

**Escuela Superior Politécnica del Litoral**

**Facultad de Ciencias de la Vida**

Formulación y optimización de un protocolo de producción de  
biomateriales en base a micelio

VIDA-362

**Proyecto Integrador**

Previo la obtención del Título de:

**Biólogo**

Presentado por:

Sandro Antonio Coello Kondratova

Guayaquil - Ecuador

Año: 2024

## Dedicatoria

---

Dedico todas mis horas de trabajo a mi  
mama, por todo su amor y apoyo  
incondicional, sin los cuales no estaría  
donde estoy.

## Agradecimientos

---

Agradezco de especial manera a la doctora Daynet Sosa por todos los recursos y el apoyo que proporciono para mi proyecto, y a la bióloga Daniela Coronel por toda su ayuda y experticia brindadas. De igual manera, agradezco a todos los miembros de Micolab por su participación en las actividades que permitieron la realización de este proyecto.

## Declaración Expresa

---

Yo Sandro Antonio Coello Kondratova acuerdo y reconozco que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor o autores, sin perjuicio de lo cual la ESPOL recibe en este acto una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficios que corresponda a favor del autor o autores.

La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por mí/nosotros durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que me/nos corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL reciba por la explotación de mi/nuestra innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL comunique al/los autor/es que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.

Guayaquil, 8 de mayo del 2024.



---

Sandro Antonio Coello

Kondratova

## Evaluadores

---

**Mgtr. Diego Gallardo Polit**

Profesor de Materia

---

**Dra. Daynet Sosa del Castillo**

Tutor de proyecto

## **Resumen**

Los Compuestos Basados en Micelio son biomateriales con propiedades físico-mecánicas que los posicionan como una alternativa sostenible para poliestireno. La novedad que representan los CBM en el mundo de los materiales ha llevado a la confidencialidad respecto a sus parámetros y prácticas de producción. El presente estudio buscó explorar la viabilidad de distintas metodologías de hidratación, inoculado, crecimiento y desactivación sobre distintas mezclas de cascarilla de arroz, viruta de madera y poliuretano para la selección de parámetros de producción y sustratos óptimos. La especie utilizada fue capaz de capturar el poliuretano añadido en el sustrato, pero su crecimiento fue ralentizado y se contaminó con más facilidad. El aumento en la proporción de viruta en el sustrato y la disminución en el tamaño de partícula ralentizaron el crecimiento. Se establecieron los tamaños de los especímenes a producirse para evaluar los materiales generados bajo la normativa ASTM C578-23. El protocolo construido permite reducir en 4 días el ciclo de producción, además de reducir el uso de agua durante la fase de hidratación.

**Palabras Clave:** Micotectura, Aserrín, Tamaño de partícula, Cascarilla de arroz, Poliuretano.

## **Abstract**

*Mycelium-Based Composites (MBC) are biomaterials with physical and mechanical properties that position them as a sustainable alternative to polystyrene. The novelty that MBCs represent in the materials world has led to confidentiality regarding their production parameters and practices. This study aimed to explore the viability of different methods of hydration, inoculation, growth, and deactivation on various mixtures of rice husk, wood shavings, and polyurethane in order to select optimal production parameters and substrates. The species used was able to capture the polyurethane added to the substrate, but its growth was slowed and became more prone to contamination. Increasing the proportion of wood shavings in the substrate and reducing the particle size slowed growth. The specimen sizes to be produced were established to evaluate the materials generated under ASTM C578-23 standards. The developed protocol allows for a 4-day reduction in the production cycle, as well as reduced water usage during the hydration phase.*

*Keywords: Mycotecture, Sawdust, Particle size, Rice husk, Polyurethane*

## Índice general

Resumen .....	1
<i>Abstract</i> .....	2
Abreviaturas .....	6
Simbología.....	7
Índice de figuras .....	8
Índice de tablas.....	8
Capítulo 1 .....	1
1.1 Introducción.....	2
1.2 Descripción del Problema .....	3
1.3 Justificación del Problema .....	3
1.4 Objetivos.....	4
1.4.1 <i>Objetivo general</i> .....	4
1.4.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	4
1.5 Marco teórico .....	4
1.5.1 <i>Especies</i> .....	5
1.5.2 <i>Sustratos y aditivos</i> .....	5
1.5.3 <i>Tamaños de partícula</i> .....	6
1.5.4 <i>Hidratación</i> .....	6
1.5.5 <i>Inóculos y propagación</i> .....	6
1.5.6 <i>Condiciones de crecimiento</i> .....	7
1.5.7 <i>Secado y desactivación</i> .....	7
1.5.8 <i>Proceso de producción</i> .....	8
1.5.9 <i>Muestras para pruebas mecánicas</i> .....	9
Capítulo 2 .....	10

2. Metodología .....	11
2.1 Obtención de cepa .....	11
2.2. Obtención de sustratos y aditivos .....	11
2.3. Preparación de sustratos .....	11
2.4. Diseño de mezclas.....	12
2.5. Ensayos de hidratación.....	13
2.6 Ensayos de inoculado .....	13
2.6.1 Preparación de inóculos.....	13
2.6.2 Proceso de inoculado .....	14
2.7 Ensayos de crecimiento .....	14
2.8 Ensayos de secado y desactivación.....	15
2.9 Especímenes para pruebas mecánicas .....	15
2.10 Generación de gráficos.....	15
Capítulo 3 .....	16
3. Resultados y análisis.....	17
3.2 Trituración, tamaños de partícula y formulaciones.....	17
3.2 Hidratación .....	17
3.3 Inoculado .....	18
3.4 Crecimiento .....	19
3.5 Secado y desactivación .....	21
3.6 Delimitación de especímenes .....	22
3.7 Protocolo.....	23
Capítulo 4 .....	25
4.1 Conclusiones y recomendaciones .....	26
4.1.1 Conclusiones.....	26
4.1.2 Recomendaciones.....	26
Referencias .....	27



## **Abreviaturas**

ASTM	American Society for Testing and Materials
CBM	Compuestos Basados en Micelio
CCM	Colección de Cultivos Microbianos
ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
INC	Intergovernmental Negotiating Committee on Plastic Pollution
ODS	Objetivos del Desarrollo Sostenible
PDA	Potato Dextrose Agar
PDB	Potato Dextrose Broth

## Simbología

C	Cascarilla
g	Gramo
mg	Miligramo
mL	Mililitro
PU	Poliuretano
pH	Potencial de Hidrógeno
TpV	Tamaño de partícula de V
V	Viruta de madera
w/w	Peso de líquido por peso sólido

## Índice de figuras

Figura 1 Vías de producción de micomateriales durante el proceso de biofabricación.....	8
Figura 2 Viruta en tamaños de partícula variados.....	17
Figura 3 Acumulación de agua en fundas de sustrato.....	18
Figura 4 Gráfico de barras de tiempo de crecimiento de cada sustrato a 27°C.....	20
Figura 5 Materiales resultantes de metodologías de secado.....	21
Figura 6 Protocolo de producción de CBM generado en flujograma.....	23

## Índice de tablas

Tabla 1 Diseño de mezclas para conformación del sustrato.....	12
Tabla 2 Diseño de mezclas para conformación del sustrato control.....	12
Tabla 3 Tamaño de especímenes para pruebas físico-mecánicas según norma.....	22

# Capítulo 1

## 1.1 Introducción

Actualmente, los Compuestos en Base a Micelio, abreviados CBM o MBC en inglés, atraen la atención de múltiples industrias por su potencial como alternativas orgánicas a materiales de uso común. El micelio, parte vegetativa del hongo, se forma por una compleja red de hifas, que se ramifican y entretrejen con el sustrato para poder absorber los nutrientes que se encuentran en este. Las hifas se componen principalmente de quitinas, que le dan al material propiedades mecánicas como resistencia a la compresión y flexibilidad (Vašatko et al., 2022). Estas propiedades, así como su capacidad de aislamiento térmico (Javadian et al., 2020) y acústico (Elsacker et al., 2020) postulan a los CBM como alternativas biodegradables a múltiples materiales, específicamente los derivados de combustibles fósiles.

