. (2018) stwierdzili również, iż płyty zrębkowe charakteryzowały się większym spęcznieniem na grubość w porównaniu do nieuszlachetnionych oraz laminowanych, komercyjnie dostępnych płyt wiórowych. Zdaniem Autorów jedną z przyczyn mogą być np. dodatki emulsji parafinowej wprowadzane w procesie przemysłowego wytwarzania płyt. Ponadto obniżenie gęstości płyt zrębkowych o ok. 110 kg/m^3 spowodowało obniżenie wytrzymałości na zginanie oraz modułu sprężystości przy zginaniu o ok. 50%. W kontynuacji badań Mirski i in. (2020b) stwierdzili, że właściwości płyt zrębkowo-trocinowych zależą od struktury przekroju poprzecznego: stosunku masowego warstw zewnętrznych do warstwy wewnętrznej, wielkości mikrowiórów w warstwach zewnętrznych oraz udziału zrębków i trocin w warstwie zewnętrznej. Najwyższą średnią wartością wytrzymałości na zginanie oraz najmniejszym spęcznieniem na grubość charakteryzowały się płyty o stosunku masowym WW:WZ 60:40, natomiast najwyższą wytrzymałością na rozciąganie 70:30. Ponadto badania przeprowadzone przez Mirskiego i in. (2020a) pokazały, iż zastosowanie pMDI (polimeryczny metylenodifenylo-4,4’-diizocyjanian) jako środka wiążącego pozwala na wytwarzanie płyt zrębkowo-trocinowych z odpadów tartacznych o wysokiej wilgotności (zrębki 21% oraz trociny 18%). Sposób wytwarzania płyt zrębkowych został objęty patentem (Mirski i in. 2021).

Z uwagi na to, iż grzyby pleśniowe powszechnie występują na składowiskach, uwzględniając ich wpływ na drewno składowane w postaci rozdrobnionej i trwające w różnych ośrodkach badania, dotyczące wykorzystania surowca drzewnego

zdegradowanego przez grzyby oraz możliwości wytwarzania płyt ze zrębków podjęto badania dotyczące wpływu udziału zrębków porośniętych przez grzyby pleśniowe na właściwości płyt zrębkowych.

3. Cel i zakres pracy

Głównym, poznawczym celem pracy było zbadanie wpływu dodatku zrębków porośniętych grzybami pleśniowymi na właściwości wytworzonych z ich udziałem płyt zrębkowych.

Aby zrealizować cel główny pracy sformułowano również cel szczegółowy (zwany również pośredniczącym), który polegał na określeniu wpływu porośnięcia zrębków sosnowych grzybami pleśniowymi na ich właściwości fizykochemiczne.

Ponadto wyznaczono również następujące cele utylitarne: ustalenie czy rodzaj składowiska zrębków może mieć wpływ na rozwój grzybów pleśniowych oraz stwierdzenie czy istnieje możliwość zastosowania surowca przez nie porośniętego do wytwarzania płyt zrębkowych.

Zakres pracy podzielono na trzy etapy:

Etap I obejmował badania pozwalające na scharakteryzowanie surowca pod względem rozwoju mikroorganizmów oraz identyfikację rodzajów i gatunków grzybów pleśniowych porastających zrębki składowane na różnych typach składowisk:

- charakterystyka wymiarowa pozyskanych zrębków,
- analiza jakościowa grzybów pleśniowych porastających zrębki,
- określenie stopnia porośnięcia zrębków,
- określenie stężenia ergosterolu,
- określenie zawartości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej.

Etap II obejmował badania związane z wpływem inokulacji na właściwości chemiczne oraz fizyczne zrębków inkubowanych przez 3, 6 oraz 9 tygodni:

- przygotowanie inokulum oraz inokulacja zrębków,
- określenie stopnia porośnięcia zrębków,
- określenie stężenia ergosterolu,
- badanie mikroskopowe z wykorzystaniem techniki SEM,
- określenie składu chemicznego,
- ocena struktury chemicznej z wykorzystaniem analizy spektralnej FTIR,

- określenie ubytku masy,
- określenie higroskopijności zrębków.

Etap III obejmował badania określające wpływ udziału porośniętych zrębków na właściwości płyt zrębkowych:

- określenie gęstości nasypowej surowców,
- wytworzenie płyt zrębkowych,
- określenie gęstości płyt i charakterystyka ich budowy,
- określenie stężenia ergosterolu,
- określenie wytrzymałości na zginanie oraz modułu sprężystości przy zginaniu,
- określenie wytrzymałości na rozciąganie prostopadłe do płaszczyzn,
- określenie spęcznienia płyt na grubość oraz nasiąkliwości,
- określenie zawartości formaldehydu,
- określenie dynamiki rozkładu płyty przez grzyby rozkładające drewno.

4. Materiały i metody

4.1 Metodyka etapu I

W ramach etapu pierwszego przeprowadzono badania mające na celu charakterystykę surowca pochodzącego z różnych typów składowisk. Przeprowadzono oznaczenie stężenia ergosterolu, kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej oraz stopnia porośnięcia zrębków przez grzyby. Ponadto dokonano identyfikacji rodzajów i gatunków grzybów pleśniowych występujących na składowiskach zrębków.

4.1.1 Składowanie zrębków

Badania zostały przeprowadzone wykorzystując zrębki sosnowe (*Pinus Sylvestris* L.) składowane w stosach na następujących typach składowisk:

- placu wybetonowanym, zadaszonym – na terenie zakładu Barlinek Inwestycje Sp. z o.o. (52°99’47”N, 15°20’27”E). Składowisko oznaczono symbolem S-A,
- placu wybetonowanym, niezadaszonym – na terenie Zakładu Przemysłu Drzewnego w Kaliszu Pomorskim (oddział KPPD Szczecinek S.A.) (53°27’71”N, 15°87’75”E). Składowisko oznaczono symbolem S-B,
- placu niewybetonowanym, niezadaszonym – na terenie Tartaku Radwańscy (52°33’57”N, 16°08’75”E). Składowisko oznaczono symbolem S-C,
- w silosie – w tartaku Zębowo Sp. z o.o. (52°47’31”N, 16°06’61”E). Składowisko oznaczono symbolem S-D.

Zrębki składowane na powietrzu przechowywano przez 3 tygodnie ± 2 dni, natomiast czas składowania zrębków w silosie wynosił 2 tygodnie. Badania przeprowadzono w czerwcu. Warunki atmosferyczne występujące podczas składowania zostały scharakteryzowane na podstawie następujących parametrów: średniej temperatury powietrza (T), wilgotności względnej powietrza (RH) oraz sumy opadów (O). Wartości przedstawione w Tabeli 3 zostały obliczone na podstawie średnich wartości dobowych pozyskanych z Instytutu Meteorologii i Gospodarki Wodnej dla najbliżej położonej od składowiska stacji meteorologicznej.

Tabela 3. Warunki atmosferyczne podczas składowania zrębków

Składowisko	Lokalizacja stacji	T (°C)	RH (%)	O (mm)
S-A	Gorzów Wlkp.	18,26 ± 2,87	63,10 ± 7,88	0,32 ± 1,21
S-B	Mirosławiec	19,17 ± 2,98	59,50 ± 10,49	0,55 ± 1,57
S-C	Poznań	19,70 ± 3,25	54,80 ± 11,17	0,51 ± 1,59
S-D	Poznań	20,23 ± 2,95	55,45 ± 12,92	0,49 ± 1,83

Po zakończonym procesie magazynowania zrębki składowane na powietrzu (S-A, S-B, S-C) pobierano wykorzystując miejsca pobrania podobne do zastosowanych przez Heinek i in. (2013). Na wysokości stosu wyznaczono 3 punkty: przy gruncie lub placu, na 1 metrze wysokości oraz na 2 metrach wysokości. Zrębki pobierano ręcznie, przyjmując punkty pobrania na głębokości ok. 50 cm. W przypadku silosu materiał pobrano w sposób losowy ze względu na utrudniony dostęp. Niezależnie od typu składowiska, do dalszych analiz pobrano ok. 3 kg zrębków z każdego miejsca składowania.

4.1.2 Charakterystyka wymiarowa pozyskanych zrębków

Wymiary i współczynniki kształtu mieszaniny wiórów wyznacza się na podstawie pomiarów 100 – 500 sztuk wiórów pobranych z analizowanej mieszaniny (Drouet 1992). W związku z tym, na potrzeby etapu II badań, pobrano po 500 sztuk zrębków z każdego typu składowiska i wysuszono je w suszarce laboratoryjnej do wilgotności 10 ± 2%. Następnie określono ich długość, szerokość i grubość przy pomocy suwmiarki z dokładnością do 0,01 mm. Wartości średnie obliczone na podstawie pomiarów przedstawiono w Tabeli 4.

Tabela 4. Charakterystyka wymiarowa zrębków pochodzących z różnych składowisk

Symbol składowiska	Długość (mm)	Szerokość (mm)	Grubość (mm)
S-A	30,77	12,50	4,19
S-B	30,72	12,03	4,05
S-C	30,68	11,92	4,06
S-D	31,12	11,82	4,15

Na podstawie wartości przedstawionych w tabeli wyznaczono średnie wymiary liniowe zrębka reprezentującego mieszaniny składowane na czterech typach składowisk:

- długość 30,8 mm,
- szerokość 12,1 mm,
- grubość 4,1 mm.

4.1.3 Analiza jakościowa grzybów

Rodzaj grzybów. Pobrano po 10 ± 0,01 g zrębków pochodzących z każdego rodzaju składowisk**,** umieszczono je w 90 ml soli fizjologicznej (0,85% NaCl) i wytrząsano w celu wypłukania zarodników przez 30 minut. Następnie 1 ml uzyskanego płynu posiano na szalki Petriego oraz zalano upłynnioną pożywką RBC (*ang.* rose-bengal-chloramphenicol) z chloramfenikolem, stanowiącą podłoże wybiórcze do izolacji i określania liczby drożdży oraz pleśni. Inkubacje prowadzono przez 7 dni w temperaturze 25°C. Preparaty przyżyciowe przygotowano w kropli spłaszczonej z wyrosłych kolonii w stanie zarodnikowania. Identyfikacji rodzajów grzybów pleśniowych dokonywano na podstawie budowy aparatu rozmnażania przy pomocy mikroskopu odwróconego, połączonego z systemem cyfrowym do akwizycji obrazu OPTA-TECH, stosując powiększenie 400×. Metoda ta była wcześniej stosowana m.in. przez Szablewskiego i in. (2015) w celu identyfikacji grzybów pleśniowych, znajdujących się w treści jaj konsumpcyjnych.

Gatunek grzybów. Próbki zrębków z każdego składowiska wyłożono na pożywkę PDA (agar glukozowo-ziemniaczany). Następnie prowadzono inkubację mykobioty w 25°C przez 7 dni. Ze zrębków wyizolowano 21 czystych kultur grzybów pleśniowych. Grzybnie poszczególnych izolatów zostały pobrane po zakończeniu procesu inkubacji. Ekstrakcję genomowego DNA przeprowadzono korzystając z metody wykorzystanej wcześniej m.in. przez Stępnia i in. (2013), polegającej na wykorzystaniu bromku heksadecylotrimetyloamoniowego (CTAB). Ekstrakty DNA przechowywano w temperaturze -20°C. Poszczególne gatunki zidentyfikowano poprzez analizę sekwencji zmiennego fragmentu genu kodującego czynnik elongacji translacji tef-1α. Badane fragmenty były namnażane metodą PCR (łańcuchowej reakcji polimerazy), wykorzystując następującą parę starterów:

Ef728M-50 CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-30, Tef1R-50-GCCATCCTTGGAGATACCAGG-30. Przynależność gatunkową potwierdzono w oparciu o sekwencje regionu rybosomalnego DNA ITS1-ITS2 (*ang.* internal transcribed spacers). Do amplifikacji metodą PCR wykorzystano następujące startery (White i in. 1990): ITS4-5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3` i ITS5-5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3`. Reakcję PCR przeprowadzono w objętości 20 µL przy pomocy termocyklera C-1000 (Bio-Rad). Każda z probówek reakcyjnych zawierała 0,4 µL polimerazy DNA Phire II Hot Start II (Thermo Scientific), 4 µL 5× buforu do PCR, 12,5 pmol starteru przedniego/wstecznego, 2,5 mmol każdego deoksynukleotydu (dNTP) i 20 ng DNA grzybów. Zastosowano następujące warunki reakcji PCR: 30 s w 98°C (dla tef-1α), 5 s w 56°C (dla ITS1 – ITS2), 15 s w 72 °C i 1 min w 72°C. Amplikony zostały poddane elektroforezie w 1,5% (w/v) żelu agarozowym (Invitrogen) z barwnikiem Midori Green (Nippon Genetics Europe GmbH). W celu analizy sekwencji amplifikowane DNA zostało oczyszczone enzymatycznie przy pomocy egzonukleazy I (Thermo Scientific) i fosfatazy alkalicznej, pochodzącej z krewetek (SAP – *ang.* shrimp alkaline phosphatase) (Thermo Scientific). W tym celu wykorzystano następujący program: 30 min w 37°C i 15 min w 80°C. Fragmenty DNA były znakowane przy użyciu starteru przedniego i zestawu BigDyeTerminator 3.1 (Applied Biosystems), zgodnie z metodą opisaną przez Stępnia i Waśkiewicz (2013) oraz wytrącone 96%-owym etanolem. Sekwencje zostały odczytane z wykorzystaniem urządzenia Applied Biosystems (Applied Biosystems). Następnie zostały one dopasowane przy użyciu algorytmu BLAST (*ang.* Basic Local Alignment Search Tool) do szczepów referencyjnych, przypisanych indywidualnie poszczególnym gatunkom grzybów w GenBank Database. Przyporządkowania do gatunków referencyjnych dokonano zakładając, że sekwencja i nukleotydy zostały dopasowane w 99-100%. Metoda ta była wcześniej stosowana m.in. przez Tomczyka i in. (2018) w celu identyfikacji grzybów pleśniowych porastających skorupki jaj.

4.1.4 Oznaczanie stopnia porośnięcia zrębków

W celu oceny porośnięcia zrębków przez grzyby w okresie składowania wykorzystano metodykę zastosowaną przez Kwaśniewską-Sip i in. (2018) do oceny skuteczności fungicydów. W tym celu dokonano wizualnej oceny powierzchni 50-ciu

zrębków pochodzących z różnych typów składowisk, przy pomocy lupy o powiększeniu 10×. Porośnięcie przez grzyby oceniano na podstawie pięciostopniowej skali wykorzystanej przez Imken i in. (2020):

- klasa 0 = brak porośnięcia powierzchni,
- klasa 1 = 1 – 25% porośniętej powierzchni,
- klasa 2 = 26 – 50% porośniętej powierzchni,
- klasa 3 = 51 – 75% porośniętej powierzchni,
- klasa 4 = 76 – 100% porośniętej powierzchni.

4.1.5 Oznaczenie zawartości ergosterolu

Jedną z metod analizy chemicznej pozwalającej na określanie zanieczyszczenia powierzchni materiałów przez grzyby jest oznaczenie stężenia ergosterolu (Horbik 2019). Wykorzystano w tym celu metodę stosowaną wcześniej do analizy jego zawartości w korze (Szwajkowska-Michałek i in. 2019) oraz pyle drzewnym (Stuper-Szablewska i in. 2017; Szwajkowska-Michałek i in. 2020).

Do analizy pobrano 10 ± 0,5 g zrębków z każdego z analizowanych typów składowisk, które następnie zmielone zostały w młynku laboratoryjnym. Do dalszych analiz pobrane zostały trzy próbki o masie 0,1 ± 0,01 g. Zostały one umieszone w zakręcanych probówkach do kultur o pojemności 17 cm^3. Następnie przeprowadzona została ekstrakcja ergosterolu z jednoczesnym zmydlaniem, przebiegająca pod wpływem promieniowania mikrofalowego. W tym celu do zawartości probówek dodane zostały 2 cm^3 metanolu oraz 0,5 cm^3 2 M NaOH. Szczelnie zamknięte probówki do kultur zostały umieszczone w kuchence mikrofalowej Whirpool AVM 401/1/WH. Próby poddano promieniowaniu o mocy 350 W w dwóch sesjach, trwających po 20 sekund każda. Po schłodzeniu (ok. 15 min) próby zostały zobojętnione przy pomocy 1 M HCl. Następnie dodano 2 cm^3 metanolu i przeprowadzono ekstrakcję ergosterolu za pomocą pentanu (3 × 4 cm^3). Zebrane ekstrakty pentanowe połączono w fiolce i odparowano do sucha w strumieniu azotu. Przed przystąpieniem do dalszych badań próbki rozpuszczono w 1 cm^3 metanolu. Analiza została przeprowadzona przy pomocy ultrasprawnego chromatografu cieczowego Aquity H Class UPLC System wyposażonego w Water Acquity PDA Detector. Rozdziału chromatograficznego dokonywano na kolumnie Acquity UPLC BEH C18 o wymiarach 100 mm × 2,1 mm i średnicy cząsteczek 1,7 μm. Jako fazę

wymywającą zastosowano mieszaninę metanolu, acetonitrylu oraz wody w stosunku 85:10:5 (v/v/v). Stężenie ergosterolu określono metodą wzorca zewnętrznego przy długości fali λ = 282 nm. Związek identyfikowano na podstawie porównania czasów retencji badanego piku oraz oryginalnego standardu poprzez dodanie określonej ilości standardu do badanej próbki i powtórną analizę.

4.1.6 Oznaczanie zawartości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej

Zdaniem Mansour i in. (2020) degradacja drewna przez grzyby powoduje wzrost zawartości kwasów organicznych. Ponadto wzrost ich stężenia zdaniem Autorów prowadzi do przyśpieszenia degradacji drewna. W związku z tym postanowiono wykonać analizę zawartości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej (LMWOAs - *ang*. low molecular weight organic acids) w zrębkach pozyskanych z różnych typów składowisk, wykorzystując metodykę zastosowaną m.in. przez Gąsecką i in. (2020). Do analizy pobrano 10 ± 0,5 g zrębków z każdego ze składowisk, które następnie zmielono w młynku laboratoryjnym. Do dalszych analiz pobrane zostały trzy próbki o masie 0,1 ± 0,01 g. Oznaczenie przeprowadzono przy pomocy ultrasprawnego chromatografu cieczowego Aquity H Class UPLC System. Rozdział chromatograficzny wykonano z wykorzystaniem kolumny Aquity UPLC BEH C18 o wymiarach 150 mm × 2,1 mm i wielkości cząstek 1,7 µm w temperaturze 35°C. Jako fazę wymywającą zastosowano wodę oraz acetonitryl (zawierające 0,1% kwasu mrówkowego, pH = 2) przy przepływie 0,4 mL/min. Oznaczenie przeprowadzono z wykorzystaniem detektora Water Acquity PDA Detector przy długości fali λ = 280 nm, preferowanej dla kwasów mlekowego, octowego, malonowego, maleinowego, mrówkowego, szczawiowego, jabłkowego, cytrynowego, bursztynowego, fumarowego i chinowego. Związki zidentyfikowano porównując czas retencji badanego piku z czasem retencji standardu, poprzez dodanie określonej ilości standardu do badanej próbki i powtórną analizę. Oznaczenie ilościowe wykonano porównując pola powierzchni pików zarejestrowanych przy długości fali 280 nm oraz krzywej kalibracyjnej pozyskanej z komercyjnych standardów każdego ze związków.

4.2 Metodyka etapu II

W ramach etapu drugiego przygotowano inokulum, wykorzystując zarodniki rodzajów grzybów zidentyfikowanych w pierwszym etapie prowadzonych badań. Następnie zbadano wpływ porośnięcia przez grzyby pleśniowe na właściwości zrębków inkubowanych przez 3, 6 oraz 9 tygodni.

4.2.1 Surowiec drzewny

Zrębki sosnowe (*Pinus Sylvestris* L.) pozyskano po zakończeniu procesu skrawania okorowanego drewna w Koszalińskim Przedsiębiorstwie Przemysłu Drzewnego (KPPD) Szczecinek S.A., jednego z największych producentów tarcicy w Polsce. Zrębki zostały przesiane przez sito o bokach oczek 50 mm × 50 mm. Pozostałe po przesortowaniu pojedyncze fragmenty kory usunięto ręcznie.

Zarówno wilgotność drewna (Hukka i Viitanen 1999), jak i wielkość cząstek (Idler i in. 2019) wpływają na rozwój mikroorganizmów. W związku z tym dokonano charakterystyki każdej partii zrębków przed umieszczeniem ich w komorze i opryskiem inokulum.

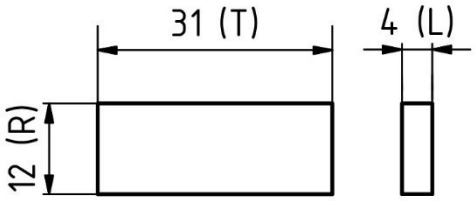
Wilgotność zrębków (W). Bezpośrednio przed inokulacją z każdej partii materiału pobrano 20 zrębków i określono ich wilgotność bezwzględną metodą suszarkowo-wagową, zgodnie z PN-77/D-04100 (1978).

Wymiary i kształt wiórów. Bezpośrednio przed inokulacją z każdej partii pobrano po 500 zrębków w celu określenia ich wymiarów: długości (l), szerokości (b) oraz grubości (a) przy użyciu suwmiarki, z dokładnością do 0,01 mm. Ponadto w celu scharakteryzowania kształtu zrębków wykorzystano współczynniki kształtu (Tabela 5), obliczone na podstawie zmierzonych średnich wymiarów liniowych.

Tabela 5. Współczynniki kształtu zrębków

Symbol	Nazwa współczynnika	Wzór
Ψ	Stopień płaskości	$\Psi = \frac{b}{a}$
λ	Stopień smukłości	$\lambda = \frac{l}{a}$
m	Współczynnik szerokości	$m = \frac{l}{b}$

W celu przeprowadzenia analizy FTIR oraz wykorzystania techniki SEM, oprócz zrębków sosnowych, inokulowano również modelowe równoległościany o wymiarach określonych na podstawie wyników pomiarów przedstawionych w punkcie 4.1.2. W tym celu z tarcicy sosnowej (*Pinus Sylvestris* L.) wycięto wzdłużnie równoległościenny, podłużny element, który następnie podzielono poprzecznie w celu uzyskania założonych wymiarów (Rycina 4).



Ryc. 4. Wymiary modelowych elementów (R – wymiar mierzony w kierunku promieniowym, T – wymiar mierzony w kierunku stycznym, L – wymiar mierzony w kierunku wzdłużnym)

Powodem zastosowania modelowych elementów równoległościennych do badań FTIR była możliwość wyeliminowania zmienności promieniowej, występującej w zawartości np. węglowodanów czy kwasów tłuszczowych (Saranpaa i Holl 1989, Fischer i Holl 1992). Ponadto w przypadku techniki SEM regularny kształt próbki ułatwił jej zamontowanie i sfotografowanie przekroju poprzecznego. Charakterystyka drewna wykorzystanego do wykonania elementów modelowych przedstawiona została w Tabeli 6.

Tabela 6. Charakterystyka drewna wykorzystanego w badaniach

Udział drewna późnego (%)	Przeciętna szerokość przyrostu rocznego (mm)	Gęstość w stanie całkowicie suchym (kg/m^3)
39,39	0,41	516,6

Udział drewna późnego obliczono ze wzoru:

$$Dp = \frac{p}{l} \times 100\%$$

gdzie:

Dp – udział drewna późnego, %

p – suma przyrostów drewna późnego, mm

l – długość odcinka pomiarowego, mm

Pomiary wykonano przy użyciu przyrostomierza BIOtronik BEPD-19.

Przeciętną szerokość przyrostu rocznego obliczono ze wzoru:

$$s = \frac{l}{N}$$

gdzie:

s – przeciętna szerokość przyrostu rocznego, mm

l – długość odcinka pomiarowego, mm

N – liczba słojów na długości odcinka pomiarowego, szt.

Pomiary wykonano przy użyciu przyrostomierza BIOtronik BEPD-19.

Gęstość w stanie całkowicie suchym określono jako iloraz masy próbki w stanie całkowicie suchym oraz objętości próbki w stanie całkowicie suchym.

4.2.2 Przygotowanie inokulum oraz inokulacja zrębków

Do produkcji inokulum wykorzystano następujące rodzaje grzybów pleśniowych: *Aspergillus* oraz *Penicillium*. Izolaty inkubowano na pożywce agarowej przez 4 tygodnie. Zawartość płytek wymywano solą fizjologiczną, aby uzyskać zawiesiny zarodników. Stężenie zawiesin zarodników ustalono za pomocą hematokrytu na ok. 5×10^5 zarodników/ml. Zawiesiny zarodników poszczególnych rodzajów grzybów zmieszano w proporcjach 1:1. Materiał opryskiwano zawiesiną w ilości 100 ml zawiesiny na 1 kg zrębków.

Inokulowany materiał przechowywano przez 3, 6 lub 9 tygodni (Tabela 7) w komorach zapewniających warunki kontrolowanej temperatury i wilgotności względnej powietrza. Na potrzeby inkubacji zastosowano temperaturę 20°C oraz wilgotność względną 95%, uzyskiwaną poprzez utrzymywanie materiału nad przesyconym roztworem siarczanu (VI) potasu.

Tabela 7. Analizowane warianty zrębków

Symbol	Charakterystyka materiału
Z-0	Zrębki nieinokulowane
Z-3	Zrębki inokulowane, inkubowane przez 3 tygodnie
Z-6	Zrębki inokulowane, inkubowane przez 6 tygodni
Z-9	Zrębki inokulowane, inkubowane przez 9 tygodni

4.2.3 Oznaczenie stopnia porośnięcia zrębków

Po zakończeniu założonego okresu inkubacji z komory pobrano 50 zrębków w celu określenia stopnia porośnięcia ich powierzchni przez grzyby. W tym celu wykorzystano metodę oraz skalę scharakteryzowane w punkcie 4.1.4.

4.2.4 Oznaczenie zawartości ergosterolu

Ze zrębków inkubowanych przez 3, 6 oraz 9 tygodni pobrano po 10 ± 0,05 g materiału, a następnie przeprowadzono oznaczenie analogicznie jak w punkcie 4.1.5.

4.2.5 Badanie mikroskopowe (SEM)

W celu sfotografowania przekroju poprzecznego drewna z wykorzystaniem techniki SEM, z każdego inokulowanego wariantu pobrano przygotowany zgodnie z punktem 4.2.1. równoległościenny element modelowy. Próbki wysuszono wcześniej w eksykatorze pod próżnią nad P_2O_5. W celu przeprowadzenia badań wykorzystano elektronowy mikroskop skaningowy Hitachi SU 3500, stosując powiększenie 250× oraz napięcie przyspieszające 15 kV.

4.2.6 Oznaczanie składu chemicznego

Przygotowanie surowca do analizy składu podstawowego. W celu przeprowadzenia badań składu podstawowego drewna pobrano po 100 ± 0,1 g drewna z każdego wariantu, po zakończonej inkubacji. Przed przystąpieniem do analiz zrębki zostały wysuszone w suszarce laboratoryjnej do wilgotności 10 – 12%, a następnie zmielone w młynku nożowym (Zborowska 2010). Otrzymane drewno przesiewano na sitach w celu uzyskania frakcji wymiarowej 0,1 – 0,4 mm, którą ostatecznie wykorzystano do przeprowadzenia analiz zgodnie z normą TAPPI (*ang.* Technical

Association of the Pulp and Paper Industry) T 264 cm-07. Każde z oznaczeń wykonano w trzech powtórzeniach.

Oznaczenie zawartości substancji rozpuszczalnych w rozpuszczalnikach organicznych. Oznaczenie polegało na ekstrakcji etanolem przy użyciu aparatu Soxhleta zgodnie z normą TAPPI – T 204 cm-07.

Oznaczenie zawartości holocelulozy. Oznaczenie przeprowadzono metodą chlorynową (Browning 1967) z wykorzystaniem $NaClO_2$.

Oznaczenie zawartości celulozy. Zawartość celulozy określono przy pomocy metody Seiferta z wykorzystaniem mieszaniny acetyloacetonu i dioksanu (Seifert 1960).

Oznaczenie zawartości hemiceluloz. Zawartość hemiceluloz została obliczona teoretycznie jako różnica pomiędzy zawartością holocelulozy i celulozy (Waliszewska i in. 2019; Gąsecka i in. 2021).

Oznaczenie zawartości ligniny. Oznaczenie przeprowadzono zgodnie z normą TAPPI – T 222 om-06, wykorzystując stężony kwas siarkowy.

Oznaczenie zawartości pentozanów. Ilościowe oznaczenie pentozanów przeprowadzono metodą Tollensa, polegającą na hydrolizie drewna 13-procentowym kwasem solnym i wytrąceniem utworzonego furfuralu kwasem barbiturowym (Dziurzyński 2010).

Oznaczenie pH. Wykorzystano metodykę stosowaną przez Nemli i in. (2018) i Mirskiego i in. (2020c) zastosowaną do oznaczenia pH drewna oraz kory. W tym celu pobrano 3 ± 0,01 g zmielonego wcześniej surowca. Naważkę drewna gotowano w 100 ml wody destylowanej przez 30 min, a następnie po przesączeniu określono pH wodnego ekstraktu przy pomocy pH-metru Testo 206.

Oznaczenie pH powierzchni. Przy pomocy skalpela z powierzchni zrębków zeskrawano warstwę drewna o grubości ok. 1 mm. Po uzyskaniu odpowiedniej ilości materiału został on zmielony w młynku nożowym oraz przesiany w celu uzyskania frakcji 0,1 – 0,4 mm. Wykorzystano tę samą metodę przygotowywania ekstraktów oraz oznaczania pH jak w przypadku zmielonych zrębków.

Oznaczenie zawartości popiołu. Zawartość popiołu została oznaczona poprzez wyprażenie naważki drewna w piecu muflowym w temperaturze 525°C, zgodnie z normą TAPPI – T 211 om-16.

