

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

Luz Alba Ballén Sierra

**DESENVOLVENDO MICOCOMPÓSITOS A PARTIR DE ADITIVOS E
REJEITOS MINERAIS, RESÍDUOS AGRÍCOLAS E ISOLADOS DA
FAMÍLIA GANODERMATACEAE (FUNGI, BASIDIOMYCOTA) DE
ORIGEM BRASILEIRA.**

Belo Horizonte

2023

LUZ ALBA BALLÉN SIERRA

DESENVOLVENDO MICOCOMPÓSITOS A PARTIR DE ADITIVOS E REJEITOS MINERAIS, RESÍDUOS AGRÍCOLAS E ISOLADOS DA FAMÍLIA GANODERMATACEAE (FUNGI BASIDIOMYCOTA) DE ORIGEM BRASILEIRA.

Versão final

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito para a obtenção do título de Doutora em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Aristóteles Góes Neto

Co-orientadores:

Prof. Dr. Rochel Montero Lago
(Departamento de Química, UFMG) ;

Prof^a. Dr^a. Fernanda Badotti
(Departamento de Química, CEFET-MG)

Belo Horizonte

2023

043

Sierra, Luz Alba Ballén.

Desenvolvendo micocompósitos a partir de aditivos e rejeitos minerais, resíduos agrícolas e isolados da família Ganodermataceae (Fungi, Basidiomycota) de origem brasileira [manuscrito] / Luz Alba Ballén Sierra. – 2022.

180 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Aristóteles Góes Neto. Co-orientadores: Prof. Dr. Rochel Montero Lago; Prof^a. Dr^a. Fernanda Badotti.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia.

1. Microbiologia. 2. Fungos. 3. Resinas Compostas. 4. Ganoderma. I. Góes Neto, Aristóteles. II. Lago, Rochel Montero. III. Badotti, Fernanda. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. V. Título.

CDU: 579



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

ATA DE DEFESA DE TESE

ATA DA DEFESA DE TESE DE LUZ ALBA BALLÉN SIERRA

Nº REGISTRO: 2016751805

Às 08:10 horas do dia **30 de junho de 2022**, reuniu-se, por via remota, a Comissão Examinadora composta pelos Drs. Maria Aparecida de Resende Stoianoff (Departamento de Microbiologia/ICB/UFMG), Angela de Mello Ferreira (Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, CEFET), Ana Paula Trovatti Uetanabaro (Universidade Estadual de Santa Cruz), Profa. Dra. Elizabeth Amelia Alves Duarte (Centro Universitário Maria Milza, UNIMAM), Prof. Dr. Aristóteles Góes Neto (Orientador), Profa. Dra. Fernanda Badotti (Coorientadora) e Profa. Dra. Rochel Montero Lago (Coorientadora), para julgar o trabalho final **“Desenvolvendo micocompósitos a partir de aditivos e rejeitos minerais, resíduos agrícolas e isolados da família Ganodermataceae (Fungi Basidiomycota) de origem brasileira”** da aluna **Luz Alba Ballén Sierra**, requisito final para a obtenção do Grau de **DOUTORA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA**. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Dr. Aristóteles Góes Neto, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata, para a apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos Examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição de resultado final. A candidata foi considerada **APROVADA**. O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. A candidata tem 60 (sessenta) dias, a partir desta data, para entregar a versão final da tese ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia da UFMG e requerer seu diploma.