La variedad de aplicaciones que se le ha dado a los CBM tanto de manera industrial como doméstica destacan la versatilidad de estos para cubrir necesidades de distintos sectores de la sociedad, distinguiéndose las potenciales aplicaciones como material de empaques (Holt et al., 2012; Jiang et al., 2016; Ziegler et al., 2016; Matos et al., 2019), material aislante (Arifin & Yusuf, 2013; Pelletier et al., 2019), material de construcción similar a ladrillos y tablas (Pelletier et al., 2017; Moser et al., 2017), entre otros.

La exploración de especies y metodologías para la producción de CBM se encuentra en constante aumento debido a prometedoras iniciativas de diversas empresas, como Ecovative Design con empaques, además de MycoWorks y Mylo, con fibras textiles o cuero, las cuales se establecen como propuestas innovadoras en el mercado mundial moderno.

Hoy en día, en Guayaquil dos materias primas consideradas desechos o residuos que pueden servir de sustrato para producir CBM son: el aserrín, donde la industria maderera produce cerca de 1500 toneladas/año (Fernandez et al., 2016) y la cascarilla de arroz de la industria arrocera, que produce alrededor de un 20% de cascarilla de los 1,3 millones de toneladas que se producen (Riera et al., 2018; INEC, 2021). Debido a su alto contenido

lignocelulósico, estos desechos son considerados materia prima con alto potencial de ser aprovechada para producir CBM.

## **1.2 Descripción del Problema**

Los CBM son biomateriales cuya demanda a nivel mundial (por su potencial para reemplazar polímeros plásticos como el poliestireno) ha ido creciendo en el tiempo; entre otras cosas porque contribuyen a potenciar una economía circular mediante la transición de una basada en el petróleo a una basada en recursos genéticos.

En el país se registró que en 2015 el poliestireno representó el 11 % de los desechos sólidos totales, número preocupante porque nacionalmente no existen empresas dedicadas al reciclaje de estos tipos de materiales (Fernanda & Torres, 2015).

De acuerdo con autores como Adetunji et al. (2021), otros plásticos como el poliuretano se presentan como un plástico de alto riesgo ambiental debido a su contenido en químicos de alto riesgo, como fosfatos, glicoles y aminas. Adicionalmente, los métodos de reciclaje, tanto químico como energético, de poliuretano son alternativas no exploradas en la industria ecuatoriana, y globalmente son poco reconocidos por su baja rentabilidad (Skleničková et al., 2022).

Actualmente, el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador no cuenta con protocolos optimizados para la producción de CBM, siendo la mayoría de las metodologías sujetas a derechos de autor y otras protecciones legales que dificultan su replicado. La necesidad de estandarizar el proceso nace de la competitividad en eficiencia productiva que presentan los polímeros plásticos, especialmente en escala de producción.

## **1.3 Justificación del Problema**

En el marco internacional, se están desarrollando esfuerzos intergubernamentales para detener la contaminación por plásticos y de acuerdo con autores como Chen (2022), podrían surgir en los próximos años, tratados globales para detener la contaminación por plástico. Así mismo, relata que, en el contexto de la tercera reunión del Intergovernmental Negotiating Committee on Plastic Pollution (INC), se establecieron como prioridades, la

restricción de la producción de plásticos y el desarrollo de nuevas tecnologías de empaçado para el reemplazo de plásticos de un solo uso.

En este contexto, los hallazgos encontrados en múltiples investigaciones postulan a los CBM en base a especies como *Pycnoporus sanguineus*, *Ganoderma* y otros hongos de la madera como reemplazo de espumas para aislamiento y empaques; siendo cada vez más posible, la posibilidad de realizar un cambio en la producción de empaques hacia alternativas más sostenibles (Bruscato et al., 2019; Holt et al., 2012)

Finalmente, ahondar en las posibilidades de escalado del proceso de producción de CBM permitiría perfeccionar y optimizar las prácticas de producción realizadas hoy en día, necesidad que responde directamente a los Objetivos del Desarrollo Sostenible 9 y 12, Industria, innovación e infraestructura y Producción y consumo responsables respectivamente.

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo general**

Formular un protocolo estandarizado para la creación de biomateriales a partir del micelio de especies de hongos *Polyporales* y sustratos lignocelulósicos para la optimización de su producción.

### **1.4.2 Objetivos específicos**

1. Evaluar distintas metodologías de hidratación, inoculado, crecimiento y desactivación para la definición de parámetros eficientes dentro de cada proceso del protocolo.
2. Comparar el desarrollo micelial de la especie modelo en distintas fórmulas compuestas por sustratos lignocelulósicos en distintos tamaños de partícula y poliuretano para la selección de sustratos óptimos.
3. Delimitar el tamaño de las probetas a generarse para la comprobación de las propiedades físico-mecánicas a través de las normativas ASTM para poliestireno celular.

## **1.5 Marco teórico**

### **1.5.1 Especies**

El orden *Polyporales* engloba una amplia variedad de hongos, como los de la pudrición blanca de la madera, que representan una prometedora fuente para la producción de biomateriales. Estos hongos, al descomponer la lignina y, en menor medida, la celulosa y hemicelulosa en sustratos determinados, pueden aprovechar residuos lignocelulósicos, confiriéndole a los materiales conformados, propiedades únicas según la composición hifa-sustrato (Abdel-Hamid et al., 2013).

Dentro de las especies utilizadas para la producción de CBM, específicamente para aplicaciones como bloques de construcción (Saez et al., 2020) y bioespumas como alternativa para polímeros plásticos (Bruscato et al., 2019) tenemos a la especie *Pycnoporus sanguineus* así como a *Ganoderma lucidum* y *Pleurotus ostreatus* (López et al., 2016).

### **1.5.2 Sustratos y aditivos**

La elección de sustratos lignocelulósicos es uno de los pasos más importantes durante el proceso de producción de biomateriales fúngicos, debido a que las características de estos afectan ampliamente las propiedades físicas y mecánicas del producto final (Elsacker et al., 2020)

El uso de cascarilla de arroz (Arifin & Yusuf 2013; Mbabali et al., 2024) como sustrato en el proceso de producción de CBM ha sido estudiado en combinación con una amplia variedad de especies fúngicas debido a su alto contenido lignocelulósico de 72–85 wt%, siendo su peso restante sílices (Chen et al., 2012).

La viruta de madera o aserrín (Lee & Choi, 2021; Escaleira et al., 2021), utilizada tanto en solitario, como en múltiples formulaciones con otros sustratos lignocelulósicos, destacándose la necesidad de homogenizar su tamaño debido a variaciones en su método de obtención (Travaglini, 2013).

Existen registros de la utilización de micropartículas de origen lignocelulósico como suplementos del sustrato, otorgando al biomaterial módulos de Young y elasticidad

superiores (Houette et al., 2022). Así mismo, micropartículas en base a sales, como arena de carbonato, han sido utilizadas para mejorar la fuerza compresiva uniaxial y el módulo de Young (Gou et al., 2021). No existen registros del uso de plásticos reciclados como aditivo del sustrato en la producción de CBM.

### **1.5.3 Tamaños de partícula**

El uso de sustratos como viruta de madera para la producción de CBM implica la necesidad de añadir procesos de homogenización del tamaño de partícula de estos, como es el uso de trituradoras y molinos, procesos descritos ampliamente en múltiples fuentes (Charpentier-Alfaro et al., 2023; Attias et al., 2019)

### **1.5.4 Hidratación**

Los procesos de hidratación descritos en múltiples publicaciones varían dependiendo del sustrato y especie, describiéndose un contenido de agua de aproximadamente 66% (Bruscato et al., 2019) a 50% (Attias et al., 2017; Nashiruddin et al., 2022) w/w para crecimiento de varias especies, incluyendo *P. sanguineus*, crecidas en formulaciones de sustratos incluyendo cascarilla de arroz.

Otras fuentes, sin embargo, mencionan que el control de los niveles de agua utilizados para el sustrato son ignorables, al considerarse que sumergir el sustrato en agua durante un período de tiempo y posteriormente exprimirlo a mano es suficiente (Jones et al., 2018).

