



Estudo de materiais avançados de micélio para utilização na indústria automóvel

Mestrado em Engenharia Automóvel

Rafael Maria Escaleira Alves

Leiria, setembro de 2019



Estudo de materiais avançados de micélio para utilização na indústria automóvel

Mestrado em Engenharia Automóvel

Rafael Maria Escalera Alves

Trabalho de Projeto realizado sob a orientação da Professora Doutora Maria Leopoldina Mendes Ribeiro de Sousa Alves e da Professora Doutora Maria Jorge Geraldês Campos

Leiria, setembro de 2019

Originalidade e Direitos de Autor

O presente relatório de projeto é original, elaborado unicamente para este fim, tendo sido devidamente citados todos os autores cujos estudos e publicações contribuíram para o elaborar.

Reproduções parciais deste documento serão autorizadas na condição de que seja mencionado o Autor e feita referência ao ciclo de estudos no âmbito do qual o mesmo foi realizado, a saber, Curso de Mestrado em Engenharia Automóvel, no ano letivo 2018/2019, da Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico de Leiria, Portugal, e, bem assim, à data das provas públicas que visaram a avaliação destes trabalhos.

Resumo

A necessidade de novos materiais ecológicos e sustentáveis tem vindo a fomentar o desenvolvimento de novos materiais biodegradáveis produzidos através de recursos naturais e renováveis. Os plásticos biodegradáveis disponíveis comercialmente, embora minimizem o impacto ambiental e demonstrem propriedades favoráveis para a utilização em certos componentes, estes materiais apresentam processos de fabrico complexos e de custo elevado.

Os materiais avançados de micélio podem ser uma solução nesta estratégia. Este biomaterial consiste na utilização da parte vegetativa de fungos como meio de agregar e conferir diferentes propriedades físicas a um substrato orgânico de reduzido valor económico. As propriedades dos materiais avançados de micélio podem variar com espécie de fungo, substrato, condições ambientais de crescimento e processos mecânicos auxiliares. Contudo apresentam semelhanças a diversos plásticos.

O objetivo deste trabalho consiste, em primeiro lugar, no aprofundamento de conhecimentos teóricos sobre a produção e propriedades dos materiais avançados de micélio já desenvolvidos e, em segundo lugar, o desenvolvimento de materiais com recurso a quatro espécies de fungos (*Pleurotus ostreatus*, *Hypsizygus ulmarius*, *Ganoderma lucidum*, *Trametes versicolor*) e três substratos (serradura de pinho, serradura de madeiras comerciais mista, borras de café). São posteriormente ensaiadas as amostras de material desenvolvido, caracterizando o mesmo morfológicamente, bem como as suas propriedades termodinâmicas e mecânicas.

Foi assim possível caracterizar os materiais avançados de micélio desenvolvidos como tendo boa estabilidade térmica segundo os ensaios termogravimétricos e baixa condutividade térmica segundo os ensaios de calorimetria diferencial exploratória. Estes revelaram ao microscópio ótico uma estrutura ramificada e microporosa, com hifas de diâmetro de 0,2 μm . Os materiais avançados de micélio apresentam propriedades mecânicas idênticas a alguns dos plásticos de menor densidade, sendo assim demonstrado que estes podem contribuir para uma solução mais ecológica, biodegradável e sustentável.

Palavras-chave: sustentabilidade, micélio, biomateriais, biodegradável, veículo

Abstract

The need for new green and sustainable materials has been fostering the development of new biodegradable materials that use natural and renewable resources. Commercially available biodegradable plastics, while minimizing environmental impact and demonstrating favorable properties for use in certain components, these materials used complex and costly processes.

Advanced mycelium materials may be a solution in this strategy. This biomaterial consists of the use of part of plant fungi as a means of aggregating and selecting different chemical uses for an organic substrate with reduced economic value. The properties of advanced mycelium materials may vary with fungal species, substrate, growing environmental conditions and auxiliary mechanical processes. However, they are similar to many plastics.

The aim of this work is, firstly, to deepen the theoretical knowledge about the production and properties of already developed advanced materials of mycelium. Secondly, the development of materials using four species of fungi (*Pleurotus ostreatus*, *Hypsizygus ulmarius*, *Ganoderma lucidum*, *Trametes versicolor*) and three substrates (pine sawdust, mix of commercial sawdust, coffee grounds). They are later tested as samples of developed material, featuring the morphologically, thermodynamically and mechanically properties.

It was thus possible to characterize advanced advanced mycelium materials as having good thermal stability according to thermometric tests and low thermal conductivity according to experimental exploratory differential calorimetry. These are presented under the optical microscope a branched and microporous structure with hyphae of 0.2 μm diameter. Advanced mycelium materials have similar mechanical properties with some of the lower density plastics, thus demonstrating that they can contribute to a more environmentally friendly, biodegradable and sustainable solution.

Keywords: sustainability, mycelium, biomaterials, biodegradable, vehicle

Índice

Originalidade e Direitos de Autor	iii
Resumo	iv
Abstract	v
Lista de Figuras	viii
Lista de tabelas	x
Lista de siglas e acrónimos	xi
1. Introdução	1
1.1. Objetivos	2
1.2. Estrutura do documento	2
2. Fundamentação Teórica	4
2.1. Plásticos Sintéticos	4
2.2. Plásticos Biodegradáveis	8
2.3. Materiais Avançados de Micélio	11
2.3.1. Caracterização Biológica dos Fungos	13
2.3.2. Ciclo de Vida dos Fungos	14
2.3.3. Caracterização Morfológica	14
2.3.4. Propriedades de materiais avançados de micélio	16
2.3.5. Produção de Materiais avançados de Micélio	18
3. Trabalho Experimental	22
3.1. Materiais	22
3.1.1. Fungos	22
<i>Ganoderma lucidum</i>	24
<i>Trametes versicolor</i>	25
3.1.2. Substratos	25
3.2. Metodologia de Trabalho	26
3.3. Fabrico de Materiais Avançados de Micélio	27
3.3.1. Preparação dos Substratos e Meio de Cultura	28
3.3.2. Inoculação dos substratos e meio de cultura	28
3.4. Ensaio Termodinâmicos	29
3.4.1. Ensaio Termogravimétrico	29
3.4.2. Ensaio Calorimétrico Exploratório Diferencial.....	31

3.4.3.	Determinação do ângulo de contacto com água	33
3.5.	Ensaio Mecânicos	34
3.5.1.	Ensaio de Densidade.....	35
3.5.2.	Ensaio de Análise Mecânica Dinâmica	35
4.	Resultados e Discussão	38
4.1.	Caracterização Morfológica	38
4.2.	Caracterização Térmica.....	42
4.2.1.	Ensaio Termogravimétrico	42
4.2.2.	Ensaio Calorimétrico Exploratório Diferencial.....	43
4.2.3.	Ensaio de determinação do Ângulo de Contacto com Água	45
4.3.	Caracterização Mecânica.....	46
4.3.1.	Ensaio de Densidade.....	46
4.3.2.	Ensaio de Análise Mecânica Dinâmica	47
5.	Conclusões	48
5.1.	Trabalhos Futuros	50
	Referências Bibliográficas	52

Lista de Figuras

Figura 2.1 - Procura de plásticos na Europa por segmento em 2013 [4].....	6
Figura 2.2 – Tratamento para resíduos plásticos pós-consumo na UE27 mais Noruega e Suíça [4]	7
Figura 2.3 – Representação esquemática da fisiologia do micélio em diferentes escalas [23]	12
Figura 2.4 – Análise SEM de espécie <i>G. lucidum</i> e <i>P. ostreatus</i> que cresceram em Cellulose e PDB-cellulose [23].....	15
Figura 2.5 – Análise de SEM da espécie <i>S. commune</i> geneticamente alterada e não alterada [27].....	15
Figura 2.6 – Myceliumchair desenvolvida com equipamento de deposição 3D por Eric Klarenbeek [38]	20
Figura 2.7 – Representação de operação industrial de produção de blocos e placas de material de micélio da empresa Ecovative [37].....	21
Figura 3.1 – <i>P. ostreatus</i> frutificação na natureza [© Pam Kaminski]	23
Figura 3.2 – <i>P. ostreatus</i> em PDA com 4 dias crescimento.....	23
Figura 3.3 – <i>H. ulmarius</i> frutificação na natureza [© William Roody]	24
Figura 3.4 – <i>H. ulmarius</i> em PDA com 4 dias crescimento	24
Figura 3.5 – <i>G. lucidum</i> frutificação na natureza [©Larry Grand]	24
Figura 3.6 – <i>G. lucidum</i> em PDA com 4 dias crescimento	24
Figura 3.7 – <i>T. versicolor</i> frutificação na natureza [© Gary Emberger]	25
Figura 3.8 – <i>T. versicolor</i> em PDA com 4 dias crescimento.....	25
Figura 3.9 – Metodologia de trabalho experimental	26
Figura 3.10 – Curva Termogravimétrica: A (1), (2) e (3) - zonas de massa constante; B - zona de inflexão (onde <i>dwdt</i> é mínimo). [40].....	30
Figura 3.11 – Curva Diferencial Termogravimétrica: A (1), (2) e (3) - onde <i>dwdt</i> = 0; B corresponde ao ponto de inflexão onde <i>dwdt</i> é mínimo.[40]	30
Figura 3.12 – Esquema de fornalha com cápsulas cilíndricas [41]	32
Figura 3.13 – Representação de ângulos de contacto de líquido numa superfície sólida e homogénea [42] ...	33
Figura 3.14 – Tensiómetro ótico Theta Lite da empresa Attension utilizado na medição dos ângulos de contacto.....	34
Figura 3.15 – Balança de precisão Mettler Toledo AG204 com kit para medição de densidade	35
Figura 3.16 – Relação entre E' , E'' e $\tan \delta$ [43]	36
Figura 3.17 – Aparatus experimental do dispositivo para ensaio de tração no equipamento Triton-DMA	37

Figura 4.1 – Ilustração do crescimento após 22 dias dos quatro fungos inoculados em três substratos diferentes	38
Figura 4.2 – Substrato de serradura de pinho com espécie <i>H. ulmarios</i>	39
Figura 4.3 – Estrutura microporosa de <i>H. ulmarios</i> crescida no substrato de serradura de pinho	39
Figura 4.4 – Estrutura microporosa da espécie <i>T. versicolor</i> nos 3 diferentes substratos (barra - 2 μ m)	40
Figura 4.5 – Estrutura microporosa das diferentes espécies de fungos no substrato de serradura de pinho (barra - 2 μ m)	40
Figura 4.6 – Análise de diâmetros das hifas da espécie <i>T. versicolor</i> nos três diferentes substratos.....	41
Figura 4.7 – Análise de diâmetros das hifas de diferentes espécies de fungos no substrato de serradura de pinho.....	41
Figura 4.8 – Análise termogravimétrica do substrato de serradura de pinho, da espécie <i>T. versicolor</i> e do material biocompósito	42
Figura 4.9 - Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial do substrato de serradura de pinho, das espécies <i>H. ulmarius</i> e <i>T. versicolor</i> e dos respectivos materiais biocompósitos	43
Figura 4.10 – Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial do substrato de serradura mista, das espécies <i>H. ulmarius</i> e <i>T. versicolor</i> e dos respectivos materiais biocompósitos	44
Figura 4.11 – Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial do substrato de café, das espécies <i>H. ulmarius</i> e <i>T. versicolor</i> e dos respectivos materiais biocompósitos	44
Figura 4.12 – a) Gráfico dos ângulos de contacto com água das espécies <i>T. versicolor</i> (620), <i>H. ulmarius</i> (420) e <i>P. ostreatus</i> (382); b) Gota de água sobre a espécie 620; c) Gota de água sobre a espécie 420; d) Gota de água sobre a espécie 382.....	46
Figura 4.13 – Análise mecânica dinâmica da espécie <i>P. ostreatus</i>	47
Figura 5.1 – Esqueleto do carro conceptual Maasaica, produzido de micélio e impresso em 3D (esq), Carro conceptual Maasaica (drt) [44]	50

Lista de tabelas

Tabela 2.1 – Plásticos biodegradáveis versus plásticos tradicionais, comparação de custos [17].....	10
Tabela 2.2 – Resumo bibliográfico de Propriedades Mecânicas de Materiais Avançados de Micélio	17
Tabela 3.1 – Caracterização Biológica da espécie <i>Pleurotus ostreatus</i>	23
Tabela 3.2 – Caracterização Biológica da espécie <i>Hypsizyguis ulmarius</i>	24
Tabela 3.3 – Caracterização Biológica da espécie <i>Ganoderma lucidum</i>	24
Tabela 3.4 – Caracterização Biológica da espécie <i>Trametes versicolor</i>	25
Tabela 4.1 – Densidades das espécies 382 <i>P. ostreatus</i> , 420 <i>H. ulmarius</i> e 620 <i>T. versicolor</i>	47

Lista de siglas e símbolos

PCB	Bifenil policlorado
PLA	Ácido polilácteo
PVC	Policloreto de vinil
SEM	Microscópio de varredura eletrônico
PDB	Potato dextrose broth
PDA	Potato destrose agar
CNC	Computer numerical control
CO ₂	Dioxido de Carbono
E'	Módulo de armazenamento
E''	Módulo de dissipação
Tan δ	Fator de amortecimento
DMA	Análise mecânica dinâmica
TGA	Análise termogravimétrica
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
w	Massa
T	Temperatura
t	Tempo
β	Taxa de aquecimento
C _p	Fator de proporcionalidade
Φ	Taxa de fluxo de calor
ρ	Densidade

1. Introdução

O aumento da população mundial e a crescente mentalidade consumista origina uma maior produção de produtos descartáveis ou com um reduzido tempo de vida útil. Devido ao seu custo reduzido os materiais escolhidos para a produção destes produtos são com maior frequência os plásticos sintéticos, não tirando partido muitas vezes das suas restantes propriedades. Estes polímeros têm origem no petróleo, um recurso finito. Muitos dos produtos plásticos em fim de vida acabam indevidamente depositados no meio ambiente, onde a sua resiliência à degradação leva a uma cada vez maior acumulação na natureza com efeitos nocivos para todos os seres vivos.

Os materiais avançados de micélio são uma solução sustentável que surge como alternativa ao fabrico de muitos dos produtos atualmente produzidos com recurso a diversos materiais plásticos. O micélio constitui a parte vegetativa dos fungos que cresce em meios orgânicos criando uma estrutura compacta composta por fibras microporosa que lhe confere determinadas propriedades físicas. O micélio desenvolve-se em compostos orgânicos com valor reduzido de mercado, o que o torna um material proveniente de recursos renováveis, totalmente biodegradável, e associado à baixa necessidade energética para a sua produção, um material com um custo final reduzido. As propriedades físicas dos materiais avançados de micélio variam consoante a espécie de fungo, o substrato e as condições ambientais onde estes se desenvolvem. Esta variabilidade de propriedades permite o seu uso em materiais avançados de micélio numa vasta gama de aplicações.

A utilização de micélio como matéria-prima é uma abordagem recente permitindo explorar as capacidades e potencialidades dos fungos. As informações sobre a matéria-prima, espécies, métodos e parâmetros de produção, bem como das propriedades físicas finais dos materiais avançados de micélio são reduzidas e de conteúdo vago. Este projeto tem como intuito o aprofundamento de conhecimentos do processo de produção e identificação de propriedades físicas deste material, recorrendo a amostras compostas por combinações de quatro espécies de fungos da mesma família e três substratos orgânicos disponíveis como desperdício de indústrias locais. Desta forma pretende-se portanto demonstrar a viabilidade de utilização deste material como solução em aplicações em que são atualmente utilizados plásticos sintéticos.

1.1.Objetivos

Os principais objetivos preconizados para o presente trabalho consistiram no seguinte:

- Realização de uma pesquisa bibliográfica que identifique o problema dos diferentes plásticos atualmente utilizados, identifique produtos de material avançado de micélio existentes, descreva as suas propriedades e fundamente a escolha dos fungos, substratos e condições ambientais para as etapas subsequentes.
- Produção de amostras de material avançado de micélio, com respetiva identificação dos parâmetros que mais influenciam o crescimento dos fungos.
- Realização de ensaios termodinâmicos e mecânicos que permitam caracterizar as propriedades e comportamento dos materiais desenvolvidos na etapa anterior.
- Compilação dos dados da segunda e terceira etapa, analisando os materiais desenvolvidos e identificando correlações entre propriedades bem como com os parâmetros de crescimento.

No final do projeto é espectável existir um maior conhecimento sobre a produção e propriedades dos materiais avançados de micélio desenvolvidos. É ainda efetuada uma avaliação dos resultados, comparando-os com alguns valores descritos na bibliografia, e ainda identificadas as suas aplicações mais pertinentes.

1.2.Estrutura do documento

O presente trabalho está estruturado em cinco capítulos, que contribuem para um projeto organizado, coeso e em conformidade com os objetivos delineados.

O segundo capítulo consiste na compilação de diversas informações oportunas para o desenvolver do projeto, fundamentando com bases teóricas a caracterização dos plásticos sintéticos na atualidade, caracterização dos plásticos biodegradáveis mais relevantes, bem como um maior aprofundamento sobre os mais recentes desenvolvimentos na utilização de micélio de fungos como material.