Membros da Banca:

Profa. Dra. Maria Aparecida de Resende Stoianoff

Profa. Dra. Angela de Mello Ferreira

Profa. Dra. Ana Paula Trovatti Uetanabaro

Profa. Dra. Elizabeth Amelia Alves Duarte

De acordo:

Prof. Dr. Aristóteles Góes Neto

(Orientador)

Profa. Dra. Fernanda Badotti

(Coorientadora)

Profa. Dra. Rochel Montero Lago

(Coorientadora)

Profa. Daniele da Glória de Souza

*(Coordenadora do Programa de Pós-graduação
em Microbiologia)*



Documento assinado eletronicamente por **Daniele da Glória de Souza, Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 30/06/2022, às 14:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Paula Trovatti Uetanabaro, Usuário Externo**, em 30/06/2022, às 15:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Badotti, Usuário Externo**, em 30/06/2022, às 16:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Elizabeth Amélia Alves Duarte, Usuário Externo**, em 01/07/2022, às 22:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Aparecida de Resende Stoianoff, Professora Magistério Superior - Voluntária**, em 05/07/2022, às 09:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Angela de Mello Ferreira, Usuária Externa**, em 06/07/2022, às 16:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Aristoteles Goes Neto, Professor do Magistério Superior**, em 11/07/2022, às 08:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1515063** e o código CRC **164A735C**.

AGRADECIMENTOS

“A vontade de se tornar algo melhor a cada dia é o que faz do ser humano uma máquina de sonhar. Projetar idéias e desejos, lutar para transformar o que um dia foi um simples pensamento em uma situação real”.

Muitas pessoas participaram da realização deste trabalho e da minha formação como pessoa, como pesquisadora e acadêmica, seria impossível descrever a importância de cada uma durante essa trajetória, contudo, todos conseguiram deixar a sua marca na minha história.

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, aos Orishas, aos Encantados e a todas as formas e nomes que se deram para enxergar o amor inexplicável por aquilo que se ama.

Aos meus filhos Joshuah e Benjamin, saibam que os seus rostos apareciam na minha mente como uma força motivadora toda vez que eu pensei em desistir. Obrigada por me dar o melhor materno, não é fácil, o tempo parece curto demais, mais os seus sorrisos valem muito a pena.

A minha família, aos meus amigos e amigas tanto da Colômbia como do Brasil. As políticas de educação pública e de qualidade no Brasil, representada pelos servidores públicos e pelo financiamento, obrigada pela oportunidade, espero retornar isto de muitas formas. A CAPES pelo financiamento, por reconhecer e apoiar que sim podemos materno e sermos mulheres na ciência.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Biologia Molecular e Computacional de Fungos, pelos bons momentos e lutas nestes anos de doutorado. Gostaria de agradecer em especial ao Marcelo, Thairine, Paula, Felipe, Gabriel, Sabrina, Mike, Marcela, Lucas, Val, Dani, Glen, Camila e perdão pelos que me esqueço agora.

Ari obrigada do fundo do meu coração pela amizade, pela confiança, pelo financiamento e por não me deixar desistir, mesmo sabendo que tinha todos os motivos certos para tomar a decisão, com você descobri o tipo de pessoa, professora e pesquisadora quero ser. Gracias

RESUMO

Recentes avanços tem surgido com relação ao desenvolvimento de micocompósitos, atendendo às questões de sustentabilidade e meio ambiente. Estes materiais usam como princípio as características agregativas dos sistemas de hifas dos fungos, que crescem sobre o substrato, gerando um material leve e resistente, características que viabilizam o seu uso em diversos setores industriais, com potencial para substituir poliestireno, couro, papel entre outros. Variáveis no desenvolvimento destes materiais como a escolha do isolado fúngico e dos substratos podem influenciar nas características do produto final. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a melhor combinação de resíduos agroindustriais (i) originados do processo de desfibramento do sisal (*Agave sisalana*), (ii) derivados da industrialização da fibra, e (iii) o resíduo do cultivo de dendê com o uso de aditivos minerais, como o rejeito de mineração, para o crescimento de vários isolados fúngicos: *Ganoderma lucidum* CCMB 601, *Ganoderma* sp. DHCR 356, *Ganoderma* sp. DHCR 379 e *Ganoderma australe* CCMB 456, visando ao desenvolvimento de micocompósitos passíveis de uso na construção civil. Neste estudo, apresentamos os resultados da caracterização físico-química, tanto dos substratos quanto dos aditivos, e o efeito dos mesmos sobre o crescimento dos fungos. Como resultados, foram observadas a diferença no crescimento quando usado 100% de resíduo de dendê como substrato. Nas misturas de substrato, na maioria dos casos, pode ser utilizado até 25% de pó de bateadeira (resíduo da industrialização da fibra de sisal) sem alterar a significância estatística. Quando usamos aditivos minerais individualmente, todos apresentaram um efeito significativo no crescimento, mas o mineral filito apresentou uma influência maior no crescimento dos fungos. Pela sua composição, este aditivo destaca-se pela sua alta quantidade de de óxido de alumínio e baixa de óxido, quando comparado aos demais resíduos minerais. Devido a significância de todos os aditivos, valor econômico baixo (ou inexistente) e ao apelo ambiental, foram selecionados o filito e o rejeito de mineração de ferro para testes posteriores. Em relação ao comportamento mecânico, nos testes de termogravimetria, flexão e compressão, foi constatado que os aditivos minerais têm efeito no comportamento mecânico do material, funcionando como moduladores. Desta forma, o uso do aditivo, seja filito ou rejeito de mineração, aumenta de forma crescente a densidade dos materiais, aumenta a resistência à compressão, e diminui a resistência à flexão do material. A análise da termogravimetria mostrou ainda que o aditivo filito tem um efeito protetor na queima do material, retardando a perda de massa enquanto