### **1.5.5 Inóculos y propagación**

Entre los métodos de propagación micelial más utilizados se encuentra el uso de medios líquidos y sólidos con distintos perfiles nutricionales, como agar apa dextrosa (PDA) o agar malta peptona (Haneef et al., 2017; Moser et al., 2017; Islam et al., 2017), así como caldos nutritivos (Elsacker et al., 2020; Shakir et al., 2020).

Alternativamente, el uso de preinóculos se ha propuesto como una opción para preparar nutricionalmente al hongo para su crecimiento en sustratos menos nutricionales,

además de permitir al hongo adaptarse con mayor facilidad al sustrato (Jones et al., 2019). La técnica principalmente ha sido aplicada usando 10% w/w (Charpentier-Alfaro et al., 2023) de preinóculo por funda de sustrato. El proceso de romper los preinóculos previo a la inoculación estimula el crecimiento de las hifas y aumenta su robustez (Jiang et al., 2013).

### **1.5.6 Condiciones de crecimiento**

Durante el proceso de colonización y crecimiento de la especie en su sustrato, el control de las condiciones del ambiente es de vital importancia para el correcto desarrollo micelial. Se han descrito temperaturas de crecimiento que oscilan los 25-27 °C para la mayoría de las especies como *P. sanguineus*, *G. lucidum* y *P. ostreatus*, alcanzándose estas condiciones tanto con el uso de incubadoras como la temperatura ambiental. Además, condiciones oscuridad han sido ampliamente descritas como un parámetro crucial para la correcta propagación de especies fúngicas (Travaglini et al., 2016; Saez et al., 2020; Elsacker et al., 2021).

### **1.5.7 Secado y desactivación**

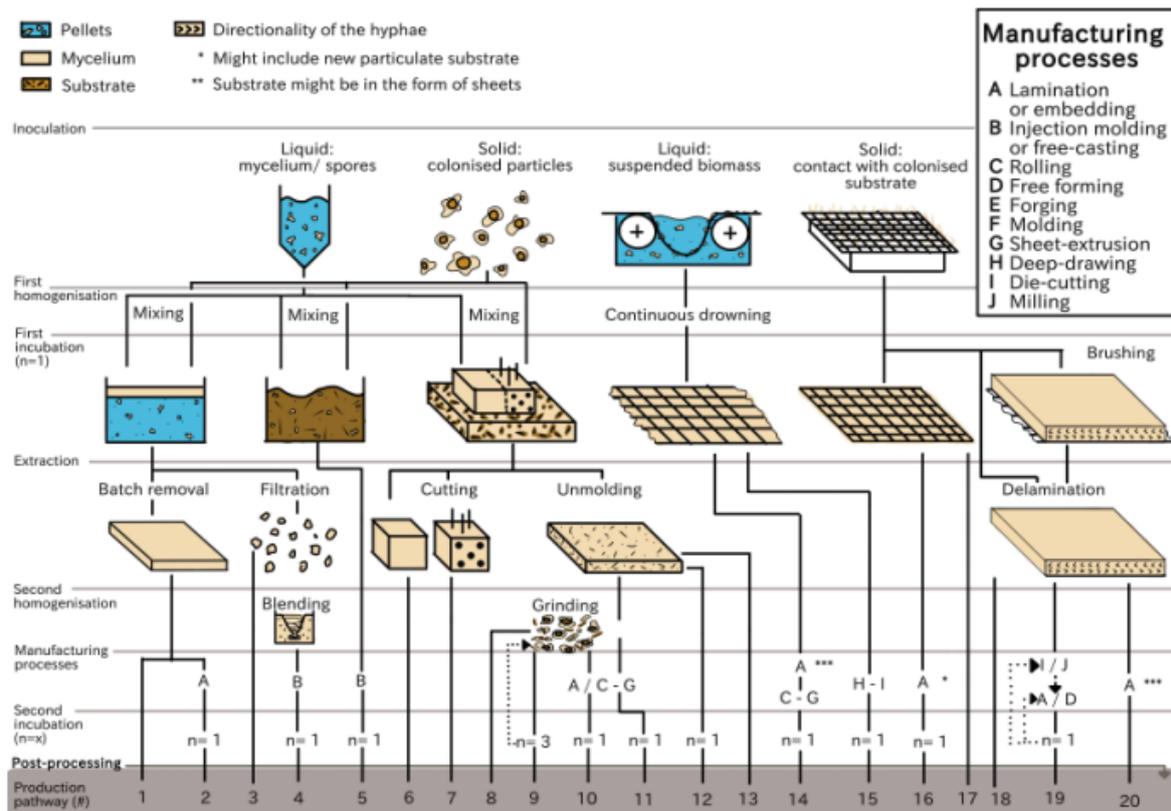
Posterior al proceso de crecimiento, se requieren procesos de secado para poder desactivar el hongo y eliminar humedad residual. El proceso más descrito es el secado en horno, usado por su facilidad de aplicación, al poder prescindir de maquinaria pesada como prensas. Los parámetros utilizados, como la temperatura y tiempo de secado varían ampliamente dependiendo de los sustratos, especies y tamaño de los materiales, siendo las temperaturas más comunes de secado 50-70°C (Holt et al., 2012; Arin & Yusuf, 2013; Shao et al., 2016; Yang et al., 2017; Xing et al., 2018). La termocompresión, por otro lado, implica el uso de una prensa fijada a una temperatura en específico, que da forma al sustrato colonizado mientras aplica calor para desactivarlo. La presión, temperatura y tiempo utilizados para este proceso varían dependiendo del autor, describiéndose en la literatura 3.5-4.5 MPa a 200°C por 6 minutos (Liu et al., 2020), 10 MPa a 160°C por 20 minutos (Khoo et al., 2020) o presión no controlada a 180°C por 8 minutos (Sun et al., 2022). Se destaca

en todos estudios que el proceso de termocompresión y los parámetros utilizados durante este afecta ampliamente las características físico-mecánicas del material.

### 1.5.8 Proceso de producción

Figura 1

Vías de producción de micomateriales durante el proceso de biofabricación



Nota “Vías de producción de micomateriales durante el proceso de biofabricación” por Vélez et al. (2023)

El protocolo de producción de biomateriales, de acuerdo a la **Figura 1**, es principalmente estructurado de acuerdo a la aplicación o producto final a generarse. A través de la experimentación a realizarse, se busca seguir la vía 5 de producción, explorando el uso de PDA y arroz en cáscara como partículas colonizadas, y distintas mezclas de desechos agroindustriales lignocelulósicos como sustrato sólido.

### ***1.5.9 Muestras para pruebas mecánicas***

Actualmente, la producción de materiales se regula directamente bajo estándares de producción, que aseguran que la calidad y propiedades de los materiales producidos en distintas industrias a través del mundo están dentro de los límites establecidos. Los materiales como el poliestireno se encuentran regulados bajo la norma “ASTM C578-23 Standard Specification for Rigid, Cellular Polystyrene Thermal Insulation” la cual establece los tamaños específicos para los especímenes de prueba para comprobar distintas propiedades físico-mecánicas del material generado. Al realizar las distintas pruebas sobre el material bajo estas normas se podría generar una normativa técnica a partir de cada sustrato para comparar los efectos de los distintos tratamientos en las propiedades físico-mecánicas del producto final.

## Capítulo 2

## **2. Metodología**

### **2.1 Obtención de cepa**

La cepa de *Pycnoporus sanguineus* utilizada fue tomada de la Colección de Cultivos Microbianos-CCM del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador, donde se encontraba crioconservado a -80°C en medio de cultivo Caldo Papa Dextrosa (PDB) con glicerol al 20%.

### **2.2. Obtención de sustratos y aditivos**

Se utilizaron 2 diferentes sustratos de origen orgánico (viruta de madera o aserrín y cascarilla de arroz) y un aditivo de origen sintético (polvo de poliuretano).