O terceiro capítulo engloba todo o trabalho experimental realizado no decorrer deste projeto. São especificados os materiais/matérias-primas necessários e é descrita metodologia a seguir. Em seguida é referido o processo de fabrico das amostras de materiais avançados de micélio enunciando todas as etapas, parâmetros e equipamentos

utilizados. São por fim descritos também todos os ensaios realizados, evidenciando os equipamentos, parâmetros e dimensões de provetes utilizados.

No quarto capítulo são traçados todos os resultados obtidos dos ensaios realizados, abrindo, conseqüentemente, uma discussão sobre os mesmos. É possível neste capítulo ter melhor compreensão das propriedades morfológicas, térmicas e mecânicas dos materiais avançados de micélio desenvolvidos no decorrer deste projeto.

O último, ou quinto capítulo, é composto pelas conclusões obtidas no desenvolver do projeto, e procura responder às perguntas e objetivos delineados no início do trabalho. É ainda encontrado um subcapítulo que define orientações e dá sugestões para trabalhos futuros no desenvolvimento de materiais avançados de micélio.

2. Fundamentação Teórica

O presente capítulo aborda os conhecimentos considerados necessários para posterior realização do estudo de materiais avançados de micélio como alternativa viável a materiais de plástico sintético.

É apresentada uma breve definição e caracterização dos plásticos sintéticos. São evidenciadas as propriedades mecânicas e tecnológicas gerais dos mesmos, bem como as vantagens e desvantagens do uso de produtos fabricados com plásticos sintéticos. É ainda explorado a crescente problemática que estes materiais apresentam para a sustentabilidade do meio ambiente.

Sendo a utilização de plásticos biodegradáveis já uma realidade. Será apresentado, á semelhança dos plásticos sintéticos, uma breve definição e caracterização, evidenciados as propriedades mecânicas e tecnológicas gerais e ainda as vantagens e desvantagens do uso de produtos fabricados com materiais de plástico biodegradável. São ainda identificadas as razões para que os plásticos biodegradáveis não sejam adotados como soluções nos produtos fabricados atualmente em plástico sintético.

Por fim será compilada informação sobre os materiais avançados de Micélio. É apresentada uma definição e explicação da viabilidade destes materiais substituírem alguns materiais de plástico sintético. Devido ao maior relevo dos materiais avançados de micélio para este trabalho serão aprofundados os temas de Caracterização Biológica e Ciclo de Vida dos fungos mais utilizados para a produção de materiais, bem como a caracterização morfológica e propriedades de alguns materiais avançados de micélio já existentes. É ainda resumido o método de produção/crescimento deste material.

2.1. Plásticos Sintéticos

Os plásticos sintéticos são longas cadeias de moléculas poliméricas feitas pelo homem [1]. Estas são compostas por monómeros, moléculas de átomos de carbono em combinação com outros elementos [2].

Existem dois processos de produzir polímeros sintéticos. O primeiro envolve a quebra da ligação dupla dos monómeros simples através da adição ou polimerização de radicais livres formando novas ligações carbono-carbono. O polietileno e polipropileno são exemplos de plásticos formados por esta reação. O segundo processo consiste na condensação da água existente entre o ácido carboxílico e o álcool ou a amina por forma a criar poliéster ou poliamida. [1]

De acordo com a norma ASTM D883, os plásticos são divididos em dois grupos de acordo com o seu comportamento químico e tecnológico, os termoplásticos e os termoendurecíveis [2]. Os Termoplásticos resultam do primeiro processo enunciado anteriormente. Estes podem ser repetidamente moldados, sem perda significativa das propriedades, através do seu aquecimento que permite uma nova forma e consequente arrefecimento para reter a forma. Nos termoplásticos os monómeros são agrupados em séries de longas cadeias de carbono, independentes entre si. Os termoendurecíveis são sintetizados através da segunda reação enunciada anteriormente. Os plásticos termoendurecíveis antes de moldados apresentam uma estrutura em cadeia similar aos termoplásticos. Durante o processo de cura existe a formação de ligações cruzadas entre moléculas adjacentes, criando uma complexa rede molecular tridimensional. As ligações cruzadas previnem o deslizamento de cadeias de monómeros individuais impedindo o seu escoamento com a adição de calor. O processo é assim irreversível, sendo que a adição de uma maior quantidade de calor irá resultar na sua degradação química [2, 3].

Devido a um vasto leque de propriedades, os plásticos sintéticos apresentam diversas vantagens quando comparados a outros materiais. Estes não são geralmente afetados por corrosão, apresentam uma baixa densidade, têm um bom rácio rigidez/peso, são produzidos em massa, são bons isolantes elétricos, apresentam-se em diversas cores e a sua rentabilidade é elevada devido à facilidade e rapidez com que estes podem adquirir diferentes formas. Cada plástico sintético apresenta ainda propriedades específicas podendo estes ser solução para diversas aplicações particulares [2]. Estes materiais são por isso utilizados amplamente nos dias de hoje. A produção mundial de plástico apresentava uma taxa de crescimento de 8% ao ano, registando no ano de 2013 cerca de 299 MT (milhões de toneladas) [4] e especulando, por extrapolação, 420 MT no ano de 2020 [5]. Na Europa, em 2013, houve uma procura de 46,3 MT deste material, sendo que produtos com uma vida útil curta, tais como por exemplo as embalagens, requerem 39,6% dessa quantidade e 40,1% são utilizados em produtos com uma vida útil média [4] [figura 2.1].

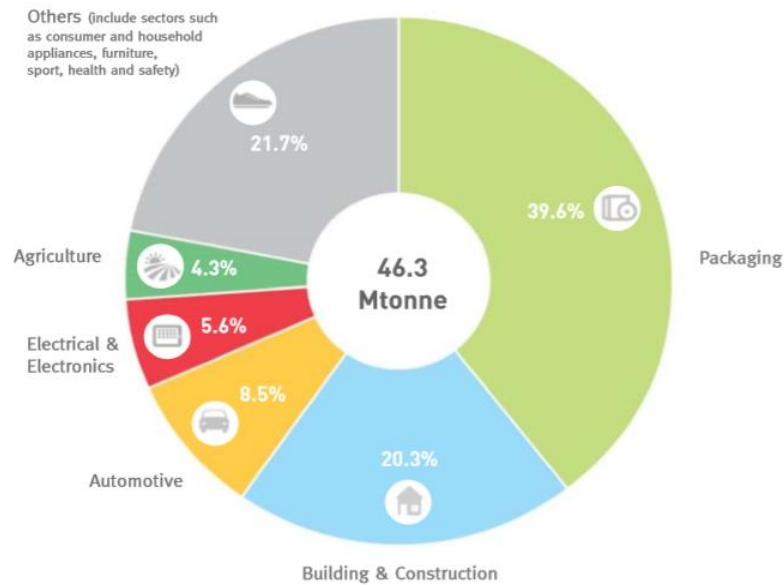


Figura 2.1 - Procura de plásticos na Europa por segmento em 2013 [4]

O rápido crescimento na procura de plásticos sintéticos e a sua resiliência à degradação provocam um aumento e acumulação destes resíduos. Como consequência, nos últimos anos tem-se vindo a aprofundar os estudos dos impactos ambientais e económicos das várias opções de gestão dos resíduos [5]. Grande parte desses resíduos é recolhida e tratada de três formas diferentes: depositados em aterros, queimados em incineradoras ou reciclados, tendo cada um vantagens e limitações inerentes [6]. Os plásticos depositados em aterros mostram resistir à sua degradação por mais de vinte anos [7] devido ao acesso limitado a oxigénio, ocupando assim espaço que de outra forma podia ser melhor rentabilizado. A inceneração de plástico, embora resolva o problema de espaço e ainda produza energia elétrica [8], é um método que produz inúmeros componentes prejudiciais ao ambiente tais como hidrocarbonetos, bifenilpoliclorados (PCB's), metais pesados, dióxido de carbono e outros gases contribuintes para o efeito de estufa, sendo a maioria libertados para a atmosfera. Os processos de reciclagem têm vindo a colmatar as desvantagens dos aterros e incineradoras, apresentando duas abordagens diferentes, química ou mecânica. Contudo é necessário um custo mais elevado na reciclagem química ou processos complexos na reciclagem mecânica [6] [Figura 2.2].

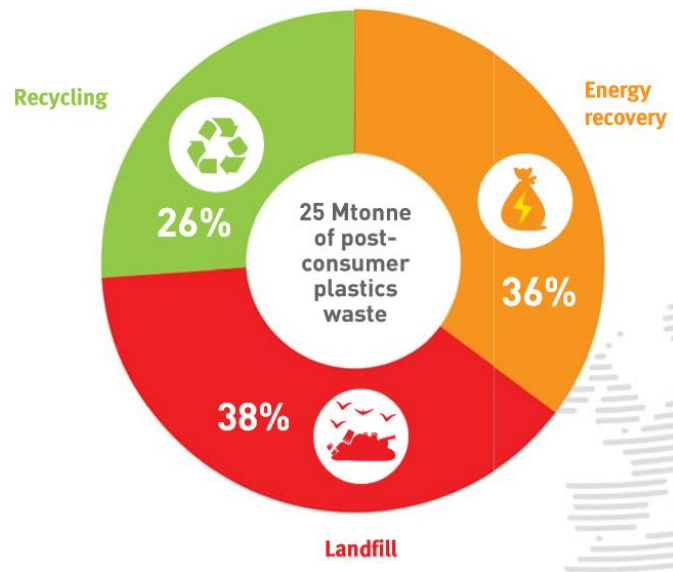


Figura 2.2 – Tratamento para resíduos plásticos pós-consumo na UE27 mais Noruega e Suíça [4]

Apesar de existirem diversas soluções de gestão de resíduos ainda nem todos são processados. Na Europa, em 2012, apenas foram processados 25 MT de resíduos de plástico. Sendo a procura destes plásticos em 2012 de apenas menos 1% que em 2013, ou seja, de 45,8 MT, daí resultam aproximadamente 20 MT de resíduos que não foram tratados [4]. Os resíduos não são processados normalmente por dois motivos: intencionalmente, através de descargas ilegais ou inapropriadas de resíduos industriais e domésticos, ou involuntariamente através do mau acondicionamento dos resíduos armazenados ou a quando o seu transporte [6]. Existe por isso uma grande quantidade de resíduos de plástico que mesmo existindo em terra acabam, através das redes hidrográficas, espalhados pelos mares e oceanos, sofrendo uma degradação natural lenta e com repercussões graves [6].

A degradação natural é normalmente caracterizada numa primeira fase por fotodegradação, que consiste na luz ultra violeta irradiada do sol providenciar a energia de ativação requerida para dar início á inclusão de átomos de oxigénio no polímero, tal efeito torna o plástico frágil, quebrando-o em cada vez mais reduzidos pedaços até as cadeias moleculares terem um peso molecular suficiente para serem metabolizadas por microrganismos e convertidos em dióxido de carbono ou incorporadas em biomoléculas [9]. Este processo, porém, demora mais de cinquenta anos [10], atingindo números mais

elevados aquando do contacto com água salgada, que retarda o processo de fotodegradação devido à temperatura inferior e baixos níveis de oxigénio [9].

A poluição por detritos de plásticos é já considerada o maior e mais devastador impacto humano na biologia marinha. As principais ameaças para a vida marinha são mecânicas, através da ingestão ou emaranhamento dos plásticos que podem criar feridas, asfixia ou imobilização dos animais [11]. Existe também o potencial de alterar o ecossistema do fundo do mar, pois mesmo que a maior parte dos plásticos flutuem há registos de inúmeras áreas de detritos plásticos no fundo dos mares e oceanos, tendo como exemplo o fundo da baía de Tokyo, que é constituído por 80 a 85 % de detritos plásticos [12]. Os PCB's, libertados pela decomposição avançada dos plásticos, está há mais de vinte anos a poluir as cadeias alimentares com origem na vida marinha, acabando por chegar à cadeia alimentar humana. Este composto orgânico de cloro pode levar a distúrbios reprodutivos, fragilização do sistema imunitário, alterações hormonais e mesmo à morte [13].

O uso de plásticos na indústria automóvel tem aumentado de forma constante nas últimas décadas. Representando, em 2003, quantidades entre 10-15% do peso total do veículo [14] e mais de 50% do volume total do veículo [15]. Os automóveis atuais exigem a utilização de materiais com o menor peso possível por forma a garantir uma maior eficiência de combustível e consequentemente preservar o meio ambiente. Os veículos têm ainda de garantir a segurança dos ocupantes, tendo os materiais de resistir a carregamentos e forças significativas, não lascando ou estilhaçando a quando da sua rotura. Os plásticos sintéticos têm a flexibilidade de se adaptarem aos diferentes requisitos exigidos pela indústria automóvel sendo utilizados em diferentes componentes como: painéis da carroçaria, estofos, cintos de segurança, tanques de combustível, painel de instrumentos, reservatórios, entre muitos outros. Os plásticos apresentam ainda uma grande vantagem perante outros materiais devido ao seu reduzido custo, capacidade como isolante de calor, isolante de som e resistência á corrosão [16].

2.2.Plásticos Biodegradáveis

A crescente preocupação ambiental está a mudar o paradigma de como a sociedade interpreta a utilização de plásticos sintéticos. Sendo que dos problemas enunciados anteriormente o que mais contribui para a poluição é a baixa degradação dos mesmos. Os

polímeros biodegradáveis são considerados uma solução ambiental na gestão de resíduos, uma vez que pertencem a uma família de materiais que sofre degradação através de organismos vivos. Podem ainda ser divididos em três categorias: bio-sintéticos, semi-bio-sintéticos ou químico-sintéticos. A maioria dos polímeros bio-sintéticos disponíveis de fontes renováveis sofrem degradação num período de tempo razoável. Os semi-bio-sintéticos e químico-sintéticos apenas são biodegradáveis se contiverem ligações químicas que ocorram em compostos naturais [17].

Os requisitos básicos para se considerar um material biodegradável são resumidos em quatro pontos: i) ser totalmente biodegradável num período de tempo compatível com a tecnologia de compostagem na qual será inserido, o que pode ser definido com recurso a diversos testes normalizados como os de respirometria (norma ASTM D5338-92 ou ISSO/CD 14855), ou testes de determinação da biodegradação aeróbica de materiais plásticos (norma ASTM D5209), entre outros; ii) o composto e chorume não apresentarem nenhum efeito tóxico em organismos terrestres ou aquáticos; iii) o material desintegrar-se durante a fase de fermentação; iv) e que seja efetuado um controlo de resultados laboratoriais de testes piloto para identificação da biodegradabilidade de um material à escala [17].

Os dois polímeros biodegradáveis com maior importância comercial na atualidade são o ácido polilácteo (PLA) e plástico de amidos, com respetivamente 47% e 41% da procura. Na Europa, devido à grande produção de amido na forma de batatas ou milho, os plásticos de amido representam 62% da procura de plásticos biodegradáveis [18].

Com o intuito de reduzir o impacto ambiental dos seus produtos, respeitar as diferentes diretivas governamentais e satisfazer os consumidores cada vez mais conscientes, a indústria automóvel tem vindo a adotar o uso de plásticos biodegradáveis [18]. Estes materiais cumprem os elevados critérios da indústria automóvel tais como resistência mecânica, baixa degradação por exposição solar, rigidez e isolamento térmico e sonoro [19]. As mais importantes empresas do setor automóvel recorrem, com sucesso, ao uso de poliamidas e poliésteres biodegradáveis em componentes como o painel de instrumentos, tampa do airbag, volante, bem como em painéis interiores e exteriores [18]. A Toyota utiliza até 60% de poliésteres biodegradáveis nos têxteis interiores de modelos como o Prius e o SAI [20].

Embora a procura por plásticos biodegradáveis esteja a aumentar rapidamente, com um crescimento mundial e Europeu anual de respetivamente 38% e 48% entre 2003 e 2007 [21], limitações de desempenho e custos elevados restringem a adoção destes materiais a um reduzido nicho. As investigações e estudos destes plásticos vão focar-se no design de materiais estruturalmente estáveis e funcionais durante o armazenamento e uso, sendo que continuem, após descartados, a ser facilmente degradáveis por microrganismos ou por deposição no meio ambiente [17].

Mesmo já sendo uma solução em diversas aplicações, o maior constrangimento para os plásticos biodegradáveis não serem uma opção válida continua a ser a diferença de preços quando comparados aos plásticos produzidos à base de petróleo. Não sendo um material sustentável, existem empresas como a Monsanto que cessou a investigação e produção nesta área [22], uma vez que, o bioplástico que desenvolviam (Biopol) ter um custo de 8000 UK libras por tonelada e os plásticos sintéticos comparáveis terem um preço de 500 libras por tonelada para o PVC e polipropileno e de 600 libras a tonelada para o polietileno de alta densidade e poliestireno de alto impacto [17].

Tabela 2.1 – Plásticos biodegradáveis versus plásticos tradicionais, comparação de custos [17]

Material	Average cost	
		\$/lb.
Biodegradable plastics	PLA (Cargill Dow Polymers)	1.50–3.00
	Starch-based resins (Novon/Novamont)	1.60–2.90
	PHA (BIOTEC/Monsanto)	4.00–6.30
Commodity petrochemical plastics	PP	0.33
	LDPE	0.41
	HDPE	0.37
	PS	0.39
	PVC	0.28
	Polyester	0.52
	PVOH	1.40
	Polycarbonate	1.60

Embora como observado na tabela 2.1 os plásticos biodegradáveis possam atingir preços até dez vezes superiores aos dos plásticos sintéticos, é esperado que nos próximos anos a procura em mercados Europeus possa subir devido às diretivas da Comunidade Europeia sobre materiais biodegradáveis [17].