há o aumento da temperatura, o que é relevante para materiais em que a propriedade de resistência a ignição seja requerida. No entanto, testes específicos devem ser ainda realizados futuramente. Além disso, análises micro e macroscópicas mostraram que nem o rejeito de mineração nem o filito provocam mudanças negativas na agregação do micélio, como o esperado. Também foi estabelecida uma técnica alternativa para a avaliação qualitativa dos micocompósitos: coloração de *calcofluor white*, um marcador de fluorescência não específico que se liga a celulose e quitina. Para se determinar qualitativamente o grau de agregação do material e a afinidade do fungos pela mistura usada como substrato, o *calcofluor white* associado à microscopia de fluorescência é um técnica promissora, viável (rápido preparo e análise) e econômica quando comparada ao MEV(Microscopia Eletrônica de Varredura). O isolado *G. lucidum* CCMB601 foi utilizado para os testes mecânicos pelo seu rápido crescimento e maior adensamento micelial, mas o isolado *Ganoderma* sp. DHCR 379 também apresentou comportamento semelhante e pode ser uma escolha promissora para testes futuros.

Palavras-chave: micocompósitos, filito, resíduos de minério de ferro, propriedades mecânicas.

ABSTRACT

Recent advances on the development of myco-composites have emerged given the current sustainability and environment issues. These materials are based on the aggregative characteristics of the hyphal systems of fungi, which grow on the substrate, generating light and resistant materials, characteristics that enable their use in several industrial fields, with potential to replace polystyrene, leather, paper, among others. Variables in the development of these materials, such as the selection of fungal isolate and substrates, can influence the characteristics of the final product. The aims of this work were to evaluate the best combination of agro-industrial residues (i) those originated from the sisal shredding process (*Agave sisalana*), (ii) those derived from the fiber industrialization, and (iii) the residue from oil palm cultivation with the use of mineral additives, such as mining waste, for the growth of several fungal isolates: *Ganoderma lucidum* CCMB 601, *Ganoderma* sp. DHCR 356, *Ganoderma* sp. DHCR 379, and *Ganoderma australe* CCMB 456, focusing on the development of myco-composites that can be potentially used in the civil construction field. When using mineral additives individually, all additives positively influenced the fungal growth, but phyllite mineral showed a greater influence on the growth of fungi. Regarding its composition, phyllite stands out for its high composition of magnesium oxide and low composition of aluminum oxide when compared to other mineral residues. Due to the significance of all additives, the low economic value (or non-existent), and environmental appeal, phyllite and mining waste were selected for further tests. Regarding the mechanical behavior, in the thermogravimetry, bending, and compression tests we verified that the mineral additives have an effect on the mechanical behavior of the material, functioning as modulators. Thus, the use of the additives, both phyllite and mining waste, directly increased the density of materials, increased the compressive strength, and decreased the flexural strength of the material. The thermogravimetric analysis showed that the phyllite additive has a protective effect on the burning of the material, delaying the loss of mass while temperature increases, which is relevant for materials in which the ignition resistance is required; however more specific tests must be performed. Moreover, micro and macroscopic analyzes demonstrated that neither phyllite or mining waste caused higher mycelium aggregation, as expected. We also established here a promising alternative technique for qualitative evaluation of myco-composites: fluorescence microscopy using calcofluor white, a non-specific fluorochrome that binds to cellulose and chitin in cell