La viruta de madera se obtuvo de un aserradero local donde se indicó que la mayor parte de la viruta provenía del árbol Guayacán blanco (*Tabebuia chrysantha*), y en menor medida restos de otros árboles como Laurel (*Cordia alliodora*), Fernán Sánchez (*Triplaris cumingiana*) y Algarrobo (*Prosopis juliflora*)

Por otro lado, la cascarilla de arroz se obtuvo de distintos proveedores porque esta materia prima no varía mucho entre fuentes (Coronel & Rivera, 2022)

El polvo de poliuretano empleado fue proporcionado por una empresa cuyo proceso de producción de paneles sándwich de acero y poliuretano genera este residuo al cortarse las láminas.

### **2.3. Preparación de sustratos**

Debido a la presencia de polvo de acero en el PU, se realizó un tratamiento que consistió en la introducción de 1 kilo del polvo crudo en un separador magnético de cilindro inducido (MARCA), a 0.3 Amperios y 60 revoluciones por minuto, durante 15 minutos. Se repitió la limpieza 3 veces, comprobando finalmente la completa eliminación del polvo de acero, a través del uso de un microscopio en aumentos X5 y X10

La cascarilla y la viruta de madera fueron lavadas con agua bajo tamices metálicos (ASTM E11) de tamaño 650 para eliminar suciedad y polvo productos de su transporte y almacenamiento, así como arena que se genera como parte del proceso de producción del

arroz. La viruta fue triturada con el uso de un molino (ESPOL) y con el uso de tamices metálicos (ASTM E11) se lo separó en los rangos de tamaño de partícula: >2mm, 1.4 - 2mm y <1.4mm.

## 2.4. Diseño de mezclas

Para llevar a cabo la evaluación de las distintas metodologías de hidratación, inoculado, crecimiento e inoculación, se realizaron mezclas de los sustratos en diferentes proporciones, considerando los 3 rangos de tamaños de partículas de la viruta y la cascarilla sin triturar, tendiendo así:

**Tabla 1**

*Diseño de mezclas para conformación del sustrato*

Sustrato	C (%)	V (%)	PU (%)	tpV (mm)
TI-A	25	72	3	>2
TI-B	25	72	3	1.4 - 2
TI-C	25	72	3	<1.4
TII-A	35	62	3	>2
TII-B	35	62	3	1.4 - 2
TII-C	35	62	3	<1.4
TIII-A	50	47	3	>2
TIII-B	50	47	3	1.4 - 2
TIII-C	50	47	3	<1.4

*Nota.* C: Cascarilla de arroz, V: Viruta de madera, PU: Poliuretano, tpV: Tamaño de partícula de la viruta

**Tabla 2**

*Diseño de mezclas para conformación del sustrato control.*

Sustrato	C (%)	V (%)	tpV (mm)
TCl-A	25	75	>2

TCI-B	25	75	1.4 - 2
TCI-C	25	75	<1.4
TCII-A	35	65	>2
TCII-B	35	65	1.4 - 2
TCII-C	35	65	<1.4
TCIII-A	50	50	>2
TCIII-B	50	50	1.4 - 2
TCIII-C	50	50	<1.4

---

Los porcentajes de cada sustrato se calcularon respecto a su peso en seco total de 300g en fundas de 12x18 pulgadas de polipropileno.

## **2.5. Ensayos de hidratación**

Se utilizaron 2 tipos de metodologías para llevar a cabo la hidratación del sustrato:

Hidratación por volumen e hidratación por inmersión y decantado

Para la hidratación por volumen las fundas se humedecieron añadiendo un volumen de agua equivalente al 125% del peso del sustrato seco y se las zarandeó vigorosamente hasta que el agua esté correctamente distribuida a través del sustrato. Para la hidratación por inmersión y decantado el sustrato se sumergió en agua durante 24 horas, posterior a las cuales se escurrió con ayuda de un colador ultrafino hasta que no exista goteo, posterior a lo cual se devolvió a las fundas. Posterior a esto, todas las fundas fueron esterilizadas en un autoclave vertical (Biobase BKQ-B50II) a 121°C por 15 minutos.

## **2.6 Ensayos de inoculado**

### **2.6.1 Preparación de inóculos**

Se utilizaron 2 tipos de metodologías de inóculos para la colonización del sustrato:

Micelio sobre arroz en cáscara y sobre PDA.

Para la preparación del arroz en cáscara se utilizaron 600g en 800ml de agua dentro de un matraz de 1000 ml de capacidad, esto se lo colocó a 150°C durante 90 minutos en una

estufa (RebelK RS-40P). El tiempo fue determinado al evaluar la cocción parcial de todos los granos uniformemente a través del matr az. Luego, se retiraron los granos de la estufa y se escurrieron utilizando un colador. Una vez escurridos, se distribuyeron en fundas de polipropileno, cada una con 10g y fueron esterilizadas en un autoclave vertical (Biobase BKQ-B50II) a 121 C por 15 minutos. Una vez a temperatura ambiente, las fundas fueron inoculadas con 2 fragmentos (Sacabocados 3  : 11mm) del hongo previamente sembrado en PDA. Finalmente, se incubaron a una temperatura de 27  C, en oscuridad durante 7 días.

Para el uso de PDA, se utilizaron placas con 10g de PDA inoculadas e incubadas a 27  C, en oscuridad durante 7 días.

### **2.6.2 Proceso de inoculado**

Las fundas de sustrato estériles fueron colocadas en una cámara de flujo (Biobase BBS-H1300) bajo luz ultravioleta durante 20 minutos. Para las fundas inoculadas con placas de PDA se procur  utilizar placas que tuvieran un peso de 10 gramos. El PDA de las placas con el micelio se cortó en fragmentos cuadrangulares con un bisturí estéril y luego se depositó en las fundas de sustrato, mientras que las fundas con el arroz en cáscara con micelio se separaron manualmente a través de las fundas y se depositaron directamente en las fundas con sustratos. Se utilizó una funda de semilla de arroz por funda y una placa. Finalmente, las fundas fueron incubadas a una temperatura de 27 C, en condiciones de oscuridad hasta notar un crecimiento micelial considerable.

### **2.7 Ensayos de crecimiento**

Se utilizaron 2 tipos de metodologías de crecimiento de las distintas fundas inoculadas:  
Con control de temperatura y sin control de temperatura

Para el crecimiento con control las fundas fueron colocadas en posición horizontal en una incubadora a una temperatura de 27 C en condiciones de oscuridad. Para el crecimiento sin control de temperatura las fundas fueron colocadas en posición horizontal en una estantería cerrada en condiciones de oscuridad. Se evaluó la temperatura con un termómetro (TP101 WMETER) cada 24 horas.

## **2.8 Ensayos de secado y desactivación.**

Para la prueba de termocompresión se tomaron las fundas de los sustratos TCII-A y TCIII-A con 20 días de incubado y fueron utilizadas para rellenar moldes de tamaño 15x15x4 centímetros, en el cual se incubaron durante 5 días antes de ser desmoldadas e incubadas por 4 días más, todo esto a 27°C. Finalmente, se cortó a las muestras en 2 rectángulos idénticos y utilizando una prensa térmica (ESPOL) se las formó a una presión de 17.25 MPa y temperatura de 200°C durante 15 minutos. Para la prueba de secado en estufa, se tomaron fundas de muestras de 300 g de los sustratos TCII-A y TCIII-A con 15 días de incubado y fueron utilizadas para rellenar moldes de tamaño 15x15x4 centímetros, en el cual se incubaron durante 5 días antes de ser desmoldadas e incubadas por 4 días más, todo esto a 27°C. Las probetas producidas en estos moldes fueron secadas en una estufa (RebelK RS-40P) a 60°C durante 10 horas.

## **2.9 Especímenes para pruebas mecánicas**

Se tomó de referencia las especificaciones ASTM C578-23, para establecer las dimensiones de las probetas a generarse, utilizándose la información encontrada bajo el apartado "Test Specimen" en cada una de las normas citadas para las pruebas "

## **2.10 Generación de gráficos**

Se utilizó el software RStudio y la librería ggplot2 para el cálculo de los promedios de tiempo de crecimiento y la generación del gráfico utilizado.