2.3. Materiais Avançados de Micélio

Como referido anteriormente, a necessidade de novos materiais ecológicos e sustentáveis tem vindo a fomentar o desenvolvimento, investigação e introdução de materiais biodegradáveis provenientes de fontes naturais e renováveis. Os plásticos biodegradáveis disponíveis comercialmente, embora possam oferecer uma vasta gama de diferentes propriedades, necessitam normalmente de métodos difíceis e complexos para processamento das matérias-primas biológicas. Sendo que a sua extração, desenvolvimento e viabilidade são caracterizados por custos elevados, processos demorados e com um baixo rendimento de processamento. Por estas razões, e mesmo podendo resolver vários problemas ambientais, estes materiais biodegradáveis continuam a ser caros e com aplicações limitadas.

Uma solução para estes problemas passa pelo desenvolvimento de biomateriais compósitos com propriedades controláveis e ajustáveis durante o seu crescimento, sem a necessidade de recurso a processos sofisticados e dispendiosos. O uso de materiais à base de micélio surge em conformidade com esta estratégia [23].

O micélio é a parte vegetativa dos fungos. Este cresce e penetra em substratos orgânicos de onde retira nutrientes, formando assim um emaranhado de fibras ramificadas [24] [Figura 2.3]. Os filamentos dessas fibras são denominados por hifas que consistem em células alongadas com diâmetros entre 1-30 μm [25]. As paredes das células são compostas por quitina, beta-glucanos e proteínas [26]. As microfibras de quitina são responsáveis pela rigidez e resistência mecânica das hifas e por sua vez pelas suas propriedades elásticas. Já a orientação e ligações entre as hifas definem o comportamento do micélio a esforços mecânicos [25].

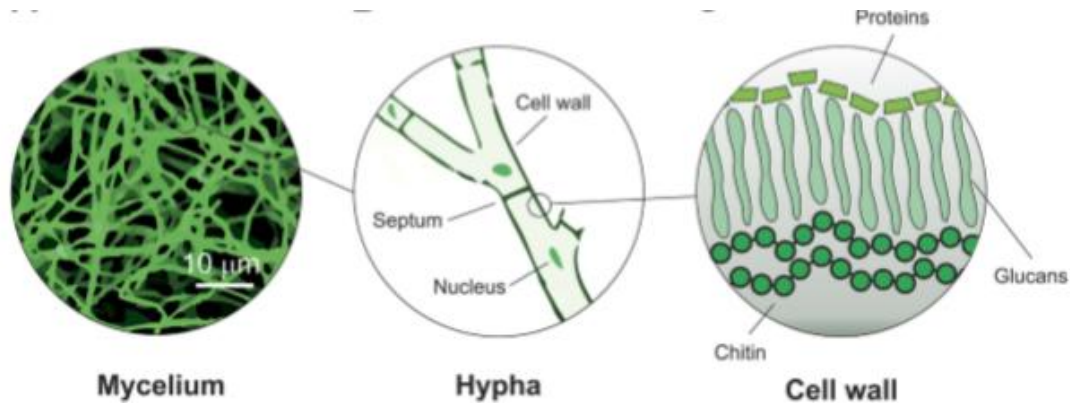


Figura 2.3 – Representação esquemática da fisiologia do micélio em diferentes escalas [23]

As propriedades mecânicas dos materiais avançados de micélio podem ainda variar de forma consistente devido à alteração de fatores como: a espécie do fungo; o substrato em que cresceu; as condições ambientais durante o seu crescimento e ainda as alterações genéticas do micélio [23, 27]. Estes materiais permitem obter propriedades semelhantes a materiais vegetais, como madeira, cortiça ou bambu, termoplásticos, como o polietileno, o polipropileno ou policloreto de vinil (PVC) e ainda de espumas de células abertas [25, 27].

A produção ou ‘cultivo’ dos materiais avançados de micélio é só por si inovadora e sustentável. Como matéria-prima base estes materiais requerem compostos orgânicos, muitas vezes resíduos orgânicos, recursos renováveis ou resíduos agrícolas, que se podem utilizar como substrato [27]. Todo o processo tem uma dependência pequena de energia, sendo que apenas é necessário fornecer um pequeno incremento de temperatura durante um curto período de tempo para que o micélio pare o seu crescimento e se torne inerte [23]. É ainda possível, segundo Eric Klarenbeek [“Living design for local production” em TEDxMaastricht, disponível: https://www.youtube.com/watch?v=MTj0b_99cfs. acesso: Oct 21, 2014], obter um processo com pegada de ‘carbono negativa’ através da retenção de CO₂ pelas plantas usadas como substrato e de um esforço contínuo para a minimização de emissões em todas as fases do processo, nomeadamente recorrendo a recursos e produção local.

Os materiais compósitos de micélio são totalmente constituídos por componentes biológicos e totalmente biodegradáveis, sendo possível descartar estes produtos no fim do seu ciclo de vida com poucos ou nenhuns custos económicos e ambientais [28].

2.3.1. Caracterização Biológica dos Fungos

Sendo os fungos organismos vivos, estes estão sujeitos a uma classificação segundo o sistema biológico. A classificação é efetuada com base no processo de taxonomia que agrupa os organismos com base nas suas semelhanças e diferenças. Os biólogos modernos caracterizam os organismos através da filogenética, ou por outras palavras, o estudo de semelhanças no ácido desoxirribonucleico (ADN). Os organismos vivos são assim classificados em três domínios; bactérias, archaeas e eucariotas. Os fungos pertencem ao domínio dos eucariotas, à semelhança dos humanos [28].

O reino dos fungos é extremamente diversificado e extenso pelo que pode ainda ser dividido em inúmeros sub-reinos, ou filos. O sub-reino Dikara, vulgarmente designada por fungos superiores, inclui as divisões dos Ascomycota e Basidiomycota que apresentam características de interesse para a produção de materiais de micélio. Estes criam estruturas orgânicas maiores e mais complexas que os outros grupos de fungos, formando um micélio mais robusto e promovendo uma colonização do substrato mais rápida [28]. Destes dois filos diferentes o filo Basidiomycota tem duas importantes características, apresentam septos e anastomose, que o tornam preferencial para a utilização em materiais de micélio.

Septos são paredes celulares transversais com um orifício. Estas paredes têm a capacidade de fechar aquando de uma rutura na hifa, escoando assim apenas o citoplasma compreendido entre os dois septos. Esta característica é uma vantagem pois reduz a perda de nutrientes e consequentemente reduz o dano infligido à colónia a quando de rotura numa hifa. A proteção proporcionada pelos septos apenas é aplicada na fase de crescimento. Contudo confere uma maior robustez ao micélio e uma colonização mais rápida em condições com carregamento.

A outra característica importante é a anastomose. A anastomose é a capacidade de duas hifas diferentes se unirem quando se encontram. Esta habilidade cria uma rede maior e mais complexa, que permite o transporte de nutrientes entre zonas de excesso e de carência de nutrientes. A melhor circulação de nutrientes resulta num crescimento mais rápido e homogéneo da colónia. A Anastomose confere ainda uma maior rigidez ao micélio uma vez que o maior número de interligações entre as hifas é capaz de dissipar carregamentos de uma forma muito mais eficiente [28].

2.3.2. Ciclo de Vida dos Fungos

O ciclo de vida dos fungos do filo Basidimycota começa quando um esporo do fungo entra em contacto com o solo e seus detritos, como madeira ou folhas mortas. O esporo principia o crescimento formando um emaranhado de fibras ramificadas denominadas por hifas [29]. As hifas formam densas redes através do substrato por forma a encontrar alimento e outras redes de hifas criando assim um micélio maior e mais robusto. Uma vez que o micélio tenha crescido suficientemente forte e atingindo condições específicas de cada organismo, este começa o processo de frutificação. Ao atingir uma superfície livre são criadas redes mais densas de células infláveis. As células são conhecidas por *primordia* e o processo da sua criação por '*pinning*'. Quando a *primordia* estiver totalmente desenvolvida e reunidas as condições de humidade e temperatura, as células crescem de forma rápida ao inflarem de água, frutificando em cogumelos. Os cogumelos ou corpos frutificados possuem novos esporos que são periodicamente libertados e dispersados por novas áreas. Os esporos retomam de novo o ciclo [28].

2.3.3. Caracterização Morfológica

Os materiais avançados de micélio desenvolvem uma estrutura microporosa formada por hifas. Por forma a entender o crescimento e desenvolvimento da estrutura do micélio nos substratos é necessário uma observação microscópica nas diferentes etapas do processo. É de salientar que as dimensões e organização das hifas varia de forma significativa com a alteração da espécie de fungo. Tendo como exemplo a figura 2.4, de uma análise de Microscópio de varredura eletrónico (SEM), é possível verificar que fungos pertencentes ao mesmo grupo apresentam hifas com diâmetros e organizações diferentes. A espécie *G. lucidum* demonstra hifas de menor diâmetro ($0,8\mu\text{m}$) e de duas estruturas diferente, uma composta por hifas mais curtas e emaranhadas e outra de hifas mais alongadas. A espécie *P. ostreatus* por sua vez apresenta apenas uma estrutura de hifas e de maiores dimensões, com diâmetro compreendidos entre $2,5$ e $4\mu\text{m}$ [23].

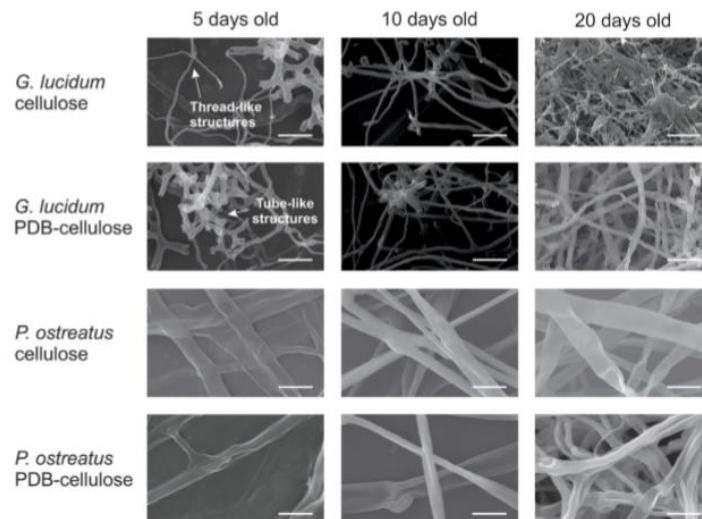


Figura 2.4 – Análise SEM de espécie G. lucidum e P. ostreatus que cresceram em Cellulose e PDB-cellulose [23]

A estrutura micelar tem também influência de alterações genéticas. É possível observar na figura 2.5 da análise SEM de comparação da espécie *S. commune* geneticamente alterada e da mesma espécie não alterada, que a alteração genética não desenvolve a camada de hifas aéreas que crescem em contacto com o ar [27].

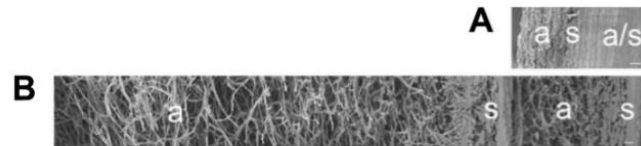


Figura 2.5 – Análise de SEM da espécie S. commune geneticamente alterada e não alterada, a) hifas aéreas, b) hifas em contacto com a superfície [27]

Os materiais avançados de micélio apresentam ainda variações morfológicas quando sujeitos a processos auxiliares como a aplicação de pressão e temperatura na última etapa do fabrico. Materiais avançados de micélio sujeitos a estes processos apresentam semelhanças à vista com painéis de fibra. Apresenta variações de tonalidades brancas e castanhas. As zonas acastanhadas são derivadas de reações que envolvem açúcares e proteínas presentes nas paredes das hifas. Pode ainda ser derivado da caramelização dos açúcares dos fungos ou da pirolise de material orgânico [30].

2.3.4. Propriedades de materiais avançados de micélio

O estudo das propriedades físicas de fungos é uma temática recente, sendo aprofundada devido à crescente procura de novos materiais biodegradáveis e mais sustentáveis. Embora existam já algumas empresas com diferentes produtos no mercado, não se encontram disponíveis dados referentes às propriedades físicas concretas dos produtos. Da bibliografia existente [22, 27, 30] é possível verificar que as propriedades térmicas são idênticas, contudo existe uma grande discrepância quando comparadas as propriedades mecânicas. A diferença de propriedades mecânicas dos materiais avançados de micélio em diferentes referências deve-se à utilização de diferentes espécies, substratos, condições ambientais de crescimento ou processos auxiliares.

Os materiais avançados de micélio apresentam uma grande estabilidade térmica a altas temperaturas, iniciando a degradação térmica num intervalo de temperaturas entre 225 e 300 °C. Estes evidenciam ainda um comportamento hidrofóbico, apresentando valores médios de ângulo de contacto com a água de 120°.

Devido à disparidade de propriedades mecânicas encontradas para os materiais avançados de micélio, estas foram agrupadas numa tabela que permitirá uma melhor interpretação dos fatores que as influenciam [Tabela 2.2].

Tabela 2.2 – Resumo bibliográfico de Propriedades Mecânicas de Materiais Avançados de Micélio [22, 27, 30]

Espécie	Substratos	Condições Ambientais / Processo Aux	E (MPa)	σ_{MAX} (MPa)	ϵ (%)	ρ (Kg/m ³)
<i>S. commune</i>	MM (Minimal Midium)	Escuro, baixo CO ₂	749	9,6	1,2	819
		Escuro, alto CO ₂	550	6,5	1,4	683
		c/ Luz, baixo CO ₂	438	5,1	1,3	515
		c/ Luz, alto CO ₂	913	9,5	1,3	1026
<i>S. commune</i> $\Delta sc3$		Escuro, baixo CO ₂	2523	33,9	1,7	2101
		Escuro, alto CO ₂	1237	15,6	1,9	984
		c/ Luz, baixo CO ₂	1914	22,3	1,8	1562
		c/ Luz, alto CO ₂	2727	40,4	2,6	1902
<i>G. lucidum</i>	Celulose		12	1,1	14	
	PDB-Celulose		4	0,8	33	
<i>P. ostreatus</i>	Celulose		28	0,7	4	
	PDB-Celulose		17	1,1	9	
	Algodão	Prensado a Frio	6	0,03	1,4	240
		Prensado a Quente	35	0,13	1,6	350
	Palha de Colza		2	0,01	2,8	130
		Prensado a Frio	9	0,03	0,8	240
Prensado a Quente		97	0,24	0,7	390	
<i>T. multicolor</i>	Serradura de Faia		13	0,05	1,5	170
	Palha de Colza		4	0,04	4,7	100
		Prensado a Quente	59	0,15	0,9	350

Alterar o substrato tem implicações semelhantes tanto na rigidez como na extensão dos materiais avançados de micélio, as diferenças residem na diferente composição química. As espécies que cresceram no substrato que continha *potato dextrose broth* (PDB) são mais ricas em lípidos e proteínas e têm falta de quitina. A maior presença de açúcares, facilmente absorvíveis pelo micélio, no substrato de PDB estimula a biossíntese de plastificantes, como proteínas e lípidos, e reduz a produção de polímeros rígidos, como a quitina, o que origina um comportamento mais dúctil dos filamentos do micélio, hifas. Demonstrando um incremento superior a 15% na extensão à rotura para ambas as espécies *G. lucidum* e *P. ostreatus* [23].

Alterações nas condições ambientais de crescimento como quantidade de luz e de dióxido de carbono, não demonstraram nenhum tipo de correlação óbvia com as propriedades mecânicas dos materiais de micélio. A espécie *S. commune* alterada geneticamente e não alterada geneticamente obtiveram valores superiores e similares de densidade, rigidez e tensão máxima quando se desenvolveram no escuro com baixo teor de dióxido de carbono e na luz com alto teor de dióxido de carbono. Valores inferiores foram registados a quando o fungo se desenvolveu no escuro com alto teor de dióxido de carbono e na luz com baixo teor de dióxido de carbono [27].

Alterações genéticas, como eliminação do gene hidrofobina na espécie *S. commune*, originam alterações na densidade dos materiais avançados de micélio. A espécie *S. commune* alterada geneticamente demonstra, para todas as condições ambientais de crescimento, valores de densidade entre 1,4 a 3 vezes superiores á espécie *S. commun* não alterada. Sendo justificada com a eliminação da camada de hifas aérea na espécie alterada geneticamente e ainda pelas hifas desta apresentarem-se revestidas por uma substância viscosa. A maior densidade da espécie *S. commune* origina um material mais rígido e com uma tensão máxima mais elevada [27].