4.2.7 Analiza spektralna FTIR

W celu określenia wpływu porośnięcia grzybami pleśniowymi na strukturę chemiczną drewna wykorzystano powszechnie stosowaną spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera. Zaletami tej techniki są bardzo niewielkie ilości czasu oraz materiału potrzebnych do przeprowadzenia analizy (Chen i in. 2010; Traore i in. 2016). Wykorzystuje się ją m.in. do oceny struktury składników drewna, wpływu działania różnych czynników degradacyjnych (Pandey i Pitman 2003) oraz środków zabezpieczających (Woźniak i in. 2020). Przygotowane wcześniej równoległościany sosnowe (punkt 4.2.1.) o masie 5 ± 0,01 g, pozyskane z partii nieinokulowanej oraz partii poddanych inokulacji zmielono w młynku laboratoryjnym i przesiewano przez zestaw sit o boku oczek 0,25; 0,2 i 0,125 mm. Do analizy wykorzystano frakcję przechodzącą przez sito o oczkach 0,125 mm × 0,125 mm. Materiał suszono w eksykatorze pod próżnią nad P_2O_5. Próbki do badań w podczerwieni przygotowano techniką pastylkowania z bezwodnym KBr. Pastylki wykonano wykorzystując mieszaninę drewna i KBr w stosunku wagowym 1 : 200. Widma zarejestrowano przy pomocy spektrofotometru Bruker FTIR IFS 66/s z transformacją fourierowską w zakresie 500 – 4000 cm^{-1}, z rejestracją 32 skanów.

4.2.8 Określenie ubytku masy zrębków

Przed inokulacją z każdej partii wysuszono 20 zrębków do stałej masy w temperaturze 102 ± 1°C. Następnie oznaczono ich masę z dokładnością 0,001 g. Przygotowane w ten sposób zrębki umieszczono w komorze razem z pozostałym materiałem. Po ukończeniu czasu inkubacji ponownie określono ich masę z dokładnością 0,001 g, po wcześniejszym wysuszeniu do stałej masy w temperaturze 102 ± 1°C. Ubytek masy (*ML*) obliczono ze wzoru:

$$ML = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%$$

gdzie:

m_1 – masa zrębka przed inokulacją, g

m_2 – masa zrębka po zakończeniu inkubacji, g.

4.2.9 Określenie higroskopijności zrębków

Do określenia wpływu inokulacji grzybami na higroskopijność zrębków wykorzystano metodykę użytą przez Siudę (2019) do oceny higroskopijności drewna modyfikowanego trialkoksysilanami. W tym celu pobrano 10 ± 0,05 g zrębków z każdego wariantu oraz zmielono je w młynku nożowym, w celu uzyskania cząstek przechodzących przez sito o boku kwadratowego oczka 0,2 mm. Z pozyskanego materiału uformowano 10 pastylek przy pomocy prasy ręcznej. Średnica pastylki powstałej z naważki pyłu o masie 1 ± 0,01 g wynosiła 12 mm. Wytworzone pastylki wysuszono w suszarce laboratoryjnej do stałej masy w temperaturze 102 ± 1°C, a następnie umieszczono je w szczelnie zamkniętych kontenerach nad przesyconym roztworem fosforanu (V) amonu. Wykorzystanie soli zapewniało warunki względnej wilgotności powietrza na poziomie 90 – 95%. Pomiaru masy pastylek dokonywano po upływie 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 24 h, 48 h, 72 h oraz 120 h

4.3 Metodyka etapu III

W ramach etapu III określono wpływ udziału inokulowanych zrębków, poddanych różnym okresom inkubacji na właściwości wytworzonych płyt zrębkowych.

4.3.1 Przygotowanie surowców do wytwarzania płyt

Do wytworzenia płyt zrębkowych wykorzystano zrębki sosnowe (*Pinus Sylvestris* L.) pozyskane z KPPD Szczecinek S.A. Materiał przesiewano z wykorzystaniem sita o oczkach 50 mm × 50 mm. Pozostałe w przesortowanej mieszaninie pojedyncze fragmenty kory usuwano ręcznie. Następnie zrębki wysuszono w suszarce bębnowej do wilgotności bezwzględnej 3 ± 1% w temperaturze 120°C.

Gęstość nasypowa wszystkich wariantów surowca wykorzystanych do wytworzenia płyt została oznaczona poprzez zważenie z dokładnością do 0,1 g zrębków usypywanych luźno w zlewce o pojemności 5000 cm^3.

Jako środek wiążący do produkcji płyt zastosowano żywicę mocznikowo-formaldehydową (UF), która jest powszechnie wykorzystywana do produkcji tworzyw drzewnych. Wśród jej zalet wymienia się m.in. wysoką reaktywność, dużą wytrzymałość połączeń w warunkach niepodwyższonej wilgotności, bezbarwne spoiny oraz stosunkowo niską cenę. Przed przystąpieniem do operacji zaklejania zrębków przeprowadzone zostały badania podstawowych właściwości żywicy.

Określenie czasu żelowania w temperaturze 100°C przeprowadzono zgodnie z normą PN-C-89352-3 (1996).

Lepkość określono metodą Brookfielda według PN-ISO 2555 (2018) przy użyciu wiskozymetru rotacyjnego Brookfield DV-II+Pro.

pH przy użyciu pH-metru Testo 206.

Umowną zawartość suchej substancji określono zgodnie z PN-EN 827 (2006).

W tabeli 8 zostały przedstawione zbadane oraz deklarowane przez producenta właściwości zastosowanej żywicy.

Tabela 8. Charakterystyka wykorzystanej w badaniach żywicy UF

Parametr	Jednostka	Wartość zbadana	Wartość deklarowana
Czas żelowania	s	71	maks. 110
Lepkość	mPa×s	749	500 – 900
pH	-	8,1	7,5 – 8,5
Umowna zawartość suchej substancji	%	67,6	min. 65

Właściwości przedstawione w tabeli są charakterystyczne dla żywic UF stosowanych w procesie produkcji płyt wiórowych (Drouet 1992; Pizzi 2003).

Jako utwardzacz żywicy UF zastosowano 20%-owy wodny roztwór azotanu amonu (NH_4NO_3) zgodnie z zaleceniami Aras i in. (2015).

4.3.2 Wytwarzanie płyt zrębkowych

W celu przeprowadzenia badań wytworzono 10 wariantów jednowarstwowych płyt zrębkowych (Tabela 9) o wymiarach 700 mm × 580 mm × 20 mm oraz założonej gęstości 500 kg/m^3. Zastosowane zostały następujące parametry prasowania:

- temperatura 190°C,
- ciśnienie jednostkowe 2,5 N/mm^2,
- czas 20 s/mm grubości płyty.

Stopień zaklejenia zrębków żywicą UF wynosił 6%, utwardzacz dodawano do żywicy w ilości 3% w stosunku do suchej masy żywicy.

Tabela 9. Warianty wytworzonych płyt

Symbol	Udział porośniętych zrębków (%)	Wariant porośniętych zrębków
0	0	-
3-30	30	Z-3
3-50	50	Z-3
3-70	70	Z-3
6-30	30	Z-6
6-50	50	Z-6
6-70	70	Z-6
9-30	30	Z-9
9-50	50	Z-9
9-70	70	Z-9

4.3.3 Badania właściwości płyt

Badania właściwości fizykomechanicznych płyt zrębkowych przeprowadzono z zastosowaniem następujących metod:

Gęstość płyt określono według PN-EN 323 (1999).

Profil gęstości przekroju poprzecznego próbek z każdego wariantu o wymiarach 50 mm × 50 mm × grubość płyty zbadano przy użyciu aparatu GreCon DA-X.

Obraz tomografii komputerowej wytworzonych płyt. Zdjęcia struktury próbek płyty o wymiarach 50 mm × 50 mm × grubość płyty wykonano przy użyciu tomografu 3D z funkcją pantomografu i cefalostatem Hyperion X9 Pro. Zamieszczone fotografie zostały wykonane w połowie długości próbki.

Zawartość ergosterolu. Podczas wycinania próbek do badań na pilarce tarczowej zebrano po 10 ± 0,5 g trocin i pyłu, powstałego w trakcie rozkroju płyt z każdego wariantu. Analizę stężenia ergosterolu przeprowadzono chromatograficznie zgodnie z punktem 4.1.5.

Wytrzymałość na zginanie statyczne oraz moduł sprężystości przy zginaniu określono według PN-EN 310 (1994).

Wytrzymałość na rozciąganie w kierunku prostopadłym do płaszczyzn płyty określono według PN-EN 319 (1999).

Spęcznienie płyty na grubość po moczeniu w wodzie określono według PN-EN 317 (1999).

Nasiąkliwość. Próbki o wymiarach 50 mm × 50 mm × grubość płyty zważono przed zanurzeniem z dokładnością do 0,001 g. Po zanurzeniu w wodzie zbadano przyrost masy z dokładnością do 0,001 g po 2 h i 24 h moczenia. Nasiąkliwość obliczono według wzoru:

$$WA = \frac{m_2 - m_1}{m_1} \times 100\%$$

gdzie:

WA – nasiąkliwość wyrażona w %,

m_1 – masa próbki przed zanurzeniem w wodzie, g

m_2 – masa próbki po moczeniu, g.

Zawartość wolnego formaldehydu określono z wykorzystaniem metody ekstrakcyjnej, zwanej również metodą perforatora zgodnie z PN-EN 120 (1994).

Badania rozkładu płyty przez grzyby rozkładające drewno przeprowadzono według PN-EN 113 (2000). Do przeprowadzenia eksperymentu wykorzystano próbki o znanej gęstości i wymiarach 50 mm × 50 mm × grubość płyty. W celu określenia ubytku masy płyt zrębkowych wykorzystano grzyb *Coniophora puteana* (Schumacher ex Fries) Karsten (BAM Ebw. 15). Czas inkubacji wynosił 16 tygodni.

4.4 Analiza statystyczna wyników

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, którą wykonano z wykorzystaniem dedykowanego programu Statistica 13.3. Rozkłady empiryczne cechy zostały przedstawione przy pomocy histogramów, ich interpretacje natomiast przeprowadzono przy pomocy testu Shapiro-Wilka. Test ten jest powszechnie stosowany do sprawdzenia normalności rozkładu zmiennych losowych. W celu zbadania wpływu czynników, będących zmiennymi niezależnymi na zmienną zależną zastosowano jedno- i wieloczynnikową analizę wariancji ANOVA. Podczas analizy

uzyskanych wyników zastosowano następujące testy statystyczne: Fishera, t-Studenta, HSD (*ang.* honest significant difference) Tukeya oraz Kruskala-Wallisa na poziomie istotności statystycznej $\alpha = 0{,}05$. Zastosowanie wymienionych testów pozwoliło na ocenę istotności różnic oraz wyodrębnienie grup jednorodnych.

5. Wyniki badań i dyskusja

5.1 Wyniki badań etapu I

5.1.1 Analiza jakościowa grzybów

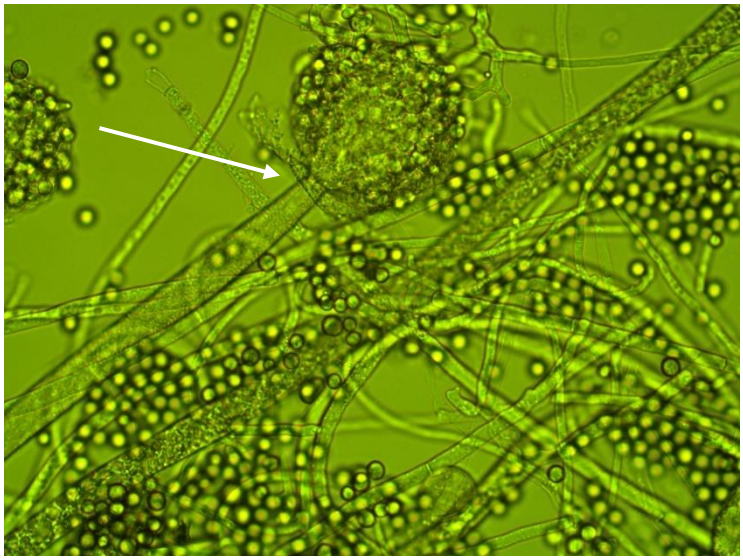
W tabeli 10 zostały przedstawione rodzaje grzybów pleśniowych zidentyfikowanych na podstawie analizy obrazu mikroskopowego przygotowanych preparatów.

Tabela 10. Rodzaje grzybów pleśniowych porastających zrębki na składowiskach

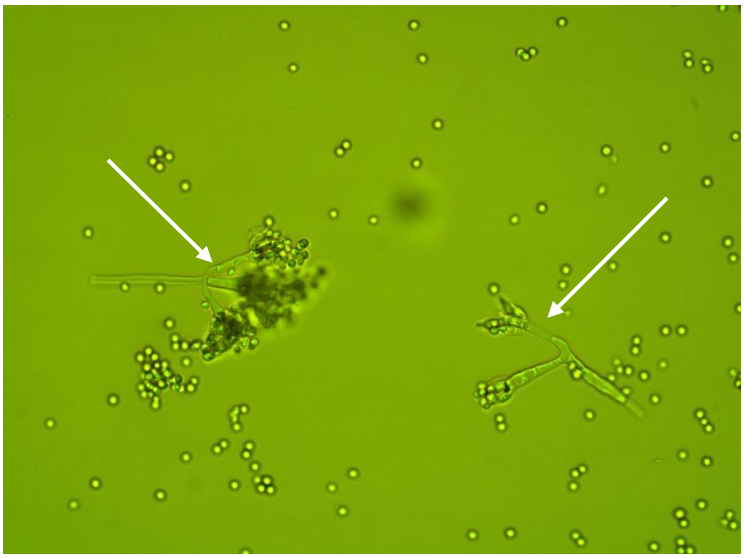
Symbol składowiska	Rodzaje zidentyfikowanych grzybów pleśniowych
S-A	*Aspergillus, Penicillium*
S-B	*Aspergillus, Penicillium*
S-C	*Aspergillus, Penicillium*
S-D	*Penicillium*

Rodzaje *Aspergillus* i *Penicillium* powszechnie występują zarówno w środowiskach zewnętrznych, jak i wewnątrz pomieszczeń. Trojanowska i in. (2014) wyróżnia te rodzaje jako najważniejszych przedstawicieli grzybów mikroskopowych z klasy workowców (*Ascomycetes*). Rodzaj *Penicillium* liczy ok. 220 gatunków, natomiast *Aspergillus* składa się z ok. 160 gatunków (Grinn-Gofroń 2010). Kolonie rodzaju *Aspergillus* zabarwione są na różne kolory zieleni – od bardzo jasnej zieleni, przez szarozielony, po odcienie brązowo-zielone lub czarny (Grinn-Gofroń 2010). Kolonie rodzaju *Penicillium* charakteryzują się płaską, aksamitną lub wełnistą strukturą. Początkowo mają one kolor biały, który wraz z upływem czasu zmienia się w zielono-niebieski, różowy, żółty lub szary (Gal 2016).

Ryciny 5 oraz 6 przedstawiają obrazy mikroskopowe aparatów konidialnych, których charakterystyczna budowa pozwoliła na identyfikację rodzajów grzybów.



Ryc. 5. Aparat konidialny rodzaju *Aspergillus*



Ryc. 6. Aparat konidialny rodzaju *Penicillium*

Rozwojowi grzybni towarzyszy rozwój aparatów konidialnych służących do rozmnażania wegetatywnego. W przypadku rodzaju *Aspergillus* aparaty przypominają wyglądem kropidło, stąd prawdopodobnie polska nazwa kropidlak (Rycina 5). Konidiofory (zwane również strzępkami zarodnikonośnymi) nie posiadają przegród, zakończone są kolumellą – kulistą główką w kształcie pęcherzyka. Na jej powierzchni rosną fialidia zwane sterigmami, z których z kolei wyrastają konidia ułożone w łańcuszkach. Aparaty konidialne grzybów rodzaju *Penicillium* są delikatniejsze i mają mniejsze rozmiary (Rycina 6). Przypominają wyglądem pędzelki, stąd

prawdopodobnie ich polska nazwa pędzlaki. Konidiofory nie tworzą kolumelli jak w przypadku rodzaju *Aspergillus*, tworzą natomiast struktury rozgałęzione. Rozgałęzienia zwane metulami mogą być dwu- lub trzypiętrowe. Na metulach rosną sterigmy, na których następnie wyrastają w łańcuszkach konidia. Zarodniki konidialne zarówno rodzaju *Aspergillus,* jak i *Penicillium* opadają na różnego rodzaju podłoża oraz kiełkują, dając tym samym początek nowym strzępkom (Trojanowska i in. 2014). O powszechności występowania obu rodzajów świadczą badania aerobiologiczne przeprowadzone na terenie Dublina, których rezultaty pokazały, iż zarodniki grzybów rodzaju *Aspergillus* oraz *Penicillium* są obecne w powietrzu przez cały rok (Grinn-Gofroń 2010).

Przeprowadzone analizy genetyczne umożliwiły zidentyfikowanie gatunków grzybów rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium*. Struktura gatunkowa przedstawiona została w Tabeli 11.

Tabela 11. Gatunki grzybów pleśniowych porastających zrębki na składowiskach

Symbol składowiska	Gatunki zidentyfikowanych grzybów pleśniowych
S-A	*Aspergillus clavatus, Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Penicillium brevi-compactum, Penicillium citrinum, Penicillium expansum, Penicillium purpurogenum*
S-B	*Aspergillus flavus, Aspergillus fumigatus, Aspergillus niger, Aspergillus versicolor, Penicillium adametzii, Penicillium brevi-compactum, Penicillium citrinum, Penicillium expansum*
S-C	*Aspergillus clavatus, Aspergillus flavus, Aspergillus fumigatus, Aspergillus niger, Aspergillus terreus, Penicillium brevi-compactum, Penicillium citrinum, Penicillium expansum, Penicillium notatum, Penicillium purpurogenum*
S-D	*Penicillium adametzii, Penicillium aurantiogriseum. Penicillium brevi-compactum, Penicillium citrinum,*

	Penicillium commune, Penicillium expansum. *Penicillium purpurogenum*

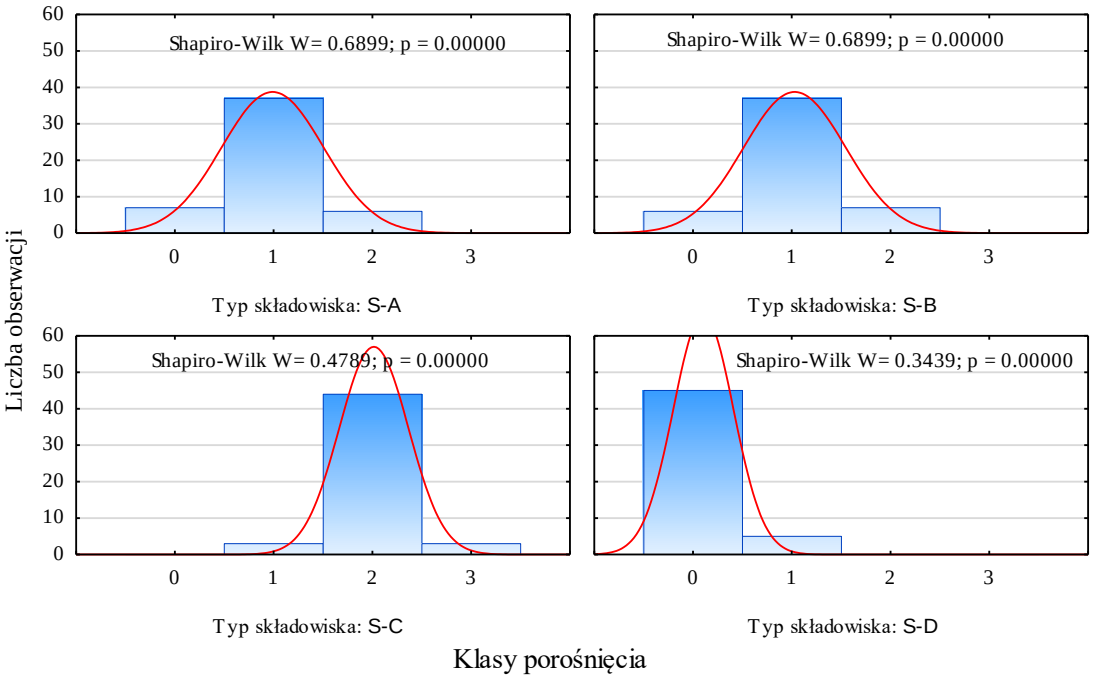
Najmniejsze zróżnicowanie wśród rodzajów, a w konsekwencji również gatunków grzybów porastających, wykazywały zrębki składowane w silosie. Przyczyną najprawdopodobniej było ograniczenie wpływu zmiennych warunków atmosferycznych oraz nieco krótszy czas eksperymentu w porównaniu ze składowiskami na powietrzu. W przypadku zrębków składowanych na zewnątrz, zmienne warunki atmosferyczne mogą przyczyniać się do zmian wilgotności oraz temperatury, które mają istotny wpływ na rozwój mikroorganizmów. Ponadto według Alakoski i in. (2016) zmiany wilgotności oraz temperatury mogą wpływać na dyfuzję tlenu oraz innych gazów wewnątrz stosu zrębków. Zdaniem Alakoski i in. (2016) składowiska na powietrzu są szczególnie narażone na kolonizację przez mikroorganizmy ze względu na oddziaływanie podwyższonej wilgotności. Ponadto Haga i in. (2014) stwierdzili, iż głównym mechanizmem odpowiadającym za rozprzestrzenianie się zarodników jest wiejący wiatr. Ich wysokie stężenie w powietrzu na składowiskach jest istotnym zagrożeniem z punktu widzenia pracowników obsługujących place składowania. Obecność zarodników może prowadzić do licznych reakcji alergicznych, trudności z oddychaniem itd. (Mullerova i Puskajler 2014). Największe zróżnicowanie gatunkowe wykazano w przypadku placu niewybetonowanego, niezadaszonego. Przyczyną prawdopodobnie był bezpośredni kontakt zrębków z glebą oraz zdolność przemieszczania się zarodników grzybów z gleby w głąb stosu (Noll i Jirjis 2012; Alakoski i in. 2016). Jedną z cech charakterystycznych gleb jest ich aktywność biologiczna (Galus-Barchan i Paśmionka 2014). Powodem powtarzającej się obecności grzybów pleśniowych rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium* wśród identyfikowanych grzybów glebowych jest ich zdolność do zasiedlania środowisk niesprzyjających dla większości pozostałych grzybów (Piontek 1999). Zdaniem Kowalika (1994) nawet długotrwałe susze nie stanowią dla nich ograniczenia, w przeciwieństwie do dużej ilości innych rodzajów.

W badaniach Liesovsky i in. (2017) oraz Suchomel i in. (2014) wśród rodzajów grzybów zidentyfikowanych podczas składowania zrębków znajdowały się również rodzaje *Aspergillus* oraz *Penicillium*. Struktury gatunkowe przedstawione przez

Autorów charakteryzowały się jednak znacznie większą różnorodnością. Wśród zidentyfikowanych mikroorganizmów znalazły się bowiem również grzyby pleśniowe rodzajów np. *Mucor, Trichoderma, Fusarium* czy *Rhizopus*, których nie stwierdzono w przypadku badanych zrębków. Rodzaje te liczą wiele gatunków, które powszechnie występują zarówno w środowiskach zewnętrznych, jak i mieszkalnych. Przyczyną większego zróżnicowania gatunkowego prawdopodobnie był dłuższy czas trwania eksperymentu w odniesieniu do zastosowanego w pracy (w obu przywoływanych badaniach zrębki składowano przez ok. 6 miesięcy).

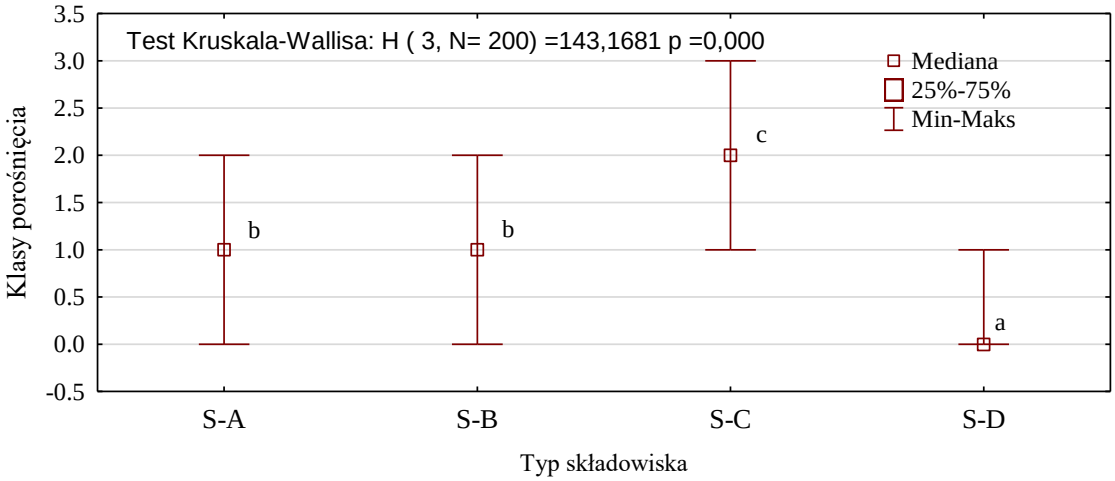
5.1.2 Stopień porośnięcia

Na rycinie 7 przedstawiono histogramy stopnia porośnięcia zrębków pochodzących z różnych składowisk, z których wynika, że w przypadku każdego ze składowisk nie stwierdzono rozkładu normalnego analizowanej cechy (wartość $p < 0,05$).



Ryc. 7. Histogramy stopnia porośnięcia zrębków pochodzących z różnych składowisk

Jak z danych przedstawionych na Rycinie 8 stopień porośnięcia zrębków wahał się w zależności od typu składowiska od klasy 0, oznaczającej brak widocznego porośnięcia na powierzchni drewna, do klasy 2, którą charakteryzowało 26 – 50% porośniętej powierzchni.



Ryc. 8. Stopień porośnięcia zrębków składowanych na różnych typach składowisk (litery a, b, c oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście Kruskala-Wallisa)

Wyniki testu Kruskala-Wallisa, stanowiącego nieparametryczny odpowiednik jednoczynnikowej analizy wariancji, wskazują na istotne różnice pomiędzy wszystkimi analizowanymi składowiskami, z wyjątkiem składowiska wybetonowanego zadaszonego oraz wybetonowanego niezadaszonego, pomiędzy którymi różnice okazały się nieistotne statystycznie. Badania przeprowadzone przez Harrisa (1988) oraz Wasterlund i in. (2017) wskazują, iż zadaszenie placu może mieć wpływ na właściwości, takie jak ubytek masy (który z kolei może być związany z działalnością grzybów (Kropacz i Fojutowski 2014)), dynamikę zmian wilgotności zrębków czy ich wartość opałową. W obu przypadkach jednakże analizowano zmiany właściwości zrębków przeznaczonych do celów energetycznych, składowanych przez okres 6 miesięcy. Można zatem przypuszczać, iż brak istotnych różnic wynikających z zadaszenia lub przykrycia materiału na placu składowania może być rezultatem krótszego czasu eksperymentu. Pozostałe wyniki oraz występujące różnice korespondują z zaobserwowanym zróżnicowaniem gatunkowym. Najniższą klasą porośnięcia charakteryzowały się zrębki przechowywane w silosie. Oprócz krótszego trwania eksperymentu znaczenie miało prawdopodobnie ograniczenie wpływu zmiennych warunków atmosferycznych oraz osłonięcie materiału od wiatru. Wiadomym jest bowiem, że składowiska zrębków charakteryzują się dużym stężeniem zarodników w powietrzu (Jirjis 1988; Barontini i in. 2014), za rozprzestrzenianie których odpowiedzialny jest jest m.in. wiejący wiatr, Można zatem

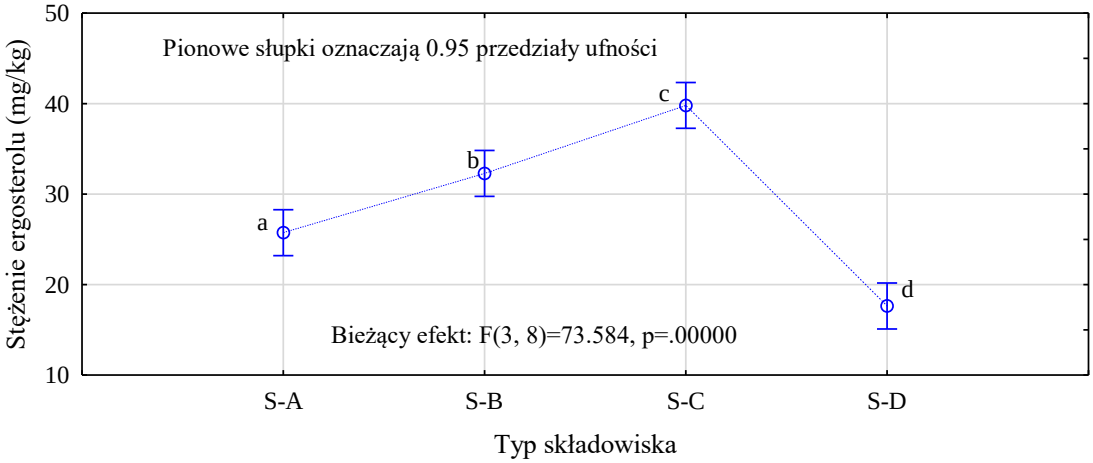
przypuszczać, iż opadające na sąsiadujące stosy zrębków zarodniki kiełkują i rozwijają się na ich powierzchni. Ponadto biorąc pod uwagę, iż kolonizujące mikroorganizmy działają synergistycznie względem siebie, przechowywanie rozdrobnionego drewna w silosie ograniczyło ryzyko migracji zarodników i w ten sposób mogło wpłynąć na obniżenie stopnia porośnięcia. Najwyższą klasą porośnięcia wśród analizowanych składowisk charakteryzował się niewybetonowany plac (S-C). Podobnie jak w przypadku największego zróżnicowania gatunkowego powodem prawdopodobnie był kontakt drewna z niewybetonowanym podłożem. Zdaniem Hameda (2013) kontakt drewna z glebą inokulowaną grzybami *Aspergillus niger* oraz *Penicillium chrysogenum* (gatunkami powszechnie występującymi w glebie) przyspiesza jego degradację. Ponadto zarodniki innych gatunków, przemieszczające się z gleby do powierzchni sąsiadujących z nią zrębków również wpływają na zwiększenie stopnia porośnięcia, a następnie działają synergistycznie na rozwój innych mikroorganizmów. Ich rozwojowi może sprzyjać również utrzymująca się podwyższona wilgotność.