## Capítulo 3

### 3. Resultados y análisis

#### 3.2 Trituración, tamaños de partícula y formulaciones.

El uso de rangos de tamaño de partícula de viruta permitió analizar su viabilidad como sustrato en el protocolo, demostrándose que el tamaño de partícula del sustrato puede afectar directamente a la producción de CBM.

#### Figura 2

*Viruta en tamaños de partícula variados*



*Nota.* A: <1.4 mm, B: 1.4 - 2 mm, C: >2 mm

Todos los sustratos con tamaños de partícula de viruta inferiores a 1.4mm mostrados en la **Figura 3A** (TI-C, TII-C y TIII-C), así como sus controles (TCI-C, TCII-C y TCIII-C), no mostraron crecimiento bajo ninguna de las metodologías aplicadas debido a la compactación que presentan. La compactación en el sustrato es uno de los principales factores que regulan el crecimiento micelial en la naturaleza, debido a que la respiración celular en hongos aprovecha la geometría y porosidad, y por ende oxígeno, de su sustrato para realizar el intercambio gaseoso (Lacoma, 2017).

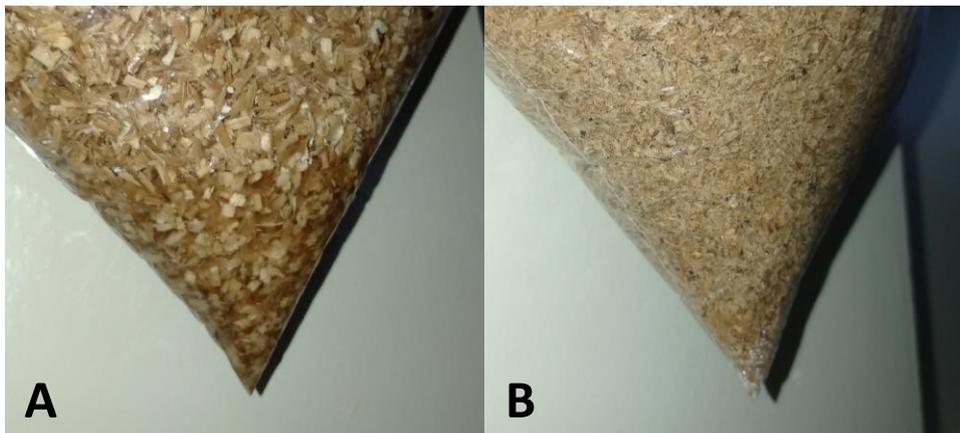
#### 3.2 Hidratación

Dentro de las metodologías de hidratación aplicadas, la hidratación por remojo y escurrido presentó la mayor cantidad de problemas, como la pérdida de componentes del sustrato durante el escurrido. En todos los sustratos se observó una pérdida de poliuretano en

el agua, así mismo con cierta cantidad de la viruta de tamaños de partícula inferiores a 1.4mm de los sustratos TI-C, TII-C y TIII-C y sus controles.

### Figura 3

*Acumulación de agua en fundas de sustrato*



*Nota.* A: TIII-A, B: TIII-C bajo hidratación por volumen

Por otro lado, la hidratación por volumen permitió evaluar más precisamente los requerimientos hídricos del hongo de acuerdo al sustrato. Se demostró que el tamaño de partícula y composición del sustrato afectan directamente la cantidad de agua requerida, mostrándose en la **Figura 4** la diferencia en el agua acumulada en el fondo de la funda en la misma composición de sustrato, pero con distintos tamaños de partícula de viruta. La cantidad de agua requerida es inversamente proporcional al tamaño de la partícula de la viruta, demostrándose que los sustratos TCII-A y TCIII-A son los más eficientes hídricamente. Las variaciones en la absorción de agua se deben a que al disminuir el tamaño de partícula de la viruta de madera aumenta el área superficial, y por ende, la presencia de grupos -OH libres en la estructura de celulosa y hemicelulosa, ocasionando que estas partículas de madera hidrófilas absorban agua a través de enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua y los grupos -OH en la superficie de sus partículas (Yeşilbaş et al., 2016).

### 3.3 Inoculado

Las metodologías de inoculado utilizadas presentaron resultados variados respecto a su aplicabilidad y estabilidad de los inóculos a través del tiempo. El uso de placas de PDA se

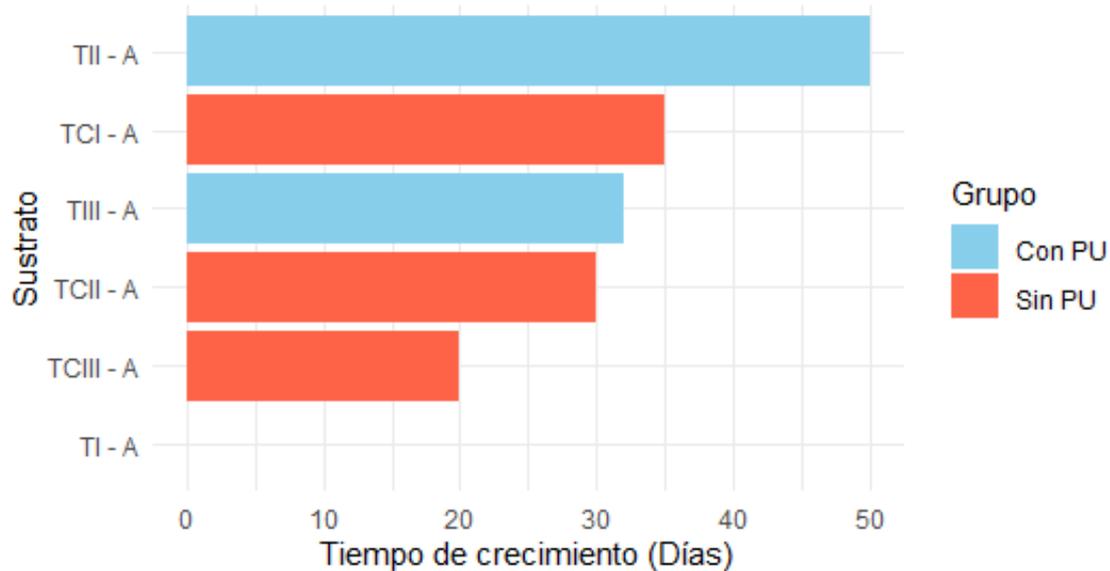
muestra como una forma efectiva de propagar a la especie escogida, ya que su preparación requiere menor tiempo y las placas sin inocular pueden ser usadas durante semanas para preparar inóculos según convenga. El arroz en cáscara, por otro lado, presentó contaminaciones con mayor rapidez una vez cocinado, requiriendo refrigeración para mantener estables a las alícuotas realizadas previas a su inoculado. Sin embargo, se destaca que el arroz en cáscara permite prescindir de equipos como bisturís y cámara de flujo al inocular, además de mantenerse estables durante más tiempo que el PDA, al poder ser utilizados en un rango de 7 a 25 días desde su inoculación, mientras que el PDA presentó contaminaciones en todos los casos a partir del día 17.

### **3.4 Crecimiento**

El procedimiento de crecimiento sin control de temperatura no presentó resultados óptimos sobre los sustratos probados debido a las variaciones de temperatura presentadas durante la experimentación realizada. El promedio de temperatura en estas fundas fue de 19°C, condiciones poco óptimas para el correcto crecimiento de especies fúngicas (Travaglini et al., 2016; Saez et al., 2020; Elsacker et al., 2021). Esta temperatura es propia de la época en la que se realizó la experimentación, que corresponde a la época fría y seca de la ciudad de Guayaquil, entre junio y noviembre.