Processos adicionais como adicionar pressão a frio ou a quente ao material tem implicações nas propriedades mecânicas dos materiais avançados de micélio. Materiais prensados a frio da espécie *P. ostreatus* têm densidades duas vezes superiores enquanto os materiais prensados a quente da espécie *P. ostreatus* e *T. multicolor* têm densidades três vezes superiores aos materiais equivalentes não prensados. Os materiais prensados a quente registam ainda valores substancialmente mais elevados para a tensão máxima e elasticidade a quando comparados com materiais da mesma espécie que não foram prensados ou prensados a frio. Contudo a adição de pressão tanto a quente como a frio diminui a extensão até à fratura dos materiais avançados de micélio [30].

2.3.5. Produção de Materiais avançados de Micélio

Os produtos à base de micélio requerem um processo de produção que difere bastante dos processos industriais tradicionais de produção de materiais. Na verdade assemelha-se à visão do futuro de Maurice Conti [31] de que vamos deixar de produzir e passar a cultivar.

O processo pode ser dividido em etapas de cultivo, as quais se baseiam no cultivo industrial de cogumelos já existente, e em etapas específicas para a produção de materiais de micélio [28].

A primeira etapa consiste na escolha do substrato. Os substratos devem ser formados por material orgânico, de modo a que o micélio possa, através da secreção de enzimas, degradar os polímeros presentes no substrato e convertê-los em moléculas que podem ser absorvidas como nutrientes [27]. A composição mais adequada do substrato irá depender do fungo em causa, bem como da aplicação em vista para o material. Na situação de produção em massa, um substrato nutritivo com um custo reduzido como a palha é mais adequado, contudo, na situação de investigação em laboratório um substrato mais limpo e controlável, como um meio contendo açúcares, seria preferível [28].

A segunda etapa é a esterilização do substrato de forma a prevenir que outros organismos, como bactérias, insetos ou outros fungos, dificultem o crescimento do fungo pretendido. Existem quatro métodos possíveis para esta importante preparação do substrato [28]: i) Esterilização, que consiste em aquecer o substrato a uma temperatura de 123 °C e pressão de 100 kPa durante um período de 20 min. Este é o tratamento mais drástico, que mata todos os organismos garantindo assim um substrato totalmente inerte. Contudo este processo requer um grande consumo de energia, bem como equipamento especializado como autoclaves. Existem ainda certos micro-organismos que são benéficos para o crescimento dos fungos de filo basidiomycota [32], sendo que este método de limpeza apenas é efetuado quando o fungo ou aplicação exigir um substrato totalmente inerte [33]. ii) Pasteurização, que consiste em aquecer o substrato a temperaturas entre 60-80 °C durante um período de 60 minutos. A maioria dos organismos prejudiciais ao crescimento do fungo é destruído a estas temperaturas, enquanto os organismos benéficos sobrevivem. Este método é mais facilmente executável e com menos gastos energéticos que a esterilização [34]. iii) Tratamento químico, que consiste na imersão do substrato numa solução com 0.3% de peróxido de hidrogénio afastando assim organismos prejudiciais. As vantagens deste método são ser mais simples, não requerer energia e ainda manter o substrato protegido do reaparecimento de novos organismos prejudiciais. As desvantagens são que o peróxido de hidrogénio, mesmo não sendo tóxico para os humanos, é prejudicial para todos os organismos do substrato, incluindo para o fungo pretendido, que se desenvolverá mais lentamente que em outros processos [28]. iv) Compostagem Natural, que consiste na mistura do substrato com estrume e acondicionamento num espaço

confinado. O processo de compostagem gera temperaturas de 90°C e altas concentrações de gases tóxicos, tais como amoníaco. Estas condições são suficientes para matar os organismos prejudiciais e promovem ainda um melhor crescimento do micélio no substrato. Como desvantagem, os gases libertados pela compostagem do estrume são nocivos para o ambiente e exigem um reforço das medidas de segurança [28].

Após o substrato ter sido esterilizado pode ser inoculado com os esporos do fungo pretendido, usando uma proporção de 1:5 de volume de esporos para volume do substrato [35].

A quarta etapa consiste na conformação à geometria. Os substratos, já com a presença do micélio, são mais frequentemente colocados em moldes de modo a adquirirem a geometria pretendida. Estes moldes podem ser produzidos em larga escala com recurso a softwares de modelação 3D e maquinagem CNC [36], bem como com objetos (recipientes) e materiais comuns [37]. Contudo, e por forma a ultrapassar os constrangimentos que a utilização de moldes envolve, é também possível recorrer à deposição por camadas do substrato contendo o micélio, utilizando diferentes tecnologias de impressão e deposição 3D [38] [Figura 2.6].

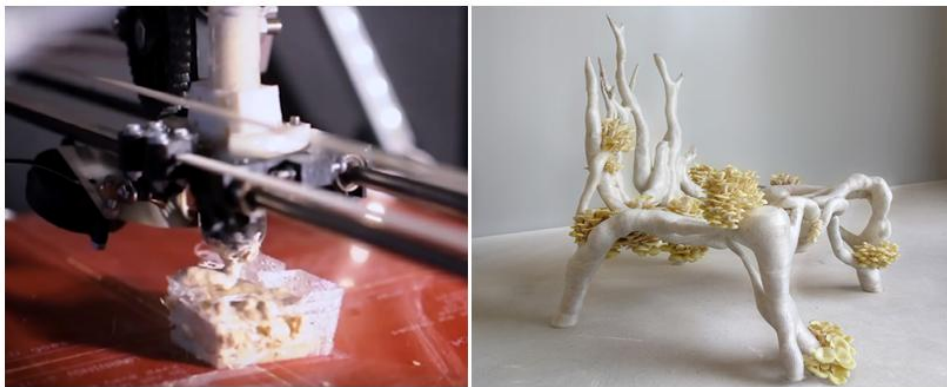


Figura 2.6 – Myceliumchair desenvolvida com equipamento de deposição 3D por Eric Klarenbeek [38]

A quinta etapa incide no crescimento do micélio, ou seja, a proliferação das hifas através do substrato. Em função do tipo de fungo e da aplicação pretendida é importante a escolha das condições ambientais de crescimento mais adequadas. Sendo que fatores como a concentração de CO₂ e luminosidade são bastantes importantes nas propriedades do material [27]. O tempo de crescimento do fungo varia mais uma vez com a espécie, substrato, meio ambiente e a forma de aplicação, sendo normalmente de seis dias até um mês. Nesta fase, para ser mais eficiente, é comum evitar o processo de *pinning*, prevenindo

o consumo de nutrientes na criação biologicamente dispendiosa de corpos frutificados e promovendo um micélio com maior rigidez [28].

Por fim, para tornar o substrato colonizado em material de micélio é necessário parar o crescimento do fungo. Ao aquecer e secar o substrato colonizado o fungo fica inerte parando o seu crescimento [28]. O material de micélio pode por fim ser desmoldado. Se necessário, como forma de melhorar as suas propriedades, podem ser aplicadas camadas protetoras de cera, óleos ou outros revestimentos apropriados [39].

Como descrito anteriormente, o processo de produção de materiais avançados de micélio apresenta bastantes vantagens, favorecendo a evolução de uma indústria de consumo sustentável. O processo consome como matéria-prima resíduos orgânicos. São posteriormente introduzidas nos resíduos novas propriedades mecânicas através de um processo natural de crescimento do fungo. Os gastos energéticos são reduzidos quando comparados com processos de produção de materiais plásticos. O processo de produção de materiais avançados de micélio é simples, flexível e facilmente automatizável, a baixos custos de matéria-prima, de equipamento e de operação [Figura 2.7].

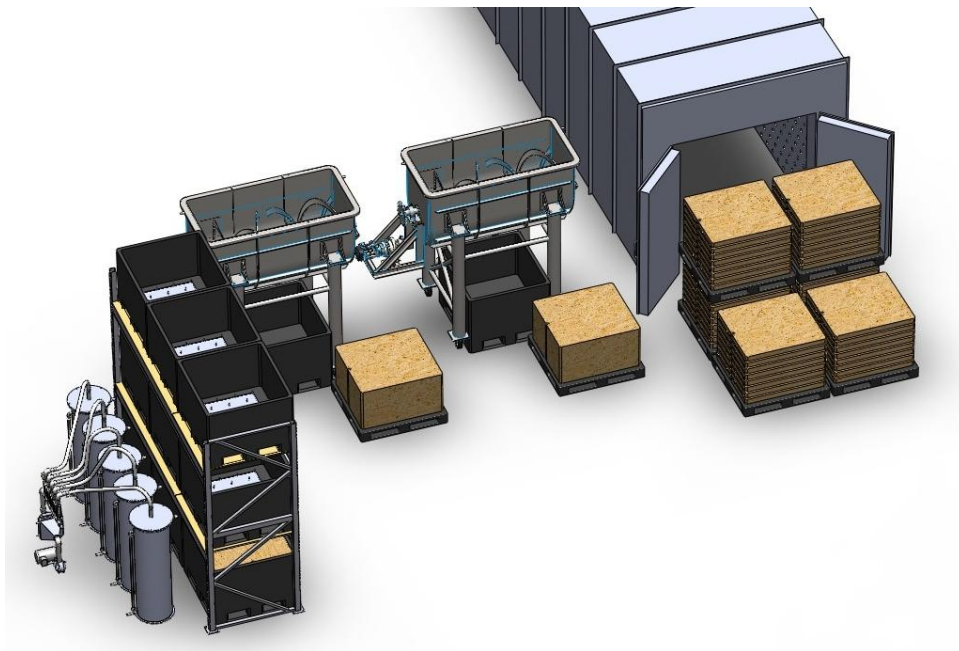


Figura 2.7 – Representação de operação industrial de produção de blocos e placas de material de micélio da empresa Ecovative [37]

3. Trabalho Experimental

No presente capítulo é descrito todo o trabalho experimental realizado no desenvolvimento e análise dos materiais avançados de micélio. É inicialmente dado a conhecer a organização e caminho seguido neste projeto. Posteriormente são identificadas as matérias-primas utilizadas, os fornecedores aonde foram adquiridas e explicadas todas as decisões tomadas. É descrito o processo utilizado na produção/crescimento dos materiais avançados de micélio identificando os equipamentos necessários. Por fim é feito um apanhado das características e métodos mais relevantes dos ensaios térmicos e mecânicos realizados, bem como a identificação dos equipamentos e parâmetros utilizado em cada um dos ensaios.

3.1. Materiais

Como evidenciado nos capítulos anteriores, para a produção de materiais avançados de micélio é necessário como matéria-prima apenas um substrato orgânico e esporos de certas espécies de fungos. Sendo que a escolha do substrato e da espécie de fungo tem uma grande influência nas propriedades do material final, serão em seguida identificadas as espécies de fungos e substratos utilizados. São ainda descritas as opções tomadas e os fornecedores solicitados.

3.1.1. Fungos

No presente trabalho utilizaram-se 4 espécies de fungos, tendo em vista a sua produção. As espécies de fungos; *Pleurotus ostreatus* (382 – *P. ostreatus*), *Hypsizygus ulmarius* (420 – *H. ulmarius*), *Ganoderma lucidum* (560 – *G. lucidum*) e *Trametes versicolor* (620 – *T.versicolor*) utilizadas no âmbito do presente trabalho foram adquiridas numa empresa especializada na comercialização de micélios de fungos (empresa fechou atividade) [Tabelas 3.1 a 3.4 e Figuras 3.1 a 3.8]. As culturas foram adquiridas como culturas

desenvolvidas em meio de cultura sólidos em placas de Petri de 90mm de diâmetro. As culturas foram armazenadas no escuro, a uma temperatura de 5°C antes de utilizadas.

As espécies de micélio *P. ostreatus* e *G. lucidum* foram escolhidas por forma a ir ao encontro do artigo científico intitulado ‘*Advanced Materials From Fungal Mycelium: Fabrication and Tuning of Physical Properties*’ que retrata um estudo das propriedades físicas de material micelar com utilização das mesmas espécies. É assim possível a comparação de resultados

As espécies de micélio *H. ulmarios* e *T. versicolor* foram aconselhadas pela empresa que forneceu os fungos. A mesma afirmou que, por norma, estas espécies apresentam um crescimento de hifas rápido e uma boa proliferação em diversos tipos de substrato.

As quatro espécies tiveram como principal consideração o facto de pertencerem à filo Basidiomycota. Como identificado no âmbito do estudo do capítulo 2.3, as espécies deste filo apresentam características celulares únicas e importantes, formando estruturas orgânicas maiores e mais complexas, sendo as mais indicadas para a utilização como matéria-prima.

Tabela 3.1 – Caracterização Biológica da espécie *Pleurotus ostreatus*

Nome Científico	<i>Pleurotus ostreatus</i>
Nome comum	Cogumelo ostra
Filo	Basidiomycota
Ordem	Agaricales
Comestível	Sim



Figura 3.1 – *P. ostreatus* frutificação na natureza [© Pam Kaminski]

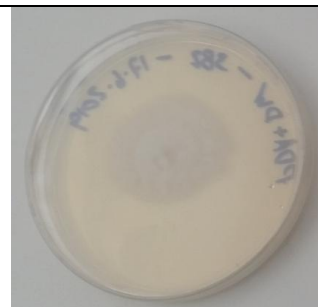


Figura 3.2 – *P. ostreatus* em PDA com 4 dias crescimento

Tabela 3.2 – Caracterização Biológica da espécie *Hypsizygus ulmarios*

Nome Científico	<i>Hypsizygus ulmarios</i>
Nome comum	Elm Oyster (em inglês)
Filo	Basidiomycota
Ordem	Agaricales
Comestível	Sim



Figura 3.3 – *H. ulmarius* frutificação na natureza [© William Roody]



Figura 3.4 – *H. ulmarius* em PDA com 4 dias crescimento

Tabela 3.3 – Caracterização Biológica da espécie *Ganoderma lucidum*

Nome Científico	<i>Ganoderma lucidum</i>
Nome comum	Ling Chih (em chinês)
Filo	Basidiomycota
Ordem	Polyporales
Comestível	Não



Figura 3.5 – *G. lucidum* frutificação na natureza [©Larry Grand]

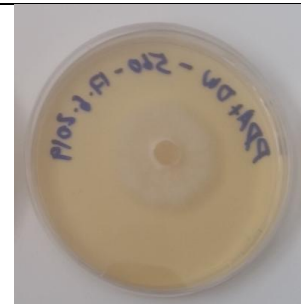


Figura 3.6 – *G. lucidum* em PDA com 4 dias crescimento

Tabela 3.4 – Caracterização Biológica da espécie Trametes versicolor

Nome Científico	<i>Trametes versicolor</i>
Nome comum	Turkey Tail (em inglês)
Filo	Basidiomycota
Ordem	Polyporales
Comestível	Não



Figura 3.7 – T. versicolor frutificação na natureza [© Gary Emberger]

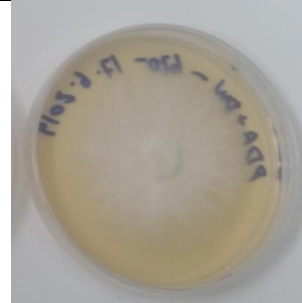


Figura 3.8 – T. versicolor em PDA com 4 dias crescimento

3.1.2. Substratos

Nos materiais avançados de micélio o substrato, como analisado no segundo capítulo, tem uma grande influência nas propriedades mecânicas do material final. O substrato é ainda a matéria-prima que é necessária em maior quantidade, podendo-se assumir como única matéria-prima na produção dos materiais avançados de micélio. É assim essencial, para garantir um material sustentável e com a menor pegada de carbono, que os substratos em estudo sejam desperdícios orgânicos de indústrias locais. Sendo deste modo possível valorizar resíduos sem valor comercial e diminuir a necessidade de transporte nas cadeias de abastecimento.

Com base nas preocupações enunciadas os substratos utilizados foram a serradura de pinho, a serradura mista e borras de café. A serradura de pinho foi fornecida pela empresa EMMAD, S.A., sendo um excedente do corte de madeira de pinho não tratada. A serradura mista foi fornecida por uma grande superfície de bricolage de Leiria (Portugal), sendo excedente do corte de diversas madeiras comerciais não caracterizadas. As borras de café (sempre do mesmo lote) foram fornecidas por um estabelecimento de bebidas local.

Por forma a desenvolver as culturas de fungos em laboratório foram ainda usados PDB e *Potato Destrose Agar* (PDA) como meio de crescimento.

3.2. Metodologia de Trabalho

Atendendo aos objetivos definidos para o presente projeto, a componente experimental do trabalho engloba a produção, teste laboratorial e caracterização das propriedades de diferentes configurações de materiais de micélio e materiais compósitos de micélio. A ordem de trabalhos pode ser simplificada em três importantes etapas (figura 3.9): Processo de Produção, Ensaio Laboratoriais; Resultados e Discussão.