5.1.3 Stężenie ergosterolu

W celu stwierdzenia obecności mikroorganizmów coraz częściej rezygnuje się z klasycznych metod ilościowych oznaczania grzybów pleśniowych. Są one zastępowane precyzyjniejszymi oraz szybszymi metodami pozwalającymi na analizę wybranych związków wchodzących w skład mikroorganizmów (Szablewski i in. 2014). Jednym z nich jest ergosterol uczestniczący w budowie oraz funkcjonowaniu cytoplazmatycznej błony komórek i błon mitochondriów zarówno w zarodnikach, jak i grzybni wegetatywnej (Szwajkowska-Michałek i in. 2014; Gawrysiak-Witulska i in. 2015). Metoda oznaczania ergosterolu stała się powszechnie wykorzystywanym wskaźnikiem obecności i wzrostu mikroflory grzybowej na powierzchni różnych materiałów. Stosowana była m.in. do oceny degradacji papieru (Gutarowska i Cichocka 2010), betonu (Gutarowska i Żakowska 2002), płyt gipsowych (Reeslev i in. 2003), tapet ściennych (Hippelein i Rugamer 2004) itd. Bjurman (1994) stwierdził, iż oznaczenie stężenia ergosterolu jest właściwą metodą, mającą zastosowanie również w przypadku drewna. Autor zwrócił jednak uwagę, iż w przypadku materiału o zupełnie nieznanym pochodzeniu, czasie i warunkach jego przechowywania należy ostrożnie analizować uzyskane wyniki. Badania przeprowadzone przez Pasanen i in. (1999) wykazały, iż w przypadku zrębków

drzewnych występuje wysoka korelacja pomiędzy stężeniem zarodników, a oznaczonym stężeniem ergosterolu.

Wyniki stężenia ergosterolu oznaczonego w zrębkach pochodzących z różnego rodzaju składowisk zostały przedstawione na Rycinie 9.



Ryc. 9. Stężenie ergosterolu w zrębkach z różnych typów składowisk (litery a, b, c, d oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya)

Na podstawie analizy grup jednorodnych wyznaczonych w teście HSD Tukeya można stwierdzić, iż statystycznie istotne różnice stężenia ergosterolu wystąpiły pomiędzy wszystkimi analizowanymi składowiskami. Wartości średnie wahały się od 17,64 mg/kg w przypadku zrębków przechowywanych w silosie (S-D), do 39,81 mg/kg w przypadku zrębków składowanych na niewybetonowanym placu (S-C). Tendencja odpowiadała zatem określonym wcześniej klasom porośnięcia. Ponadto statystycznie istotne różnice zaobserwowano również pomiędzy składowiskami oznaczonymi jako S-A oraz S-B, których nie stwierdzono podczas analizy stopnia porośnięcia. Podobny efekt został opisany przez Fojutowskiego i in. (2014). Autorzy stwierdzili, iż wzrostowi grzybów pleśniowych towarzyszył wzrost stężenia ergosterolu, jednakże nie zawsze obserwowano prostą zależność pomiędzy metodą oceny wizualnej wzrostu grzybni (stopniem porośnięcia), a metodą instrumentalną (oznaczeniem ergosterolu). Zrębki składowane na placu zadaszonym charakteryzowały się niższą zawartością ergosterolu w porównaniu z drewnem składowanym na placu bez zadaszenia.

5.1.4 Zawartość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej

Kwasy organiczne są grupą związków chemicznych zawierających jedną lub więcej grup karboksylowych, powszechnie występujących w organizmach żywych (Jones 1998). W przypadku roślin ich zawartość może się zmieniać w zależności od gatunków, odmian, gleby, klimatu, zanieczyszczeń itd. (Mleczek i in. 2016). Dostępność opracowań naukowych dotyczących ich zawartości w drewnie jest ograniczona. Według Rogozińskiego i in. (2018) drewno gatunków liściastych charakteryzuje się mniejszą zawartością kwasów organicznych niż drewno iglaste. Zawartość LMOWAs może zmieniać się również np. na skutek suszenia (Rogoziński i in. 2018) oraz modyfikacji termicznej drewna (Adamczyk-Królak 2013). Barbero-López i in. (2020) stwierdzili, iż przykładowo kwas octowy czy mrówkowy wykazują właściwości przeciwgrzybicze w stosunku do grzybów rozkładających drewno. Według Ważnego (1963) natomiast grzyby także stanowią przykład organizmów zawierających znaczne ilości różnego rodzaju kwasów organicznych. Zdaniem Piskur i in. (2009) oraz Rubina (2013) niektóre z nich stanowią produkty uboczne powstające podczas porastania drewna. Przykładem wykorzystania syntezowanych przez grzyby pleśniowe kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej było usunięcie znacznych ilości miedzi z drewna sosny impregnowanego chromowanym arsenianem miedzi (CCA) (Kartal i in. 2006).

Z uwagi na to, iż rozkładowi drewna przez grzyby towarzyszy wzrost stężenia kwasów organicznych (Mansour i in. 2020) zbadano ich stężenie w zrębkach pochodzących z różnych składowisk. Podczas analizy skupiono się na zawartości wyróżnionych przez Plassarda i Franssona (2009) kwasów: szczawiowego oraz cytrynowego. Wyniki oznaczeń stężenia LMOWAs zostały przedstawione w Tabeli 12.

Tabela 12. Zawartość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w zależności od typu składowiska

Rodzaj kwasu	Stężenie kwasu (µg/g)			
	S-A	S-B	S-C	S-D
Kwas mlekowy	0,68 ± 0,04 *a*	0,83 ± 0,06 *b*	1,58 ± 0,03 *c*	0,26 ± 0,05 *d*
Kwas octowy	0,27 ± 0,10 *ab*	0,43 ± 0,07 *b*	0,85 ± 0,03 *d*	0,18 ± 0,02 *a*
Kwas malonowy	10,78 ± 1,22 *a*	13,30 ± 0,66 *a*	25,03 ± 1,37 *b*	4,59 ± 0,30 *c*
Kwas maleinowy	25,93 ± 1,05 *a*	34,30 ± 3,34 *b*	70,37 ± 1,03 *c*	22,47 ± 2,58 *a*
Kwas mrówkowy	6,30 ± 0,99 *a*	3,83 ± 0,25 *b*	7,17 ± 0,35 *a*	2,17 ± 0,35 *c*
Kwas szczawiowy	36,40 ± 0,85 *a*	45,70 ± 3,51 *b*	106,10 ± 4,63 *c*	33,90 ± 0,45 *d*
Kwas jabłkowy	85,44 ± 2,75 *a*	122,67 ± 1,90 *b*	219,80 ± 4,18 c	46,37 ± 1,32 *d*
Kwas cytrynowy	163,23 ± 9,77 *a*	197,43 ± 2,74 *b*	250,33 ± 8,73 *c*	64,17 ± 2,30 *d*
Kwas bursztynowy	11,47 ± 0,93 *a*	6,50 ± 0,40 *b*	16,50 ± 0,70 *c*	4,47 ± 0,35 *d*
Kwas fumarowy	47,77 ± 2,63 *a*	69,43 ± 3,35 *b*	124,77 ± 2,53 *c*	25,73 ± 1,95 *d*
Kwas chinowy	8,03 ± 0,21 *a*	1,43 ± 0,15 *b*	2,30 ± 0,26 *c*	0,43 ± 0,06 *d*

Wartość średnia ± odchylenie standardowe; litery a, b, c, d oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya.

Analiza grup jednorodnych wyznaczonych w teście HSD Tukeya wykazała, iż zarówno w przypadku kwasu szczawiowego, jak i cytrynowego stężenie różniło się w sposób statystycznie istotny pomiędzy wszystkimi rozpatrywanymi składowiskami. Największą zawartością kwasu szczawiowego charakteryzowały się zrębki składowane na niewybetonowanym placu, najmniejszą natomiast materiał przechowywany w silosie. Tę samą tendencję zauważono w przypadku kwasu

cytrynowego – największe stężenie wykazano w przypadku drewna ze składowiska S-C, a najmniejsze w przypadku składowiska S-D. Plac wyposażony w zadaszenie (S-A) charakteryzował się niższym stężeniem obu kwasów w porównaniu do placu bez dachu (S-B). Wyniki korespondują zatem z rezultatami oznaczeń zawartości ergosterolu, co może wskazywać, iż wraz z rozwojem grzybów rosło również stężenie analizowanych kwasów organicznych.

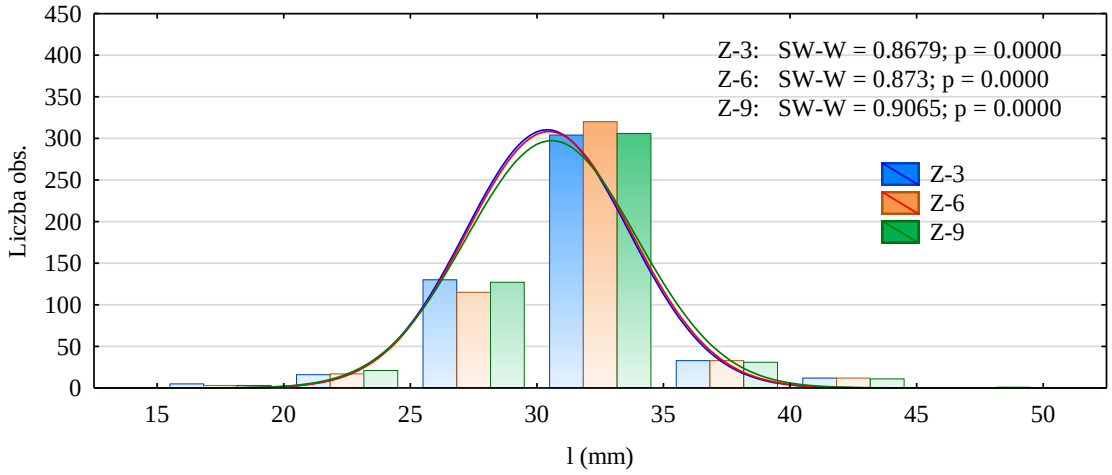
Na zdolność do produkcji kwasów organicznych przez grzyby pleśniowe rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium* może wpływać szereg czynników, takich jak np. warunki środowiskowe, dostępność węgla, azotu itd. (Li i in. 2016). Oba rodzaje są w stanie wytworzyć znaczne ilości kwasu szczawiowego (Cameselle i in. 1998; Cunningham i Kuiack 1992). Ponadto procesy jego biosyntezy przez *Aspergillus niger* według Musiał i Rymowicza (2009) mogą stanowić obiecującą alternatywę dla przemysłowych metod chemicznych produkcji kwasu szczawiowego. Jednym z kwasowych metabolitów produkowanych przez grzyby rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium* jest również kwas cytrynowy (Cunningham i Kuiack 1992; Show i in. 2015). Li i in. (2016) stwierdzili, iż efektywność procesu biosyntezy kwasu cytrynowego przez *Aspergillus niger* rośnie wraz z obniżającym się pH środowiska. Sam przebieg procesu syntezy kwasów organicznych przez grzyby stanowi jednakże bardzo kompleksowe zagadnienie biotechnologiczne i zależy m.in. od warunków, dostępności substratów, szczepu grzybów itd.

Postępujący wzrost stężenia kwasów organicznych podczas składowania zrębków jest efektem niekorzystnym, m.in. z uwagi na wysoką aktywność enzymów grzybów przeciwko składnikom drewna w środowisku kwaśnym (Mansour i in. 2020). Z punktu widzenia materiału przeznaczonego do produkcji płyt zrębkowych pH surowca także ma znaczenie. Zdaniem Ergula i Ayrilmisa (2014) znacznie obniżone pH drewna może prowadzić do niekontrolowanego przyspieszenia kondensacji żywicy mocznikowo-formaldehydowej jeszcze przed prasowaniem i w konsekwencji obniżenia wytrzymałości płyt.

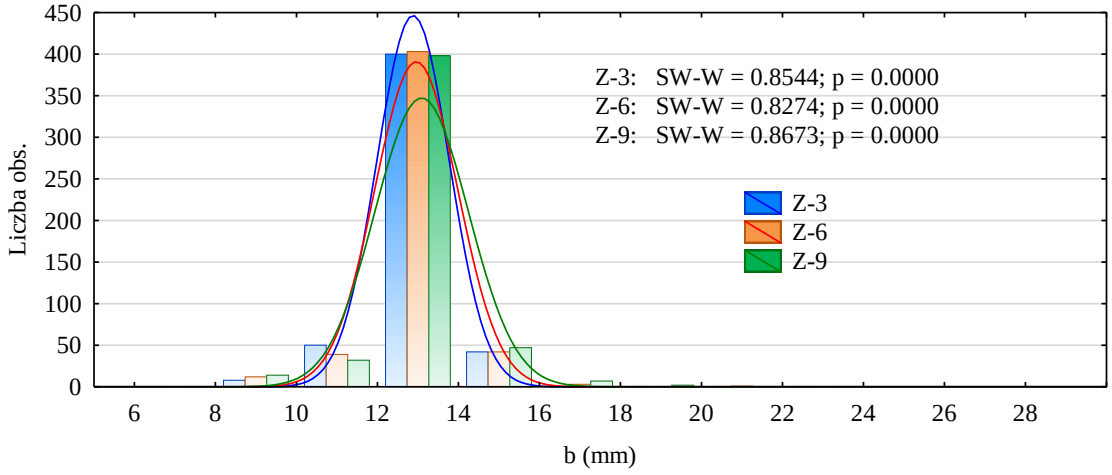
5.2 Wyniki etapu II

5.2.1 Charakterystyka zrębków

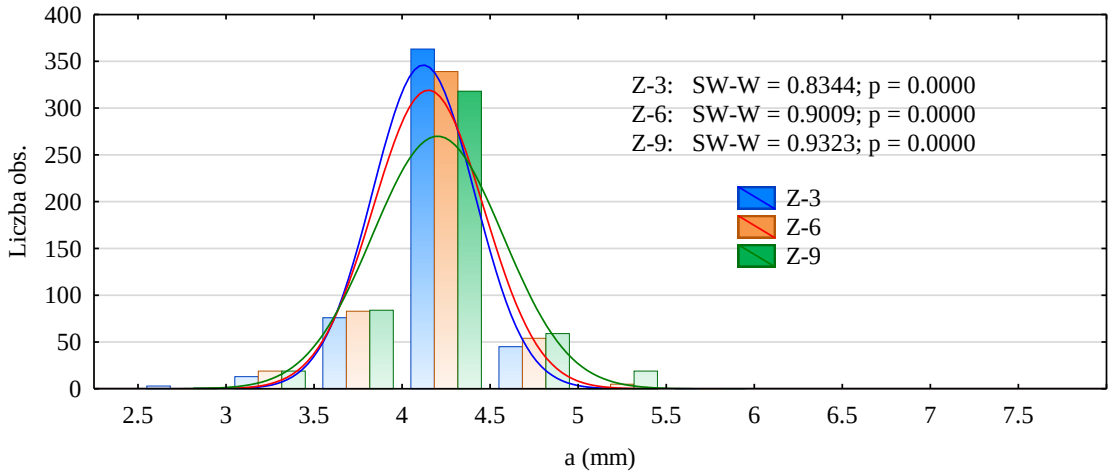
Histogramy wymiarów liniowych oraz wilgotności bezwzględnej zrębków, wyznaczonych przed inokulacją oraz rozpoczęciem procesu inkubacji, przedstawione zostały na Rycinie 10. Na podstawie przeprowadzonego testu statystycznego Shapiro-Wilka stwierdzono, iż jedynie w przypadku wilgotności zrębków oznaczonych jako Z-9 wystąpił rozkład normalny na poziomie istotności $\alpha = 0{,}05$. W przypadku każdego rodzaju surowca wartości długości zrębków w większości koncentrowały się wokół wartości średniej (ok. 60% wyników pomiarów znajdowało się w przedziale od 30 do 35 mm). Podobną tendencję zaobserwowano również w przypadku szerokości oraz grubości, gdzie odpowiednio ok. 80% obserwacji znalazło się w przedziale 12 – 14 mm oraz ok. 70% w przedziale od 4,0 – 4,5 mm.



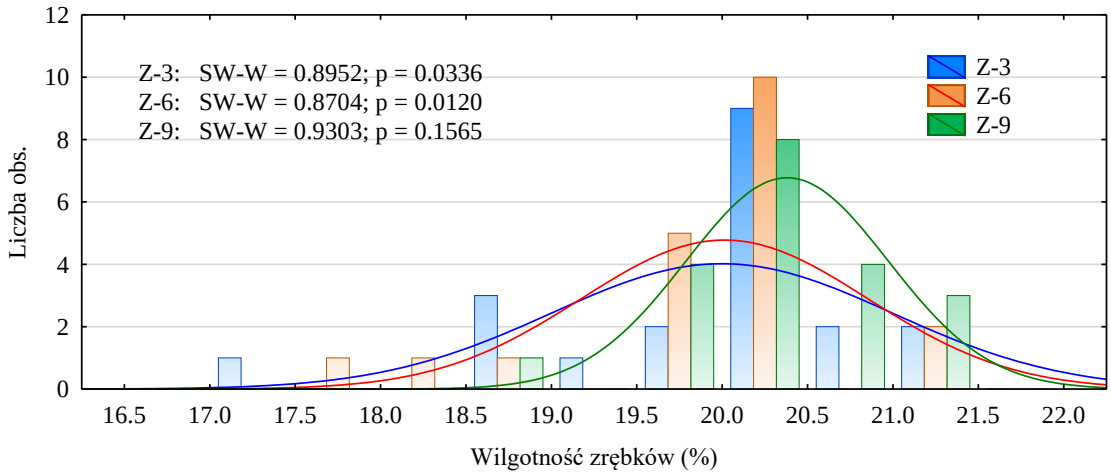
(a)



(b)



(c)



(d)

Ryc. 10. Histogramy: (a) długości zrębków, (b) szerokości zrębków, (c) grubości zrębków, (d) wilgotności bezwzględnej zrębków

Wcześniejsze przesiewanie zrębków przez sito mogło przyczynić się do uzyskania mniej zróżnicowanych wymiarów, poprzez ograniczenie występowania zrębków o wymiarach większych niż 50 mm oraz odpadów kawałkowych. Analizując rozkłady wilgotności bezwzględnej stwierdzono, iż w zależności od rodzaju surowca od 40% do 50% zrębków w mieszaninie charakteryzowało się wilgotnością 20,0 – 20,5%.

Pomimo stwierdzenia braku rozkładu normalnego uznano, iż podobnie jak w przypadku badań Mirskiego (2013) moc testów statystycznych jest wystarczająca do przeprowadzenia oraz oceny wyników analizy wariancji ANOVA. Wyniki analizy istotności różnic pomiędzy wariantami surowca zostały przedstawione w Tabeli 13.

Tabela 13. Wymiary, wilgotność bezwzględna oraz kształt zrębków przeznaczonych do inokulacji

Parametr	Jednostka	Wariant zrębków		
		Z-3	Z-6	Z-9
l	mm	30,32 ± 3,21 *a*	30,38 ± 3,24 *a*	30,49 ± 3,35 *a*
b		12,84 ± 0,89 *a*	12,92 ± 1,02 *a*	13,05 ± 1,15 *a*
a		4,11 ± 0,29 *a*	4,14 ± 0,31 *a*	4,19 ± 0,37 *a*
W	%	19,98 ± 0,99 *a*	20,00 ± 0,84 *a*	20,36 ± 0,59 *a*
Ψ	-	3,13 ± 0,19 *a*	3,14 ± 0,18 *a*	3,11 ± 0,31 *a*
Λ		7,37 ± 0,57 *a*	7,35 ± 0,64 *a*	7,30 ± 0,76 *a*
m		2,36 ± 0,16 *a*	2,35 ± 0,21 *a*	2,34 ± 0,23 *a*

Wartość średnia ± odchylenie standardowe; litery a, b oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya.

Na podstawie analizy grup jednorodnych wyznaczonych w teście HSD Tukeya stwierdzono, iż niezależnie od wariantu nie wystąpiły istotne statystycznie różnice w wymiarach, kształcie i wilgotności bezwzględnej surowca. W związku z tym podczas interpretacji wyników dalszych analiz można pominąć stwierdzony przez Idlera i in. (2019) oraz Brischke i Rapp (2008) wpływ wielkości zrębków oraz wilgotności początkowej drewna na rozwój mikroorganizmów.

5.2.2 Stopień porośnięcia zrębków

Po wyjęciu zrębków z komór klimatycznych stwierdzono, iż charakteryzowały się one różnym stopniem porośnięcia w zależności od długości procesu inkubacji (Rycina 11).

Wariant Z-0

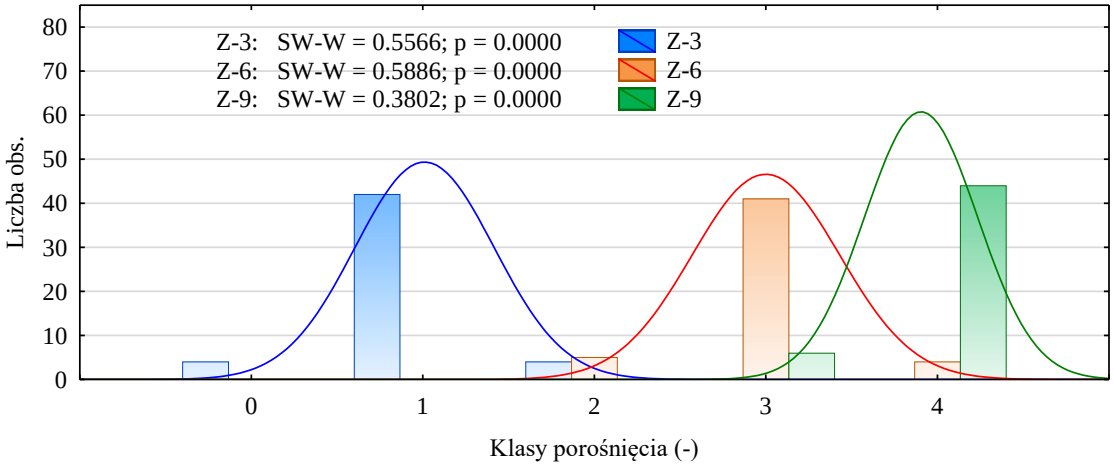
Wariant Z-3

Wariant Z-6

Wariant Z-9

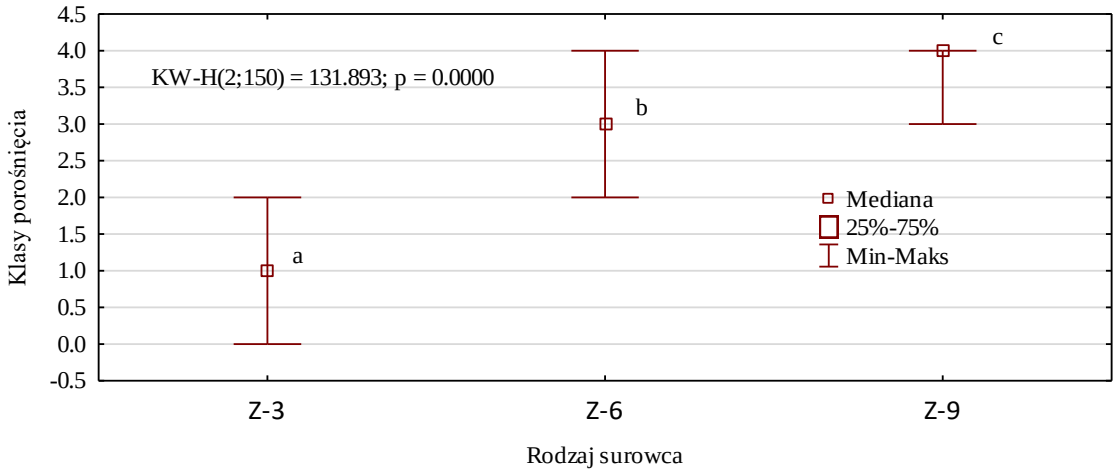
Ryc. 11. Fotografie przedstawiające zrębki pobrane z różnych wariantów

Rycina 12 przedstawia histogramy stopnia porośnięcia zrębków. Z przeprowadzonego testu Shapiro-Wilka wynika, iż w przypadku każdego z inokulowanych wariantów nie stwierdzono rozkładu normalnego.



Ryc. 12. Histogramy stopnia porośnięcia zrębków po zakończonej inkubacji

Pomimo stwierdzenia braku rozkładu normalnego na poziomie istotności $\alpha = 0{,}05$ przebiegi histogramów wskazują, iż zdecydowana większość obserwacji reprezentowała wartość średnią.



Ryc. 13. Stopień porośnięcia zrębków różniących się czasem inkubacji (litery a, b, c oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście Kruskala-Wallisa)

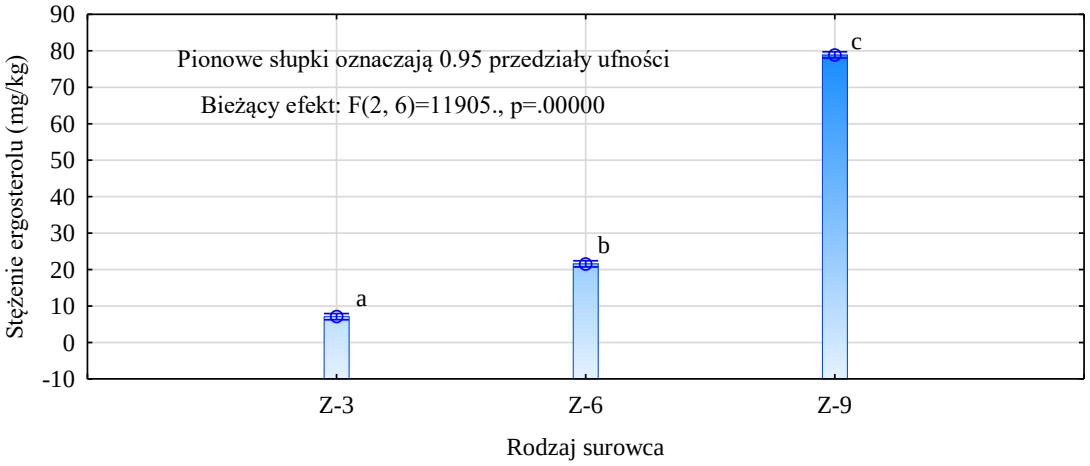
Jak wynika z danych przedstawionych na Rycinie 13 im dłuższy założony czas inkubacji, tym większym stopniem porośnięcia charakteryzowały się zrębki. Grupy jednorodne wyznaczone w teście Kruskala-Wallisa wskazują, iż różnice występujące pomiędzy wariantami są statystycznie istotne. Największy wzrost klasy porośnięcia zaobserwowano pomiędzy trzecim a szóstym tygodniem eksperymentu, kiedy stopień porośnięcia zwiększył się z 1 – 25% powierzchni zrębków do 51 – 75%. Dalsze wydłużenie czasu inkubacji do 9 tygodni spowodowało, iż w przypadku zdecydowanej

większości cząstek drewna zaobserwowano całkowite porośnięcie. Postępujący rozwój grzybów pleśniowych na powierzchni zrębków wynikał z zapewnienia warunków optymalnych do ich kiełkowania i dalszego rozwoju (temperatura 20°C oraz wilgotność względna 95%) (Viitanen 1995; Sedlbauer 2001).

Wpływ czasu inkubacji na stopień porośnięcia zrębków badany w warunkach laboratoryjnych może się różnić od eksperymentu przeprowadzonego w środowisku naturalnym. W przypadku drewna przechowywanego w komorach klimatycznych zapewnione zostały stałe warunki inkubacji (wilgotność względna i temperatura). W naturalnym środowisku, charakteryzującym się zmiennymi warunkami atmosferycznymi, które często znacznie odbiegają od optimum, mogą wystąpić tzw. czynniki stresowe, wynikające np. ze zbyt niskiej wilgotności lub nieodpowiedniej temperatury (Zak i Wildman 2004). Zdaniem Johansson i in. (2013) warunki zmiennej wilgotności względnej oraz temperatury otoczenia podczas inkubacji drewna powodują spowolnienie rozwoju grzybów pleśniowych. Efekt ten jest szczególnie widoczny gdy zmiany zachodzą w sposób gwałtowny (Viitanen 1995).

5.2.3 Stężenie ergosterolu

Wyniki oznaczeń stężenia ergosterolu w zrębkach inokulowanych, różniących się czasem inkubacji zostały przedstawione na Rycinie 14.