walls. For qualitatively determine the degree of aggregation of the material and the affinity of the fungi for the substrate used as a matrix, the calcofluor white stain is more viable (fast preparation and evaluation) and cheaper compared to the scanning microscope. The *G. lucidum* CCMB601 isolate was used for mechanical tests due to its rapid growth and greater mycelial density, but the *Ganoderma* sp. DHCR 379 isolate also had similar behavior, and can be a promising choice for further tests.

Keywords: mycocomposites; phyllite; mining waste; mechanical properties.

SUMARIO

INTRODUÇÃO GERAL	10
RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	11
OBJETIVOS	12
Objetivo geral.....	12
Objetivos específicos	12
CAPÍTULO 1	13
Current and future perspectives for the use of fungal-based materials in the biomaterial production/industry	13
CAPÍTULO 2	67
Desenvolvendo micocompósitos a partir de aditivos e rejeitos minerais, resíduos agrícolas e isolados da família Ganodermataceae (Fungi Basidiomycota) de origem brasileira	67
REFERENCIAL TEÓRICO	68
MATERIAL E MÉTODOS	89
RESULTADOS E DISCUSSÃO	102
CONCLUSÕES	138
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	140
APENDICES	150
CAPÍTULO 3	164
Deposito da patente de invenção, intitulada “Micocompósitos De Resíduos Agrícolas Contendo Aditivos De Origem Mineral, Processo De Obtenção E Uso” com numero de processo BR 10 2020 013568 6 ante o Instituto Nacional de Propriedade Industrial, este deposito foi com apoio da Coordenadoria de Transferência e Inovação Tecnológica (CTIT)	164
DISCUSSÃO INTEGRADA	165
CONCLUSÃO	169
PERSPECTIVAS	171

ANEXOS.....	172
Anexo A - Resumos em anais de congressos (n= 2).....	172
Anexo B - Capítulos de libro publicado e aceitos para publicação (n=2)	172
Anexo C - Patentes (n=1)	173
Anexo D - Submissão de projetos (n=5).....	173
Anexo E - Prêmios e títulos (n=1)	173
Anexo F - Formação Complementar (n=7)	174
Anexo G - Participação em bancas de trabalhos de conclusão - Trabalhos de conclusão de curso de graduação (n=2).....	174
Anexo H - Participação em eventos (n=14)	175
Anexo I - Outros (n=1).....	176

FORMATAÇÃO DA TESE

Esta tese é composta por uma introdução geral, justificativa e relevância, objetivos, capítulos específicos, discussão integrativa, conclusões finais e perspectivas do projeto. O capítulo um refere-se a uma revisão da literatura sobre os materiais derivados de micélio como uma proposta em criar uma classificação para estes materiais, tentar unificar os nomes e abordar as normas técnicas usadas para a caracterização dos mesmos. Este trabalho está em revisão para submissão. O capítulo dois trata sobre o desenvolvimento de micocompósitos a partir de aditivos e rejeitos minerais, resíduos agrícolas e isolados da família Ganodermataceae (Fungi Basidiomycota) de origem brasileira. Neste trabalho são apresentados os dados exploratórios obtidos até agosto de 2021, em que pese a todos os desafios antepostos pela pandemia por Covid-19. Cabe esclarecer que até a submissão da proposta deste trabalho como projeto de tese e avaliação de qualificação não se tinha nenhum estudo sobre o uso de aditivos minerais como substrato ou suporte de crescimento no desenvolvimento de micocompósitos. O capítulo três trata sobre o depósito da patente de invenção, intitulada “Micocompósitos De Resíduos Agrícolas Contendo Aditivos De Origem Mineral, Processo De Obtenção E Uso” com número de processo BR 10 2020 013568 6 ante o Instituto Nacional de Propriedade Industrial, este depósito foi realizado com apoio da Coordenadoria de Transferência e Inovação Tecnológica (CTIT) via tratado de cooperação em matéria de patentes (PST). A discussão integrada, as conclusões e as perspectivas do trabalho são encontradas após os três capítulos.