**Figura 4**

Gráfico de barras de tiempo de crecimiento de cada sustrato a 27°C



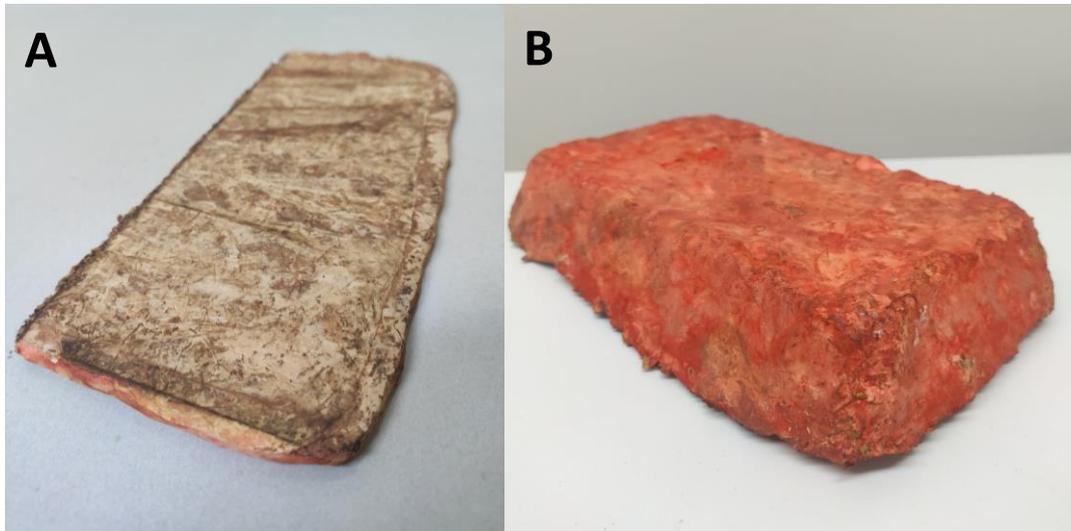
*Nota.* Se consideró el tiempo hasta la completa colonización de la funda de sustrato

El procedimiento de crecimiento con control de temperatura aplicado destaca la necesidad del uso de equipos como incubadoras durante el proceso de producción de CBM. A través de la **Figura 5** se puede distinguir que los sustratos sin PU presentaron en promedio un crecimiento más acelerado que los sustratos con PU. El crecimiento lento presentado en este grupo se debe a que la especie *P. sanguineus* no es capaz de degradar al PU, y por ende, su micelio demora más en completar la matriz tridimensional que lo compone para colonizar todo el sustrato disponible. Se destaca, además, que el sustrato TI-A presentó crecimiento, sin embargo, este crecimiento fue extremadamente lento y en todas las repeticiones existieron contaminaciones que evitaron la colonización completa del sustrato. Además, a través de la gráfica se puede distinguir una relación negativa entre la velocidad de crecimiento y la cantidad de viruta que conforma el sustrato.

### 3.5 Secado y desactivación

#### Figura 5

*Materiales resultantes de metodologías de secado*



*Nota.* A: Secado por termocompresión B: Secado por horno

Las probetas generadas por medio de los dos métodos de secado empleados difirieron ampliamente en sus propiedades observables y posibles aplicaciones. El secado por horno, mostrado en la **Figura 5B** logró conservar el volumen de la probeta posterior al secado, lo cual lo vuelve ideal para su aplicación como material de empaques e insulación térmica (Elsacker et al., 2019). La baja densidad otorga a materiales como poliestireno propiedades como resistencia térmica, ya que las burbujas de aire presentes en su estructura son malas conductoras térmicas (Hasanzadeh et al., 2019). El secado por termocompresión, por otro lado, permitió generar probetas como la observada en la **Figura 5A** las cuales varían ampliamente en sus propiedades observables. El secado por termocompresión permitió distinguir la aplicación de esta especie para aplicaciones como estructuras sandwich (Jiang et al., 2017) y tableros (Khoo et al., 2020).

### 3.6 Delimitación de especímenes

**Tabla 3**

*Tamaño de especímenes para pruebas físico-mecánicas según norma ASTM C578-23*

Test	Dimensión	Tamaño (mm)	Norma	Forma
Flexural	Longitud	250-300	ASTM – C203 Method 1 Procedure A	
	Ancho	75-100		
	Grosor	25		
Compresión	Lados/Diámetro	150 mm	Method C 165 Procedure A	
	Área mínima	2580 mm <sup>2</sup>		
	Altura mínima	12,5 mm		
	Altura máxima	Menor a Lados/Diámetro		
	Área mínima	25.8 cm <sup>2</sup>		
Compresión	Área máxima	232 cm <sup>2</sup>	Test Method D 1621	
	Altura mínima	25.4 mm		
	Altura máxima	Menor a Lados/Diámetro		
	Volumen Mínimo	16.4 cm <sup>3</sup>		
Densidad y dimensiones	Largo mínimo	100	ASTM C303-21	
	Ancho mínimo	200		
	Volumen Mínimo	16.4 cm <sup>3</sup>		
Absorción de agua	Lados	305	Test Method C 272	
	Altura	25		
Estabilidad dimensional	Lados	100	Test Method D 2126	
	Altura	25		
Índice de	Longitud	80-150	Test Method D 2863.	

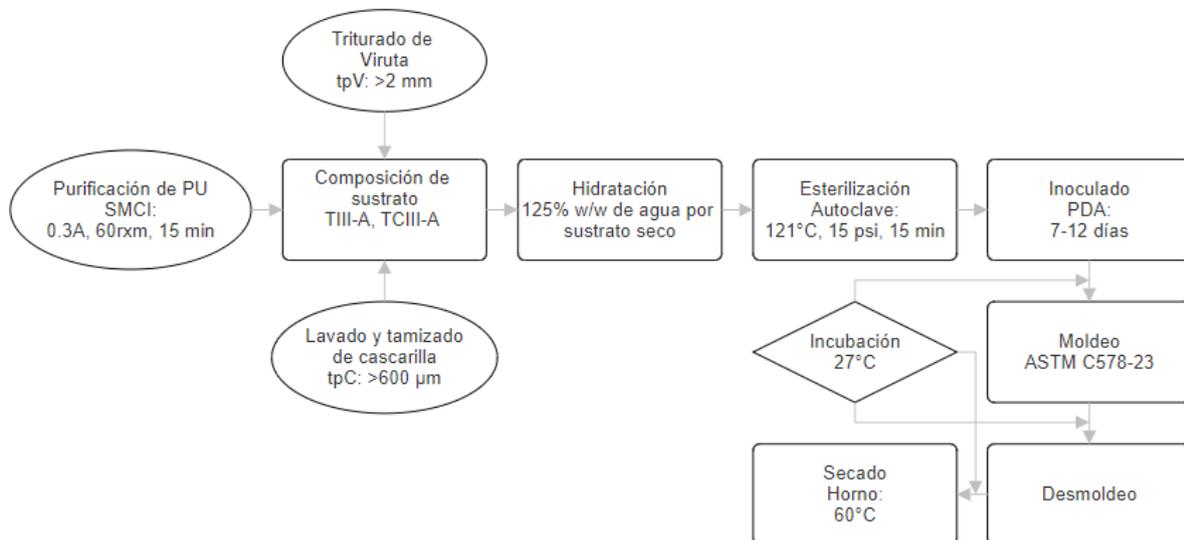
oxígeno	Ancho	10
	Grosor	-

Además de las pruebas mecánicas mencionadas en la Tabla 3., la normativa para poliestireno celular requiere pruebas de Cuadratura, Resistencia térmica y permeabilidad de vapor de agua, pero los protocolos no especifican dimensiones para los especímenes de prueba, o requieren probarse a partir de su diseño comercial. El grosor para la prueba de índice de oxígeno será definido a partir del tipo de poliestireno a compararse. La normativa estudiada, además, requiere un condicionamiento de calor para todas las probetas previo a su testeado para asegurar homogeneidad entre los especímenes.

### 3.7 Protocolo

**Figura 6**

*Protocolo de producción de CBM generado en flujograma*



El protocolo generado, observable en la **Figura 6**, permitió la producción de CBM para empaques, permitiendo generar un ciclo de producción para fundas de 300g de sustrato, pudiéndose completar este en al menos 24 días, dependiendo de la probeta a generarse. Los protocolos previamente utilizados en los laboratorios del CIBE tenían una duración del ciclo de producción de aproximadamente 29 días debido a metodologías de hidratación, crecimiento y

secado poco eficientes. Las principales causas de variabilidad dentro del tiempo de producción se deben a las fases de incubación posteriores al moldeo, ya que las probetas más grandes tomarán más tiempo para permitir al micelio completar su estructura tridimensional.