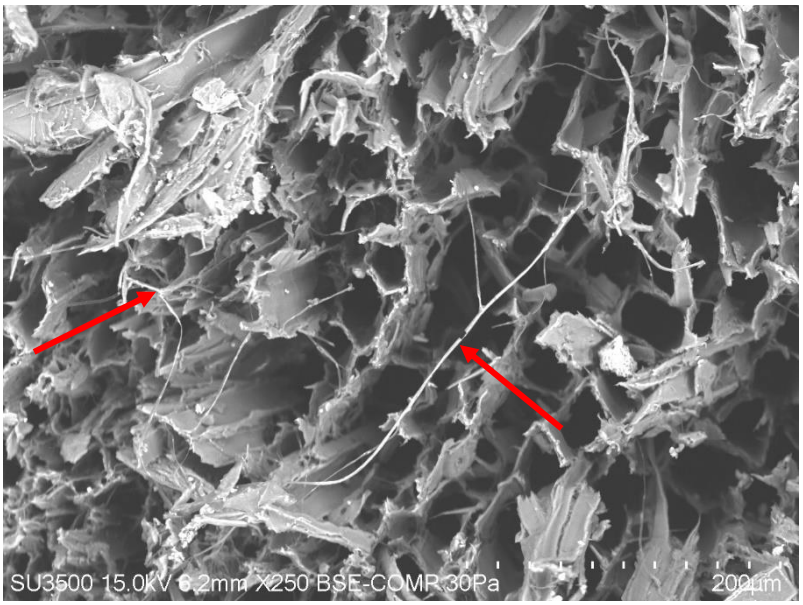
Ryc. 14. Stężenie ergosterolu w zrębkach poddanych różnym okresom inkubacji (litery a, b, c oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya)

Grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya wskazują, iż zawartość ergosterolu różni się w sposób istotny statystycznie w zależności od długości okresu

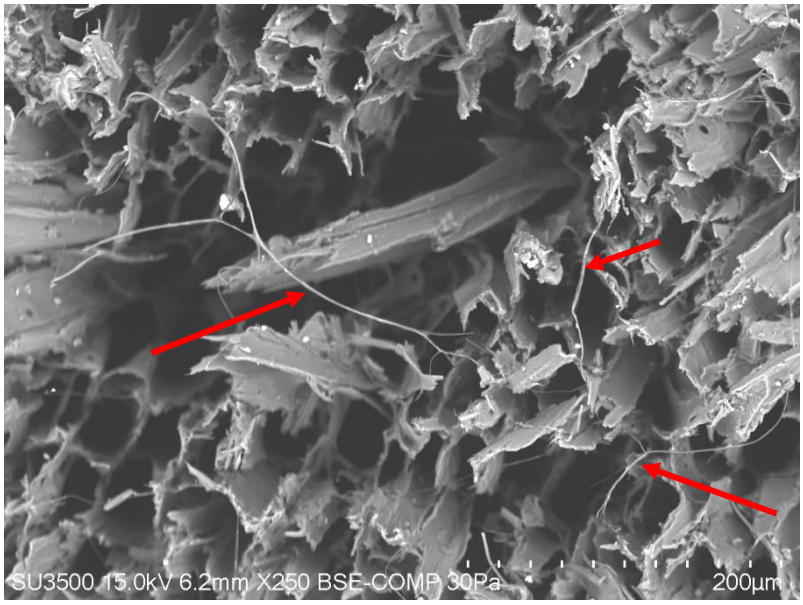
inkubacji. Wraz z upływem czasu zawartość ergosterolu rosła. Pomiędzy trzecim a szóstym tygodniem inkubacji stężenie ERG wzrosło o 14,50 mg/kg. W przypadku inkubacji trwającej dziewięć tygodni zawartość ergosterolu wzrosła o 57,33 mg/kg oraz o 71,83 mg/kg w porównaniu ze stężeniem oznaczonym odpowiednio, w szóstym i trzecim tygodniu. Analiza zawartości ERG, będącego markerem biomasy grzybowej, koresponduje z oceną stopnia porośnięcia. Wyniki potwierdzają, iż wraz z upływem czasu inkubacji, przy zapewnieniu korzystnych warunków, grzyby pleśniowe intensywnie rozwijają się na powierzchni zrębków sosnowych.

5.2.4 Badanie mikroskopowe (SEM)

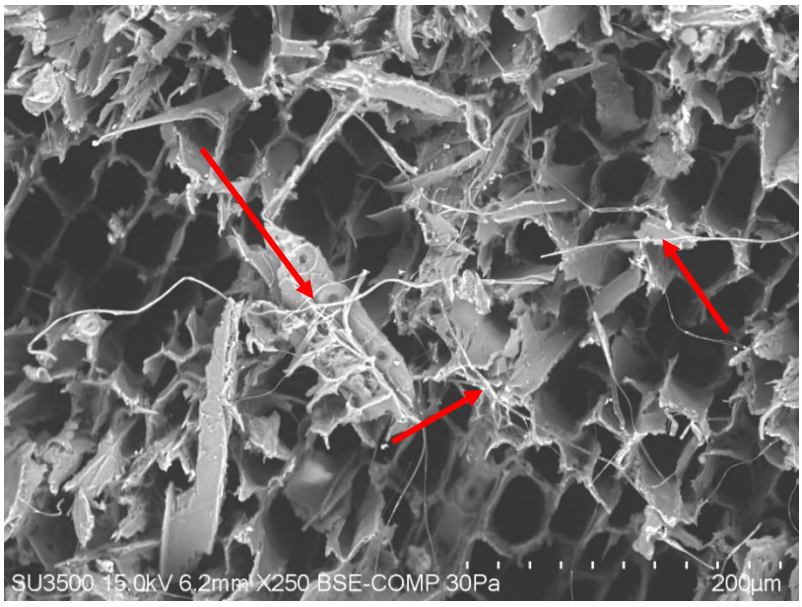
Rycina 15 przedstawia zdjęcia powierzchni modelowych równoległościanów imitujących zrębki sosnowe, wykonane z wykorzystaniem techniki SEM.



(a)



(b)



(c)

Ryc. 15. Zdjęcie powierzchni drewna wariantu: (a) Z-3, (b) Z-6, (c) Z-9

Niezależnie od długości okresu inkubacji na wszystkich próbkach zaobserwowano strzępki grzybów (strzałki na Rycinie 15). Strzępki na zdjęciach przypominają nitkowate elementy pojawiające się na powierzchni drewna sosny oraz figowca sykomora, mających kontakt z glebą inokulowaną grzybami *Aspergillus niger* oraz *Penicillium chrysogenum*, przedstawione przez Hameda (2013).

Grzyby pleśniowe zazwyczaj porastają jedynie powierzchniowe warstwy drewna i nie penetrują w głąb materiału na znaczną głębokość (Nilsson 2009). Zdaniem Ahmed i in. (2013) mogą one przenikać aż do 2,3 mm, jednakże zazwyczaj jest to głębokość do 1 mm. Marshall (1898) stwierdził, iż strzępki grzybów pleśniowych porastających drewno pojawiają się w pierwszej kolejności w zbudowanych m.in. z komórek miękiszowych, zawierających skrobię, promieniach drzewnych strefy bielastej. W przypadku długotrwałego działania mikroorganizmów strzępki przemieszczają się pomiędzy cewkami poprzez jamki występujące w ich ścianach. Zarówno strzępki, jak i zarodniki kolonizujące drewno, charakteryzujące się ciemną barwą wpływają na pogorszenie jego właściwości wizualnych. Powodują one całkowite lub miejscowe przebarwienia (Gobakken 2009; Lie i in. 2019a). Zmiany barwy powierzchni zrębków, które wystąpiły na skutek inokulacji grzybami rodzaju *Aspergillus* oraz *Penicillium* można zaobserwować na Rycinie 11 (punkt 5.2.2.).

5.2.5 Skład chemiczny

Tabela 14 przedstawia skład chemiczny zrębków pobranych z różnych wariantów surowca. Suma zawartości podstawowych składników drewna, takich jak np. lignina, holoceluloza oraz substancje ekstrakcyjne może przekraczać 100% ze względu na to, że wyniki zostały przeliczone w odniesieniu do suchej masy. Wystąpienie takiego efektu jest rezultatem niedoskonałości klasycznych metod oznaczania składu materiałów lignocelulozowych, jednakże nie stanowi to przeszkody w porównaniu oraz interpretacji uzyskanych wyników (Kusiak i in. 2020; Krzyżaniak i in. 2014).

Tabela 14. Skład chemiczny zrębków

Skład	Jednostka	Wariant surowca			
		Z-0	Z-3	Z-6	Z-9
Substancje rozpuszczalne w rozp. org.	%	3,37±0,44 *a*	2,98±0,16 *a*	3,20±0,31 *a*	3,01 ± 0,14 *a*
Holoceluloza		72,11±0,93 *a*	71,88±0,61 *a*	72,09±1,01 *a*	71,94±0,83 *a*
Celuloza		49,31±1,11 *a*	48,24±0,65 *a*	48,15±0,61 *a*	49,52±1,02 *a*
Hemicelulozy		22,80±1,03 *a*	23,64±0,63 *a*	23,96±0,89 *a*	22,40±0,91 *a*
Lignina		25,96±1,02 *a*	25,63±1,62 *a*	26,68±0,61 *a*	26,92±1,00 *a*
Pentozany		8,26±0,03 *a*	8,29±0,03 *a*	8,33±0,06 *a*	8,19±0,04 *a*

Popiół		0,43±0,01 *a*	0,41±0,03 *a*	0,39±0,02 *a*	0,43±0,02 *a*
pH	-	5,14±0,10 *a*	5,09±0,12 *a*	5,21±0,09 *a*	5,08±0,15 *a*
pH powierzchni		5,11±0,08 *a*	5,14±0,06 *a*	5,01±0,06 *a*	3,89±0,05 *b*

Wartość średnia ± odchylenie standardowe; litery a, b oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya.

Drewno pod względem chemicznym stanowi złożony kompozyt zawierający wiele substancji połączonych ze sobą wiązaniami chemicznymi oraz fizycznymi lub niepowiązanych w żaden sposób. Zawartość tych substancji, w szczególności polimerów strukturalnych, determinuje właściwości fizykomechaniczne drewna, takie jak np. jego wytrzymałość czy hydrofilowość (Sahin 2008; Surmiński 2000). Skład chemiczny ma również znaczenie w kontekście materiału przeznaczonego do wytwarzania tworzyw drzewnych. Baharoglu i in. (2013) stwierdzili, iż zawartość m.in. celulozy, hemiceluloz oraz ligniny w drewnie wpływa na właściwości wytworzonych płyt wiórowych, takie jak wytrzymałość na zginanie, wytrzymałość na rozciąganie prostopadłe do płaszczyzn, moduł sprężystości oraz spęcznienie na grubość. Zawartość zarówno głównych, jak i ubocznych składników różni się jednak nie tylko pomiędzy gatunkami. Zróżnicowanie ilościowe może zależeć również od czynników środowiskowych oraz genetycznych, części i wieku drzewa, warunków stresowych, siedliska itd. (Pereira i in. 2003; Prosiński 1969). Zdaniem Pereira i in. (2003) pomimo, iż wśród strukturalnych składowych występują różnice w ilości oraz składzie (np. w przypadku ligniny czy hemiceluloz), to przede wszystkim, największym zróżnicowaniem zarówno jeśli chodzi o zawartość, jak i strukturę chemiczną, charakteryzują się substancje ekstrakcyjne.

Otrzymane procentowe zawartości poszczególnych składników drewna przedstawione w Tabeli 14 są zgodne z danymi literaturowymi. Jak podaje Surmiński (2006) zawartość substancji ekstrakcyjnych waha się od 2 do 8%, celulozy od 42 do 51%, hemiceluloz od 21 do 24%, ligniny od 16 do 30%, pentozanów od 8 do 12% oraz substancji mineralnych od 0,2 do 0,9%. Wartości pH zrębków są bardzo zbliżone do pH niezdegradowanego drewna sosny zwyczajnej przedstawionego przez Nemli i in. (2018), którzy korzystali z tej samej metody przygotowywania wodnych ekstraktów (pH wynosiło 5,13 ± 0,10).

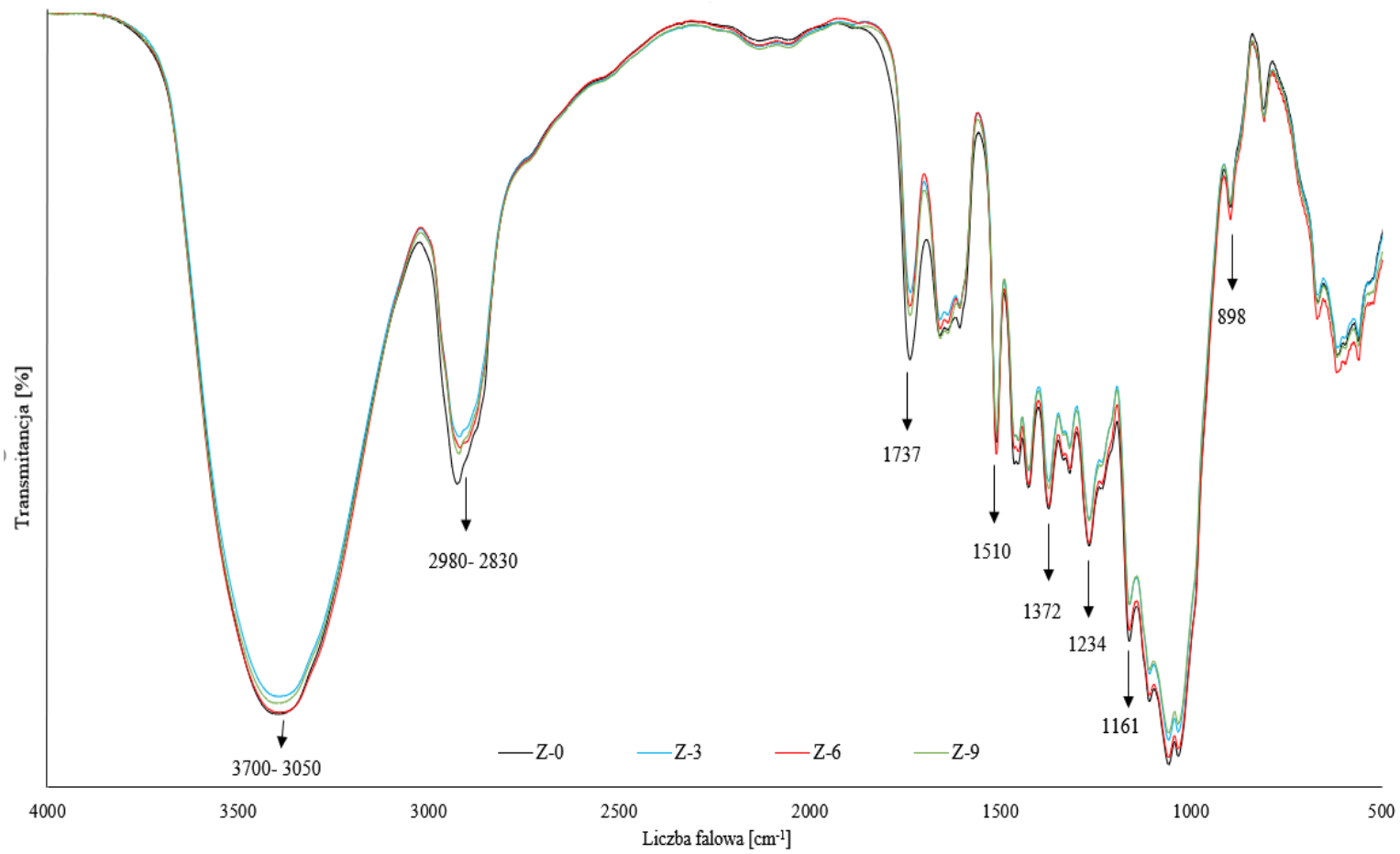
Analiza grup jednorodnych wyznaczonych w teście HSD Tukeya wykazała, iż niezależnie od czasu inkubacji porośnięcie grzybami pleśniowymi nie wpłynęło w sposób statystycznie istotny na zawartość składników drewna oraz pH całych zrębków. Grzyby pleśniowe wykorzystują do rozwoju głównie łatwo dostępne cukry (Broda 2020) oraz rozwijają się w powierzchniowych warstwach drewna (Ahmed i in. 2013), w związku z tym nie powodują zmian w zawartości polimerów strukturalnych oraz składników ubocznych. W porównaniu do grzybów pleśniowych, grzyby rozkładające drewno mogą powodować istotne zmiany składu chemicznego (Kirk i Highley 1973; Kirk i Moore 1972). Zdaniem Krajewskiego i Witomskiego (2005) w przypadku rozkładu brunatnego wynika to z wytwarzanych przez grzyby enzymów celulolitycznych, natomiast w przypadku rozkładu białego jednoczesnego działania enzymów lignolitycznych oraz celulolitycznych. Jedyną statystycznie istotną różnicą było obniżenie pH powierzchni zrębków wariantu Z-9 w porównaniu z drewnem nieinokulowanym. Surowiec ten charakteryzował się najwyższą klasą porośnięcia (punkt 5.2.2.), w związku z tym obniżenie pH mogło być spowodowane syntezą kwasowych metabolitów, takich jak np. kwasy organiczne o niskiej masie cząsteczkowej opisywane w punkcie 5.1.4., towarzyszącą rozwojowi grzybów pleśniowych.

5.2.6 Analiza spektralna FTIR

Widma drewna inokulowanego oraz nieporośniętego przez grzyby pleśniowe zostały przedstawione na Rycinie 16. W przebiegu widm zaobserwowano szeroki pik w zakresie 3700 - 3050 cm^{-1}, pochodzący od drgań rozciągających wiązania OH grup hydroksylowych (Ghahri i in. 2018). Ponadto w zakresie 2980 - 2830 cm^{-1} zidentyfikowano pasma drgań rozciągających wiązań C-H, pokrywających się z drganiami rozciągającymi C-O, generowanymi przez kwasy tłuszczowe (Gupta i in. 2011). Przy około 1737 cm^{-1} zarejestrowano sygnał pochodzący od drgań wiązań C=O hemiceluloz (Li i in. 2011). W zakresie tzw. „odcisku palca” (1800 - 700 cm^{-1}) odnotowano kilka kolejnych pasm charakterystycznych dla drewna. Pik obecny przy 1510 cm^{-1} odpowiadał drganiom szkieletowym pierścienia aromatycznego ligniny. Pasma przy 1372 cm^{-1} i 1161 cm^{-1} pochodziły odpowiednio od drgań deformacyjnych wiązań C-H oraz drgań wiązań C-O-C. Pasma te pochodziły od polisacharydów: celulozy oraz hemiceluloz (Pandey i Pitman 2003). Na widmach, przy 1234 cm^{-1}

pojawiły się również sygnały od wiązań rozciągających węgiel-tlen obecnych w ligninie. Pik obserwowany w zakresie 898 cm^{-1} był pasmem pochodzącym od wiązania deformacyjnego C-H celulozy (Pitman 1999). Porównując referencyjne próbki drewna z materiałem porośniętym nie zaobserwowano znaczących różnic w przebiegu widm FTIR, niezależnie od czasu inkubacji. Wskazuje to, iż inokulacja grzybami pleśniowymi nie miała znacznego wpływu na skład chemiczny badanego materiału, co potwierdziły również wyniki analizy chemicznej, opisanej w punkcie 5.2.5.

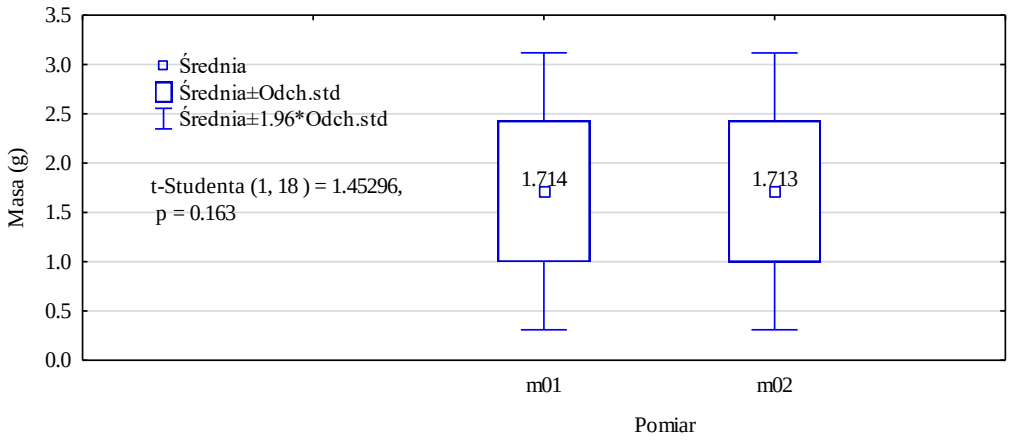
Jelle i Hovde (2013) badali możliwość wykorzystania spektroskopii osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni (ATR-FTIR), w celu wykrycia m.in. grzybów pleśniowych porastających różne materiały, w tym drewno. Autorzy stwierdzili, iż zastosowanie tej metody ma potencjał aplikacyjny i może być ona pomocna przy stwierdzaniu występowania grzybów pleśniowych na powierzchni drewna czy płyt gipsowych. Jak sami jednak podkreślają metoda ta wymaga dalszych badań, ustalenia możliwych ograniczeń, niezawodności w przypadku różnych gatunków grzybów oraz drewna i potencjalnych kierunków zastosowań.



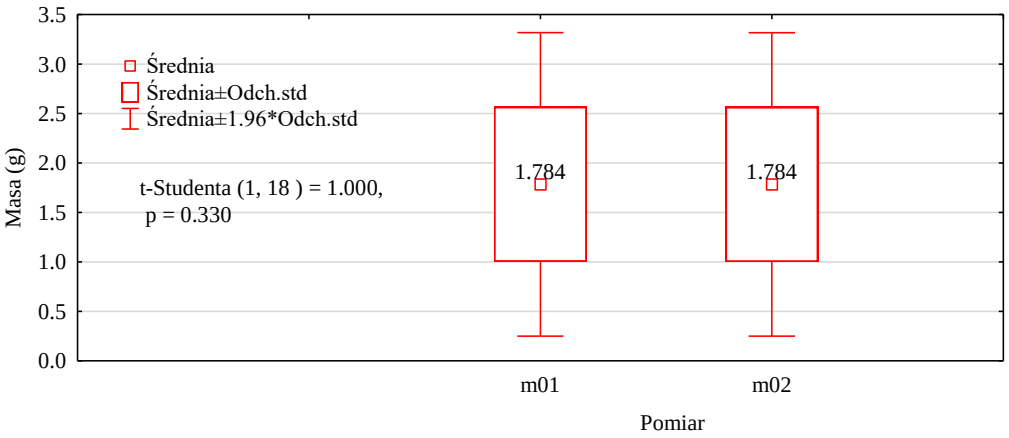
Ryc. 16. Widma FTIR w zależności od wariantu surowca

5.2.7 Ubytek masy

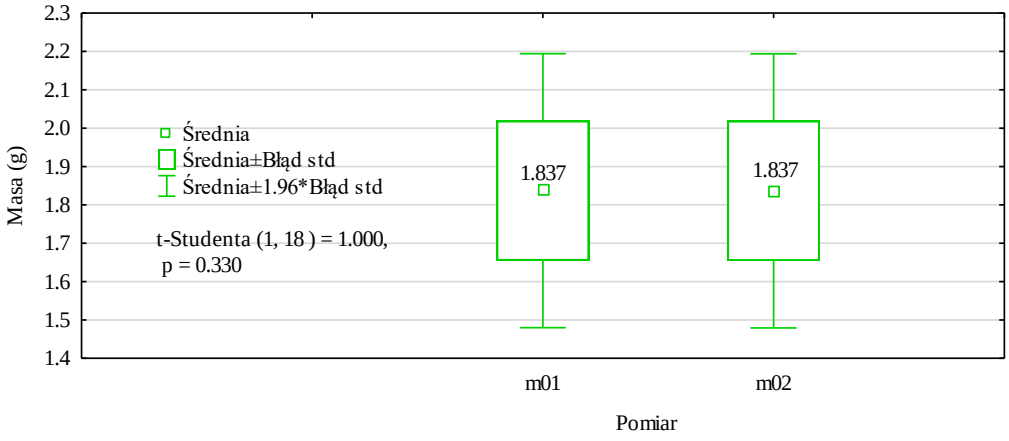
Średnie wartości pomiarów masy zrębków przed inokulacją oraz po zakończonym procesie inkubacji o założonej długości zależnej od wariantu, przedstawione zostały na Rycinie 17.



(a)



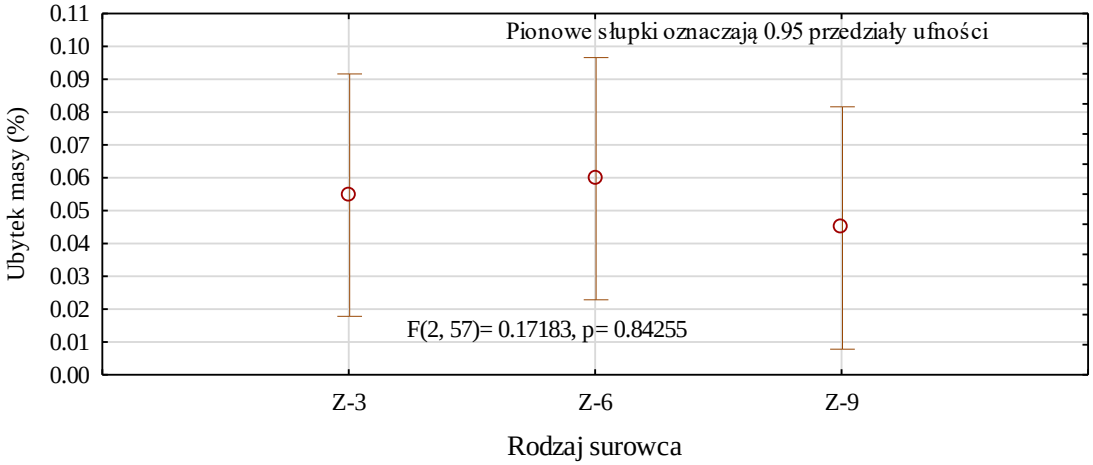
(b)



(c)

Ryc. 17. Wyniki pomiarów suchej masy zrębków wariantu: (a) Z-3, (b) Z-6, (c) Z-9 (m01 oznacza masę przed inokulacją; m02 oznacza masę po zakończonej inkubacji)

Na podstawie przeprowadzonych testów t-Studenta stwierdzono, iż nie występują statystycznie istotne różnice pomiędzy suchą masą przed inokulacją a suchą masą po zakończonej inkubacji (wartość p > 0,05). Czas inkubacji nie miał wpływu na otrzymane wyniki. Wartości procentowe ubytku masy przedstawia Rycina 18.



Ryc. 18. Ubytek masy w zależności od wariantu surowca

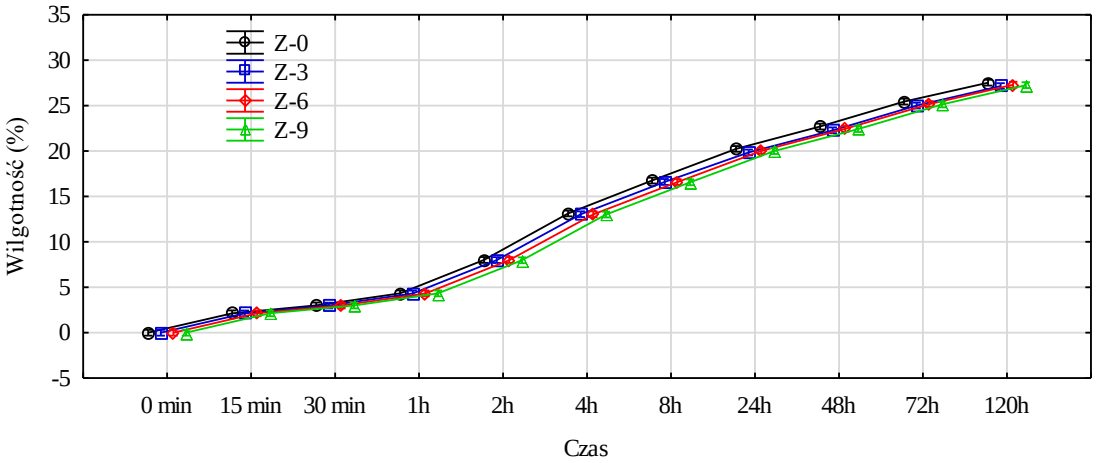
Na podstawie przedstawionych wartości średnich nie można stwierdzić, iż porośnięcie grzybami pleśniowymi spowodowało ubytek masy zrębków. Ubytek masy ok. 0,05% najprawdopodobniej wynikał z błędu metody pomiarowej. Ponadto na podstawie testu Fishera stwierdzono, iż pomiędzy wariantami nie wystąpiły

statystycznie istotne różnice (wartość p > 0,05). Czas inkubacji nie miał zatem wpływu na wartości procentowe ubytku masy.

Ubytek masy w przypadku drewna zainfekowanego grzybami rozkładającymi wynika z dekompozycji ściany komórkowej, będącej rezultatem rozkładu jej składników budulcowych - substancji węglowodanowych, takich jak celuloza czy hemicelulozy oraz lignina. Analiza składu chemicznego (punkt 5.2.5) wykazała, iż porośnięcie zrębków grzybami pleśniowymi nie spowodowało statystycznie istotnych zmian w zawartości tych substancji. Idler i in. (2019) potwierdzili, iż w trakcie składowania drewna rozdrobnionego grzyby pleśniowe nie są bezpośrednią przyczyną ubytku masy, ze względu na wykorzystywane do rozwoju niestrukturalne substancje odżywcze. Zdaniem Autorów mogą się one jednak przyczyniać pośrednio, poprzez synergistyczny wpływ na aktywność mikroorganizmów rozkładających.

5.2.8 Higroskopijność zrębków

Na Rycinie 19 przedstawione zostały zmiany wilgotności bezwzględnej w czasie ekspozycji zhomogenizowanego drewna w warunkach podwyższonej wilgotności (90 – 95%).



Ryc. 19. Zmiany wilgotności bezwzględnej drewna w czasie

Przebieg zmian wilgotności był bardzo zbliżony niezależnie od wariantu surowca. Po 120 h ekspozycji drewno osiągnęło wilgotność bezwzględną ok. 28%, zbliżoną do punktu nasycenia włókien (PNW), zwanego również wilgotnością graniczną błony. Według Krzysika (1978) PNW dla drewna sosny wynosi 29%. Bardzo podobny

poziom wilgotności po 120 h, określony z wykorzystaniem tej samej metody, zaobserwowano w przypadku zhomogenizowanego, niemodyfikowanego drewna dębu (Siuda 2019). W celu potwierdzenia, iż rodzaj surowca nie miał wpływu na zmiany wilgotności przeprowadzono analizę wariancji, której wyniki przedstawia Tabela 15.