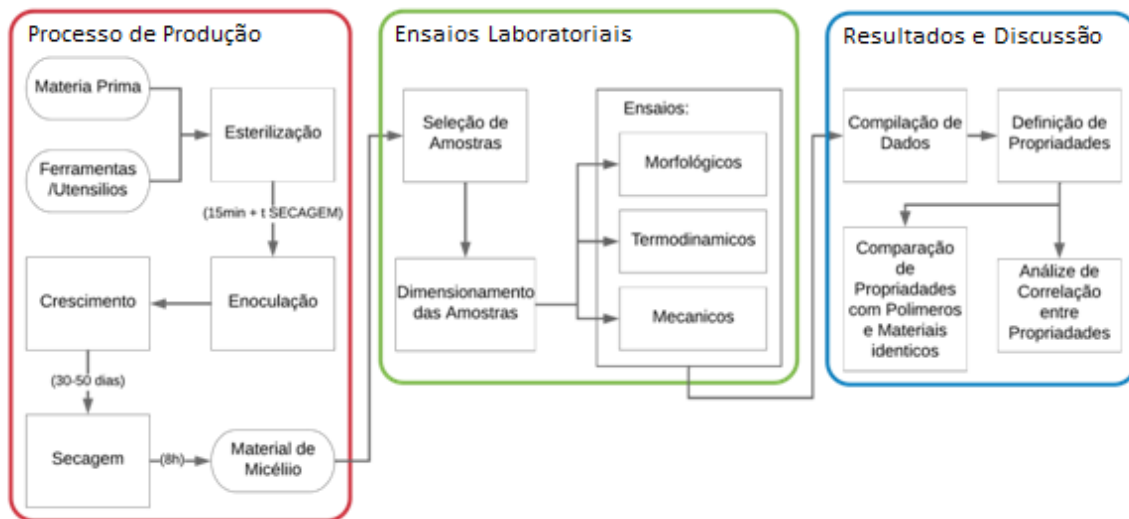


Figura 3.9 – Metodologia de trabalho experimental

A primeira etapa consiste no fabrico das diferentes configurações de material de micélio e de materiais compósitos de micélio e os diferentes substratos. O Processo de Produção inicia-se reunindo a matéria-prima e ferramentas/utensílios necessários no decorrer de toda a etapa. A matéria-prima consiste nos diferentes substratos, diferentes espécies de fungos e meio auxiliar de crescimento. As ferramentas/utensílios consistem em recipientes de mistura, caixas de Petri, espátulas e equipamento de inoculação. Em seguida, todos os equipamentos e matérias-primas são esterilizados, prevenindo-se a posterior contaminação por bactérias, bolores ou espécies indesejadas de fungos. Após a esterilização podem ser efetuadas, num ambiente com uma atmosfera limpa e controlada, as inoculações das diferentes combinações de substrato e espécies de fungos. Por fim são colocados a crescer

numa incubadora, com temperatura controlada. Após um período entre 30 e 50 dias as amostras são secas numa estufa por forma a tornar o material inerte, finalizando o Processo de Produção e obtendo as amostras finais de material de micélio e material compósito de micélio.

A segunda etapa engloba a realização de todos os ensaios laboratoriais. De acordo com os equipamentos disponíveis e objetivos do estudo foram realizados ensaios Morfológicos (observação ao microscópio ótico), Termodinâmicos (Termogravimetria, Calorimetria Exploratória Diferencial e Determinação do Ângulo de Contacto com água) e Mecânicos (determinação da Densidade e Análise Mecânica Dinâmica). Em conformidade com as especificações de cada ensaio são selecionadas as amostras mais adequadas e dimensionados os respetivos provetes.

A terceira etapa consiste no tratamento e discussão dos resultados. Os dados são agrupados, sendo possível caracterizar as diferentes propriedades dos materiais. Por fim as propriedades serão comparadas com as propriedades identificadas na bibliografia de materiais poliméricos e materiais de micélio idênticos. Irá ainda ser realizado um estudo de forma a verificar a existência de alguma correlação entre as propriedades dos materiais desenvolvidos.

3.3.Fabrico de Materiais Avançados de Micélio

A produção ou crescimento dos materiais avançados de micélio é um processo relativamente simples. Contudo exige uma grande atenção e cuidado na limpeza e esterilização do espaço de trabalho, das ferramentas e matérias-primas para que não exista nenhuma contaminação indesejada. Neste projeto as amostras de material foram desenvolvidas segundo uma abordagem de estudo científico de crescimento de fungos. É assim possível dividir o processo em duas fases distintas: a preparação das matérias-primas; e a inoculação do fungo no substrato.

Em seguida são descritas, para as duas fases do processo de fabrico das amostras de material avançado de micélio, as etapas e equipamentos necessários, os parâmetros

utilizados e ainda quantidades e proporções de cada substância. É assim possível replicar com exatidão o crescimento das amostras de materiais desenvolvidos neste trabalho.

3.3.1. Preparação dos Substratos e Meio de Cultura

De modo a esterilizar todos os substratos, meios de cultura e materiais, os mesmos foram colocados num autoclave (VWR, VAPOUR- Line Lite) a 120 °C durante 15 min. O manuseamento e preparação dos meios de cultura e substratos foi realizado numa cabine de fluxo laminar de segurança biológica classe II (Telstar, Bio II Advance). O meio líquido de PDB foi preparado dissolvendo 26,5 g de PDB desidratado em 1 L de água destilada. Os três substratos sólidos foram preparados adicionando 10 mL de meio líquido de PDB por cada 2,30 g de serradura de pinho, 2,75 g de serradura mista e 17,00 g de borras de café, criando um substrato com uma consistência mais pastosa. Os substratos obtidos foram posteriormente colocados em placas de Petri de 90 mm cada uma, contendo 30 g de substrato/meio. O meio de cultura PDA foi preparado dissolvendo 6 g de PDB e 3,75g de Agar em 250 mL de água destilada. Depois de arrefecer durante 30 min, após a esterilização em autoclave, 15 ml do meio foi plaqueado em placas de Petri de 90 mm . As placas de Petri com o meio de PDA foram armazenadas a 5 °C por um período máximo de 1 semana.

3.3.2. Inoculação dos substratos e meio de cultura

Os substratos preparados como indicado na secção 3.3.1 foram inoculados com um disco de agar com crescimento de micélio na sua superfície. Os inóculos foram retirados das extremidades das culturas armazenadas. Todas as placas de Petri com os substratos inoculados foram vedadas com Parafilm, para evitar a dessecação do substrato, e colocadas em crescimento numa incubadora (Memmert – IPP 110) a uma temperatura de 25°C durante 49 dias. No final da etapa de crescimento foram destapadas as placas de Petri e colocadas numa estufa (Binder – Series BD) a uma temperatura de 70°C durante 8h, de modo a secar o material e cessar o desenvolvimento do micélio.

3.4. Ensaio Termodinâmicos

A análise térmica é um método de caracterizar sistemas, tais como elementos, compostos ou misturas, medindo alterações em propriedades físicas e químicas que ocorrem a elevadas temperaturas, em função de um incremento de temperatura. Os dois principais métodos usualmente adotados são os ensaios de termogravimetria, que consistem em medições de alterações na massa do componente de teste em função de um incremento de temperatura; e ensaios de calorimetria exploratória diferencial, que consistem na medição de variações de calor em função de um incremento de temperatura. Os dois métodos enunciados anteriormente providenciam informação sobre: fenómenos Físicos como transição cristalina, fusão, vaporização, sublimação, absorção ou adsorção; e fenómenos Químicos como decomposição, degradação em óxidos, reações no estado sólido ou reações sólido-gas. Sendo que o ensaio de termogravimetria não possibilita informação sobre transição cristalina, fusão ou reações no estado sólido que não sofram variações na massa [40].

3.4.1. Ensaio Termogravimétrico

Os equipamentos básicos à realização de ensaios Termogravimétricos consistem numa balança de precisão e um forno com a capacidade de aumentar a temperatura de forma constante em função do tempo [40].

Os resultados dos ensaios termogravimétricos são vulgarmente expostos através de gráficos com a variação da massa em função da temperatura ou tempo, apresentando uma curva termogravimétrica [figura 3.10], ou através do rácio da perda de massa (w) em função da curva de temperatura, apresentando uma curva denominada de diferencial termogravimétrico [figura 3.11]. Na curva de termogravimetria é possível identificar: zonas horizontais, que indicam uma massa constante; zonas curvas, que indicam o rácio de perda de massa, passando por uma inflexão com $\frac{dw}{dt}$ máximo que indica o rácio de perda de massa máximo; e ainda zonas de inflexão com $\frac{dw}{dt}$ mínimo mas diferente de zero que podem indicar formação de um composto intermédio ou perturbação no aumento constante de temperatura. O gráfico com a curva diferencial termogravimétrica apresenta algumas vantagens na interpretação dos dados como fácil identificação de qualquer variação no

ritmo de perda de massa, indicação de duas reações consecutivas ou praticamente sobrepostas [40].

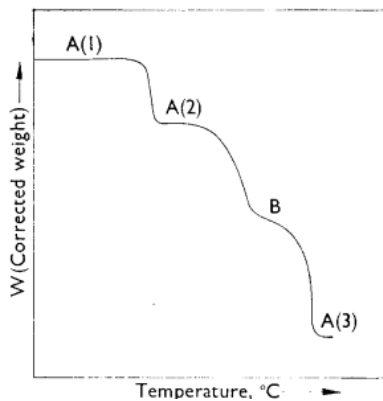


Figura 3.10 – Curva Termogravimétrica: A (1), (2) e (3) - zonas de massa constante; B - zona de inflexão (onde $\frac{dw}{dt}$ é mínimo) [40].

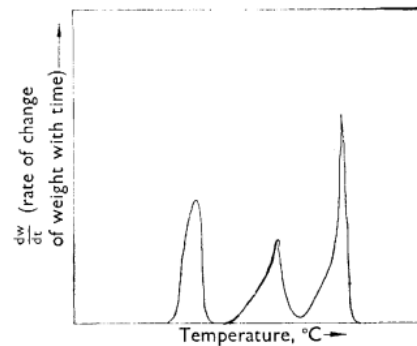


Figura 3.11 – Curva Diferencial Termogravimétrica: A (1), (2) e (3) - onde $\frac{dw}{dt} = 0$; B corresponde ao ponto de inflexão (onde $\frac{dw}{dt}$ é mínimo) [40].

O comportamento de uma curva termogravimétrica de um determinado componente varia principalmente consoante a taxa de aquecimento e do tipo de amostra, sendo que [40]:

Relativamente à taxa de aquecimento:

- Numa reação endotérmica, taxas mais elevadas de aquecimento levam a temperaturas mais elevadas do procedimento de decomposição e do fim da reação.
- Numa reação exotérmica, em taxas de aquecimento mais elevadas é provável a temperatura da amostra ser superior á temperatura do forno.
- Com reações sucessivas a taxa de aquecimento tem influência na possibilidade ou impossibilidade de separar e identificar cada reação.
- Uma inflexão na curva de termogravimetria realizada com uma elevada taxa de aquecimento pode reverter-se numa zona horizontal com uma taxa de aquecimento mais lenta.

Amostra:

- Quanto maior for a massa da amostra, mais as reações endotérmicas e exotérmicas terão influência na linearidade da taxa de aumento de temperatura.

- Quanto maior for a massa da amostra, maior a possibilidade de obter temperaturas distintas ao longo da amostra, em especial se esta tiver uma baixa condutividade térmica.
- Quanto mais pequeno for o tamanho das partículas do material da amostra, maior será o período em que amostra se encontra em equilíbrio.

Os ensaios de Termogravimetria foram realizados com recurso ao equipamento Simultaneous Thermal Analyzer (STA) 6000 da PerkinElmer, aquecendo as amostras dos 30°C até 600°C, a uma taxa de 10°C/min e numa atmosfera de nitrogénio.

3.4.2. Ensaio Calorimétrico Exploratório Diferencial

O ensaio de calorimetria exploratória diferencial é um método universal utilizado na investigação de geração ou consumo de energia de reações químicas ou de transições físicas de estado. O equipamento permite fornecer ou retirar uma quantidade determinada de energia a uma amostra e medir com exatidão alterações de temperatura da mesma. O ensaio de calorimetria exploratória diferencial pode assim medir e identificar, com precisão aceitável para o seu propósito, taxas de fluxo de calor e temperaturas características de reações químicas ou transições físicas de pequenas amostras (mg) de materiais. É uma análise com diversas aplicações, sendo de destacar: caracterização de materiais, identificação de substâncias, avaliação de diagramas de fase, determinação de pureza e determinação de capacidade calorífica [41].

O equipamento para a realização do ensaio de calorimetria exploratória diferencial pode assumir diferentes configurações na técnica de medição das diferenças de temperatura. Tendo sempre um caminho condutor de calor bem definido com as respetivas resistências. O sistema utilizado neste projeto foi o de cápsula cilíndrica, onde existe um maior isolamento térmico entre as amostras e o forno. A medição das diferenças de temperaturas entre as cavidades é realizada através de termopares que podem estar conectados ao forno [figura 3.12 a] ou diretamente entre as duas cavidades cilíndricas [figura 3.12 b].

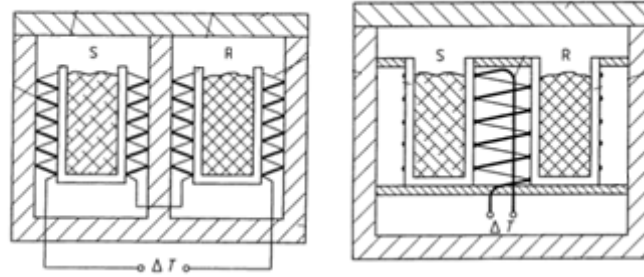


Figura 3.12 – Esquema de fornalha com cápsulas cilíndricas [41]

O parâmetro de operação do presente ensaio consiste na variação da temperatura (T) no tempo (t), sendo que será abordado o modo clássico, com uma taxa de aquecimento (β) constante (Equação 1);

$$T(t) = T_0 + \beta \cdot t \quad (\text{eq. 1})$$

Todos os materiais necessitam que seja fornecido um certo calor para estes aquecerem, sendo a taxa de fluxo de calor do material proporcional á taxa de aquecimento (Equação 2);

$$\Phi_{Cp} = C_p \cdot \frac{dT}{dt} \quad (\text{eq. 2})$$

onde C_p é o fator de proporcionalidade.

Sendo que a diferença nas taxas de fluxo de calor depende das diferentes capacidades caloríficas e da taxa de aquecimento, geralmente a medição da taxa de fluxo de calor não é nula ($= 0$) e é composta por três partes (Equação 3);

$$\Phi(T, t) = \Phi_0(T) + \Phi_{Cp}(T) + \Phi_r(T, t) \quad (\text{eq. 3})$$

O primeiro termo ($\Phi_0(T)$) representa a assimetria do ensaio, o segundo termo ($\Phi_{Cp}(T)$) representa a diferença entre a capacidade calorífica entre a amostra em estudo e a amostra de referência, e o terceiro termo ($\Phi_r(T, t)$) refere a contribuição do fluxo de calor em reações químicas ou transições físicas (calor latente). O terceiro termo é caracterizado graficamente pelas flexões e inflexões máximas [41].

O ensaio de Calorimetria Exploratória Diferencial foi realizado no equipamento DSC131 da empresa Setaram, aquecendo as amostras dos 22°C até 320°C a uma taxa de 5°C/min. As amostras em ambos os ensaios tinham uma massa de 7 ± 1 mg.

3.4.3. Determinação do ângulo de contacto com água

No ensaio de determinação do ângulo de contacto com a água de um material é medido o ângulo formado pela interação entre a interface líquido-sólido e a interface líquido-vapor, sendo obtido geometricamente o ângulo de contacto mediante a medição do ângulo da linha tangente à interface líquido-vapor, que comece no ponto de contacto do líquido com o sólido [figura 3.13]. Ângulos de contacto inferiores a 90° significam que a superfície tem tendência a molhar-se, caracterizam superfícies hidrófilas (quando líquido é água). Ângulos de contacto superiores a 90° significam que a superfície não é favorável a molhar-se, o líquido minimiza a superfície de contacto com o sólido, caracterizam superfícies hidrofóbicas (quando líquido é água). Para ângulos de contacto superiores a 150° a superfície é caracterizada como super-hidrofóbicas (quando líquido é água) [42].

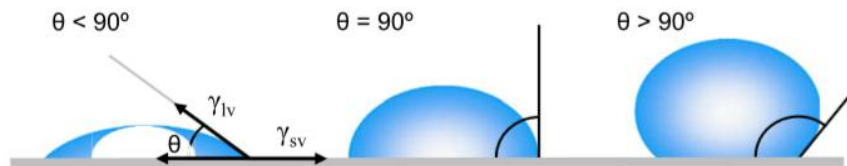


Figura 3.13 – Representação de ângulos de contacto de líquido numa superfície sólida e homogênea [42]

A rugosidade superficial é um fator prejudicial à obtenção de resultados coesos dos ângulos de contacto. As variações microscópicas em inclinação podem criar barreiras que impedem o movimento da linha de contacto, influenciando e alterando os ângulos de contacto medidos macroscopicamente. No caso de elevada rugosidade superficial serão necessários métodos mais complexos de análise de molhabilidade que considerem a superfície irregular do material [42].



Figura 3.14 – Tensiómetro ótico Theta Lite da empresa Attension utilizado na medição dos ângulos de contacto

A medição dos ângulos de contacto foi efetuada com recurso a um tensiómetro ótico Theta Lite da empresa Attension (Biolin Scientific) equipado com uma seringa de precisão (ref. C205M). Os dados foram recolhidos por uma câmara de vídeo digital e tratados com o software de imagens OneAttension, que utiliza o método de análise de Young-Laplace. As amostras de apenas micélio foram retiradas de culturas desenvolvidas em PDB. O ensaio foi realizado utilizando como fase pesada água destilada e fase leve a atmosfera ambiente. O ensaio foi realizado com gotas com um volume médio de $0,15\mu\text{l}$. A aquisição de dados decorreu num período de 10 s após a deposição da gota no material, com uma frequência de 12 medições por segundo.