## Capítulo 4

## **4.1 Conclusiones y recomendaciones**

### **4.1.1 Conclusiones**

La aplicación de las metodologías recopiladas permitió distinguir los siguientes puntos:

- El protocolo formulado a partir de las metodologías evaluadas permitió disminuir el tiempo de producción en 5 días a través de la optimización de las fases de hidratación, crecimiento y desactivación. Se destaca la eficiencia en el uso de recursos hídricos al reducirse el uso de agua durante la hidratación, además de la versatilidad en las posibles aplicaciones al generarse materiales por las dos metodologías de desactivación.

- Los sustratos con tamaños de partícula menores presentaron problemas para el correcto crecimiento de la especie *P. sanguineus* debido a sus requerimientos hídricos, así como por la compactación que presentaron. El crecimiento, además, presenta una relación negativa con el porcentaje de viruta que conforma el sustrato. La presencia de PU como aditivo representa un aumento en el tiempo del ciclo de producción de CBM.

- Las probetas a generarse para las pruebas de compresión, flexión, densidad, absorción de agua, estabilidad dimensional e índice de oxígeno están propiamente definidas según las normativas disponibles. Las probetas por generarse para las pruebas de cuadratura, resistencia térmica y permeabilidad de vapor de agua dependerán de otros factores, como la aplicación comercial a abordarse.

### **4.1.2 Recomendaciones**

El proyecto realizado permitió concretar un protocolo de producción para biomateriales a nivel de laboratorio, sin embargo, se recomiendan los siguientes puntos para desarrollar proyectos que involucren el uso de CBM:

- Evaluar variaciones en la hidratación por volumen en tamaños de partícula de viruta menores para encontrar el mejor rendimiento para cada rango de tamaño pertinente

- Comprobar las propiedades físico-mecánicas y los efectos de aditivos como PU en estas.

•Experimentar con el control de la humedad del proceso de producción para estudiar su escalado mediante fermentación en saturación de agua.

### Referencias

Abdel-Hamid, A. M., Solbiati, J. O., & Isaac K.O. Cann. (2013). Insights into Lignin Degradation and its Potential Industrial Applications. *Advances in Applied Microbiology*, 1–28.

<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-407679-2.00001-6>

Adetunji, C. O., Olaniyan, O. T., Anani, O. A., Inobeme, A., & Mathew, J. T. (2021). Environmental impact of polyurethane chemistry. *Polyurethane Chemistry: Renewable Polyols and Isocyanates*, 393-411.

Akromah, S., Neha Chandarana, Rowlandson, J. L., & Eichhorn, S. J. (2024). Potential environmental impact of mycelium composites on African communities. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-62561-7>

Arifin, Y. H., & Yusuf, Y. (2013). Mycelium fibers as new resource for environmental sustainability. *Procedia Engineering*, 53, 504-508.

Attias, N., Danai, O., Ezov, N., Tarazi, E., & Grobman, Y. J. (2017). Developing novel applications of mycelium based bio-composite materials for design and architecture. *Proceedings of building with biobased materials: best practice and performance specification*, 1(10).

Attias, N., Danai, O., Tarazi, E., Pereman, I., & Grobman, Y. J. (2019). Implementing bio-design tools to develop mycelium-based products. *The Design Journal*, 22(sup1), 1647-1657.

Bruscato, C., Malvessi, E., Brandalise, R. N., & Camassola, M. (2019). High performance of macrofungi in the production of mycelium-based biofoams using sawdust—Sustainable technology for waste reduction. *Journal of Cleaner Production*, 234, 225-232.

Charpentier-Alfaro, C., Benavides-Hernández, J., Poggerini, M., Crisci, A., Mele, G., Della Rocca, G., ... & Palanti, S. (2023). Wood-decaying fungi: From timber degradation to sustainable insulating biomaterials production. *Materials*, 16(9), 3547.

Chen, S (2023). *A global treaty to end plastic pollution is in sight*. UNDP.

<https://www.undp.org/blog/global-treaty-end-plastic-pollution-sight>

Chen, H., Wang, W., Martin, J. C., Oliphant, A. J., Doerr, P. A., Xu, J. F., ... & Sun, L. (2013). Extraction of lignocellulose and synthesis of porous silica nanoparticles from rice husks: a comprehensive utilization of rice husk biomass. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(2), 254-259.

Elsacker, E., Vandelook, S., Brancart, J., Peeters, E., & De Laet, L. (2019). Mechanical, physical and chemical characterisation of mycelium-based composites with different types of lignocellulosic substrates. *PLoS One*, 14(7), e0213954.

Elsacker, E., Vandelook, S., Van Wylick, A., Ruytinx, J., De Laet, L., & Peeters, E. (2020). A comprehensive framework for the production of mycelium-based lignocellulosic composites. *Science of The Total Environment*, 725, 138431.

Escaireira, R. M., Campos, M. J., & Alves, M. L. (2021). Mycelium-based composites: a new approach to sustainable materials. In *Sustainability and Automation in Smart Constructions: Proceedings of the International Conference on Automation Innovation in Construction (CIAC-2019), Leiria, Portugal* (pp. 261-266). Springer International Publishing.

M. Fernanda and S. Torres, "Ecología política y geografía crítica de la basura en el Ecuador," *Letras Verdes: Revista Latinoamericana de Estudios Socioambientales*, ISSN-e 1390-6631, ISSN 1390-4280, No . 17, 2015 (Ejemplar dedicado a: Letras Verdes 17), págs. 4-28, vol. 17, no. 17, pp. 4–28, 2015, doi: 10.17141/letrasverdes.17.2015.1259.

Fernández, R., Aviles, R., Fernandez, A. & Calero, S. (2016). ESTUDIO SOBRE LAS POTENCIALIDADES DE ASERRÍN COMO MATERIA PRIMA EN LA INDUSTRIA FORESTAL EN GUAYAQUIL, ECUADOR. ResearchGate; Instituto Federal de Educacao, Ciencia e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN).  
[https://www.researchgate.net/publication/307998991\\_ESTUDIO\\_SOBRE\\_LAS\\_POTENCIALIDADES\\_DE\\_ASERRIN\\_COMO\\_MATERIA\\_PRIMA\\_EN\\_LA\\_INDUSTRIA\\_FORESTAL\\_EN\\_GUAYAQUIL\\_ECUADOR](https://www.researchgate.net/publication/307998991_ESTUDIO_SOBRE_LAS_POTENCIALIDADES_DE_ASERRIN_COMO_MATERIA_PRIMA_EN_LA_INDUSTRIA_FORESTAL_EN_GUAYAQUIL_ECUADOR)

Gou, L., Li, S., Yin, J., Li, T., & Liu, X. (2021). Morphological and physico-mechanical properties of mycelium biocomposites with natural reinforcement particles. *Construction and Building Materials*, 304, 124656. doi:10.1016/j.conbuildmat.2021.124656

Haneef, M., Ceseracciu, L., Canale, C., Bayer, I. S., Heredia-Guerrero, J. A., & Athanassiou, A. (2017). Advanced materials from fungal mycelium: fabrication and tuning of physical properties. *Scientific reports*, 7(1), 41292.

Hasanzadeh, R., Azdast, T., Doniavi, A., & Rostami, M. (2019). A prediction model using response surface methodology based on cell size and foam density to predict thermal conductivity of polystyrene foams. *Heat and Mass Transfer*, 55, 2845-2855.

Holt, G. A., McIntyre, G., Flagg, D., Bayer, E., Wanjura, J. D., & Pelletier, M. G. (2012). Fungal mycelium and cotton plant materials in the manufacture of biodegradable molded packaging

material: Evaluation study of select blends of cotton byproducts. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 6(4), 431-439.