Tabela 15. Wieloczynnikowa analiza wariancji

Rodzaj Surowca	Czas pomiaru									
	15 min	30 min	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	120 h
Z-0	a	a	b	c	d	e	f	g	h	I
Z-3	a	a	b	c	d	e	f	g	h	I
Z-6	a	a	b	c	d	e	f	g	h	I
Z-9	a	a	b	c	d	e	f	g	h	I

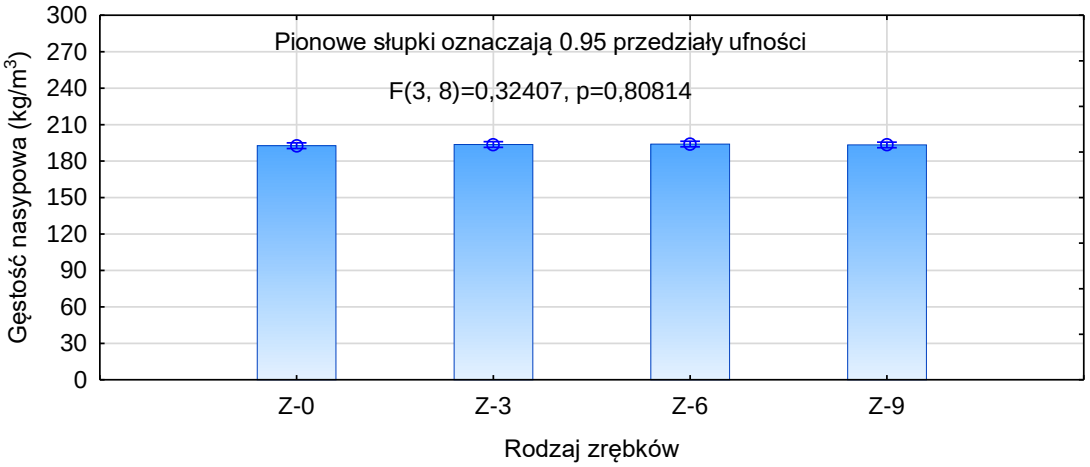
litery a, b, c, d, e, f, g, h, i oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya

Na podstawie analizy grup jednorodnych wyznaczonych w teście HSD Tukeya stwierdzono, iż pomiędzy wariantami nie wystąpiły statystycznie istotne różnice w wilgotności dla wszystkich czasów pomiarowych. Czas inkubacji oraz związany z nim stopień porośnięcia grzybami pleśniowymi nie miał zatem wpływu na absorpcję pary wodnej przez drewno. Nie zaobserwowano zatem efektu opisanego przez Rowella (2005) oraz Clausena (2010), którzy stwierdzili, iż drewno porośnięte grzybami pleśniowymi może charakteryzować się zwiększonym wchłanianiem wody. Ich rozwojowi nie towarzyszy jednakże głębokie wnikanie w struktury anatomiczne drewna. Biorąc pod uwagę, iż w przypadku zaawansowanego rozwoju grzybów pleśniowych strzępki mogą przemieszczać się pomiędzy cewkami poprzez jamki degradując ich błonę, zwiększenie chłonności może występować wyłącznie w powierzchniowej warstwie materiału, którą porastają (Nilsson 2009).

5.3 Wyniki Etapu III

5.3.1 Gęstość nasypowa zrębków

Auriga (2017) stwierdził, iż wpływ gęstości nasypowej surowca na właściwości wytwarzanych tworzyw drzewnych nie jest jednoznacznie określony, jednakże zdaniem Autora można spodziewać się silnej współzależności pomiędzy gęstością nasypową a wytrzymałością materiałów drewnopochodnych. Powołując się na Suchslanda i Woodsona (1987) oraz Suda i in. (1987) podaje, iż można przypuszczać, że wraz z jej wzrostem maleje stopień komprymacji, co w konsekwencji powoduje obniżenie właściwości płyt. Zdaniem Benthien i in. (2018) jednak sama gęstość nasypowa wiórów nie wpływa w sposób istotny na ściskanie podczas zagęszczania kobierca. Ponadto podczas analizy wyników swojej pracy doktorskiej Auriga (2017) stwierdził, iż wraz ze wzrostem gęstości nasypowej zaobserwowano wzrost właściwości wytrzymałościowych płyt. Stwierdzono również, że w różnych przedziałach gęstości nasypowej może występować różna tendencja jeśli chodzi o wpływ na właściwości wytworzonych materiałów.



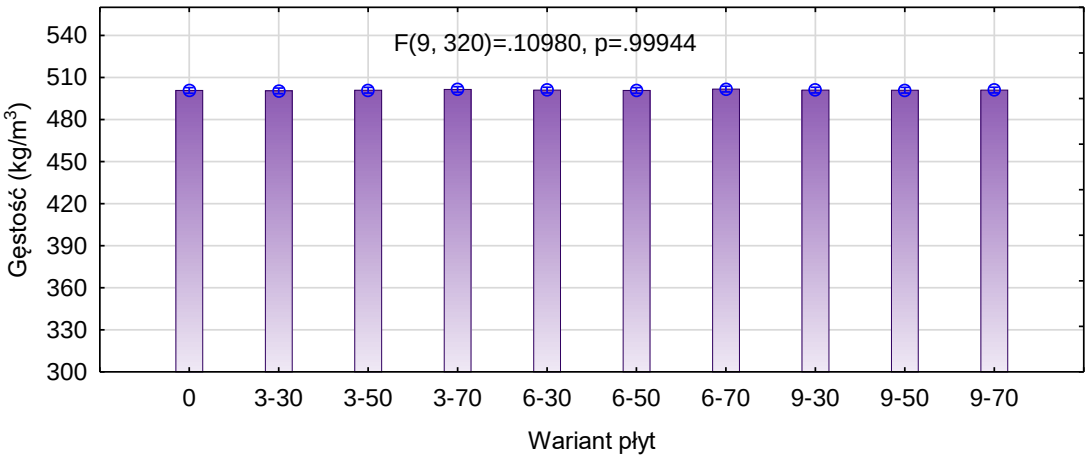
Ryc. 20. Gęstość nasypowa w zależności od wariantu surowca

Wyniki gęstości nasypowej surowców wykorzystanych w procesie wytwarzania płyt zrębkowych przedstawia Rycina 20. Na podstawie wyniku testu Fishera stwierdzono, że nie wystąpiły statystycznie istotne różnice pomiędzy wariantami surowca (wartość $p > 0,05$). Auriga (2017) podaje, iż przyczyną zmiany gęstości nasypowej zrębków może być ubytek masy podczas ich składowania. Jak stwierdzono w punkcie 5.2.7. porośnięcie grzybami nie spowodowało istotnych statystycznie

zmian masy zrębków. Zrębki charakteryzują się mniejszą gęstością nasypową niż przemysłowe wióry drzewne wykorzystywane w produkcji płyt wiórowych (ok. 230 kg/m^3 jak podaje Papadopoulos i in. (2004)). Może być to niekorzystne z punktu widzenia produkcji płyt zrębkowych, gdyż zdaniem Droueta (1992) wiąże się to z koniecznością zapewnienia urządzeń produkcyjnych, magazynowych oraz transportowych o zwiększonej pojemności. Z uwagi na to, iż nie wystąpiły statystycznie istotne różnice pomiędzy wariantami można pominąć wpływ gęstości nasypowej zrębków podczas analizy wyników właściwości fizykomechanicznych płyt zrębkowych.

5.3.2 Gęstość i budowa płyt

Gęstość płyty jest jednym z głównych czynników determinujących jej właściwości. Jak powszechnie wiadomo wzrostowi gęstości tworzyw drzewnych towarzyszy poprawa ich wytrzymałości. Z punktu widzenia właściwości użytkowych jednak, zbyt wysoka gęstość może być niekorzystna w niektórych zastosowaniach, np. w meblarstwie. Ponadto zdaniem Droueta (1992) wzrost gęstości płyt może prowadzić do zwiększenia ich spęcznienia na grubość. Rycina 21 przedstawia wyniki pomiarów gęstości w zależności od wariantu płyty.

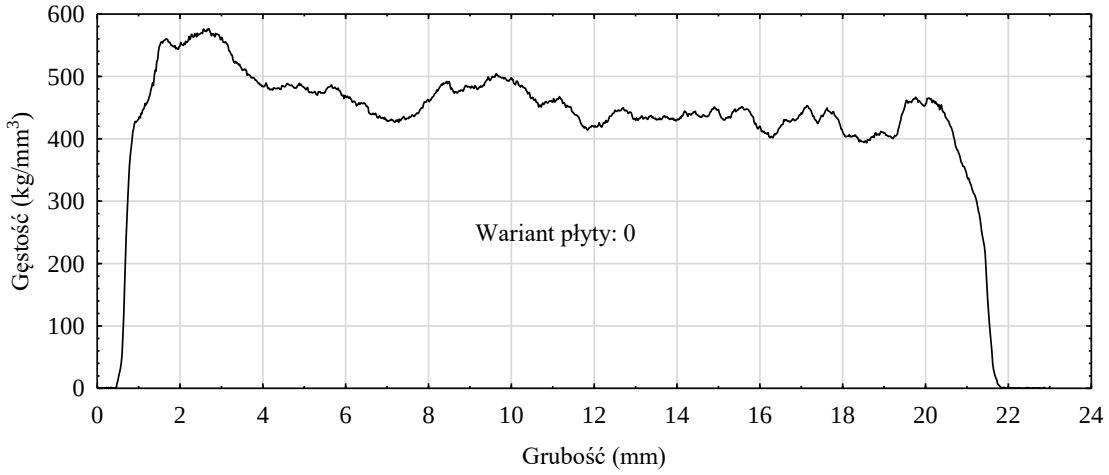


Ryc. 21. Gęstość płyt w zależności od wariantu

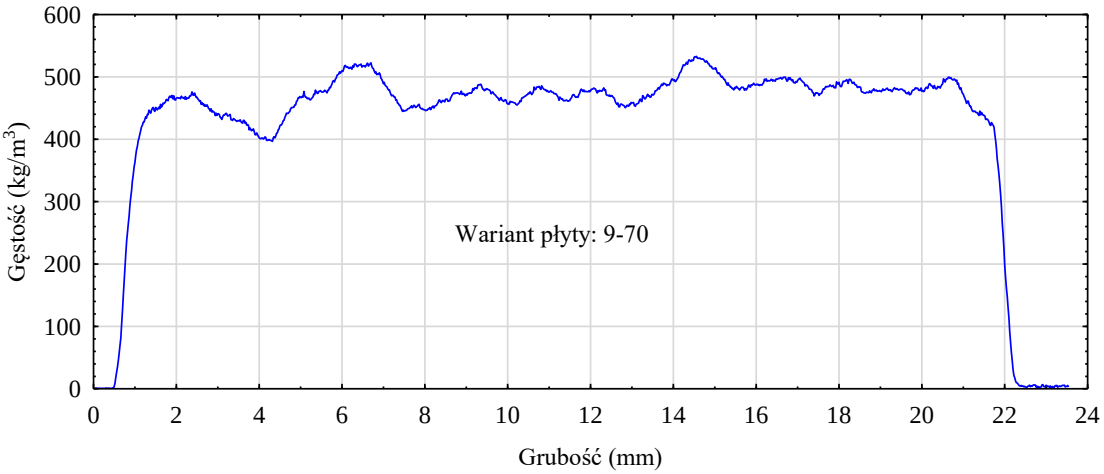
Wyniki gęstości płyt są bardzo zbliżone do założonej (500 kg/m^3), podobnie jak w przypadku badań Mirskiego i in. (2019). Na podstawie wyników testu Fishera stwierdzono, iż nie występują statystycznie istotne różnice pomiędzy wariantami (wartość p > 0,05). Dodatek zrębków porośniętych grzybami pleśniowymi nie miał

zatem wpływu na gęstość płyty zrębkowej. W przeciwieństwie do surowców degradowanych przez grzyby i owady, wykorzystywanych przez Nemli i in. (2018) do wytwarzania płyt wiórowych, wykorzystane grzyby rodzaju *Aspergillus* oraz *Penicillium* nie powodowały dekompozycji ścian komórkowych (punkt 5.2.5.), prowadzącej do obniżenia gęstości drewna, a w konsekwencji również gęstości płyty.

Profil gęstości płyt jest ich podstawową właściwością, badaną na bieżąco na liniach technologicznych, po każdej zmianie parametrów lub przy rozruchu po awarii (Mirski 2013). Zmiany w rozkładzie gęstości na grubości płyty są bardzo istotne, gdyż prawidłowy przebieg profilu pozwala na wytwarzanie płyt charakteryzujących się założonymi właściwościami zarówno mechanicznymi, jak i fizycznymi (Mirski i in. 2019; Nemli i Demirel 2007). Jak podają Nemli i Demirel (2007) wśród czynników technologicznych, mających wpływ na obserwowane zmiany można wyróżnić m.in. strukturę kobierca, harmonogram i parametry prasowania, wilgotność drewna oraz prędkość zamykania prasy. Przykładowe profile gęstości płyt wariantów oznaczonych jako 0 oraz 9-70 zostały przedstawione na Rycinach 22 i 23. Z uwagi na to, iż nie stwierdzono wpływu udziału porośniętych zrębków na ich przebieg, profile gęstości pozostałych płyt zostały zamieszczone w aneksie (Ryciny 36-42).

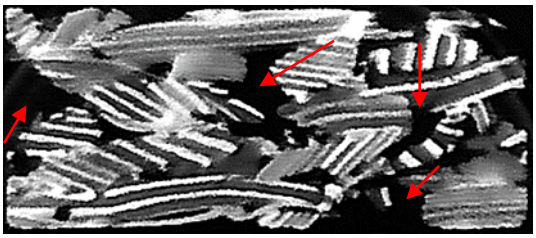


Ryc. 22. Profil gęstości płyty wariantu oznaczonego jako 0

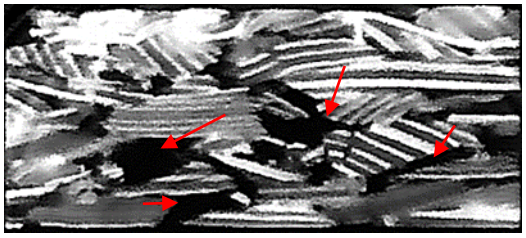


Ryc. 23. Profil gęstości płyty wariantu oznaczonego jako 9-70

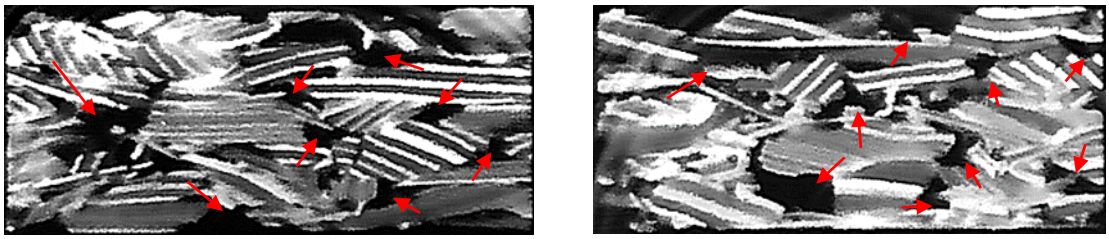
Profile gęstości badanych płyt znacznie różnią się od klasycznego, symetrycznego przebiegu w kształcie litery U, gdzie najwyższa gęstość występuje w warstwach powierzchniowych płyty, najniższa natomiast w warstwie środkowej. Nieregularny przebieg oraz duże wahania gęstości widoczne na grubości płyty są spowodowane wykorzystaniem do ich wytwarzania zrębków. Ich znaczne wymiary w porównaniu z wiórami wykorzystywanymi do wytwarzania warstw wewnętrznych płyt wiórowych, powodują występowanie wolnych przestrzeni pomiędzy cząstkami drewna w strukturze płyty. Rycina 24 przedstawia przykładowe zdjęcia tomograficzne przekrojów poprzecznych płyt, fotografie przedstawiające strukturę pozostałych wariantów zostały zamieszczone w aneksie (Rycina 35).



Wariant 0



Wariant 3-30



Wariant 6-50 Wariant 9-70

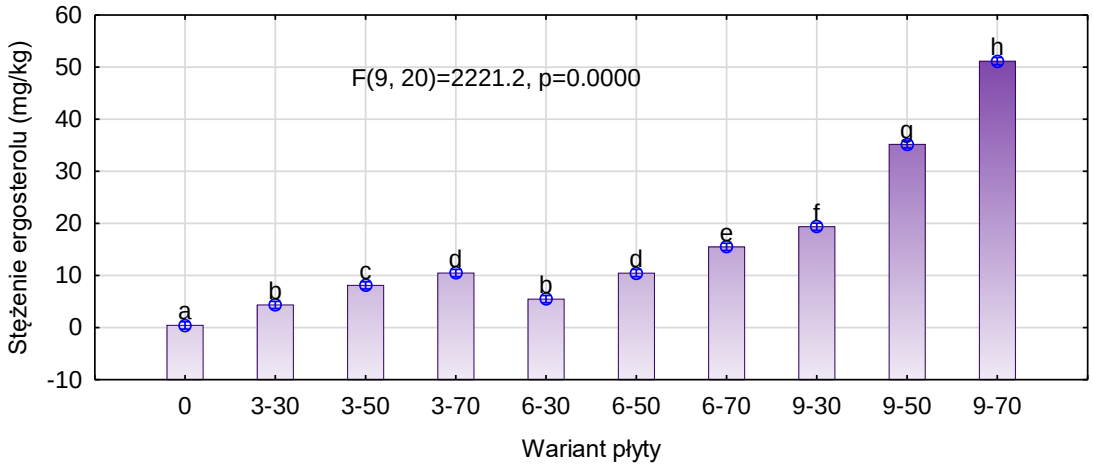
Ryc. 24. Zdjęcia tomograficzne przekrojów poprzecznych płyt

Pomimo znacznego udziału wolnych przestrzeni w przekroju nie zaobserwowano obniżenia gęstości płyt w stosunku do wartości założonej. Ich występowanie jest jednak niekorzystne i może wpłynąć na obniżenie wytrzymałości płyt. Wynika to ze zmniejszonej powierzchni styku pomiędzy zrębkami, której konsekwencją jest niewystarczająca powierzchnia spoin klejowych (Drouet 1992). Ponadto mniej porowate płyty charakteryzują się korzystniejszym rozkładem naprężeń (Medved i Resnik 2003). Oprócz wpływu na właściwości mechaniczne, występowanie wolnych przestrzeni może ułatwiać również penetrację wody i grzybów w głąb płyty, powodując zwiększenie jej nasiąkliwości oraz przyspieszenie rozkładu biotycznego (Imamura i in. 1989; Copak i in. 2021). Dodanie drobnych cząstek drewna, wypełniających wolne przestrzenie może przyczynić się do zwiększenia homogeniczności przekroju płyty i poprawy jej właściwości (Rycina 25). Mirski i in. (2020b) stwierdzili, iż w tym celu zagospodarować można odpady tartaczne, takie jak np. trociny powstające podczas obróbki drewna.

Ryc. 25. Przekrój płyty zrębkowej wytwarzanej z udziałem trocin (Mirski i in. 2020b)

5.3.3 Stężenie ergosterolu w płytach

Wyniki badań stężenia ergosterolu w zależności od wariantu płyty zostały przedstawione na Rycinie 26.



Ryc. 26. Stężenie ergosterolu w płytach zrębkowych (litery a, b, c, d, e, f, g, h oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya)

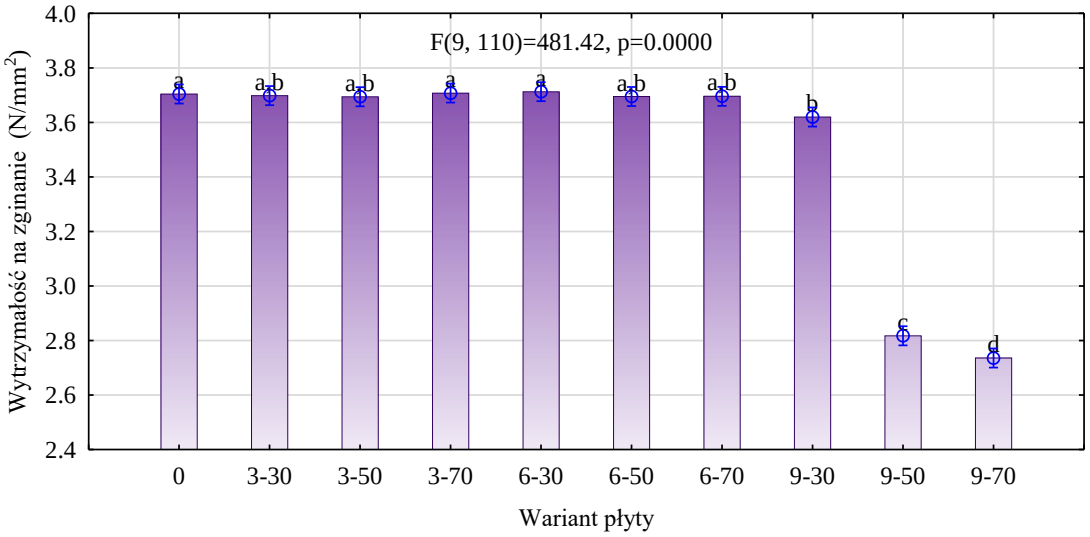
Analiza grup jednorodnych wyznaczonych w teście HSD Tukeya wykazała, iż pomiędzy wariantami płyt wystąpiły statystycznie istotne różnice w zawartości ergosterolu. Stężenie rosło zarówno wraz ze zwiększającym się udziałem zrębków inokulowanych, jak i wraz ze stopniem ich porośnięcia. Wśród płyt zawierających zrębki porośnięte przez grzyby pleśniowe średnia zawartość ergosterolu wynosiła od 4,36 mg/kg do 51,16 mg/kg. Pomimo braku widocznych przebarwień na powierzchni zrębków w płycie oznaczonej jako 0, duża dokładność metody analitycznej pozwoliła na stwierdzenie niewielkich ilości ergosterolu w wariancie kontrolnym (0,43 mg/kg). Jak podaje Idler i in. (2019) grzyby pleśniowe występują i rozwijają się bardzo szybko, szczególnie na świeżo skrawanych powierzchniach. Ponadto Stuper-Szablewska i in. (2017) analizowali pyły drzewne pobrane z różnych stanowisk pracy, zarówno w obrębie działu obróbki wstępnej, jak i zasadniczej zakładu zajmującego się przerobem drewna okrągłego. Badania wykazały zanieczyszczenie pyłu na każdym etapie procesu technologicznego. Można zatem przypuszczać, iż niewielkie stężenie ergosterolu jest nieuniknione w przypadku zrębków pozyskiwanych w zakładzie przemysłowym.

Zastosowanie analizy stężenia ergosterolu jako markera mykobioty pozwala w tym przypadku jedynie na oszacowanie ilości grzybów w płycie. Nie można na

podstawie przedstawionych wyników ocenić efektu dezynfekcji zrębków, gdyż ergosterol jest wskaźnikiem form żywych oraz martwych (Gutarowska i Cichocka 2010). Podczas przygotowania surowca materiał był poddany działaniu wysokich temperatur zarówno podczas suszenia (120°C), jak i prasowania (190°C). Jak podaje Trojanowska i in. (2014) pleśnie giną w temperaturze 60-70°C, jednakże dotyczy to wyłącznie form wegetatywnych. Zarówno zarodniki grzybów, jak i formy przetrwalnikowe bakterii posiadają zdolność przeżycia w bardzo wysokich temperaturach (Stuper-Szablewska i in. 2019). Poddanie zrębków procesom suszenia oraz prasowania na gorąco nie gwarantuje zatem stabilności mikrobiologicznej wytworzonych płyt.

5.3.4 Wytrzymałość płyt

Właściwości wytrzymałościowe płyt stanowią podstawowe kryterium determinujące możliwości ich zastosowania. Na Rycinie 27 przedstawione zostały wyniki wytrzymałości na zginanie statyczne.

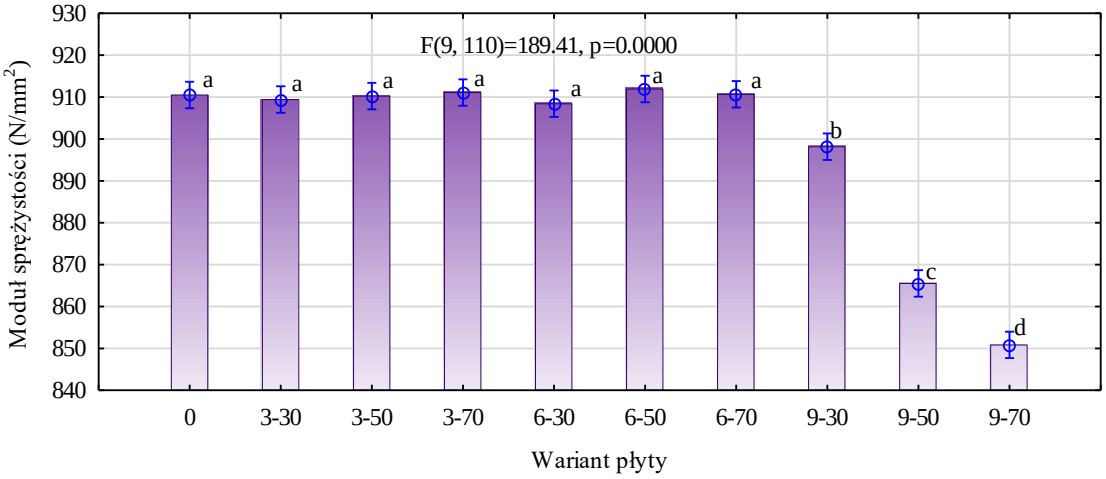


Ryc. 27. Wytrzymałość na zginanie płyt w zależności od wariantu (litery a, b, c, d oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya)

Na podstawie zaprezentowanych wyników stwierdzono, iż dodatek zrębków inkubowanych przez 3 tygodnie oraz 6 tygodni (Z-3, Z-6) nie spowodował istotnych statystycznie zmian w wytrzymałości na zginanie. Dodatek 30% zrębków oznaczonych jako Z-9 spowodował niewielkie obniżenie wartości średniej o ok. 3% w porównaniu do płyty kontrolnej. Analiza grup jednorodnych wykazała jednak, iż

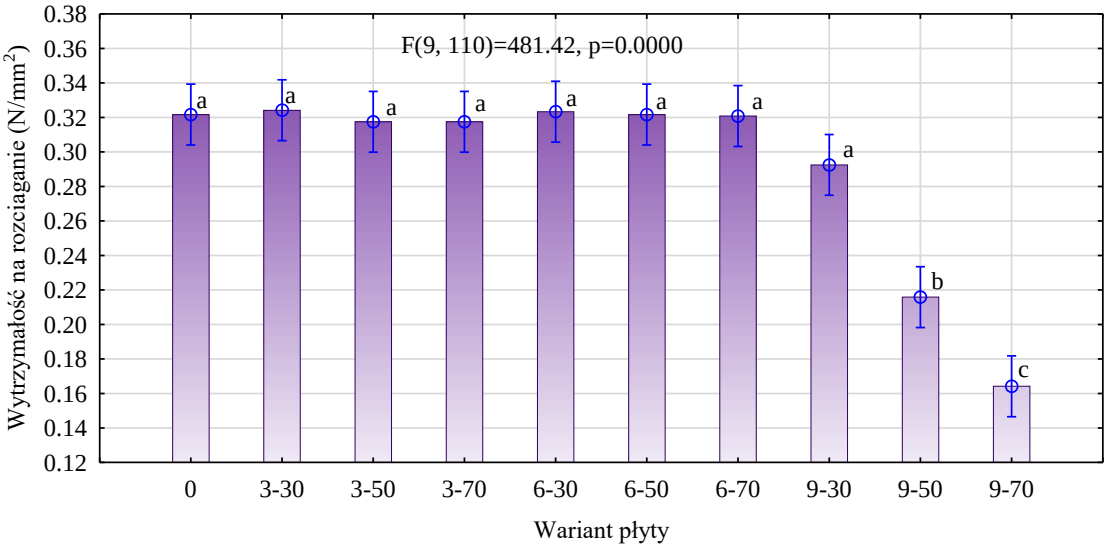
zmiana była istotna statystycznie. Wzrost udziału zrębków charakteryzujących się całkowitym porośnięciem (4 klasa porośnięcia) do 50 i 70% prowadził do dalszego obniżenia wytrzymałości, odpowiednio o 24 i 26%.

Rycina 28 przedstawia wyniki modułu sprężystości przy zginaniu. Na podstawie analizy grup jednorodnych wyznaczonych w teście HSD Tukeya stwierdzono tę samą zależność jak w przypadku wytrzymałości na zginanie. Warianty płyt zawierające zrębki inkubowane przez 3 oraz 6 tygodni nie różniły się w sposób istotny statystycznie od płyty kontrolnej. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, iż zmiany istotne na założonym poziomie istotności statystycznej wystąpiły jedynie w przypadku wykorzystania zrębków inkubowanych 9 tygodni. Udział 30%-owy porośniętych zrębków Z-9 spowodował obniżenie wartości modułu o ok. 2%. Zwiększenie ich udziału do 50 i 70% doprowadziło do obniżenia wartości o odpowiednio 5 i 7% w porównaniu z płytą kontrolną.



Ryc. 28. Moduł sprężystości przy zginaniu w zależności od wariantu (litery a, b, c, d oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya)

Wyniki wytrzymałości na rozciąganie prostopadłe do płaszczyzn płyty przedstawione zostały na Rycinie 29.



Ryc. 29. Wytrzymałość na rozciąganie w kierunku prostopadłym do płaszczyzn w zależności od wariantu (litery a, b, c oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya)

Podobnie jak w przypadku pozostałych właściwości wytrzymałościowych, dodatek zrębków, których czas inkubacji wynosił 3 tygodnie oraz 6 tygodni nie spowodował istotnych statystycznie zmian wytrzymałości płyt na rozciąganie. Pomimo, iż dodatek 30% zrębków oznaczonych jako Z-9 spowodował obniżenie badanej właściwości o 9% w porównaniu do próby kontrolnej, analiza grup jednorodnych wykazała, iż zmiana nie była istotna statystycznie. Istotne zmiany zaobserwowano natomiast w przypadku wariantów 9-50 oraz 9-70, które charakteryzowały się wytrzymałością na rozciąganie niższą o 33 oraz 49% w porównaniu z płytą niezawierającą porośniętych zrębków.