3.5. Ensaio Mecânicos

Com a realização dos ensaios mecânicos é pretendido caracterizar as propriedades físicas dos materiais avançados de micélio desenvolvidos de forma a ser possível enquadrar este material nas diferentes famílias existentes e ainda comparar os resultados obtidos com estudos similares.

3.5.1. Ensaio de Densidade

A determinação das densidades foi realizada com base na norma ASTM D792-07 que permite determinar a densidade de materiais plásticos por deslocamento de um fluído. As amostras de apenas micélio foram retiradas de culturas desenvolvidas em PDB. Devido á reduzida massa do micélio e de material disponível para as amostras, apenas foi possível a recolha de amostras com $0,1 \pm 0,025\text{g}$, não cumprindo a indicação mínima de 1g descrita na norma.



Figura 3.15 – Balança de precisão Mettler Toledo AG204 com kit para medição de densidade

O ensaio foi realizado na balança de precisão Mettler Toledo AG204 equipada com um kit da própria empresa que facilita o processo (Figura 3.15). As amostras foram pesadas a seco a) e de seguida pesadas enquanto submergidas em água destilada b). A temperatura da água destilada medida em todos os ensaios manteve-se constante nos $22,5^{\circ}\text{C}$. A densidade é determinada através da seguinte equação:

$$\rho = \frac{a}{a-b} \cdot \rho_{H_2O}^{22,5^{\circ}\text{C}} \text{ [Kg/m}^3\text{]} \quad (\text{eq. 4})$$

3.5.2. Ensaio de Análise Mecânica Dinâmica

O ensaio de análise mecânica dinâmica é uma ferramenta que permitiu complementar os ensaios térmicos de termogravimetria e de análise diferencial exploratória enunciados anteriormente. Esta é uma técnica útil na caracterização das propriedades viscoelásticas de diversos materiais em função da temperatura, tempo, carregamento, frequência, atmosfera ou ainda uma combinação de qualquer dos parâmetros. As propriedades dinâmicas são

obtidas em função dos parâmetros escolhidos, o que permite determinar valores para o módulo de armazenamento (E'), módulo de dissipação (E'') e o fator de amortecimento ($\tan \delta$). O módulo de armazenamento (E') ou módulo dinâmico está associado módulo de Young, definindo assim a rigidez do material. É a capacidade de um material absorver energia a ele aplicado, para um uso posterior. O módulo de dissipação (E'') é frequentemente associado a processos internos do material, podendo ser influenciado por movimentos moleculares, processos de relaxamento e heterogeneidades estruturais. Este representa a capacidade do material dissipar energia aquando da sua solitação por um carregamento. O fator de amortecimento ($\tan \delta$) é uma grandeza adimensional que define o rácio entre o módulo dissipado e armazenado (fig 3.16). Um elevado valor do fator de amortecimento indica que o material tem uma elevada componente não-elástica, enquanto um valor do fator de amortecimento diminuto revela um material com um comportamento predominantemente elástico [43].

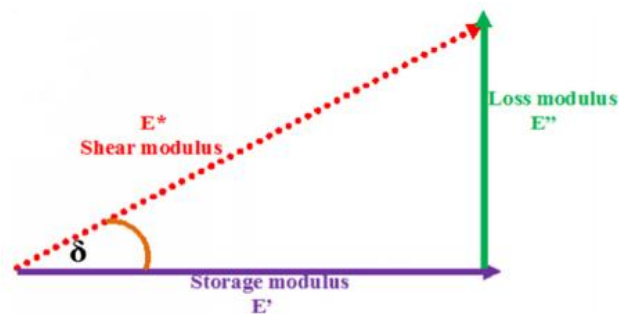


Figura 3.16 – Relação entre E' , E'' e $\tan \delta$ [43]

A rigidez do material em função do aumento de temperatura foi estudada com recurso a um ensaio de análise mecânica dinâmica (DMA). Este foi efetuado no equipamento Triton DMA ,com o respetivo software de aquisição de dados. O equipamento é equivalente ao atual DMA 8000 System da empresa Perkin Elmer. O apparatus experimental para realização do ensaio (teste de tração) encontra-se representado na figura 3.18.

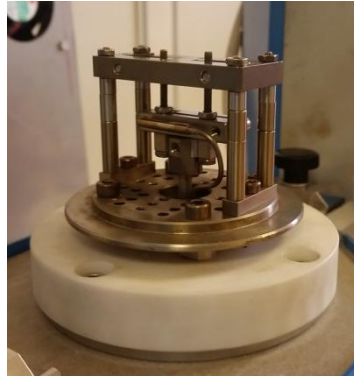


Figura 3.17 – Aparatus experimental do dispositivo para ensaio de tração no equipamento Triton-DMA

O ensaio foi realizado a uma taxa de variação de temperatura de 5 °C/min, com início à temperatura ambiente de 25 °C e a terminar aos 150 °C. Foi ainda definido o deslocamento de 0,05 mm com uma frequência de 1 Hz. Os provetes utilizados tinham uma geometria paralelepípedica, com 0,25 mm de espessura, 8,7 mm de largura e 20 mm de comprimento. O comprimento considerado durante o ensaio é de 10 mm sendo que o restante comprimento do provete é destinado à sua sujeição nos dois pontos de fixação.

4. Resultados e Discussão

Neste capítulo são expostos os dados dos ensaios enunciados anteriormente. É ainda interpretado qualquer correlação entre propriedades e a alteração de espécie de fungo ou de substrato.

4.1. Caracterização Morfológica

Está ilustrado na figura 4.1 o crescimento dos diversos fungos após 22 dias das primeiras inoculações efetuadas a todas as combinações de fungos e substratos utilizados. É possível observar que o micélio do *T. versicolor* cresceu nos três substratos, de uma forma mais rápida e consistente do que os restantes fungos. O micélio do *T. versicolor* demonstrou ainda facilidade em se desenvolver no substrato de serradura mista, sendo que este substrato apresentou grandes problemas ao desenvolvimento do micélio dos restantes fungos. Os fungos *G. lucidum*, *H. ulmarios* e *P. ostreatus* foram incapazes de crescer na serradura mista obtida através de desperdício de diversas madeiras comerciais, muitas vezes tratadas/estabilizadas com produtos químicos que inibem o crescimento de fungos. No substrato de borras de café e serradura de pinho todas as espécies de micélio cresceram sem aparente limitações

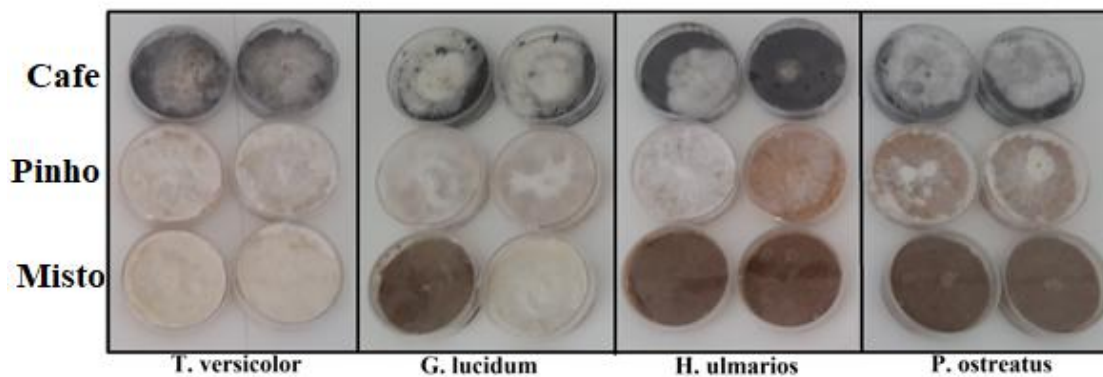


Figura 4.1 – Ilustração do crescimento após 22 dias dos quatro fungos inoculados em três substratos diferentes

Face ao comportamento de crescimento do micélio nos diferentes substratos, foi analisada mais detalhadamente a espécie *T. versicolor* nos 3 substratos, bem como todas as espécies de micélio no substrato de serradura de pinho. Por forma a garantir um maior crescimento dos fungos, as amostras foram ainda deixadas a crescer mais 27 dias (total 49 dias). Numa primeira análise, é visível a diferença entre as hifas do micélio que cresceu em contacto com o ar e as que cresceram em contacto com o substrato [Figura 4.2]. O micélio aéreo é caracterizado por um crescimento das hifas fora do substrato, formando uma película de cor branca. O micélio que se desenvolveu e penetrou no substrato resultou na aglomeração do substrato [Figura 4.2].



Figura 4.2 – Substrato de serradura de pinho com espécie H. ulmarios

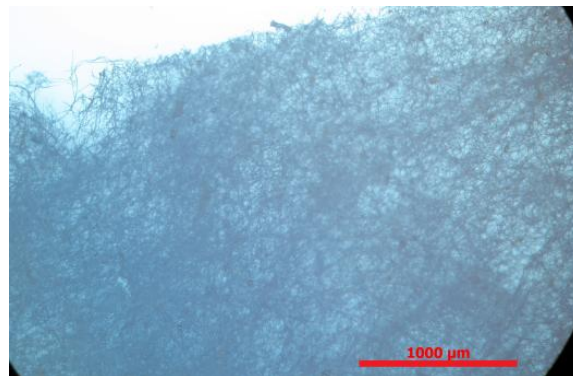


Figura 4.3 – Estrutura microporosa de H. ulmarios crescida no substrato de serradura de pinho

O micélio aéreo (parte da amostra que não se interligou com o substrato) das combinações escolhidas foi analisado através de um microscópio ótico. É possível observar em todas as combinações a formação de uma estrutura compacta e microporosa [figura 4.3]. No entanto, são claramente visíveis dois tipos de estrutura: uma com hifas mais curtas,

tubulares e agrupadas numa pequena área e outra com hifas de maior comprimento, mais desfasadas e em forma de filamento [Figura 4.4 e 4.5]. Das diferentes espécies que cresceram na serradura de pinho os micélios do *G. lucidum* e *P. ostreatus* apenas desenvolveram a estrutura filamentar, enquanto o micélio do *T. versicolor* e *H. ulmarios* apresentaram ambas as estruturas. O micélio de *H. ulmarios* que cresceu no substrato de pinho demonstrou a maior ligação entre hifas e a formação de nós de grandes dimensões nas junções de múltiplas hifas (com dimensões superiores a $0,8 \mu\text{m}$). O micélio do *T. versicolor* obteve uma estrutura similar de hifas independentemente do substrato em que cresceu. Contudo a rede de micélio do *T. versicolor* no substrato de café apresenta uma menor densidade de hifas, e no substrato de serradura mista uma maior densidade de hifas.



Figura 4.4 – Estrutura microporosa da espécie *T. versicolor* nos 3 diferentes substratos (barra - $2\mu\text{m}$)

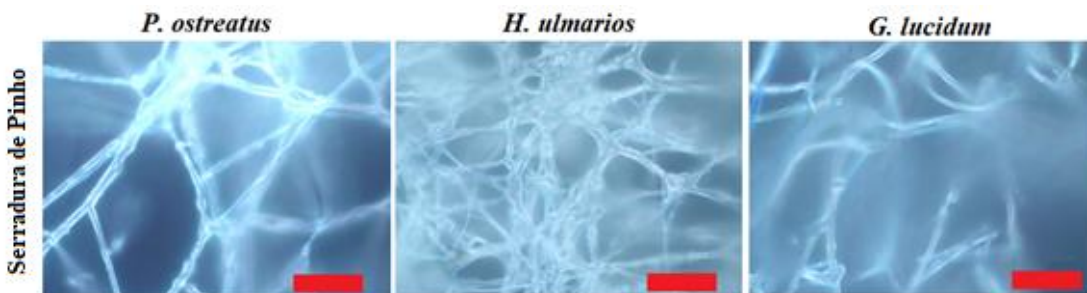


Figura 4.5 – Estrutura microporosa das diferentes espécies de fungos no substrato de serradura de pinho (barra - $2\mu\text{m}$)

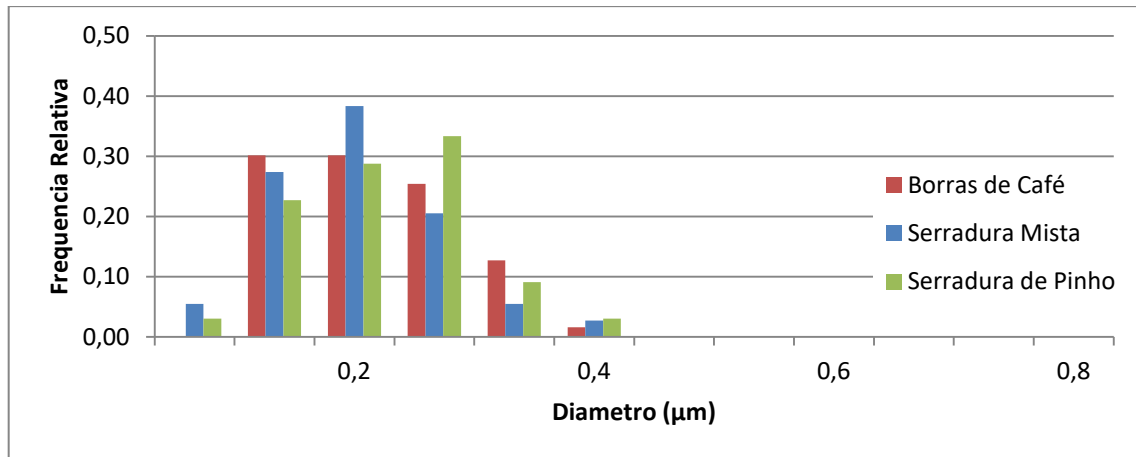


Figura 4.6 – Análise de diâmetros das hifas da espécie *T. versicolor* nos três diferentes substratos

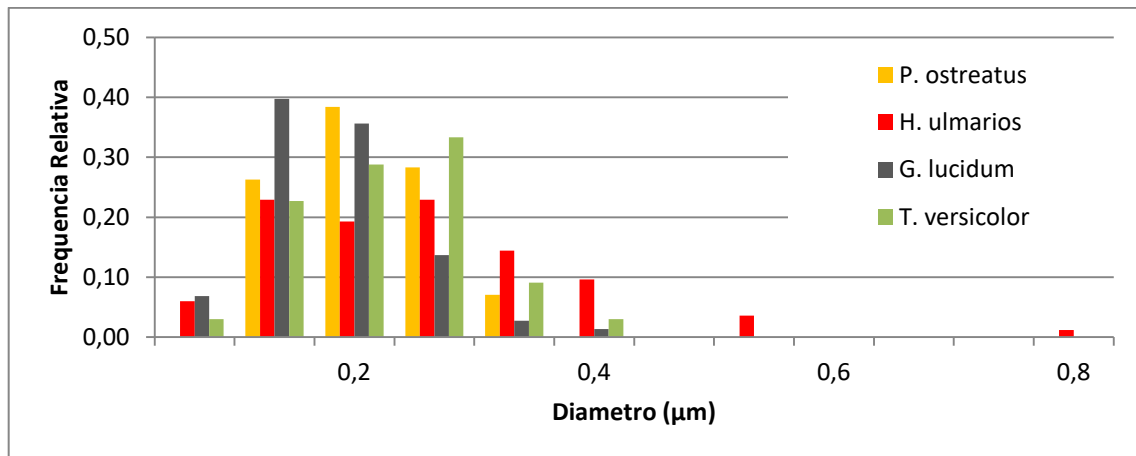


Figura 4.7 – Análise de diâmetros das hifas de diferentes espécies de fungos no substrato de serradura de pinho

As hifas do *T. versicolor* apresentam um diâmetro de 0,2 μm nos três substratos [Figura 4.6]. As hifas do *P. ostreatus*, *G. lucidum* e *H. ulmarios* que cresceram no substrato de pinho apresentam igualmente diâmetros de aproximadamente 0,2 μm, contudo, a espécie *H. ulmarios* apresenta uma maior densidade de hifas [Figura 4.7].

4.2. Caracterização Térmica

4.2.1. Ensaio Termogravimétrico

O ensaio termogravimétrico foi realizado á espécie *T. versicolor* que cresceu no substrato de serradura de pinho num período de 49 dias. Foram analisadas amostras da estrutura de micélio aéreo, do substrato aglomerado com a estrutura de micélio e apenas do substrato (Figura 4.8). As três curvas de degradação em função da temperatura não demonstram diferenças significativas, apresentando dois degraus de degradação. O primeiro degrau, situado a uma temperatura inferior a 100°C, consiste na evaporação da humidade das amostras, tendo as três amostras perdido cerca de 10% do seu peso. O segundo degrau consiste na degradação do material ou reação de combustão. O substrato de pinho iniciou a degradação aos 275°C e terminou aos 365°C, o micélio aéreo iniciou a degradação aos 265°C e terminou aos 290°C, o substrato de pinho aglomerado com a estrutura de micélio obteve resultados intermédios, iniciando a degradação aos 270°C e terminando aos 345°C. O material de micélio evidenciou uma grande estabilidade térmica a altas temperaturas e uma massa elevada dos produtos da reação de combustão, de cerca de 28% do peso inicial.