INTRODUÇÃO GERAL

Novos materiais vêm sendo produzidos para atender as demandas por produtos sustentáveis e ambientalmente corretos, sendo que os principais esforços tem se concentrado em substituir materiais de origem petroquímica como o isopor ou o plástico por novos materiais que sejam biodegradáveis.

Micocompósitos são biocompósitos que aproveitam as características agregativas do micélio fúngico, obtendo-se como produto final uma massa agregada que, quando seca, apresenta características mecânicas importantes de flexibilidade e resistência à compactação (ELSACKER *et al.*, 2019; GIROMETTA *et al.*, 2019; JONES, MITCHELL *et al.*, 2017; LELIVELT *et al.*, 2015).

O Brasil é um grande produtor agrícola mundial, desta forma, tecnologias que permitam o aproveitamento e beneficiamento de resíduos negligenciados e considerados passivos ambientais são de grande interesse para comunidades produtoras, agregando valor a tais resíduos. De forma semelhante, a indústria de mineração produz enorme quantidade de rejeitos, pedras e minerais de baixo valor que são usualmente acumulados no ambiente (DONINI *et al.*, 2006; SILVA, 2006; IBRAM, 2016).

Com o desenvolvimento deste trabalho pretende-se agregar valor aos resíduos agrícolas e de mineração no desenvolvimento de micocompósitos. Resíduos agroindustriais de sisal (*Agave sisalana*) e de dendê (*Elaeis guineenses*) foram utilizados como substrato, enquanto que resíduos minerais, como rejeito de mineração do minério de ferro, serpentinito, filito e metapiroxenito, foram utilizados como aditivo ou suporte para o crescimento de diferentes isolados fúngicos da família Ganodermataceae. Diferentes combinações de fungos, substratos e aditivos foram testados para o desenvolvimento de micocompósitos passíveis de uso doméstico ou arquitetônico. Portanto, este projeto tem por objetivo principal contribuir com a redução dos problemas ambientais gerados pelo acúmulo de resíduos agrícolas e minerais por meio da utilização dos mesmos como componentes de novos biomateriais: os micocompósitos.

RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

O uso de fontes não renováveis de energia contribui significativamente para a poluição ambiental, impactando de forma negativa o equilíbrio e a sobrevivência das espécies. Neste trabalho, foram desenvolvidos protótipos de micocompósitos que permitam o uso de substratos negligenciados, especificamente os resíduos de processamento do dendê e os resíduos do processamento de beneficiamento da fibra de sisal. O uso de estes resíduos, além de ajudar a melhorar os problemas ambientais gerados pelo depósito a céu aberto destes materiais, também contribuem com o fechamento da cadeia produtiva (economia circular) do dendezeiro e do sisal, beneficiando o produtor rural pela agregação de valor aos resíduos. Além dos resíduos agrícolas, foram utilizados aditivos de origem mineral como substratos ou suportes para o crescimento do fungo, contribuindo para a redução do volume de rejeitos de mineração e agregando valor a minerais negligenciados como o serpentinito, metapiroxenito, e o filito, escolhidos pela sua composição mineral, disposição e problemáticas anteriormente citadas.