Nemli i in. (2018), badając wpływ wiórów skrawanych z drewna poddanego działaniu grzybów oraz owadów, również zauważyli obniżenie właściwości wytrzymałościowych płyt wiórowych. Jako optimum niepowodujące zmian uznali dodatek 10% zdegradowanego biotycznie drewna. Efekt mógł być jednak wyraźniejszy, gdyż zastosowany przez Autorów hubiak pospolity (*Fomes fomentarius*), grzyb rozkładu białego, spowodował zmiany w składzie chemicznym drewna. Ponadto Krajewski i Witomski (2005) stwierdzili, iż w zaawansowanym stadium rozkładu drewno porażone przez hubiaka pospolitego staje się gąbczaste, z licznymi spękaniami w kierunku promieniowym. Oprócz zmian składu chemicznego, Nemli i in. (2018) powołując się na Goncalves i in. (2008) stwierdzili,

iż obniżenie pH drewna prowadzi do obniżenia wytrzymałości połączeń klejowych w płycie. Zdaniem Autorów spadek pH poniżej 4 powoduje przedwczesną kondensację żywicy UF w kontakcie z drewnem. Ergul i Ayrilmis (2014) również stwierdzili, iż obniżenie pH włókien drzewnych do poziomu 3,9 powoduje spadek wytrzymałości płyty HDF, ze względu na przyspieszone utwardzanie żywicy podczas zaklejania, jeszcze przed prasowaniem kobierca. Powierzchnia zrębków najbardziej porośniętych grzybami pleśniowymi, oznaczonych jako Z-9, charakteryzowała się nieco niższym pH 3,89 (punkt 5.2.5). Biorąc pod uwagę, iż jedyne statystycznie istotne zmiany zostały zaobserwowane w wariantach zakładających wykorzystanie tego wariantu surowca, można przypuszczać, iż przyczyną prawdopodobnie były zmiany pH powierzchniowej warstwy zrębków. Ponadto zdaniem Clausena (2010) zaawansowane porośnięcie przez grzyby pleśniowe, powodując zwiększenie porowatości powierzchni, prowadzi do zmian zwilżalności drewna, która zdaniem Autorów powoduje zwiększone wnikanie kleju. W literaturze brakuje jednakże opracowań naukowych dotyczących wpływu poszczególnych gatunków grzybów na charakterystykę powierzchni drewna. Zmiany zwilżalności mogą jednakże również przyczyniać się do obniżenia wytrzymałości połączeń klejowych żywicy UF (Piao i in. 2010; Nussbaum i Sterley 2000).

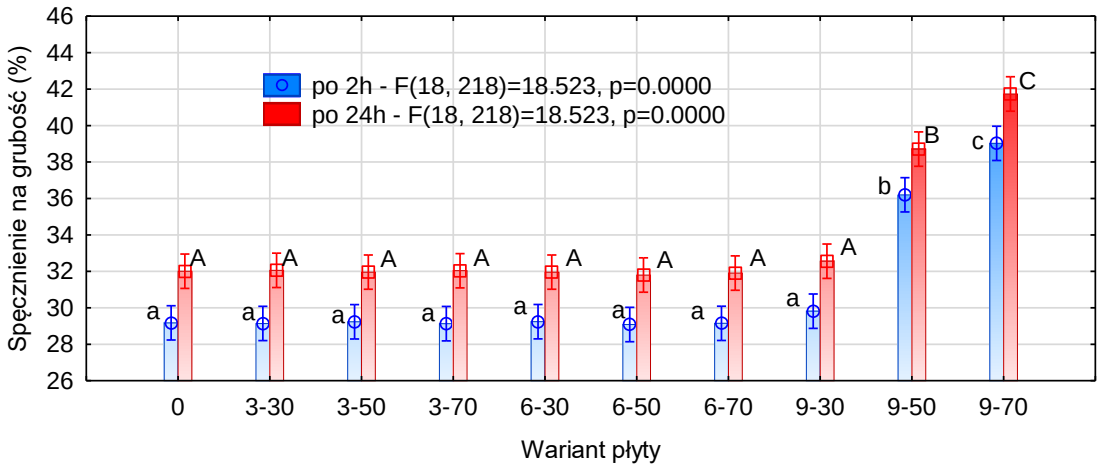
Można zatem stwierdzić, iż wpływ udziału zrębków narażonych na działanie grzybów pleśniowych zależy głównie od stopnia ich porośnięcia. Dodatek 30% zrębków, których powierzchnia była całkowicie porośnięta spowodował stosunkowo niewielkie, aczkolwiek statystycznie istotne obniżenie wytrzymałości płyt. Wzrost ich udziału do 50 i 70% powoduje zdecydowany spadek właściwości mechanicznych wytworzonych płyt zrębkowych. W przypadku zrębków, których porośnięcie nie było całkowite i wynosiło do 75% powierzchni zmiany nie były istotne statystycznie w porównaniu do płyty kontrolnej.

Analizując wartości wytrzymałości płyt na zginanie, niezależnie od wariantu, nie osiągnęły one poziomu wymaganego dla płyt P1 według normy PN-EN 312 (2005), tj. 11,5 N/mm^2. Wytrzymałość na rozciąganie prostopadłe do płaszczyzn przekroczyła natomiast wartości wymagane w normie (0,24 N/mm^2), z wyjątkiem wariantów 9-50 i 9-70. Zbliżony efekt można zaobserwować w dotychczasowych pracach dotyczących właściwości płyt zrębkowych. Badania przeprowadzone przez Mirskiego i in. (2019) wskazują, iż zwiększenie założonej gęstości płyty mogłoby pozwolić na osiągnięcie

wytrzymałości wymaganej w normie. Ponadto dodatek drobnych cząstek drewna, np. trocin wypełniających wolne przestrzenie prowadzi do zwiększenia homogeniczności przekroju, a tym samym również poprawy właściwości mechanicznych płyty (Mirski i in. 2019). Oprócz powyższych, badania Mirskiego i in. (2020b) wykazały, iż prasowanie płyt zrębkowo-trocinowych w systemie trójwarstwowym pozwala na wytwarzanie materiałów o korzystniejszych parametrach mechanicznych. Zdaniem Droueta (1992) zagęszczone warstwy zewnętrzne płyt przejmują wówczas ok. 2/3 wartości momentu zginającego, warstwa wewnętrzna natomiast jedynie 1/3 tego momentu. Wspomniane powyżej przykładowe zabiegi technologiczne, prowadzące do wytwarzania płyt zrębkowych charakteryzujących się większą wytrzymałością nie zostały jednak zastosowane, aby jak najwyraźniej przedstawić wpływ dodatku zrębków porośniętych grzybami pleśniowymi.

5.3.5 Spęcznienie i nasiąkliwość płyt

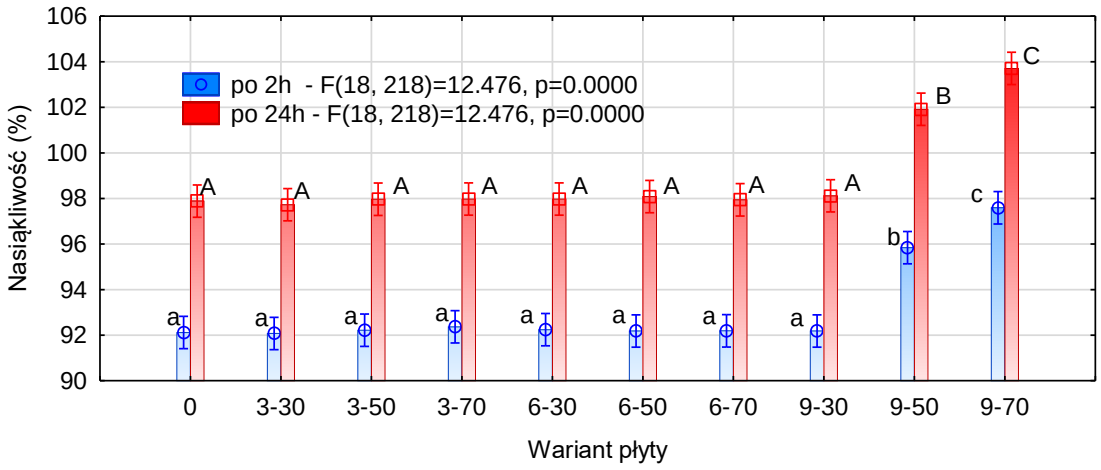
Wpływ podwyższonej wilgotności na właściwości płyt drewnopochodnych jest bardzo istotny z punktu widzenia potencjalnych zastosowań, szczególnie w przypadku tworzyw wykorzystywanych w zastosowaniach zewnętrznych. Spęcznienie płyt wynikające z pęcznienia drewna oraz jego dekomprymacji jest nieodwracalne. Może zależeć od wielu czynników, związanych zarówno z drewnem wykorzystanym do wytwarzania płyt (gatunek, udział substancji niedrzewnych), jak i z zastosowaną technologią (geometria wykorzystanych cząstek, gęstość płyty, rodzaj żywicy, stopień zaklejenia, parametry prasowania) (Halligan 1970; Medved i in. 2011). Wpływ udziału zrębków porośniętych grzybami pleśniowymi na wartości spęcznienia płyt na grubość po moczeniu w wodzie został przedstawiony na Rycinie 30.



Ryc. 30. Spęcznienie płyt na grubość w zależności od wariantu (litery a, b, c oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya)

Na podstawie wyznaczonych w teście HSD Tukeya grup jednorodnych stwierdzono, iż dodatek zrębków inkubowanych przez 3 tygodnie oraz 6 tygodni (Z-3 i Z-6) nie wpłynął w sposób statystycznie istotny na wartości spęcznienia na grubość niezależnie od ich ilości. W przypadku zrębków inkubowanych przez 9 tygodni, ich dodatek w ilości 30% również nie wpłynął na spęcznienie płyty. Zwiększenie udziału zrębków Z-9 do 50 oraz 70% spowodowało jednakże istotny wzrost spęcznienia. W przypadku wariantu 9-50 średnia wartość wzrosła w porównaniu do próby kontrolnej o 24% po 2 h oraz o 21% po 24 h moczenia w wodzie. Wzrost spęcznienia płyt wariantu 9-70 wynosił natomiast 34% oraz 30% odpowiednio po 2 i 24 h.

Rycina 31 przedstawia zmiany nasiąkliwości płyt w zależności od ich wariantu. Analiza grup jednorodnych wyznaczonych w teście HSD Tukeya wykazała, iż dodatek zrębków inkubowanych przez 3 i 6 tygodni nie spowodował istotnych statystycznie zmian, podobnie jak w przypadku spęcznienia. Ponadto dodatek zrębków Z-9 w ilości 30% również nie wpłynął na otrzymane wyniki. Średnie wartości w tych wariantach płyt zawierały się w przedziałach od 92,08 do 92,37% po 2 h oraz od 97,72 do 98,12% po 24 h moczenia w wodzie. Statystycznie istotne zmiany wystąpiły w przypadku wariantów oznaczonych jako 9-50 oraz 9-70. W porównaniu do próby referencyjnej ich nasiąkliwość wzrosła o 4% w przypadku dodatku 50% oraz o 6% w przypadku dodatku 70% porośniętych zrębków (zarówno po 2 h, jak i po 24 h moczenia).



Ryc. 31. Nasiąkliwość płyt w zależności od wariantu (litery a, b, c oznaczają grupy jednorodne wyznaczone w teście HSD Tukeya)

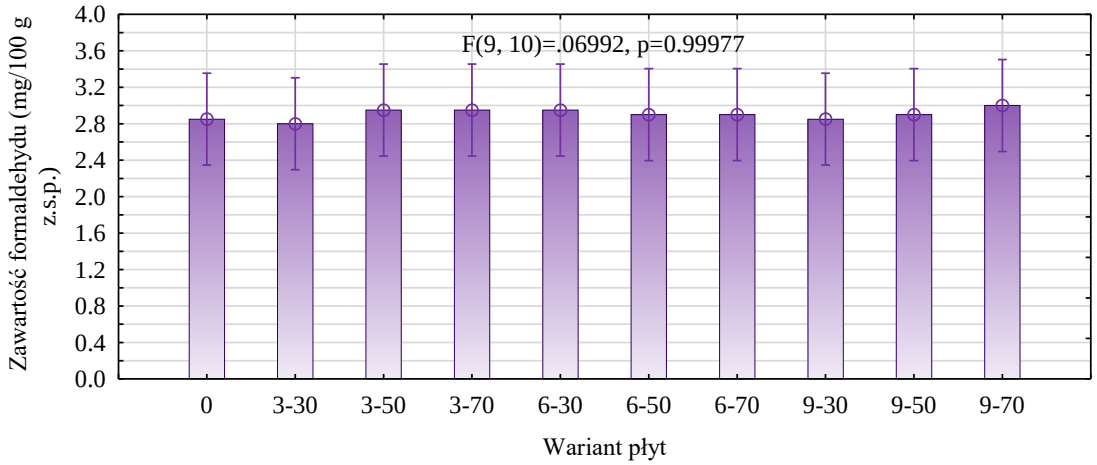
Wpływ zrębków porośniętych grzybami pleśniowymi różni się zatem od efektu zaobserwowanego przez Nemli i in. (2018). Na podstawie przeprowadzonych badań Autorzy stwierdzili, iż dodatek zdegradowanego biotycznie surowca spowodował zmniejszenie spęcznienia na grubość oraz nasiąkliwości płyt. Jako przyczynę Autorzy podają, iż surowiec ten charakteryzował się niższą zawartością hydrofilowej celulozy oraz hemiceluloz. Grzyby rodzaju *Aspergillus* oraz *Penicillium* nie spowodowały jednak zmian w składzie chemicznym zrębków. Beech (1975) wśród czynników wpływających na wartości spęcznienia oraz nasiąkliwości płyty wymienia wytrzymałość połączeń klejowych pomiędzy cząstkami drewna. Jedyne statystycznie istotne zmiany zaobserwowano w przypadku wariantów 9-50 i 9-70. Można zatem przypuszczać, iż zaawansowane porośnięcie grzybami pleśniowymi, które najprawdopodobniej doprowadziło do spadku wytrzymałości połączeń klejowych w płycie (punkt 5.3.4.), jest również przyczyną wyższych wartości spęcznienia na grubość oraz nasiąkliwości.

Przedstawione wartości spęcznienia płyt na grubość są znacznie wyższe niż wartość wymagana w normie PN-EN 312 (2003) dla płyt typu P3 (14% po 24 h). Badania Mirskiego i in. (2018) potwierdziły, iż płyty zrębkowe charakteryzują się wyższym spęcznieniem niż przemysłowe, laminowane oraz nieuszlachetniane w żaden sposób płyty wiórowe. Jak podaje Beech (1975) zabiegi takie jak okleinowanie, laminowanie czy lakierowanie powodują powstanie fizycznej bariery ograniczającej wnikanie wody w głąb płyty. Ponadto w warunkach przemysłowych,

w procesie zaklejania wprowadzane są różnego rodzaju substancje hydrofobowe, głównie emulsje parafinowe. Zmniejszają one wchłanianie wody zamykając kapilary poprzez wytworzenie powłoki na powierzchni cząstek drewna (Drouet 1992). Porównując uzyskane wyniki z wcześniejszymi pracami dotyczącymi płyt zrębkowych oraz zrębkowo-trocinowych (Mirski i in. 2019, 2020a, 2020b) można stwierdzić, iż wykorzystanie drobnych cząstek drewna powoduje ograniczenie wnikania wody w głąb płyty poprzez zmniejszenie udziału wolnych przestrzeni. Biorąc pod uwagę wspomniany wpływ wytrzymałości połączeń klejowych na wartości spęcznienia można przypuszczać również, że zastosowanie żywicy melaminowo-mocznikowo-formaldehydowej oraz pMDI we wcześniejszych badaniach, mogło również przyczynić się do uzyskania niższych wartości. Badania potwierdziły także, iż warstwy zewnętrzne płyt trójwarstwowych, charakteryzujące się wyższą gęstością ograniczają wnikanie wody w kierunku prostopadłym do ich powierzchni (Mirski i in. 2020b).

5.3.6 Zawartość formaldehydu

Na Rycinie 32 przedstawione zostały wyniki badań zawartości formaldehydu w zależności od wariantu płyty. Otrzymane wartości są niższe niż wartość graniczna zawartości formaldehydu dla tworzyw klasy E1 (≤ 8 mg/100 g z.s.p.).



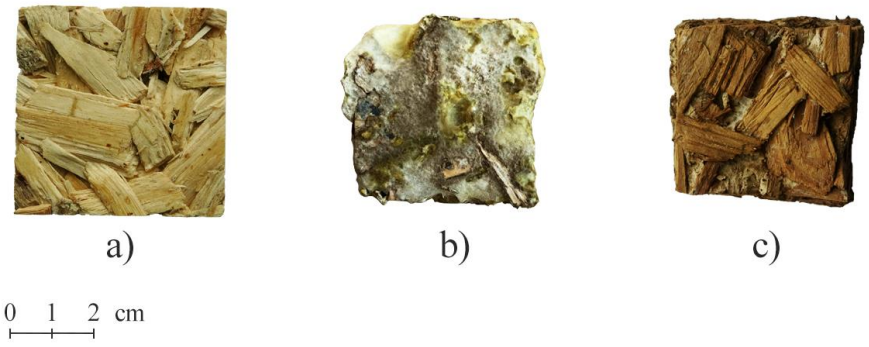
Ryc. 32. Zawartość formaldehydu w zależności od wariantu płyty (z.s.p. oznacza zupełnie suchej płyty)

Na podstawie wyniku testu Fishera stwierdzono, iż wykorzystanie zrębków inokulowanych grzybami pleśniowymi, niezależnie od stopnia ich porośnięcia, nie

spowodowało statystycznie istotnych zmian w zawartości formaldehydu (wartość p > 0,05). Na podstawie przeprowadzonych badań Nemli i in (2018) stwierdzili natomiast, iż dodatek wiórów skrawanych z drewna degradowanego przez grzyby oraz owady doprowadził do obniżenia szkodliwych emisji. Zdaniem Autorów efekt ten wynika ze zwiększonego udziału substancji ekstrakcyjnych. Porośnięcie grzybami pleśniowymi nie spowodowało jednak istotnych statystycznie zmian w zawartości tych substancji (punkt 5.2.5).

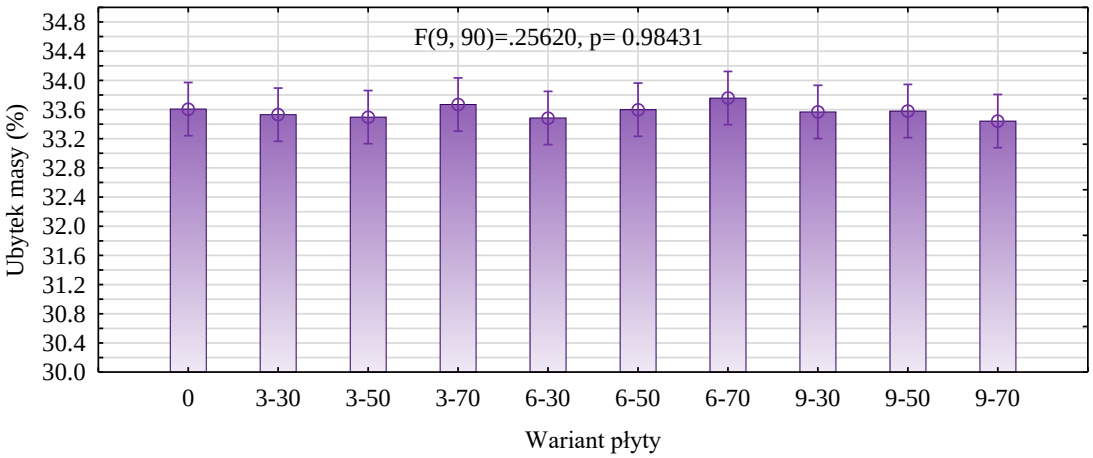
5.3.7 Rozkład płyty przez grzyby

Rozkład brunatny jest skutkiem działalności grzybów typu *Basidiomycota*, rozkładających głównie zawarte w drewnie polisacharydy poprzez ich intensywną depolimeryzację (Krajewski i Witomski 2005). Przykładem gatunku należącego, zdaniem Krajewskiego i Witomskiego (2005), do najczęściej występujących w Polsce jest wykorzystany w badaniach grzyb piwniczny (*Coniophora puteana)*. Porażone przez ten gatunek drewno przybiera kolor brunatny i rozkładane jest bardzo szybko (do 70% ubytku masy po 6-9 miesiącach rozkładu). Ze względu na częstotliwość występowania oraz siłę niszczenia *C. Puteana* jest gatunkiem bardzo często wykorzystywanym w testach biologicznych, służących do oceny skuteczności zabezpieczenia tworzyw drzewnych. Wygląd próbki płyty zrębkowej przed i po zakończonej inkubacji został zaprezentowany na Rycinie 33. Na skutek porażenia wystąpiła wyraźna zmiana barwy oraz zmniejszenie wymiarów liniowych próbki.



Ryc. 33. Wygląd próbek poddanych rozkładowi przez grzyby: a) przed inkubacją; b) po inkubacji, przed oczyszczeniem; c) po inkubacji oraz oczyszczeniu

Na Rycinie 34 zaprezentowano wyniki ubytku masy płyt zrębkowych w zależności od ich wariantu.



Ryc. 34. Ubytek masy na skutek działania grzyba piwnicznego w zależności od wariantu płyty

Na podstawie wyniku testu Fishera stwierdzono, iż zarówno udział procentowy zrębków, jak i czas ich inkubacji nie miał statystycznie istotnego wpływu na rozkład płyty przez *C. Puteana* (wartość $p > 0,05$). Oznacza to, iż zawarte w płycie zarodniki, mające zdolność przeżycia w bardzo wysokich temperaturach, nie wpłynęły synergistycznie na rozwój grzybów rozkładających. Średnie wartości ubytku masy w przypadku płyt zrębkowych wynosiły ok. 33%. Jest to wartość porównywalna, lecz nieco niższa od wartości średniej zaobserwowanej przez Stangierską i in. (2013) dla jednowarstwowej płyty wiórowej (ok. 38%).

6. Wnioski

1. Na podstawie wyników różnorodności gatunkowej, oceny wizualnej, stężenia ergosterolu oraz wybranych kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej stwierdzono, iż rodzaj składowiska zrębków ma istotny wpływ na rozwój grzybów pleśniowych w trakcie ich składowania.
2. Spośród analizowanych składowisk najkorzystniejszym sposobem przechowywania zrębków, z punktu widzenia ograniczania rozwoju grzybów pleśniowych jest składowanie ich w silosie. Najmniej korzystne natomiast jest składowanie na niewybetonowanym placu. Wpływ zadaszenia w przypadku placu wybetonowanego prawdopodobnie może mieć wyraźniejszy wpływ podczas długotrwałego przechowywania surowca.
3. Powszechnie występujące na składowiskach grzyby pleśniowe rodzaju *Aspergillus* oraz *Penicillium* wykazują zdolność szybkiego porastania zrębków sosnowych. Zmiany w zawartości grzybów są wyraźnie widoczne po zakończeniu każdego z okresów inkubacji, różniących się między sobą o 3 tygodnie.
4. Wyniki analizy spektralnej FTIR oraz składu chemicznego surowców potwierdziły, iż niezależnie od czasu inkubacji, inokulacja grzybami pleśniowymi nie wpływa w sposób istotny na strukturę chemiczną oraz skład zrębków sosnowych. Ponadto nie zaobserwowano również zmian w ich właściwościach fizycznych oraz geometrii.
5. Wpływ kolonizacji zrębków przez grzyby rodzaju *Aspergillus* oraz *Penicillium* na pH powierzchni drewna zależy głównie od stopnia ich rozwoju. Całkowite porośnięcie powoduje istotne obniżenie odczynu powierzchniowej warstwy zrębków.
6. Z uwagi na brak znaczącego wpływu badanych grzybów na właściwości zrębków, ich dodatek, niezależnie od ilości oraz stopnia porośnięcia, nie wpływa w sposób istotny na higieniczność, gęstość, budowę oraz rozkład brunatny wytworzonych płyt zrębkowych.
7. Osłabienie połączeń pomiędzy cząstkami drewna, wynikające ze znacznego obniżenia pH jego powierzchni podczas dziewięciotygodniowej inkubacji spowodowało istotne obniżenie właściwości wytrzymałościowych (moduł sprężystości, wytrzymałość na zginanie oraz wytrzymałość na rozciąganie prostopadłe do płaszczyzn) płyt oraz zwiększenie ich spęcznienia i nasiąkliwości.

8. W przypadku zrębków charakteryzujących się jedynie częściowym porośnięciem (do 75% powierzchni) nie zaobserwowano negatywnego wpływu na właściwości wytworzonych płyt. Zrębki całkowicie porośnięte mogą być bez konsekwencji stosowane jako substytut niezdegradowanego surowca jedynie po dostosowaniu ilości. W ich przypadku dodatek powinien być mniejszy niż 30% surowca drzewnego przeznaczonego do produkcji płyt zrębkowych.

Bibliografia

Adamczyk-Królak, I. (2013). Drewno modyfikowane termicznie. Budownictwo o Zoptymalizowanym Potencjale Energetycznym, 1(11): 7-13.

Afzal, M.T., Bedane, A.H., Sokhansanj, S., Mahmood, W. (2010). Storage of comminuted and uncomminuted forest biomass and its effect on fuel quality. BioResources, 5(1): 55-69.

Ahmed, S.A., Sehlstedt-Persson, M., Moren, T. (2013). Development of a new rapid method for mould testing in a climate chamber: preliminary tests. European Journal of Wood and Wood Products, 71: 451-461.

Alakoski, E., Jamsen, M., Agar, D., Tampio, E., Wihersaari, M. (2016). From wood pellets to wood chips, risks of degradation and emissions from the storage of woody biomass – A short review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 54: 376-383.

Ammann, H.M. (2016). Inhalation exposure and toxic effects of mycotoxins. W: Biology of Microfungi. Red. Li, D.-W. Springer, Nowy Jork: 495-524.

Anerud, E., Larsson, G., Eliasson, L. (2020). Storage of Wood Chips: Effect of Chip Size on Storage Properties. Croatian Journal of Forest Engineering, 41(2): 277-286.

Aras, U., Kalaycioglu, H., Yel, H, Bitek, G. (2015). Effects of ammonium nitrate on physico-mechanical properties and formaldehyde contents of particleboard. Procedia – Social and Behavioral Sciences, 195: 2130-2134.

Aron, N.S.M., Khoo, K.S., Chew, K.W., Show, P.L., Chen W.-H., Nguyen, T.H.P. (2020). Sustainability of the four generation of biofuels – A review. International Journal of Energy Research, 44(12): 1-17.

Auriga, R. (2017a). Wpływ sposobu i czasu składowania zrębków na właściwości fizyczne i mechaniczne wytwarzanych płyt wiórowych. Praca doktorska, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa.

Auriga, R. (2017b). Wpływ sposobu składowania zrębków drzewnych na właściwości fizyczne i mechaniczne płyt wiórowych. Biuletyn Informacyjny Ośrodka Badawczo-Rozwojowego Przemysłu Płyt Drewnopochodnych w Czarnej Wodzie, 58(3-4): 106-119.

Auriga, R., Boruszewski, P. (2013). Influence of storage raw material in the form of wood chips on the properties of particleboard. Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW. Forestry and Wood Technology, 82: 27-30.

Ayrilmis, N., **Kaymakci, A., Gulec, T. (2014).** Mechanical performance of wood plastic composites containing decayed wood. 57th International Convention of Wood Science and technology. 23-27 czerwiec, Zvolen, Słowacja.

Ayrilmis, N., Kaymakci, A., Gulec, T. (2015). Potential use of decayed wood in production of wood plastic composite. Industrial Crops and Products, 74: 279-284.

Baharoglu, M., Nemli, G., Sari, B., Birturk, T., Bardak, S. (2013). Effects of anatomical and chemical properties of wood on the quality of particleboard. Composites: Part B, 52: 282-285.

Balsari, P., Manzone, M. (2010). Evaluation of different wood chips storage techniques. FORMEC 2010 Forest Engineering: Meeting the Needs of the Society and the Environment. 11-14 lipiec 2010, Padwa.

Barbero-López, A., Hossain, M., Haapala, A. (2020). Antifungal activity of organic acids and their impact on wood decay resistance. Wood and Fiber Science, 52(4): 410-418.

Barontini, M., Crognale, S., Scarfone, A., Gallo, O., Galluci, F., Petruccioli, M., Pesciaroli, L., Pari, L. (2013). Airbone fungi in biofuel wood chip storage sites. International Bideterioration & Biodegradation, 90: 17-22.

Beech, J.C. (1975). The thickness swelling of wood particleboard. Holzforschung, 29(1): 11-18.

Benthien, J., Ohlmeyer, M., Schneider, M., Stehle, T. (2018). Experimental determination of the compression resistance of differently shaped wood particles as influencing parameter on wood-reduced particleboard manufacturing. European Journal of Wood and Wood Products, 76: 937-945.

Bjurman, J. (1994). Ergosterol as an indicator of mould growth on wood in relation to culture age, humidity stress and nutrient level. International Biodeterioration & Biodegradation, 33(4): 355-368.

Brand, M.A., de Muniz, G.I.B., Quirino, W.F., Brito, J.O. (2010). Influence of storage time on the quality of biomass for energy production in humid subtropical regions. Cerne, 16(4), 531.

Brand, M.A., de Muniz, G.I.B., Quirino, W.F., Brito, J.O. (2011). Storage as a tool to improve wood fuel quality. Biomass and Bioenergy, 35(7): 2581-2588.

Brischke, C., Rapp, A.O. (2008). Influence of wood moisture content and wood temperature on fungal decay in the field observations in different micro-climates. Wood Science and Technology, 42: 663-677.

Broda, M. (2020). Natural Compounds for Wood Protection Against Fungi – A Review. Molecules, 25(15), 3538.

Browning, B.L. (1967). Methods for wood chemistry, Vol I and II. Interscience Publishers, Nowy Jork.

Buczyńska A., Cyprowski, M., Piotrowska, M., Szadkowska-Stańczyk, I. (2007). Grzyby pleśniowe w powietrzu pomieszczeń biurowych – wyniki interwencji środowiskowej. Medycyna Pracy, 58(6): 521-525.

Cameselle, C., Bohlmann, J.T., Nunez, M.J., Lema, J.M. (1998). Oxalic acid production by Aspergillus niger. Bioprocess Engineering, 19: 247-252.

Chen, H., Ferrari, C., Angiuli, M., Yao, J., Raspi, C., Bramanti, E. (2010). Qualitative and quantitative analysis of wood samples by Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis. Carbohydrate Polymers, 82: 772-778.

Chen, S., Du, C., Wellwood, R. (2008). Analysis of strand characteristics and alignment of commercial OSB panels. Forest Products Journal, 58: 94-98.

Chróst, A. (2016). Grzyby pleśniowe w środowisku człowieka – zagrożenie i skutki zdrowotne. Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia, 68: 135-150.

Clausen, C.A. (2010). Biodeterioration of Wood. W: Wood Handbook. Wood as an Engineering Material. Red. R.J. Ross. USDA Forest Service Forest Product Laboratory, Madison.