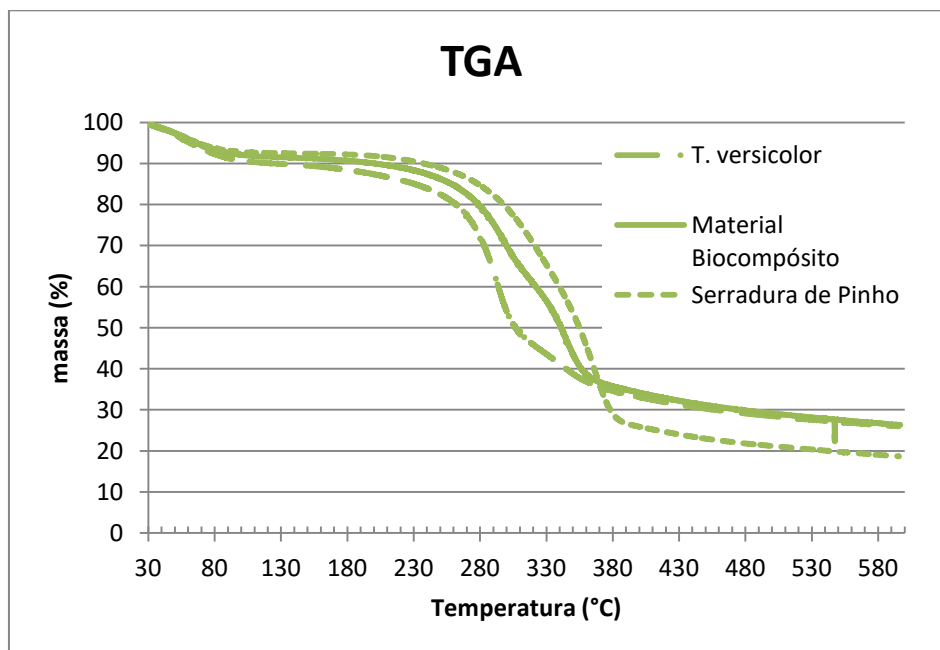


Figura 4.8 – Análise termogravimétrica do substrato de serradura de pinho, da espécie *T. versicolor* e do material biocompósito

4.2.2. Ensaio Calorimétrico Exploratório Diferencial

A análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foi efetuada à espécie *T. versicolor* e *H. ulmarius* nos diferentes substratos, com 49 dias de crescimento. Foram ensaiados, à semelhança do que se efetuou nos ensaios de determinação da TGA, amostras da estrutura de micélio aéreo, do substrato aglomerado com a estrutura de micélio e apenas do substrato. Nas figuras 4.9, 4.10 e 4.11 identificam-se três eventos ou fases. A fase inicial, até aos 100°C, denota uma maior absorção de energia, sendo frequentemente atribuída à energia necessária para que a humidade restante na amostra evapore. A segunda fase, dos 100°C até aos 240°C, representa a energia absorvida pela amostra em função do aumento de temperatura. A terceira fase é caracterizada pelo fim dos eventos endotérmicos e início de evidência dos eventos exotérmicos de degradação das amostras, no intervalo de temperatura 250-275°C.

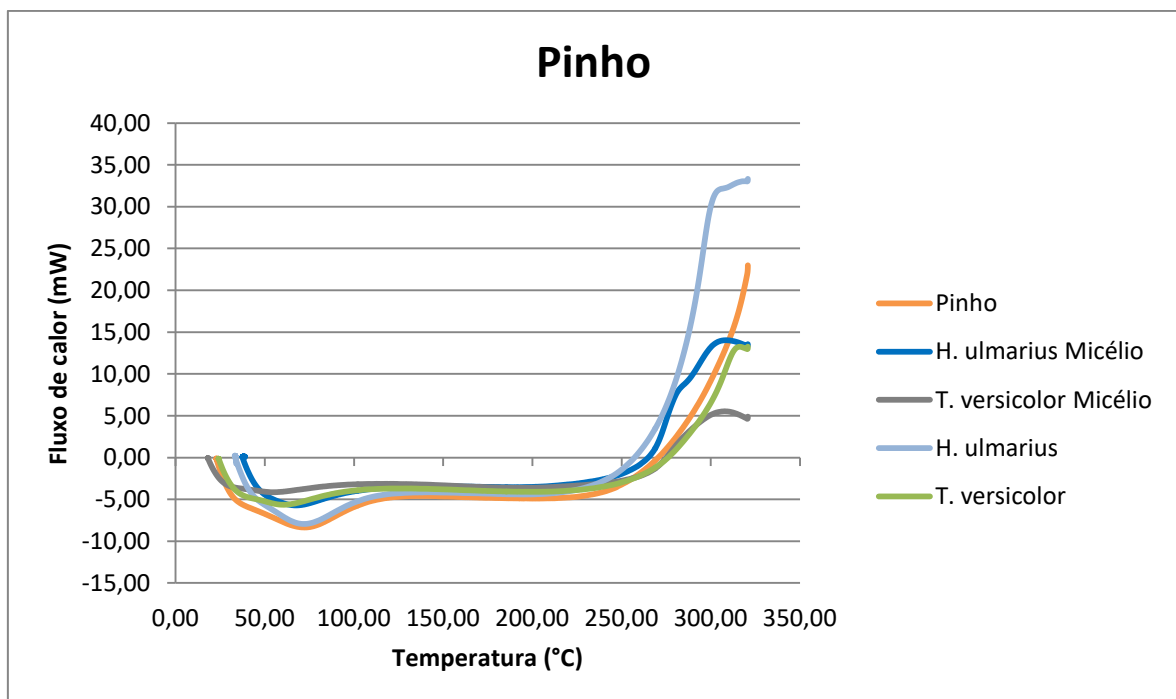


Figura 4.9 - Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial do substrato de serradura de pinho, das espécies *H. ulmarius* e *T. versicolor* e dos respectivos materiais biocompósitos

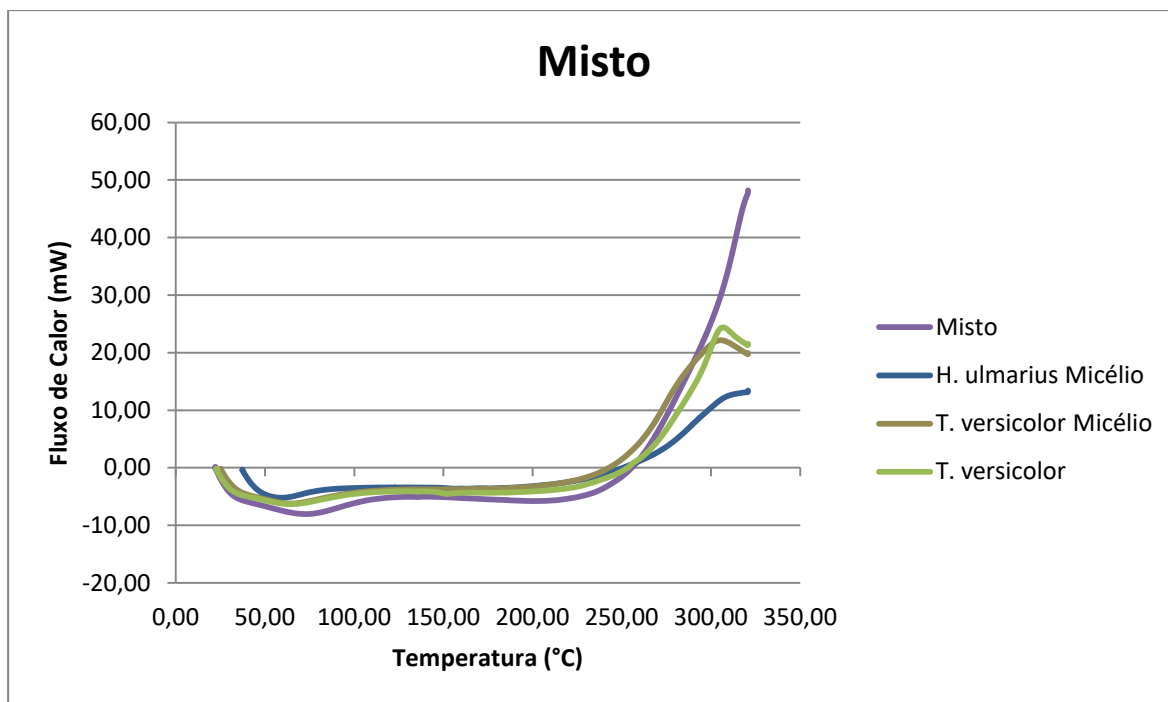


Figura 4.10 – Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial do substrato de serradura mista, das espécies *H. ulmarius* e *T. versicolor* e dos respetivos materiais biocompósitos

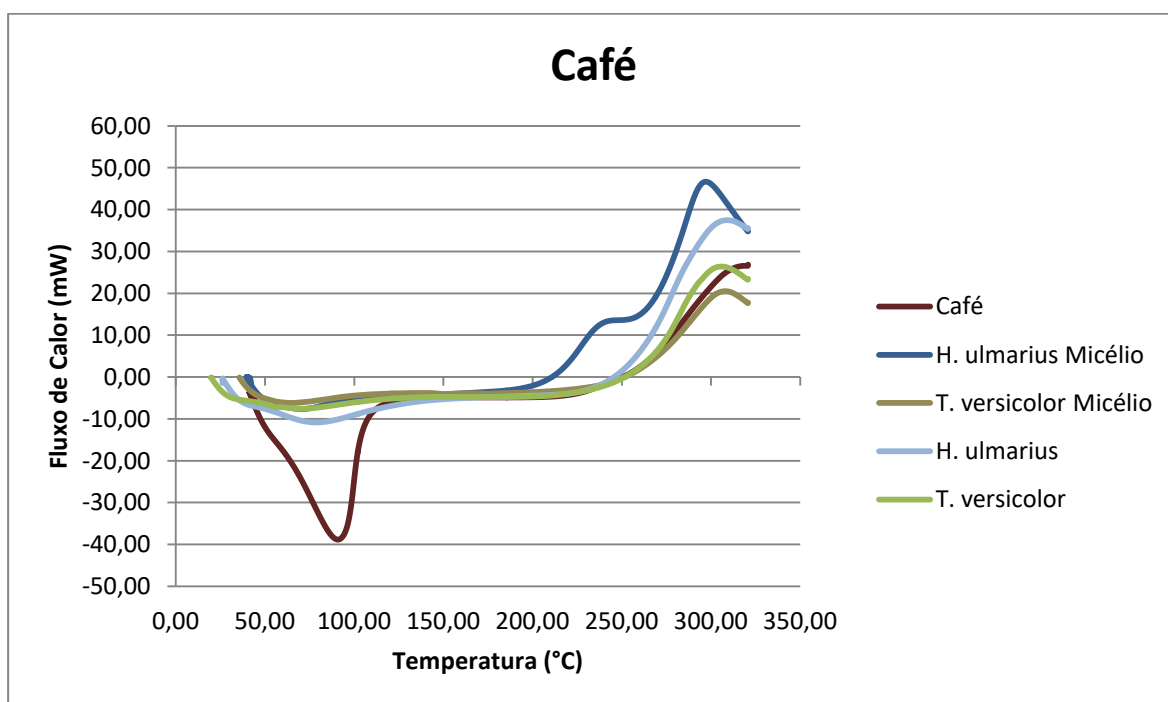


Figura 4.11 – Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial do substrato de café, das espécies *H. ulmarius* e *T. versicolor* e dos respetivos materiais biocompósitos

Na primeira fase é perceptível nos três gráficos que as amostras constituídas apenas por substrato absorvem uma maior quantidade de humidade. Sendo que a amostra de substrato de café absorve 40 mW, mais do que 4 vezes a quantidade de energia absorvida pelos substratos de pinho e serradura mista. É ainda perceptível nos gráficos, mais evidente no substrato de café, que o crescimento do micélio no material base reduz a absorção de humidade diminuindo assim a emissão de energia na primeira fase. O material de micélio aéreo da espécie *T. versicolor* absorveu menos energia quando cresceu nos substratos de café e de pinho, contudo no substrato de serradura mista a espécie *H. ulmarius* absorveu menos energia.

É possível observar na segunda fase que, de um modo geral, as amostras de apenas substrato absorvem mais energia, sendo que as de apenas micélio absorvem menos energia. As amostras de material composto demonstraram que a introdução de micélio das duas espécies nos três substratos diminui a absorção de energia do material base evidenciando assim uma melhor capacidade de isolamento térmico neste intervalo de temperaturas.

4.2.3. Ensaio de determinação do Ângulo de Contacto com Água

O ensaio de determinação dos ângulos de contacto com água foi realizado às espécies *T. versicolor*, *H. ulmarius* e *P. ostreatus*. Estas demonstram um comportamento hidrofóbico, apresentando todas um ângulo de contacto com a água superior a 90°. É possível verificar em todas as espécies que, no período de 10 s em que foram ensaiadas, o desvio padrão é reduzido. Verificou-se mesmo que o ângulo de contacto nas diferentes espécies se manteve constante ou mesmo sofreu um pequeno aumento com o tempo (Figura 4.12).

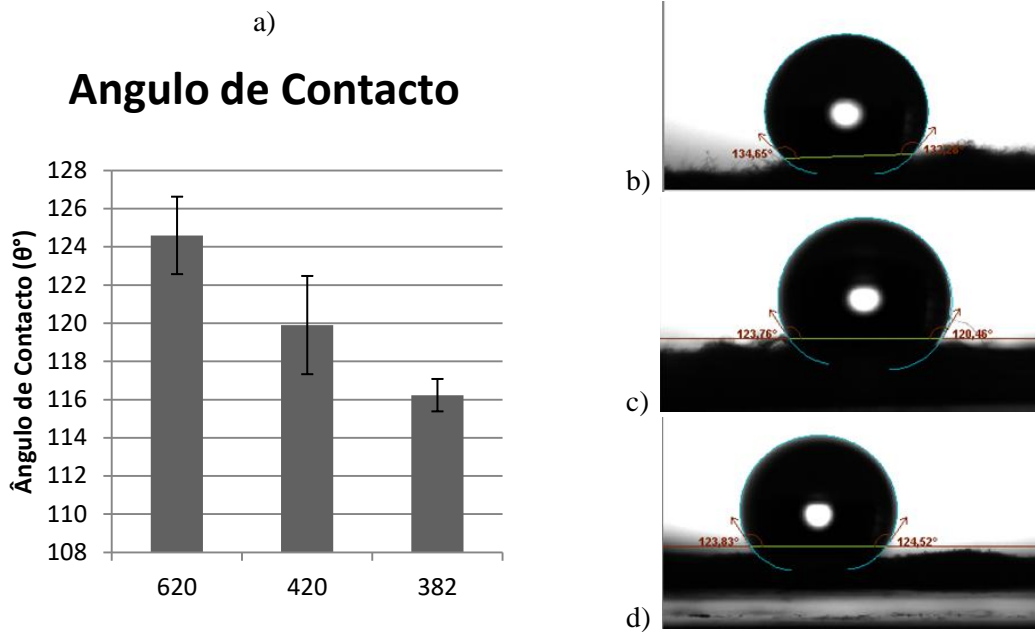


Figura 4.12 – a) Gráfico dos ângulos de contacto com água das espécies *T. versicolor* (620), *H. ulmarius* (420) e *P. ostreatus* (382); b) Gota de água sobre a espécie 620; c) Gota de água sobre a espécie 420; d) Gota de água sobre a espécie 382.

Os valores elevados dos ângulos de contacto com a água, superiores a 116°, podem ser atribuídos à natureza fibrosa do micélio, em que as hifas formam um filme compacto microporoso. As paredes das células das hifas contêm ainda proteínas, como *mannoproteins* e *hydrophobins*, que têm propriedades hidrofóbicas, contribuindo para a existência do elevado ângulo de contacto com a água em todas as espécies.

4.3. Caracterização Mecânica

4.3.1. Ensaio de Densidade

O material de micélio apresentou densidades muito reduzidas sendo que as espécies *P. ostreatus* e *T. versicolor* apresentam valores de 0,06 g/cm³ e a espécie *H. ulmarius* um valor de 0,046 g/cm³. A menor densidade da espécie 420 pode ser atribuída a esta ser constituída por hifas de maiores dimensões, com eventuais zonas porosas no seu interior.

Tabela 4.1 – Densidades das espécies 382 *P. ostreatus*, 420 *H. ulmarius* e 620 *T. versicolor*

Espécie	<i>P. ostreatus</i>	<i>H. ulmarius</i>	<i>T. versicolor</i>
Densidade (Kg/m ³)	60,95	46,03	60,13

4.3.2. Ensaio de Análise Mecânica Dinâmica

O ensaio de análise mecânica dinâmica á espécie *P. ostreatus* demonstra um aumento de rigidez do material de micélio com o aumento da temperatura (Figura 4.13). O micélio á temperatura ambiente de 24,7°C apresenta um módulo de elasticidade de 4,8MPa, o qual vai aumentando e estabiliza perto dos 100°C com um valor de 11,3MPa. O aumento na rigidez do material pode ser resultado da perda de humidade remanescente presente na amostra. Sendo que o efeito de evaporação é verificado no mesmo intervalo de temperaturas (até 100°C) dos ensaios térmicos realizados anteriormente.