Houette, T., Maurer, C., Niewiarowski, R., & Gruber, P. (2022). Growth and Mechanical Characterization of Mycelium-Based Composites towards Future Bioremediation and Food Production in the Material Manufacturing Cycle. *Biomimetics*, 7(3), 103–103.

<https://doi.org/10.3390/biomimetics7030103>

Islam, M. R., Tudryn, G., Bucinell, R., Schadler, L., & Picu, R. C. (2017). Morphology and mechanics of fungal mycelium. *Scientific reports*, 7(1), 13070.

Javadian, A., Le Ferrand, H., Hebel, D. E., & Saeidi, N. (2020). Application of mycelium-bound composite materials in construction industry: A short review. *SOJ Materials Science & Engineering*, 7(2), 1-9.

Jiang, L., Walczyk, D., McIntyre, G., & Bucinell, R. (2016, June). A new approach to manufacturing biocomposite sandwich structures: Mycelium-based cores. In *International Manufacturing Science and Engineering Conference* (Vol. 49897, p. V001T02A025). American Society of Mechanical Engineers.

Jiang, L., Walczyk, D., McIntyre, G., Bucinell, R., & Tudryn, G. (2017). Manufacturing of biocomposite sandwich structures using mycelium-bound cores and preforms. *Journal of Manufacturing Processes*, 28, 50-59.

Jiang, L., Walczyk, D., Mooney, L., & Putney, S. (2013, May). Manufacturing of mycelium-based biocomposites. In *Proceedings of the international SAMPE technical conference* (pp. 1944-1955). Long Beach, CA, USA: Society for the Advancement of Material and Process Engineering.

Jones, M., Bhat, T., Huynh, T., Kandare, E., Yuen, R., Wang, C. H., & John, S. (2018). Waste-derived low-cost mycelium composite construction materials with improved fire safety. *Fire and Materials*, 42(7), 816-825.

Khoo, S. C., Peng, W. X., Yang, Y., Ge, S. B., Soon, C. F., Ma, N. L., & Sonne, C. (2020). Development of formaldehyde-free bio-board produced from mushroom mycelium and substrate waste. *Journal of Hazardous materials*, 400, 123296.

Lee, T., & Choi, J. (2021). Mycelium-composite panels for atmospheric particulate matter adsorption. *Results in Materials*, 11, 100208.

Liu, R., Li, X., Long, L., Sheng, Y., Xu, J., & Wang, Y. (2020). Improvement of mechanical properties of mycelium/cotton stalk composites by water immersion. *Composite Interfaces*, 27(10), 953-966.

López Nava, J. A., Méndez González, J., Ruelas Chacón, X., & Nájera Luna, J. A. (2016). Assessment of edible fungi and films bio-based material simulating expanded polystyrene. *Materials and Manufacturing Processes*, 31(8), 1085-1090.

Matos, M. P., Teixeira, J. L., Nascimento, B. L., Griza, S., Holanda, F. S. R., & Marino, R. H. (2019). Production of biocomposites from the reuse of coconut powder colonized by Shiitake mushroom. *Ciência e Agrotecnologia*, 43.

Mbabali, H., Lubwama, M., Yiga, V. A., Were, E., & Kasedde, H. (2024). Development of rice husk and sawdust mycelium-based bio-composites: optimization of mechanical, physical and thermal properties. *Journal of The Institution of Engineers (India): Series D*, 105(1), 97-117.

Moser, F., Trautz, M., Beger, A. L., Löwer, M., Jacobs, G., Hillringhaus, F., ... & Reimer, J. (2017, September). Fungal mycelium as a building material. In *Proceedings of IASS Annual Symposia* (Vol. 2017, No. 1, pp. 1-7). International Association for Shell and Spatial Structures (IASS).

Nashiruddin, N. I., Chua, K. S., Mansor, A. F., A. Rahman, R., Lai, J. C., Wan Azelee, N. I., & El Enshasy, H. (2022). Effect of growth factors on the production of mycelium-based biofoam. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 24(1), 351-361.

Pelletier, M. G., Holt, G. A., Wanjura, J. D., Greetham, L., McIntyre, G., Bayer, E., & Kaplan-Bie, J. (2019). Acoustic evaluation of mycological biopolymer, an all-natural closed cell foam alternative. *Industrial crops and products*, 139, 111533.

Pelletier, M. G., Holt, G. A., Wanjura, J. D., Lara, A. J., Tapia-Carillo, A., McIntyre, G., & Bayer, E. (2017). An evaluation study of pressure-compressed acoustic absorbers grown on agricultural by-products. *Industrial crops and products*, 95, 342-347.

Saez, D., Grizmann, D., Trautz, M., & Werner, A. (2020, June). Analyzing a fungal mycelium and chipped wood composite for use in construction. In *Proceedings of IASS Annual Symposia* (Vol. 2020, No. 5, pp. 1-11). International Association for Shell and Spatial Structures (IASS).

Shakir, M. A., Azahari, B., Yusup, Y., Yhaya, M. F., Salehabadi, A., & Ahmad, M. I. (2020). Preparation and characterization of mycelium as a bio-matrix in fabrication of bio-composite. *Journal of Advanced Research in Fluid Mechanics and Thermal Sciences*, 65(2), 253-263.

Shao, G. B., Yang, P., & Jiang, W. X. (2016, June). Research and preparation of mycelium-soybean straw composite materials. In *2nd Annual International Conference on Advanced Material Engineering (AME 2016)* (pp. 9-15). Atlantis Press

Silverman, J., Cao, H., & Cobb, K. (2020). Development of mushroom mycelium composites for footwear products. *Clothing and Textiles Research Journal*, 38(2), 119-133.

Skleničková, K., Abbrent, S., Halecký, M., Kočí, V., & Beneš, H. (2022). Biodegradability and ecotoxicity of polyurethane foams: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(2), 157-202.

Sun, W., Tajvidi, M., Howell, C., & Hunt, C. G. (2022). Insight into mycelium-lignocellulosic bio-composites: Essential factors and properties. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 161, 107125.

Travaglini, S., Dharan, C. K. H., & Ross, P. (2016). Manufacturing of mycology composites. In *Proceedings of the American Society for Composites: Thirty-First Technical Conference*.

Vašatko, H., Gosch, L., Jauk, J., & Stavric, M. (2022). Basic Research of Material Properties of Mycelium-Based Composites. *Biomimetics*, 7(2), 51–51.

<https://doi.org/10.3390/biomimetics7020051>

Velez, M. Bustamante, A., Reich, M., & Giraldo-Estrada, C. (2023). *A technological vigilance and analysis of mycomaterials in the circular economy: Biofabricated...* ResearchGate; unknown.

[https://www.researchgate.net/publication/370591217\\_A\\_technological\\_vigilance\\_and\\_analysis\\_of\\_mycomaterials\\_in\\_the\\_circular\\_economy\\_Biofabricated\\_self-organising\\_fungal\\_materials\\_from\\_a\\_multilength\\_hierarchical\\_perspective](https://www.researchgate.net/publication/370591217_A_technological_vigilance_and_analysis_of_mycomaterials_in_the_circular_economy_Biofabricated_self-organising_fungal_materials_from_a_multilength_hierarchical_perspective)

Xing, Y., Brewer, M., El-Gharabawy, H., Griffith, G., & Jones, P. (2018, February). Growing and testing mycelium bricks as building insulation materials. In *IOP conference series: earth and environmental science* (Vol. 121, p. 022032). IOP Publishing

Yang, Z., Zhang, F., Still, B., White, M., & Amstislavski, P. (2017). Physical and mechanical properties of fungal mycelium-based biofoam. *Journal of Materials in Civil Engineering*, 29(7), 04017030.

Yeşilbaş, M., & Boily, J. F. (2016). Particle size controls on water adsorption and condensation regimes at mineral surfaces. *Scientific Reports*, 6(1), 32136.

Ziegler, A. R., Bajwa, S. G., Holt, G. A., McIntyre, G., & Bajwa, D. S. (2016). Evaluation of physico-mechanical properties of mycelium reinforced green biocomposites made from cellulosic fibers. *Applied engineering in agriculture*, 32(6), 931-938.

## Apéndice A