Cichy, W. (2012). Combustion of plywood waste in a low-power boiler. Drewno, 55(187): 21-36.

Cofta, G. (2011). Drewno impregnowane współczesnymi fungicydami a emisja lotnych matabolitów grzybów. Rozprawa naukowa nr 433. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań.

Cofta, G., Kwaśniewska-Sip, P., Weltrowski, K. (2018). Caffeine as anti-mould additive for wood preservative contain copper. Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW. Forestry and Wood Technology, 104: 101-105.

Copak, A., Jirous-Rajovic, V., Spanic, N., Miklecic, J. (2021). The impact of post-manufacture treatments on the surface characteristics important for finishing of OSB and particleboard. Forests, 12, 975.

Cosereanu, C., Brenci, L.-M., Zeleniuc, O., Fotin, A. (2014). Effect of particle size and geometry on the performance of single-layer and three-layer particleboard made from sunflower and seed husks. BioResources, 10: 1127-1136.

Cunningham, J.E., Kuiack, C. (1992). Production of citric and oxalic acids and solubilization of calcium phosphate by Penicillium bialii. Applied and Environmental Microbiology, 58(5): 1451-1458.

Daassi-Gnaba, H., Oussar, Y., Merlan, M., Ditchi, T., Geron, E., Hole, S. (2018). Moisture content recognition for wood chips in pile using supervised classification. Wood Science and Technology, 52: 1195-1211.

Dai, C.P., Yu, C.M., Zhou, C. (2007). Theoretical modeling of bonding characteristics and performance of wood composites. Part I. Inter-element contact. Wood and Fiber Science 39: 48-55.

Darwish, S.S., El Hadidi, N.M.N., Mansour, M. (2013). The effect of fungal decay on ficus sycomorus wood. International Journal of Conservation Science, 4(3): 271-282.

De Castro, R.V., de Castro Freitas, M.P., Zanucio, A.J.V., Zanucio, J.C., Surdi, P.G., Carneiro, A.C.O., Vital, B.R. (2019). Resistance of in natura and torrefied wood chips to xylophage fungi. Scientific Reports, 9, 11068.

Drouet, T. (1992). Technologia płyt wiórowych. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.

Dziurzyński, A. (2010). Oznaczenie zawartości w drewnie pentozanów metodą Tollensa. W: Przewodnik do ćwiczeń z podstaw chemii drewna i wybranych polimerów. Red. Prądzyński, W. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu: 42-44.

Eaton, R.A., Hale, M.D.C. (1993). Wood-decay, pests and protection. Chapman and Hall Ltd, Londyn.

Ellefson, P.V., Kilgore, M.A. (2010). United States Wood-Based Industry: A review of structure and organization. Staff Paper Series 206, Department of Forest Resources College of Food, Agricultural and Natural Resources Sciences, University of Minnesota.

Ergul, E., Ayrilmis, N. (2014). Effect of outdoor storage conditions of wood chip pile on the technological properties of wood-based panel. Biomass and Bioenergy, 61: 66-72.

Esenther, G.R., Allen, T.C., Casida, J.E., Shenefelt, R.D. (1962). Decayed wood as termite attractants. Patent US3070495, 25.12.1962 r.

Fischer, C., Holl, W. (1992). Food reserves of scots pine (*Pinus Sylvestris* L.). Trees, 6: 147-155.

Fobes, E.W. (1959). Wood-chipping equipment and materials handling. Raport 2160. United States Department of Agriculture Forest Service in Cooperation with the University of Wisconsin.

Fojutowski, A., Koziróg, A., Kropacz, A. (2014). Assessment of Scots pine sapwood susceptibility to moulds by determination of fungi growth and ergosterol content in infested wood. 45th International Research Group on Wood Protection, 11-15 maj 2014 r., Utah.

Francescato, V., Antonini, E., Metschina, C., Schnedl, C., Krajnc, N., Gradziuk P., Koscik, K., Nocentini, G., Stranieri, S. (2008). Podręcznik Paliw Pochodzenia Drzewnego. Wydawnictwo Wieś Jutra, Warszawa: 10-12.

Fuller, W.S. (1985). Chip pile storage – a review of practices to avoid deterioration and economic losses. The Journal of the Technical Association of the Pulp and Paper Industry, 68(8).

Gal, A. (2016). Różne oblicza pleśni – wykorzystanie grzybów strzępkowych z rodzaju Penicillium. I Uczelniane Seminarium Naukowe Studentów Wydziału Biologii i Biotechnologii UMCS. 26 listopad, Lublin.

Galus-Barchan, A., Paśmionka, I. (2014). Występowanie wybranych mikroorganizmów w glebie na obszarze Puszczy Niepołomickiej ze szczególnym uwzględnieniem grzybów pleśniowych. Polish Journal of Agronomy, 17: 11-17.

Gawrysiak-Witulska, M., Wawrzyniak, J., Stuper, K., Rusinek, R. (2015). Kinetics of changes in ergosterol content during rapeseed storage. Acta Agrophysica, 22(1): 27-37.

Gąsecka, M., Drzewiecka, K., Magdziak, Z., Piechalak, A., Budka, A., Waliszewska, B., Szentner, K., Goliński, P., Niedzielski, P., Budzyńska, S., Mleczek, M. (2021). Arsenic uptake, speciation and physiological response of tree

species (Acer pseudoplatanus, Betula pendula and Quercus robur) trated with dimethylarsinic acid. Chemosphere, 263, 127859.

Gąsecka, M., Siwulski, M., Magdziak, Z., Budzyńska, S., Stuper-Szablewska, K., Niedzielski, P., Mleczek, M. (2020). The effect of drying temperature on bioactive compounds and atixoxidant activity of Leccinum scabrum (Bull.) gray and Hericium ernaceus (Bull.) pers. Journal of Food Science and Technology, 57(2): 513-525.

Ge, S.-B., Gu, H.-P., Ma, J.-J., Yang, H.-Q., Jiang, S.-C., Liu, Z., Peng, W.-X. (2018). Potential use of different kinds of carbon in production of decayed wood plastic composite. Arabian Journal of Chemistry, 11(6): 838-843.

Gendek, A., Głowacki, S. (2009). Convectional drying of chips for energy purposes. Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW. Agriculture, 53: 67-72.

Gendek A., Matlak J., Velebil J. (2018). Wpływ technologii pozyskania i składu zrębków leśnych na ich wartość opałową i zawartość popiołu. Sylwan, 162(3): 248-257.

Ghahri, S., Mohebby, B., Pizzi, A., Mirshokraie, A., Mansouri, H.R. (2018). Improving water resistance of soy-based adhesive by vegetable tannin. Journal of Polymers and the Environment, 26(5): 1881-1890.

Gobakken, L.R. (2009). Surface mould growth on painted and unpainted wood – influencing factors, modelling and aesthetic service life. Praca doktorska. Norwegian University of Life Sciences, As.

Goncalves, F.G., Lelis, R.C.C., Oliveria, J.T.D. (2008). Influence of the composition of tannin-urea formaldehyde resins on the physical and mechanical properties of particleboard. Revista Arvore, 32: 715-722.

Grinn-Gofroń, A. (2010). Rodzaje Aspegillus i Penicillium jako źródło potencjalnych alergenów grzybowych. Alergoprofil, 6(2): 2-5.

Gupta, B.S., Jelle, B.P., Hovde, P.J., Holme, J. (2011). Characterization of wood mould fungi by FTIR – a valuable step for prediction of initiation of decay. 12th International Conference on Durability of Building Materials and Components, 12 kwiecień 2011 r., Porto.

Gutarowska, B., Cichocka, A. (2010). Zastosowanie metody oznaczania ergosterolu do szybkiej oceny zanieczyszczenia grzybami na różnych etapach produkcji papieru. Przegląd Papierniczy, 66(1): 45-47.

Gutarowska, B., Żakowska, Z. (2002). Elaboration and application of mathematical model for estimation of mould contamination of some building materials based on ergosterol content determination. International Deterioration & Degradation, 49: 299-305.

Haga, D.I., Burrows, S.M., Iannone, R., Wheeler, M.J., Mason, R.H., Chen, J., Polishchuck, E.A., Poschl, U., Bertram, A.K. (2014). Ice nucleation by fungal spores from the classes *Agaricomycetes, Ustilaginomycetes and Eurotiomycetes* and the effect on the atmospheric transport of these spores. Atmospheric Chemistry and Physics, 14: 8611-8630.

Halligan, A.F. (1970). A review of thickness swelling in particleboard. Wood Science and Technology, 4: 301-312.

Harris, R.A. (1988). An economic comparison of covered vs. outside storage of whole-tree fuelwood chips. Forest Products Journal, 38(1): 15-16.

Hamed, S.A.M. (2013). In-vitro studies on wood degradation in soil by soft-rot fungi: Aspergillus niger and Penicillium chrysogenum. International Biodegradation & Biodeterioration, 78: 98-102.

Hamed, S.A.M., Mansour, M.M.A. (2018). Comparative study on micromorphological changes in wood due to soft-rot fungi and surface mold. Scientific Culture, 4(2): 35-41.

Heinek, S., Polanz,S., Huber, M.B., Hofman, A., Monthaler, G., Fuchs, H.P., Larch, C., Giovanni, A. (2013). Degradation of biomass during the storage of woodchips. 21th European Biomass Conference, 03-07.06.2013 r., Kopenhaga.

Heritage, C.C. (1954). Adhesive or molding composition comprising brown rotted wood and phenol-formaldehyde resin. Patent US2698307, 28.12.1954 r.

Hippelein, M., Rugamer, M. (2004). Ergosterol as an indicator of mould growth on building materials. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 207(4): 379-385.

Hofmann, N., Mendel, T., Schulmeyer, F., Kuptz, D., Borchert, H., Hartmann, H. (2017). Drying effects and dry matter losses during seasonal storage of spruce wood chips under practical conditions. Biomass and Bioenergy, 111: 196-205.

Horbik, D. (2019). Oznaczanie grzybów pleśniowych na powierzchni materiału i ocena oddziaływania grzybów na materiał budowlany. Przegląd Budowlany, 6: 20-25.

Huh, N., Jang, Y., Lee, J., Kim, G.-H., Kim, J.-J. (2011). Phylogenetic analysis of major molds inhabitating woods and their discoloration characteristics. Part 1. Genus Trichoderma. Holzforschung, 65(2): 1-7.

Hukka, A., Viitanen, H.A. (1999). A mathematical model of mould growth on wooden material. Wood Science and Technology, 33: 475-485.

Idler C., Pecenka R., Lenz, H. (2019). Influence of the particle size of poplar wood chips on the development of mesophilic and thermotolerant mould during storage and their potential impact on dry matter losses in piles in practice. Biomass and Bioenergy, 127, 105273.

Imamura, Y., Subiyanto, B., Rowell, R.M., Nilsson, T. (1989). Dimensional stability and biological resistance of particleboard from acetylated albizzia wood particles. Bulletin of the Wood Research Institute Kyoto University, 76: 49-58.

Imken, A.A.P., Brischke, C., Kogel, S., Krause, K.C., Mai, C. (2020). Resistance of different wood-based materials against mould fungi: a comparison method. European Journal of Wood and Wood Products, 78: 661-671.

Jasiulewicz, M., Janiszewska, D.A. (2012). Problem logistyki agro-biomasy do celów energetycznych. Logistyka, 4: 981-987.

Jelle, B.P., Hovde, P.J. (2013). Fourier transform infrared radiation spectroscopy applied for wood rot decay and mould fungi growth detection. Advances in Materials Science and Engineering, 969360.

Jirjis, R. (1988). Microfungi problem, health aspects, storage of wood fuel chips. IEA/BE Conference, Task III, 6-7 grudzień 1988 r., Szwecja.

Johansson, P., Bok, G., Ekstrand-Tobin, A. (2013). The effect of cyclic moisture content and temperature on mould growth on wood compared to steady state conditions. Building and Environment, 65: 178-184.

Jones, D.L. (1998). Organic acids in the rhizosphere – a critical review. Plant and Soil, 205: 25-44.

Kartal, S.N., Katsumata, N., Imamura, Y. (2006). Removal of copper, chromium and arsenic from CCA-treated wood by organic acids released by mold and staining fungi. Forest Products Journal, 59(9): 33-37.

Kawamura, S., Wang, Q. (2020). Wood-based epoxy resin's synthesis using decayed woody material from mushroom cultivation. International Journal of Design & Nature Ecodynamics, 15(2): 155-160.

Kirk, T.L., Highley, T.L. (1973). Quantitative changes in structural components of conifer woods during decay by white- and brown-rot fungi. Phytopathology, 63(11): 1338-1342.

Kirk, T.L., Moore, W.E. (1972). Removing lignin from wood with white-rot fungi and digestibility of resulting wood. Wood and Fiber Science, 4: 72-79.

Knoll, C.S., Wong, B.M., Roy, D.N. (1993). The chemistry of decayed aspen wood and perspectives of its utilization. Wood Science and Technology, 27: 439-448.

Koenig, K.M. (2017). What's driving the cabinet & countertop industries? Trends & statistics. Dostęp: https://www.woodworkingnetwork.com/news/almanac-market-data/whats-driving-cabinet-countertop-industries-trends-statistics (16.01.2021).

Komisja Europejska (2014). A policy framework for climate and energy in the period from 2020 to 2030. Bruksela, Belgia.

Kowalik, M. (1994). Grzyby gleby inicjalnej rekultywowanego zwałowiska kopalni siarki Machów. Archiwum Ochrony Środowiska, 1-2: 93-108.

Kozakiewicz, P., Borysiuk, P., Krzosek, S. (2011). Struktura zapotrzebowania na surowiec drzewny głównych odbiorców w Polsce. Konferencja Naukowo-Techniczna Rozwój zasobów drzewnych i strategia ich wykorzystania. 8 listopada 2011 r., Gołuchów.

Krajewski, A., Witomski, P. (2005). Ochrona drewna surowca i materiału. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.

Krigstin, S., Helmeste, C., Jia, H., Johnson, K.E., Wetzel, S., Sylvain, V., Faizal, W., Ferrero, F. (2019). Comparative analysis of bark and woodchip biomass piles for enhancing predictability of self-heating. Fuel, 242: 699-709.

Kropacz, A., Fojutowski, A. (2014). Colonization by fungi of wood chips stored in industrial conditions. Drewno, 57(193): 69-80.

Kruer-Zerhusen, N., Cantero-Tubilla, B., Wilson, D.B. (2018). Characterization of cellulose crystallinity after enzymatic treatment using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Cellulose 25: 37-48.

Krzysik, F. (1978). Nauka o drewnie. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.

Krzyżaniak, M., Stolarski, M.J., Waliszewska, B., Szczukowski, S., Tworkowski, J., Załuski, D., Śnieg, M. (2014). Willow biomass as feedstock for an integrated multi-product biorefinery. Industrial Crops and Products, 58: 230-237.

Kuptz, D. Lesche, S., Mendel, T., Mack, R., Rist, E., Schon, C., Hartmann, H. (2020). Fuel properties, dry matter losses and combustion behavior of wood chips stored at aerobic and anaerobic conditions. Biomass and Bioenergy, 142, 105745.

Kusiak, W., Majka, J., Ratajczak, I., Górska, M., Zborowska, M. (2020). Evaluation of environmental impact on selected properties of Lime (tilia Cordata Mill.) wood. Forests, 11, 746.

Kwaśniewska-Sip, P., Cofta, G., Nowak, P.B. (2018). Resistance of fungal growth on Scots pine treated with caffeine. International Biodeterioration & Biodegradation, 132: 178-184.

Lenz, H., Idler, C., Hartung, E., Pecenka, R. (2015). Open-air storage of fine and coarse wood chips of poplar from short rotation coppice in covered piles. Biomass and Bioenergy, 83: 269-277.

Lenz, H., **Pecenka, R., Hartung, E., Idler, C. (2016).** Development and test of a simplified method to calculate dry matter loss during open-air storage of poplar wood chips by analysing ash content. Biomass and Bioenergy, 94: 258-267.

Li, G.Y., Huang, L.H., Hse, C.Y., Qin, T.F. (2011). Chemical compositions, infrared spectroscopy and X-ray diffractometry study on brown-rotted woods. Carbohydrate Polymers, 85(3): 560-564.

Li, K., Geng, X. (2005). Formaldehyde-free wood adhesives from decayed wood. Macromolecular Rapid Communications, 26: 529-532.

Li, Z., Bai, T., Wang, F., Tao, J., Meng, S., Hu, Y., Wang, S., Hu, S. (2016). A study of organic acid production in contrasts between two phosphate solubilizing fungi: Penicillium oxalicum and Aspergillus niger. Scientific Reports, 6, 25313.

Lie, S.K. (2019). Surface mould growth as a contributor to visual changes of exterior wooden claddings. Praca doktorska. Norwegian University of Life Sciences, As.

Lie, S.K., Vestol, G.I., Hoibo, O., Gobakken, L.R. (2019a). Surface mould growth on wooden claddings – effect of transient wetting, relative humidity, temperature and material properties. Wood Material Science & Engineering, 14(3): 129-141.

Lie, S,K., Vestol, G.I., Gobakken, L.R. (2019b). Surface mould growth on wood: a comparison of laboratory screening tests and outdoor performance. European Journal of Wood and Wood Products, 77: 1137-1150.

Lie, S.K., Thiis, T.K., Vestol, G.I., Hoibo, O., Gobakken, L.R. (2019c). Can existing mould growth models be used to predict mould growth on wooden claddings exposed to transient wetting? Building and Environment, 152: 192-203.

Liesovsky, M., Gejdos, M., Messingerova, V., Nemec, M., Denihelova, Z., Moravickova, V. (2017). Biological Risks from Long-Term Storage of Wood Chips. Polish Journal of Environmental Studies, 26(6): 2633-2641.

Manfredi, S. (2011). Bilancio di Ciclo di Vita Energetico ed Ambientale di una Filizera Aziendale di Cippato da Short Rotation Forestry. Praca magisterska. University of Parma, Parma.

Mansour, M.M.A., Hamed, S.A.E-K.M., Hamed, Salem, M.Z.M., Ali, H.M. (2020). Illustration of the effect of five fungi on Acacia saligna wood organic acids and ultrastructure alternations in wood cell walls by HPLC and TEM examinations. Applied Sciences, 10, 2886.

Marshall, W.H. (1898). Penicillium as a wood-destroying fungus. Annals of Botany, 12(4): 565-566.

Medved, S., Antonovic, J., Jamberkovic, V. (2011). Impact of resin content of swelling pressure of three layer particleboard bonded with urea-formaldehyde adhesive. Drvna Industrija, 62(1): 37-42.

Medved, S., Resnik, J. (2003). Influence of beech particle size used in surface layer on bending strength of three-layer particleboard. Zbornik Gozdarstva in Lesarstva, 72: 197-207.

Meyer, L., Brischke C. (2015). Fungal decay at different moisture levels of selected European-grown wood species. International Biodeterioration & Biodegradation, 103: 23-29.

Mirski, R. (2013). Właściwości fizykomechaniczne płyt z orientowanych wiórów pasmowych poddanych działaniu środowiskowych czynników starzeniowych. Rozprawa naukowa nr 456. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań.

Mirski, R., Derkowski, A., Dziurka, D., Dukarska, D., Czarnecki, R. (2019). Effects of a chipboard structure on its physical and mechanical properties. Materials, 12, 3777.

Mirski, R., Derkowski, A., Dziurka, D., Wieruszewski, M., Dukarska, D. (2020a). Effect of chip type on the properties of chip-sawdust boards glued with polymeric diphenyl methane diisocyanate. Materials, 13, 1329.

Mirski, R., Dukarska, D., Derkowski, A., Czarnecki, R., Dziurka, D. (2020b). By-products of sawmill industry as raw materials for manufacture of chip-sawdust boards. Journal of Building Engineering, 32, 101460.

Mirski, R., Dziurka, D., Derkowski, A. (2021). Płyty zrębkowe i sposób ich wytwarzania. Patent 238848, 11.10.2021 r.

Mirski, R., Kawalerczyk, J., Dziurka, D., Siuda, J., Wieruszewski, M. (2020c). The application of oak bark powder as a filler for melamine-urea-formaldehyde adhesive in plywood manufacturing. Forests, 11, 1249.

Mirski, R., Kawalerczyk, J., Dziurka, D. (2018). Properties of particleboards intended for the production of countertops. 14th Annual Meeting of the Northern European Network for Wood Science and Engineering, 2-3 październik 2018 r., Tallinn.

Mleczek, M., Magdziak, Z., Gąsecka, M., Niedzielski, P., Kalac, P., Siwulski, M., Rzymski, P., Zalicka, S., Sobieralski, K. (2016). Content of selected elements and low-molecular-weight organic acids in fruiting bodies of edible mushroom Boletus badius (Fr.) from unpolluted and polluted areas. Environmental Studies and Pollution Research, 23: 20609-20618.

Modrzejewski, K., Surewicz, W., Wandelt, P. (1969). Zmiany własności drewna sosnowego składowanego w zrębkach i otrzymywanych z niego mas celulozowych siarczanowych. Przegląd Papierniczy, 9(308): 291-299.

Modrzejewski, K., **Surewicz, W., Wandelt, P., Zieliński, M. (1979).** Ocena skutków składowania zrębków sosnowych w stosach w różnych okresach kalendarzowych. Przegląd Papierniczy, 2(76): 44-51.

Moskalik, T., Gendek, A. (2019). Production of chips from logging residues and their quality for energy: A Review of European Literature. Forests, 10, 262.

Morze, Z., Struk, K. (1988). Wpływ czasu składowania zrębków na zmiany dynamicznego modułu postaciowego drewna. Folia Forestalia Polonica, Seria B, 19:73-84

Mróz, W., Surewicz, W. (1986). Wpływ składowania drewna sosnowego na zawartość w nim substancji ekstrakcyjnych i na żywiczne produkty uboczne celulozowni siarczanowych. Folia Forestalia Polonica, Seria B, 17: 21-33.

Mullerova, J., Puskajler, J. (2014). Review of health and safety risks of wood chips use. Advanced Material Research, 1001: 426-431.

Musiał, I., Rymowicz, W. (2009). Dobór szczepów Aspergillus niger do biosyntezy kwasu szczawiowego z frakcji glicerynowej. Inżynieria i Aparatura Chemiczna, 48(3): 71-72.

Nemli, G., Ayan, E., Ay, N., Tiryaki, S. (2018). Utilization of waste wood subjected to insect and fungi degradation for particleboard manufacturing. European Journal of Wood and Wood Products, 76: 759-766.

Nemli, G. Demirel, S. (2007). Relationship between the density profile and the technological properties of the particleboard composite. Journal of Composite Materials, 41(15): 1793-1810.

Nielsen, K.F., Holm, G., Uttrip, L.P., Nielsen, P.A. (2004). Mould growth on building materials under low water activities. Influence of humidity and temperature on fungal growth and secondary metabolism. International Biodeterioration & Biodegradation, 54: 325-336.

Nilsson, T. (2009). Biological wood degradation W: Wood Chemistry and Biotechnology. Red. Ek, M., Gellerstedt, G., Henriksson, G. De Gruyter: 219-245.

Noll, M., Jirjis, R. (2012). Microbial communities in large-scale wood piles and their effect on wood quality and the environment. Applied Microbiology and Biotechnology, 95(3): 551.

Nussbaum, R.M., Sterley, M. (2002). The effect of wood extractive content on glue adhesion and surface wettability of wood. Wood and Fiber Science, 34(1): 57-71.

Ostrowska, M. (2020). Statystyka produkcji i handlu płyt drewnopochodnych na świecie na podstawie danych FAOSTAT. Biuletyn Informacyjny OB-RPPD, 1-2: 77-90.

Pandey, K.K. (1999). A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy. Journal of Applied Polymer Science, 71(12): 1969-1975.

Pandey, K.K., Pitman, A.J. (2003). FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi. International Biodeterioration & Biodegradation, 52(3): 151-160.

Papadopoulos, A.N., Hill, C.A.S., Gkaraveli, A., Ntalos, G.A., Karastergiou, S.P. (2004). Bamboo chips (Bambusa vulgaris) as an alternative lignocellulosic raw material for particleboard manufacture. Holz Roh Werkst, 62: 36-39.

Pari, L., Bergonzoli S., Cetera, P., Mattei, P., Alfano, V., Rezaei, N., Suardi, A., Toscano, G., Scarfone, A. (2020). Storage of fine Woodchips from a Medium Rotation Coppice Eucalyptus Plantation in Central Italy. Energies, 13, 2355.

Pari, L., Scarfone, A., Santangelo, E., Gallucci, F., Spinelli, R., Jirjis, R., Del Giudice, A., Barontini, M. (2017). Long term storage of poplar chips in Mediterranean environment. Biomass and Bioenergy, 107: 1-7.

Pasanen, A.L., Yli-Pietila, K., Pasanen, P., Kalliokoski, P., Tarhanen, J. (1999). Ergosterol content in various fungal species and biocontaminated building materials. Applied and Environmental Microbiology, 65(1): 138-142.

Pecenka, R., Lenz, H., Idler, C. (2018). Influence of the chip format on the development of mass loss, moisture content and chemical composition of poplar chips during storage and drying in open-air piles. Biomass and Bioenergy, 116: 140-150.

Pereira, H., Graca, J., Rodrigues, J.C. (2003). Wood chemistry in relation to quality. W: Wood quality and its biological bases. Red. Barnett, J.R., Jeronimidis, G. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, Wielka Brytania, 53-61.

Piao, C., Winandy, J.E., Shupe, T.F. (2010). From hydrophilicity to hydrophobicity: a critical review: Part 1: Wettability and surface behavior. Wood and Fiber Science, 42(4): 490-510.

Piętka, J., Gendek, A., Malatak, J., Velebil, J., Moskalik, T. (2019). Effects of selected white-rot fungi on the calorific value of beech wood (*Fagus sylvatica* L.). Biomass and Bioenergy, 127, 105290.

Piontek, M. (1999). Grzyby pleśniowe. Wydawnictwo Politechniki Zielonogórskiej, Zielona Góra.

Piontek, M. (2004). Grzyby pleśniowe i ocena zagrożenia mikotoksycznego w budownictwie mieszkaniowym. Oficyna Wydawnicza Uniwersytetu Zielonogórskiego, Zielona Góra.

Piskur, B., Zule, J., Piskur, M., Jurc, D., Pohleven, F. (2009). Fungal wood Decay in the presence of fly ash as indicated by gravimetrics and by extractability of low molecular weight volatile organic acids. International Biodeterioration & Biodegradation, 63: 594-599.

Pizzi, A. (2003). Urea-formaldehyde adhesives. W: Handbook of Adhesive Technology. Red. Pizzi, A., Mittal, K.L. Marcel Deker Inc.: 628-645.

Plassard, C., Fransson, P. (2009). Regulation of low-molecular weight organic acid production in fungi. Fungal Biology Reviews, 23: 30-39.

Prosiński, S. (1969). Chemia drewna. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.

Ratajczak, E. (2014). Zrównoważona gospodarka zasobami surowca drzewnego w Polsce. Konsumpcja i Rozwój, 2(7): 15-27.

Reeslev, M., Miller, M., Nielsen, K.F. (2003). Quantifying mold biomass on gypsum boards: Comparison of ergosterol and beta-n-acetylhexosaminidase as mold biomass parameters. Applied and Environmental Microbiology, 69(7): 3996-3998.

Rogoziński, T., Szwajkowska-Michałek, L., Dolny, S., Andrzejak, R., Perkowski, J. (2014). Ocena zanieczyszczenia mikrogrzybami pyłu powstałego podczas obróbki drewna w fabrykach mebli. Medycyna Pracy, 65(6): 705-713.

Rogoziński, T., Szwajkowska-Michałek, L., Matysiak, A., Stuper-Szablewska, K. (2018). The content of bioactive compounds in chips from the wood processing line. Chip and Chipless Woodworking Processes, 11(1): 145-150.

Rowell, R.M. (2005). Handbook of wood chemistry and wood composites. CRC Press, Boca Raton.

Rubin, J.A. (2013). Biokorozja wyrobów budowlanych pochodzenia nieorganicznego. Brukbiznes, 3: 10-15.

Sabino, R., Verissimo, C., Viegas, C., Viegas, S., Brandao, J., Alves-Correia, M., Borrego, L-M., Clemons, K.V., Stevens, D.A., Richardson, M. (2019). The role of occupational Aspergillus exposure in the development of diseases. Medical Mycology, 57(2): 196-205.

Sahin, H.T. (2008). Wood-water interactions as affected by chemical consistuents of wood. Asian Journal of Chemistry, 20(4): 3267-3276.

Sahoo, K., Bilek, E.M., Mani, S. (2018). Techno-economic and environmental assessments of storing woodchips and pellets for bioenergy applications. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 98: 27-39.

Salem, M.Z.M. (2016). EDX measurements and SEM examination of surface of some imported woods inoculated by three mold fungi. Measurement, 86: 301-309.

Saranpaa, P., Holl, W. (1989). Soluble carbohydrates of *Pinus Sylvestris* L. sapwood and heartwood. Trees, 3: 138-143.

Schmidt, O. (2006). Wood and Tree Fungi Biology Damage, Protection and Use. Springer Verlag, Berlin Heidelberg.

Sedlbauer, K. (2001). Prediction of mould fungus formation on the surface of and inside building components. Praca doktorska, Uniwersytet w Stuttgarcie, Stuttgart.

Seifert, K. (1960). Zur Frage der Cellulose-Schnellbestimmung nach der Acetylaceton-Methode. Das Papier, 14: 104-106.

Show, P.L., Oladele, K.O., Siew, Q.Y., Zakry, F.A.A., Lan, J.C-W., Ling, T.C. (2015). Overview of citric acid production from Aspergillus niger. Frontiers in Life Science, 8(3): 271-283.

Skóra, J., Sulyok, M., Nowak, A., Otlewska, A., Gutarowska, B. (2017). Toxinogenicity and cytotoxicity of Alternaria, Aspergillus and Penicillium moulds isolated from working environments. International Journal of Environmental Science and Technology, 14: 595-608.

Siuda, J., Perdoch, W., Mazela, B., Zborowska, M. (2019). Catalyzed reaction of cellulose and lignin with methyltrimethoxysilane – FT-IR, ^{13}C NMR and ^{29}Si NMR Studies. Materials 12, 2006.