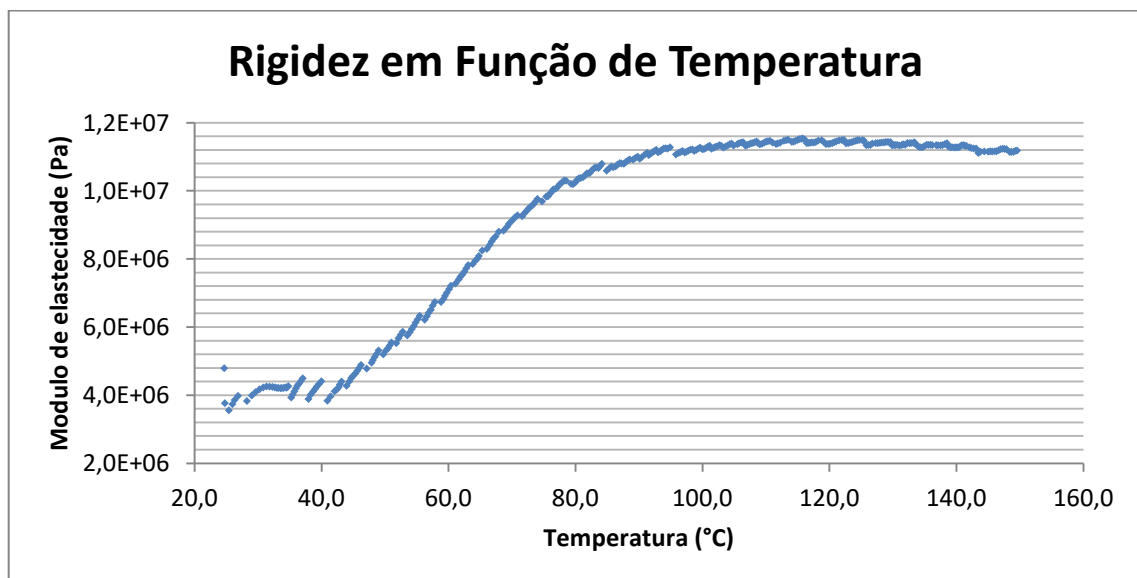


Figura 4.13 – Análise mecânica dinâmica da espécie *P. ostreatus*

5. Conclusões

A sociedade de consumo atual requer o fornecimento de uma grande quantidade de materiais descartáveis. Devido à sua durabilidade, estabilidade e custo reduzido os plásticos sintéticos têm sido a escolha de eleição na maioria das indústrias, contudo a sua maior aplicação reside em produtos descartáveis como embalagens ou sacos. O aumento de utilização deste material obriga a uma gestão de resíduos uma vez que os plásticos sintéticos não são biodegradáveis. A gestão de resíduos de plásticos sintéticos é complexa, as possibilidades de reciclagem são dispendiosas e utilizam processos intrincados. A maioria dos resíduos dos plásticos sintéticos é ainda processada através de incinerações ou deposição em aterros, sendo que estas opções não são sustentáveis e ainda apresentam problemas ambientais. Existe ainda uma grande quantidade de resíduos de plásticos que acabam espalhados pelo meio ambiente, os quais, através das redes hidrográficas, acabam nos mares e oceanos. A poluição por detritos de plásticos é já considerado o maior e mais devastador impacto humano na biologia marinha, com implicações diretas nos humanos, como topo de uma cadeia alimentar.

A crescente preocupação ambiental está a mudar o paradigma de como a sociedade interpreta a utilização de plásticos sintéticos. Além de há muito estarem a ser desenvolvidos, os plásticos biodegradáveis só agora começam a ser utilizados. Os plásticos biodegradáveis são materiais que sofrem degradação através de organismos vivos, tornando-os uma solução mais viável para produtos descartáveis. Embora exista já uma grande variedade de plásticos biodegradáveis estes apresentam limitações no desempenho e um custo elevado. Os materiais biodegradáveis requerem ainda subprocessos complexos e apresentam limitações no seu processamento, tendo assim um baixo rendimento de produção.

Os materiais avançados de micélio suportam as estratégias de materiais sustentáveis que muitos países desenvolvidos estão a adotar de modo a reduzir a poluição ambiental. A matéria final dos materiais de micélio é composta por polímeros naturais como quitina, celulose ou proteínas, o que torna estes materiais totalmente biodegradáveis na biota do solo quando na presença de humidade. Por outro lado, os materiais avançados de micélio,

apresentam uma boa estabilidade e resistência em ambientes secos como em casas ou armazéns.

No presente trabalho foram desenvolvidos materiais com recurso a três substratos (serradura de pinho, serradura mista e borras de café) e quatro diferentes espécies de fungos, nomeadamente, *T. versicolor*, *H. ulmarios*, *P. ostreatus* e *G. lucidum*. Foi possível observar que a espécie *T. versicolor* cresceu nos três substratos mais rápido e de uma forma mais consistente que as restantes espécies de fungos. O substrato de serradura mista, devido a tratamentos da madeira de origem, demonstrou alguns impedimentos e inadequação ao crescimento das espécies *H. ulmarios*, *P. ostreatus* e *G. lucidum*.

Durante o crescimento do micélio é visível a formação de micélio aéreo, caracterizado por uma película branca, e a formação de micélio ‘normal’ que penetra no substrato e o aglomera. A análise ao microscópio identificou a formação de uma estrutura de hifas compacta e microporosa em todas as amostras testadas. As hifas apresentaram um diâmetro médio de $2\mu\text{m}$ e assumiram dois tipos de estruturas; uma com hifas mais curtas, tubulares e mais agrupadas, e outra com hifas de maior comprimento e mais desfasadas entre si.

Através da realização de ensaios de análise térmica foi possível observar a presença de humidade residual nos materiais, correspondente em média a 10% da sua massa e responsável por um grande aumento de absorção de energia dos materiais abaixo da temperatura de 100°C . Os materiais de micélio demonstraram uma boa estabilidade térmica até temperaturas de 240°C , iniciando em seguida os eventos exotérmicos (combustão). Nos materiais com substrato de serradura mista e de pinho foi identificado que a presença de micélio promovia uma menor condutividade térmica na gama de temperaturas 100°C – 240°C . Foi ainda demonstrado que o micélio como material tem propriedades hidrofóbicas, apresentando ângulos de contacto com a água entre 116° e 124° .

O material de micélio apresentou ainda uma densidade bastante reduzida de 45 a 60 kg/m^3 e uma rigidez a $24,7^{\circ}\text{C}$ de $4,8\text{MPa}$. É de salientar que com o aumento de temperatura o material aumentou a sua rigidez estabilizando após os 100°C com uma rigidez de cerca de 11MPa .

Na indústria automóvel existe uma emergente preocupação que o veículo tenha um ciclo de vida mais sustentável. O designer Erik Melldahl em parceria com a BMW desenvolveu

o projeto de um carro conceptual totalmente sustentável, que utiliza materiais biodegradáveis e manufatura tradicional de povos Africanos. O carro de nome Maasaica tem o seu corpo principal fabricado totalmente em micélio (figura 5.1). O designer Erik Melldahl afirma ainda que a estrutura irá melhorar a performance e durabilidade do veículo em condições de terrenos difíceis [44]. Num futuro próximo é espectável que os materiais avançados de micélio tenham uma vasta gama de aplicações e que seja produzido em grandes quantidades com baixos custos e quase inexistentes impactos ambientais. Podendo apresentar soluções para diferentes componentes automóveis que nos dias de hoje são fabricados com recurso a materiais plásticos sintéticos.



Figura 5.1 – Esqueleto do carro conceptual Maasaica, produzido de micélio e impresso em 3D (esquerda), Carro conceptual Maasaica (direita) [44]

5.1.Trabalhos Futuros

Sendo os materiais avançados de micélio um tema recente e este o primeiro projeto desenvolvido na instituição, foram encontrados no decorrer do trabalho um grande número de percalços, que originaram muitas questões e criaram oportunidades para a realização de estudos posteriores. As sugestões de projetos futuros dividem-se em duas áreas de estudo.

A primeira e de maior défice neste trabalho, consiste na realização de estudos biológicos de caracterização do crescimento de diferentes espécies de fungos, em diferentes substratos e com condições ambientais distintas. Estes estudos, a ser feitos, deveriam ser realizados por pessoas com a devida formação em áreas de biologia ou micro-organismos, podendo assim estar mais familiarizado e ter uma melhor visão de todos os processos e alternativas

envolvidas nesta etapa. Seria assim possível obter uma caracterização mais fundamentada ao nível celular das interações do micélio com o substrato e o meio ambiente.

A segunda área consiste na continuação do estudo de propriedades físicas de diferentes amostras de materiais avançados de micélio. É sugerido a realização dos mesmos ensaios presentes neste trabalho para novas amostras, visto terem demonstrado uma grande importância na caracterização dos materiais. É também relevante a realização de ensaios tradicionais de tensão, compressão e flexão. Seria assim possível obter uma vasta biblioteca com diferentes propriedades mecânicas de diferentes amostras de materiais avançados de micélio.

A interligação e cooperação entre as duas áreas de estudo potencializaram um desenvolvimento mais rápido e coeso na caracterização dos materiais avançados de micélio. Sendo possível posteriores projetos de modelação computacional do comportamento dos materiais avançados de micélio e de aplicabilidade em produtos,

Referências Bibliográficas

- [1] Gerald Scott (18 May 1999). Chapter I - Polymers in Modern Life
- [2] M. Alauddin, I.A. Choudhury, M.A. Baradie, M.S.J. Hashmi (1994). Plastics and their machining: a review, *Journal of Materials Processing Technology* 54
- [3] Fátima Barreiros. Apontamentos, Disciplina: Energia e Reciclagem nos Transportes, Tópico: Materiais e Reciclagem: plásticos. Mestrado em Engenharia Automóvel, Escola Superior de Tecnologia e Gestão. Leiria, 2018
- [4] Plastics Europe (2015), Plastics - the Facts 2014/15: An analysis of European latest plastics production, demand and waste data.
- [5] C. A. Bernardo, Carla L. Simões, and Lígia M. Costa Pinto (2016), Environmental and Economic Life Cycle Analysis of Plastic Waste Management Options. A Review
- [6] Hayden K. Webb, Jaimys Arnott, Russell J. Crawford and Elena P. Ivanova (28 December 2012). Plastic Degradation and Its Environmental Implications with Special Reference to Poly(ethylene terephthalate). A Review. *Polymers* 2013, 5, 1-18
- [7] Berrin Tansel, Banu Sizirici Yildiz (13 March 2011). Goal-based waste management strategy to reduce persistence of contaminants in leachate at municipal solid waste landfills, *Environ Dev Sustain*
- [8] V. K. Sinha; M. R. Patel; J. V. Patel (March 2010). Pet Waste Management by Chemical Recycling: A Review
- [9] Anthony L. Andrady. "Microplastics in the marine environment", *Marine Pollution Bulletin*, vol. 62, no. 8, pp. 1596-1605, August 2011
- [10] Müller, R.-J.; Kleeberg, I.; Deckwer, W.-D. "Biodegradation of polyesters containing aromatic constituents", *Journal of Biotechnology*, vol. 86, no. 2, pp. 87-95, April 2001
- [11] JosG.B. Derraik. "The pollution of the marine environment by plastic debris: A Review", *Marine Pollution Bulletin*, vol. 44, no.9, pp. 842–852, Sep 2002

- [12] Kanehiro, H., Tokai, T., Matuda, K. “Marine litter composition and distribution on the sea-bed of Tokyo Bay”, Janeiro 1995
- [13] Lee, K., Tanabe, S., Koh, C.. Contamination of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Sediments from Kyeonggi Bay and Nearby Areas, Korea
- [14] Dr. Wolfgang Jenseit, Dr. Hartmut Stahl, Dr. Volrad Woliny, Dr. Rolf Wittlinger, BASF (12 May 2003) Recovery options for plastics parts from End of Life vehicles-an eco-efficiency assessment.
- [15] American Chemistry Council Statement for the Record House Energy & Commerce Committee (22 September, 2016). “Midterm Review and Update on the Corporate Average Fuel Economy Program and Greenhouse Gas Emissions Standards for Motor Vehicles”
- [16] Klaus Bellmann, Anshuman Khare (3 May 1999). European response to issues in recycling car plastics, *Technovation* 19, 721–734
- [17] A. K. Mohantya, M. Misraa, G. Hinrichsen. “Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: An Overview”. *Macromolecular Materials and Engineering*. vol. 276/277 no. 1, Março 2000
- [18] Srikanth Pilla. “Engineering Applications of Bioplastics and Biocomposites-An Overview”, Setembro 2011
- [19] Penco, Arifur Rahman University of Brescia, Steven Verstichel, Bruno De Wilde Organic Waste Systems, Patrizia Cinelli, Andrea Lazzeri University of Pisa (September 2011). Biodegradable PLA/PC Copolymers for Automotive Applications Maurizio
- [20] European Bioplastics (January 2015). Bioplastics in the automotive market – Clear benefits and strong performance (Overview of materials and market development) - European Bioplastics
- [21] L. Shen; J. Haufe; K, Patel (2009). Product overview and market projection of emerging bio-based plastics, PRO-BIP
- [22] Muhammad Haneef, Luca Ceseracciu, Claudio Canale, Ilker S. Bayer, José A. HerediaGuerrero & Athanassia Athanassiou (24 Janeiro 2017). Advanced Materials From Fungal Mycelium: Fabrication and Tuning of Physical Properties.
- [23] Por: Françoise Pardos. Plastic Films: Situation and Outlook : a Rapra Market Report

- [24] Paola Bonfante & Andrea Genre (Published 27 Jul 2010). Mechanisms underlying beneficial plant – fungus interactions in mycorrhizal symbiosis
- [25] M. R. Islam, G. Tudryn, R. Bucinell, L. Schadler & R. C. Picu (20 September 2017). Morphology and mechanics of fungal
- [26] José Ruiz-Herrera. *Fungal Cell Wall; Structure, Synthesis, and Assembly*, Second Edition, CRC Press, Outubro 2016
- [27] Freek V. W. Appels, Jan Dijksterhuis, Catherine E. Lukasiewicz, Kaspar M. B. Jansen, Han A. B. Wösten & Pauline Krijgsheld. “Hydrophobin gene deletion and environmental growth conditions impact mechanical properties of mycelium by affecting the density of the material”, Março 2018
- [28] Lelivelt, R.J.J. “The mechanical possibilities of mycelium materials” Department of the Built Environment, Eindhoven University of Technology, 31 Março 2015
- [29] Anja Geitmann, A.M.C. Emons, “The cytoskeleton in plant and fungal tip growth”, *Journal of Microscopy* vol. 198, no. 3, pp. 218-245, Julho 2000
- [30] Freek V.W. Appels, Serena Camere, Maurizio Montali, Elvin Karana, Kaspar M.B., Jan Dijksterhuis, Pauline Krijgsheld, Han A.B. Wosten. “Fabrication factors influencing mechanical, moisture and water-related properties of mycelium-based composites”. *Materials and Design*, vol. 161, no. 5, pp. 64-71, Janeiro 2019
- [31] Maurice Conti, “The incredible inventions of intuitive AI”, palestra de TEDxPortland, disponível: <https://www.youtube.com/watch?v=aR5N2JI8k14>, visitado: 2018
- [32] C. van der Horst, Interviewee, company visit to CNC substrate productions. [Interview by Lelivelt, R.J.J.]. 30 August 2014.
- [33] H. Wösten, Interviewee, Alternate mycelium applications. [Interview by Lelivelt, R.J.J.]. 1 May 2014.
- [34] “How to Pasteurize Straw for Growing Mushrooms” disponível: <https://www.mushroom-appreciation.com/pasteurize.html>, (visitado em 8 Nov 2018)
- [35] Catherine Jameson T.J. Thomas Robert Williams (August 8, 2014). Mycelium Material Study (studio Murmur)
- [36] “A Walk Through the Evolution of a New Product” disponível: <https://ecovatedesign.com/blog/166> (visitado em 8 Nov 2018)
- [37] ”How to Make Your Own Growth Forms” <https://ecovatedesign.com/blog/183> (visitado em 8 Nov 2018)

- [38] “Designers of the VNVSVAL” disponível: <http://www.ericklarenbeek.com/> (consultado em Maio 2018)
- [39] - Philip Ross, San Francisco. method for producing fungus CA (US) - Pub. No.: US 2012/0135504 A1 - May 31, 2012
- [40] A. W. Coats and J. P. Redfern. “Thermogravimetric analysis. A review” *Analyst*, vol. 88, pp. 906-924,
- [41] G. W. H. Höhne . W. F. Hemminger H.-J. Flammersheim Differential Scanning Calorimetry 2nd revised and enlarged edition
- [42] Yuehua Yuan and T. Randall Lee (2013). Chapter 1 Contact Angle and Wetting Properties– Surface Science Techniques
- [43] N. Saba a , M. Jawaid , Othman Y. Allothman , M.T. Paridah. A review on dynamic mechanical properties of natural fibre reinforced polymer composites
- [44] Erik Melldahl, Project: “Maasaica. Designed Beyond Mobility”. Umeå Institute of Design 2015