Siuda, J. (2019). Charakterystyka oddziaływań chemicznych trialkoksysilanów z materiałem lignocelulozowym na przykładzie drewna dębu (*Quercus* spp.) w zależności od zmiennych warunków przebiegu reakcji. Praca doktorska, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań.

Su, N.-Y. (2005). Directional change in tunneling of subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae) in response to decayed wood attractants. Journal of Economic Entomology, 98(2): 471-475.

Suchomel, J., Belanova, K., Gejdos, M., Nemec, M., Danihelova, A., Maskova, Z. (2014). Analysis of Fungi in Wood Chip Storage Piles. BioResources, 9(3): 4410-4420.

Suchomel, J., Belanova, K., Slancik, M. (2012). Analysis of fungi occurrence in energy chips piles. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 1(3): 369-382.

Suchsland, O., Woodson, G.E. (1987). Foberboard Manufacturing Practices in the United States. Agriculture Handbook No. 640, United States Department of Agriculture, Forest Service.

Suda, H., Kawai, S., Sasaki, H. (1987). Production technology for low-density particleboard IV. Effect of particle density and compaction ratio on board properties. Journal of Japan Wood Research Society, 33(5): 386-392.

Surmiński, J. (2000). Budowa i morfologia mas włóknistych. Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, Poznań.

Surmiński, J. (2006). Zarys chemii drewna. Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, Poznań.

Stangierska, A., Zabielska-Matejuk, J., Frąckowiak, I. (2013). The assessment of the resistance of particleboard protected with ionic liquids to Basidiomycetes and mould fungi. Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW. Forestry and Wood Technology, 84: 190-193.

Stępień, Ł., Jestoi, M., Chełkowski, J. (2013). Cyclic hexadepsipeptides in wheat field samples and esyn1 gene divergence among enniatin producing Fusarium avenaceum strains. World Myxotoxin Journal, 6, 399-409.

Stępień, Ł., Waśkiewicz, A. (2013). Sequence divergence of the enniatin synthase gene in relation to production of beauvericin and enniatins in Fusarium species. Toxins, 5: 537-555.

Stuper-Szablewska, K., Przybylska-Balcerek, A., Kurasiak-Popowska, D., Ryńska, B., Bilska, A. (2019). Określenie wpływu zanieczyszczenia ziarna pszenicy grzybami mikroskopowymi oraz ich metabolitami na jakość produktów jego przerobu. Nauka Przyroda Technologie, 13(1): 43-55.

Stuper-Szablewska, K., Rogoziński, T., Perkowski, J. (2017). Contamination of pine and birch wood dust with microscopic fungi and determination of its sterol content. Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, 68(2): 127-134.

Szablewski, T., Stuper-Szablewska, K., Cegielska-Radziejewska, R., Tomczyk, Ł. (2014). Oznaczanie ergosterolu jako chemicznego wskaźnika zanieczyszczenia grzybami mikroskopowymi. W: Technologia produkcji i bezpieczeństwo żywności.

Red. Tarko, T., Duda-Chodak, A., Witczak, M., Najgebauer-Lejko, D. Oddział Małopolski Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności: 170-174.

Szablewski, T., Tomczyk, Ł., Cegielska-Radziejewska, R. (2015). Charakterystyka mikroflory grzybowej izolowanej z treści jaj konsumpcyjnych. Aparatura Badawcza i Dydaktyczna, 20(1): 8-11.

Sztyber, J. (2005). Przechowywanie zrębków drzewnych w stosach. Czysta Energia, 41: 29-31.

Sztyber, J. (2008). Magazynowanie zrębków drzewnych. Inżynieria Rolnicza, 1(99): 377-382.

Szwajkowska-Michałek, L., Kwaśna, H., Perkowski, J. (2014). Oznaczenie biomasy grzybni w glebie metodą analizy zawartości ergosterolu. Sylwan, 158(3): 203-211.

Szwajkowska-Michałek, L., Rogoziński, T., Mirski, R., Stuper-Szablewska, K. (2020). Wood processing waste – contamination with microscopic fungi and contents of selected bioactive compounds. BioResources, 15(1), 1763-1772.

Szwajkowska-Michałek, L., Rogoziński, T., Stuper-Szablewska, K. (2019). Zawartość steroli w korze po procesie wysokotemperaturowego suszenia tarcicy w komorowych suszarkach konwekcyjnych. Sylwan, 163(7): 610-616.

Taghiyari, H.R., Majidi, R., Esmailpour, A., Samadi, Y.S., Jahangiri, A., Papadopoulos A.N. (2020). Engineering composites made from wood and chicken feather bonded with UF resin fortified with wollastonite: A novel approach. Polymers, 12(4), 857.

The Freedonia Group (2017). Global countertops by material, market and type, 2nd Edition. Industry Study 3506.

Tomczyk, Ł., Stępień, Ł., Urbaniak, M., Szablewski, T., Cegielska-Radziejewska, R., Stuper-Szablewska, K. (2018). Characterisation of the mycobiota on the shell surface of table eggs acquired from different egg-laying hen breeding systems. Toxins, 10, 293.

Traore, M., Kaal, J., Cortizas, A.M. (2016). Application of FTIR spectroscopy to the characterization of archeological wood. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 153: 63-70.

Trojanowska, K., Giebel, H., Gołębiowska, B. (2014). Mikrobiologia żywności. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań.

Valette, N., Perrot, T., Sormani, R., Gelhaye, E., Morel-Rouhier, M. (2017). Antifungal activities of wood extractives. Fungal Biology Reviews, 31: 113-123.

Viitanen, H., Bjurmann, J. (1995). Mould growth on wood at fluctuating humidity conditions. Material und Organismen, 21(1): 27-46.

Viitanen, H., Ojanen, T., Peuhkuri, R., Vinha, J., Lahdesmaki, K., Salminen, K. (2011). Mould Growth Modelling to Evaluate Durability of Materials. 12th International Conference on Durability of Building Materials and Components (DBMC). 12- 15 kwiecień, Porto, Portugal.

Waliszewska, B., Mleczek, M., Zborowska, M., Goliński, P., Rutkowski, P., Szentner, K. (2019). Changes in the chemical composition and the structure of cellulose and lignin in elm wood exposed to various forms of arsenic. Cellulose, 26: 6303-6315.

Wasterlund, I., Nilsson, P., Gref, R. (2017). Influence of storage on properties of wood chip material. Journal of Forest Science, 63(4): 182-191.

Ważny, J. (1963). Badania nad zastosowaniem barwnych reakcji do oznaczania grzybów niszczących drewno. Folia Forestalia Polonica, 5: 63-78.

White, T.J., Burns, T., Lee, S., Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetic. W: PCR Protocols, a guide to methods and applications. Red. Innis, M.A., Gelfand, D.H., Shinsky, J.J., White, T.J. Academic Press, San Diego.

Woźniak, M., Kwaśniewska-Sip, P., Krueger, M., Roszyk, E., Ratajczak, I. (2020). Chemical, biological and mechanical characterization of wood treated with propolis extract and silicon compounds. Forests, 11, 907.

Zabel, R.A., Morrell, J.J. (2012). Wood Microbiology: Decay and its Prevention. Academic Press, Cambridge.

Zajączkowski, J., Brzeziecki, B., Perzanowski, K., Kozak, I. (2013). Wpływ potencjalnych zmian klimatycznych na zdolność konkurencyjną głównych gatunków drzew w Polsce. Sylwan, 157(4): 253-261.

Zak, J.C., Wildman, H.G. (2004). Fungi in stressful environments. W: Biodiversity of fungi: Inventory and Monitoring Methods. Red. Bills, G.F., Mueller, G.M., Foster, M.S. Academic Press, Cambridge: 303-315.

Zborowska, M. (2010). Badania zmian fizykochemicznych w drewnie wybranych gatunków liściastych po długotrwałym wpływie środowiska wodnego. Rozprawa naukowa nr 417. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań.

Zhao, D., Cardona, C., Gotel, N., Winton, V.J., Thomas, P.M., Raba, D.A., Kelley, S.T., Henry, C., Gilbert, J.A., Stephens, B. (2020). Chemical composition of material extractives influences microbial growth and dynamics on wetted wood materials. Scientific Reports, 10, 14500.

Wykaz norm

PN-77/D-04100 (1978). Drewno – oznaczanie wilgotności. Wydawnictwo normalizacyjne, Warszawa.

PN-C-89352-3 (1996). Kleje – Kleje do drewna – Metody badań – oznaczanie czasu żelowania. PKN, Warszawa.

PN-EN 113 (2000). Metoda badania do oznaczania skuteczności zabezpieczenia przeciwko podstawczakom rozkładającym drewno. PKN, Warszawa.

PN-EN 120 (1994). Tworzywa drzewne – Oznaczanie zawartości formaldehydu – Metoda ekstrakcyjna, zwana metodą perforatora. PKN, Warszawa.

PN-EN 310 (1994). Płyty drewnopochodne – Oznaczanie modułu sprężystości przy zginaniu i wytrzymałości na zginanie. PKN, Warszawa.

PN-EN 312 (2005). Płyty wiórowe – Wymagania techniczne. PKN, Warszawa.

PN-EN 317 (1999). Płyty wiórowe i płyty pilśniowe – Oznaczanie spęcznienia na grubość po moczeniu w wodzie. PKN, Warszawa.

PN-EN 319 (1999). Płyty wiórowe i płyty pilśniowe – Oznaczanie wytrzymałości na rozciąganie w kierunku prostopadłym do płaszczyzn płyty. PKN, Warszawa.

PN-EN 323 (1999). Płyty drewnopochodne – Oznaczanie gęstości. PKN, Warszawa.

PN-EN 827 (2006). Kleje – Oznaczanie zawartości umownej suchej substancji oraz zawartości stałej masy suchej substancji. PKN, Warszawa.

PN-ISO 2555 (2018). Tworzywa sztuczne – Polimery w stanie ciekłym, w postaci emulsji lub dyspersji – Oznaczanie lepkości pozornej metodą lepkościomierza obrotowego typu pojedynczy cylinder. PKN, Warszawa.

T 204 cm-07 (2007). Solvent extractives of wood and pulp. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, Nowy Jork, USA.

T 211 om-16 (2016). Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 525°C. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, Nowy Jork, USA.

T 222 om-06 (2006). Acid-insoluble lignin in wood and pulp. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, Nowy Jork, USA.

T 264 cm-07 (2007). Preparation of wood for chemical analysis. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, Nowy Jork, USA.

Streszczenie

Wykorzystanie zrębków narażonych na działanie grzybów pleśniowych do produkcji płyt zrębkowych

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu dodatku zrębków porośniętych grzybami pleśniowymi na właściwości wytworzonych z ich udziałem płyt zrębkowych. Ponadto sformułowano również cel szczegółowy, polegający na określeniu wpływu porośnięcia grzybami pleśniowymi na właściwości fizykochemiczne zrębków sosnowych oraz utylitarny, prowadzący do ustalenia czy rodzaj składowiska ma wpływ na rozwój badanych mikroorganizmów.

Aby zrealizować określone cele plan badawczy podzielono na 3 etapy. Pierwszy obejmował badania charakteryzujące surowiec pod względem rozwoju mikroorganizmów oraz identyfikację rodzajów i gatunków grzybów pleśniowych porastających zrębki składowane na różnych typach składowisk. Drugi etap obejmował badania fizykochemicznych właściwości zrębków inkubowanych przez 3, 6 oraz 9 tygodni. Trzeci etap polegał na zbadaniu właściwości płyt zrębkowych zawierających różne ilości zrębków inokulowanych grzybami rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium* (0%, 30%, 50%, 70%), porośniętych w różnym stopniu.

Wyniki badań przeprowadzonych w ramach pierwszego etapu pracy, obejmujące analizę różnorodności gatunkowej, stopnia porośnięcia ocenianego metodą wizualną oraz stężenia ergosterolu, kwasu cytrynowego i szczawiowego wykazały, iż sposób składowania zrębków ma istotny wpływ na rozwój grzybów pleśniowych. Stwierdzono, iż najkorzystniejszym sposobem przechowywania drewna w formie rozdrobnionej jest składowanie go w silosie, najmniej korzystnym natomiast na placu niewybetonowanym. Inokulacja zrębków sosnowych grzybami rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium* doprowadziła do intensywnego porośnięcia ich powierzchni. Nie doprowadziło ono jednak do zmian w składzie chemicznym surowca i istotnych zmian w przebiegu widma FTIR. Ponadto nie zaobserwowano również ubytku masy oraz zwiększenia higroskopijności zrębków. Istotną zmianą natomiast było obniżenie pH ich powierzchni w przypadku dziewięciotygodniowej inkubacji. Konsekwencją zmiany odczynu było prawdopodobnie obniżenie wytrzymałości połączeń klejowych, pogorszenie właściwości mechanicznych płyt oraz zwiększenie spęcznienia i nasiąkliwości w wariantach zakładających udział całkowicie porośniętych zrębków. Niezależnie od wariantu surowca i dodanej ilości nie zaobserwowano zmian w gęstości, higieniczności oraz rozkładzie brunatnym płyty. Podsumowując, dodatek częściowo porośniętych zrębków nie wpływa istotnie na właściwości płyty. W przypadku zaawansowanego, całkowitego porośnięcia należy natomiast dostosować ilość zdegradowanego surowca, która powinna być mniejsza niż 30%.

Summary

The possibility to use a wood chips exposed to mould growth in a chipboard manufacturing process

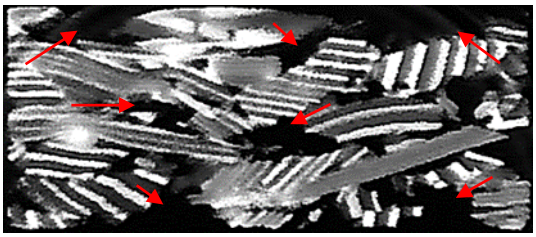
The aim of presented work was to investigate the effect of wood chips infested with microfungi addition on the properties of manufactured chipboard. In addition, studies were also aimed to determine the influence of microfungi growth on the physicochemical properties of pine wood chips. Moreover, the utilitarian aim of the research was to investigate if the type of wood chips storage has the effect on the fungal development.

In order to complete the assumed objectives, the research plan was divided into 3 stages. The first stage was to characterize the collected wood chips in terms of the development of microorganisms and the identification of the genera and species of mould fungi growing on the wood chips stored in a various types of yards and in silo. Second stage was to determine the physical and chemical properties of wood chips incubated for 3, 6 and 9 weeks. The third stage of the research was focused on the properties of chipboard containing various amounts of wood chips inoculated with *Aspergillus* and *Penicillium* fungi (0%, 30%, 50%, 70%), covered with mould to a different degree.

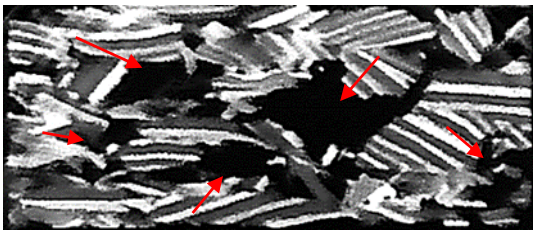
Based on the results of the fungal diversity, infestation class and the content of ergosterol, oxalic and citric acid it was found that the storage type had a significant effect on microfungi development. Moreover, it was concluded that the most advantageous type of storage was the silo and the least favourable was unpaved yard without the roof. Wood chips inoculation with *Aspergillus* and *Penicillium* fungi resulted in the intensive fungal growth on their surface. However, the presence of moulds has not caused a significant changes in the wood chemical composition and in the course of FTIR spectra. Furthermore, no mass loss and no changes in chips hygroscopicity were observed. In case of the nine weeks incubation, the pH of wood chips surface was decreased which probably resulted in a deterioration of bonding strength and consequently it decreased mechanical properties, increased both water absorption and thickness swelling of the chipboards. Regardless of the wood chips variant and the amount of decayed chips added there was no effect on the density, formaldehyde emission and brown-rot decay of the boards. In summary, it was found that the addition of partially infested wood chips has no significant effect on the chipboard properties. However, in case of wood pieces fully covered with mould their amount has to be adjusted and it should be less than 30%.

Aneks

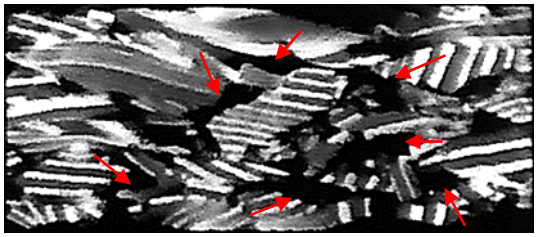
Zdjęcia tomograficzne struktury płyty



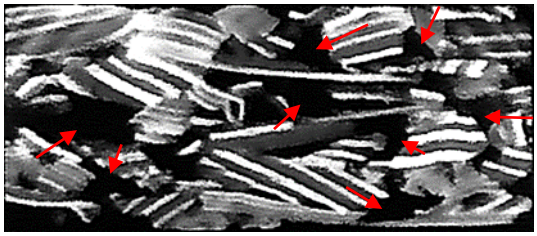
Wariant 3-50



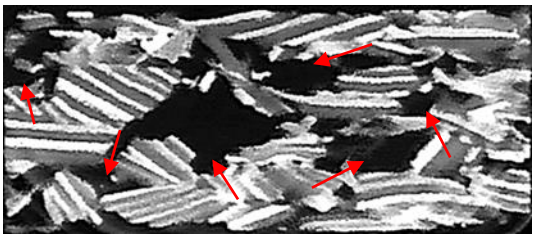
Wariant 3-70



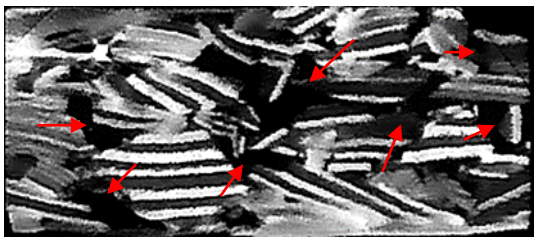
Wariant 6-30



Wariant 6-70



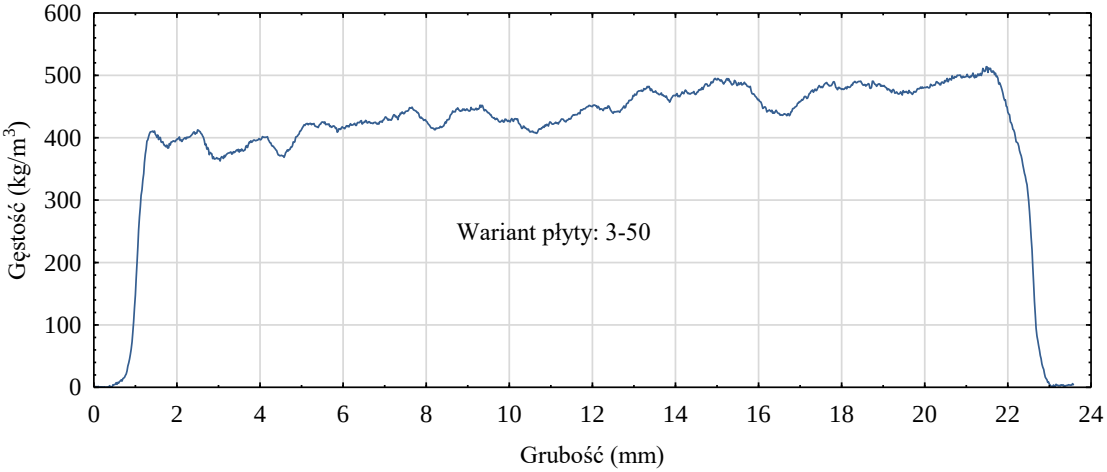
Wariant 9-30



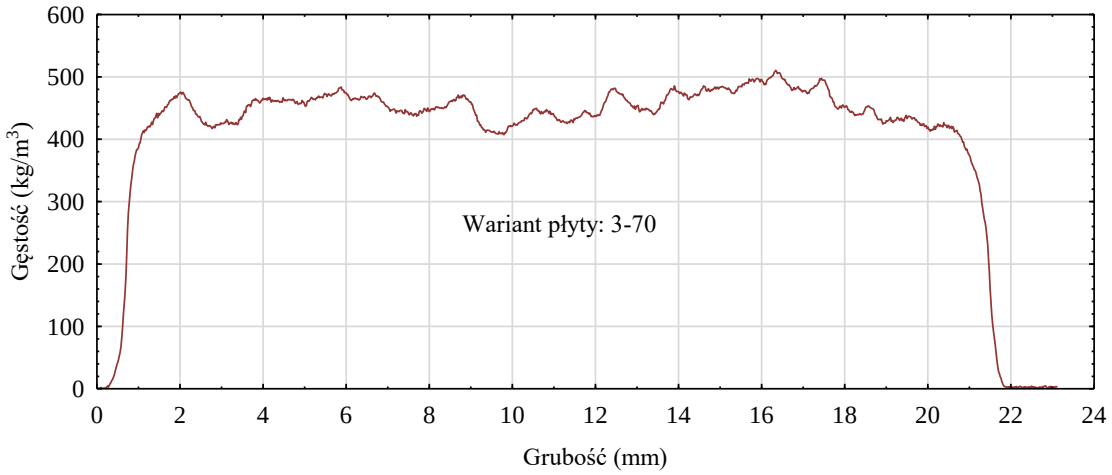
Wariant 9-50

Ryc. 35. Zdjęcia tomograficzne przekrojów płyt

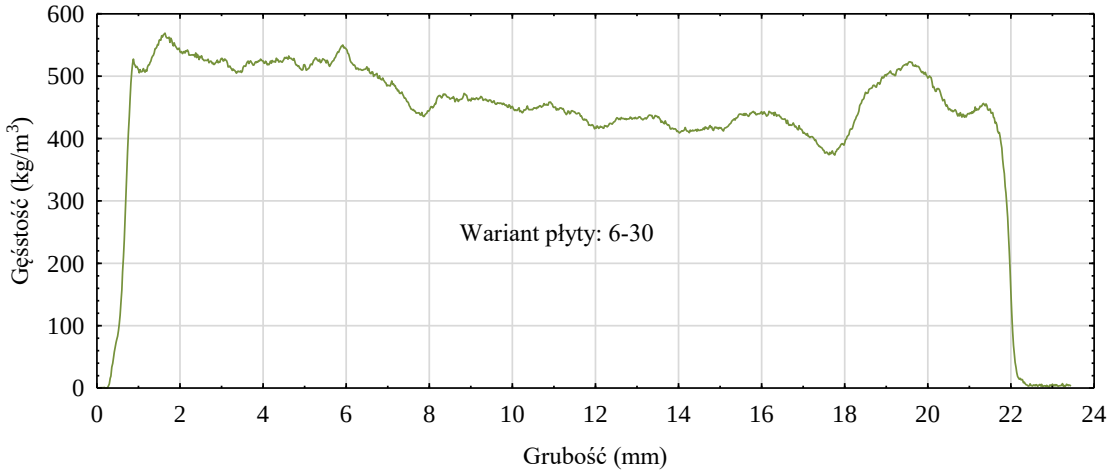
Profile gęstości płyt



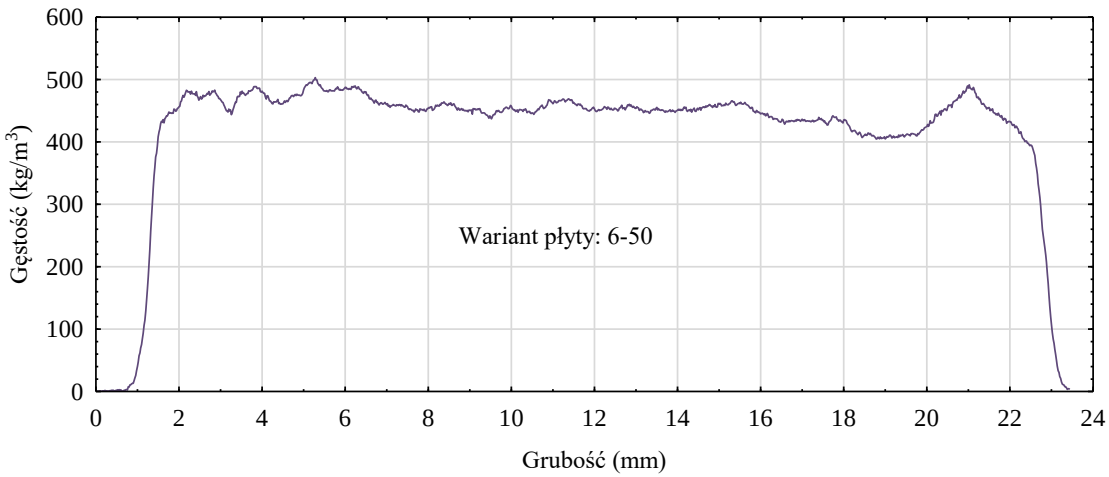
Ryc. 36. Profil gęstości płyty wariantu oznaczonego jako 3-50



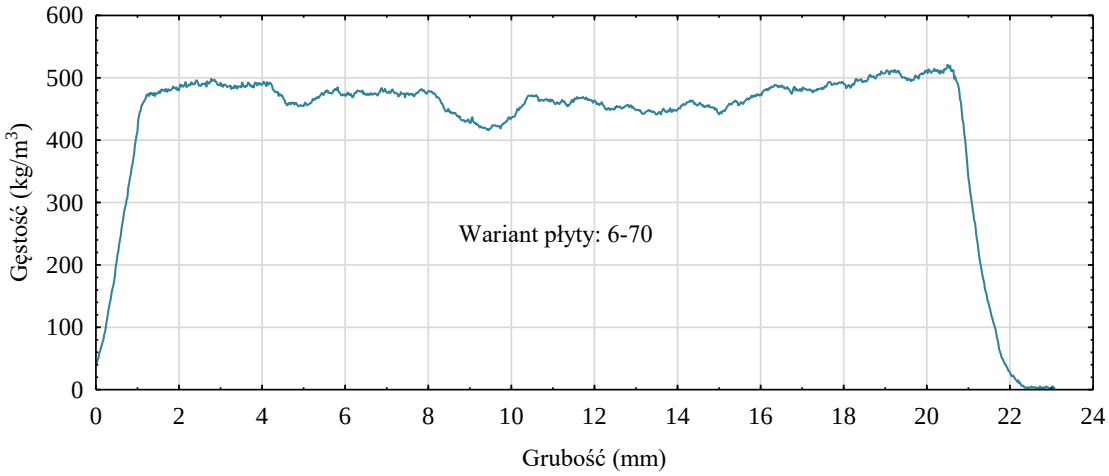
Ryc. 37. Profil gęstości płyty wariantu oznaczonego jako 3-70



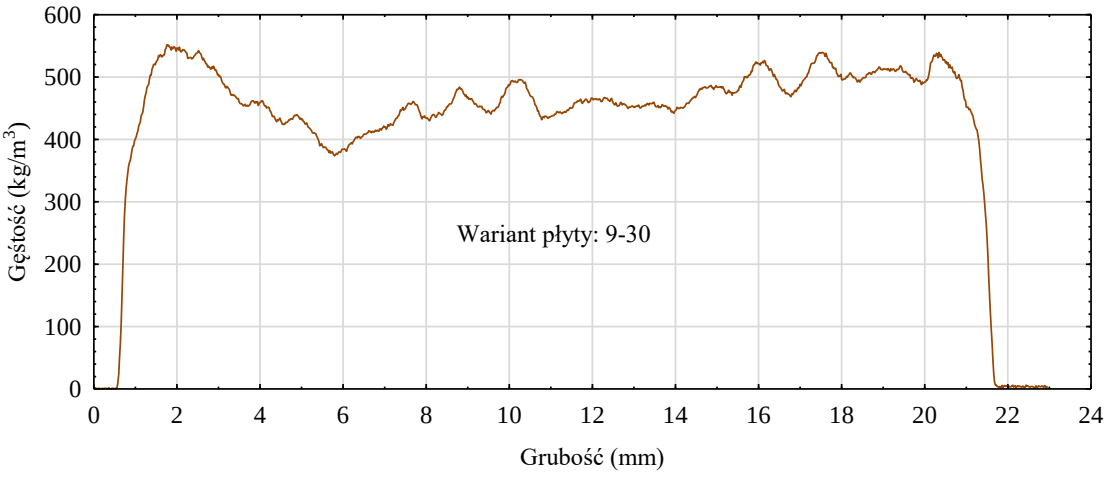
Ryc. 38. Profil gęstości płyty wariantu oznaczonego jako 6-30



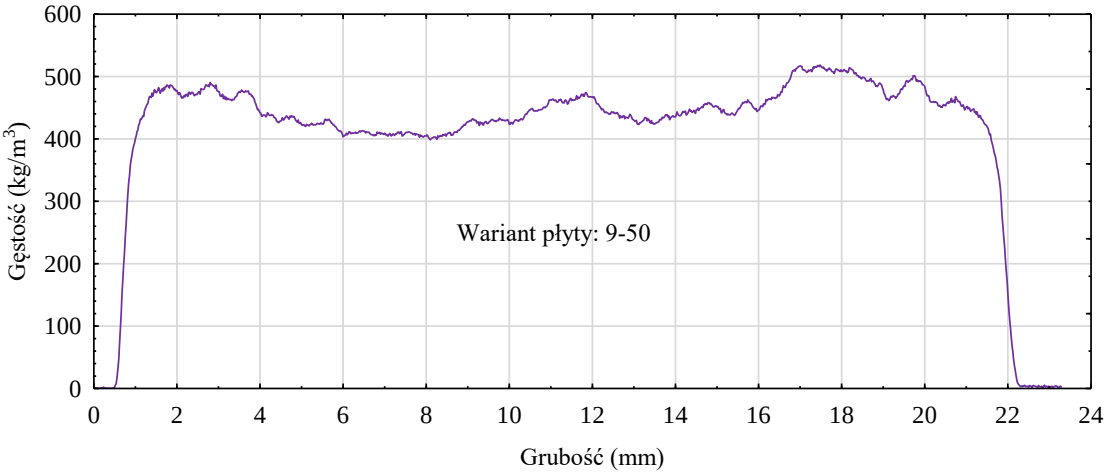
Ryc. 39. Profil gęstości płyty wariantu oznaczonego jako 6-50



Ryc. 40. Profil gęstości płyty wariantu oznaczonego jako 6-70



Ryc. 41. Profil gęstości płyty wariantu oznaczonego jako 9-30



Ryc. 42. Profil gęstości płyty wariantu oznaczonego jako 9-50