Os fungos do gênero *Ganoderma* (Basidiomycota) apresentam conhecido potencial de degradação de resíduos agro-industriais. Além disso, em função do sistema de hifas que esses fungos apresentam, mostram-se promissores quanto à capacidade de agregação do substrato e dos aditivos que compõem os micocompósitos. A escolha tanto dos resíduos como dos aditivos foi pela proximidade dos grupos de pesquisa associados ao LBMCF, que trabalham nas áreas de tecnologia e inovação da cultura do sisal e de dendê. Estes grupos de pesquisa compartilham o objetivo de agregar valor a passivos ambientais, permitindo a geração de novas soluções biotecnológicas que possam ser integradas a processos produtivos já existentes.

A aplicação dos micocompósitos está diretamente relacionada com suas propriedades mecânicas. Desta forma, foi constatado que o uso de resíduos de dendê e sisal isoladamente já resultam em um material com uma resistência a flexão relevante que deve ser melhor estudada. Por outro lado, o uso de aditivos de origem mineral tem um efeito positivo diretamente proporcional sobre a densidade e a resistência a compactação e inversamente proporcional para a flexão: quanto maior o uso de aditivos, menor a flexão do material. As características mecânicas observadas viabilizariam a utilização de micocompósitos no setor da construção civil, como isolantes térmicos ou acústicos, bem como materiais com outras aplicações em vista da variabilidade dada pelo uso dos aditivos.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a melhor combinação de resíduos agroindustriais e aditivos minerais para o crescimento dos isolados fúngicos *Ganoderma lucidum* CCMB601, *Ganoderma* sp. DHCR 356, *Ganoderma* sp. DHCR 379 e *Ganoderma australe* CCMB 456, visando ao desenvolvimento de micocompósitos passíveis de uso na construção civil.

Objetivos específicos

- Compreender a estruturação teórica dos materiais derivados de micélio
- Revisar a literatura para uma melhor compreensão sobre o que se tem feito sobre micocompósitos
- Determinar as características físico-químicas dos resíduos de dendê, de desfibramento de folhas de sisal e os do beneficiamento das fibras secas de sisal, entendendo este como parâmetro importante no desenvolvimento do micocompósito aqui tratados;
- Determinar a composição química dos minerais serpentinito, filito e metapiroxenito, e do rejeito de mineração de ferro, que cumprem a função de aditivos no desenvolvimento do micocompósitos tratado nesta tese;
- Avaliar o melhor substrato ou mistura de substratos, bem como a melhor combinação substrato(s)-fungo-aditivo(s) que permitam o crescimento dos isolados fúngicos no menor tempo (dias) para o posterior desenvolvimento do micocompósito;
- Produzir protótipos dos micocompósitos utilizando as condições de crescimento predeterminadas;
- Determinar o efeito dos melhores aditivos no comportamento mecânico dos micocompósitos

CAPÍTULO 1

Current and future perspectives for the use of fungal-based materials in the biomaterial production/industry

Current situation and future perspectives for the use of fungi in the biomaterial industry and proposal for a new classification of fungal-derived materials

Luz Alba Ballen Sierra¹, Thairine Mendes-Pereira¹, Glen Jasper Yupanqui García², Carla Queiroga Werkhaizer³, Juliana Barros Rezende³, Thiago Augusto Borges Rodrigues³, Fernanda Badotti⁴, Emanuelle Santos de Carvalho Cardoso⁵, Andréa Miura da Costa⁵, Ana Paula Trovatti Uetanabaro^{1,5}, Maria Teresa Paulino Aguilar⁶, Aristóteles Góes-Neto^{1,2,3}

1 Department of Microbiology, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

2 Graduate Program in Bioinformatics, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

3 Graduate Program of Technological Innovation, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

4 Department of Chemistry, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

5 Department of Biological Science, Universidade Federal de Santa Cruz, Ilhéus, BA, Brazil

6 School of Engineering, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

Corresponding Author:

Aristóteles Góes-Neto^{1,2,3}

Laboratory of Molecular and Computational Biology of Fungi, Department of Microbiology, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 31270-901, Brazil.

Email address: arigoesneto@icb.ufmg.br

Abstract

The fungi have been recently drawing the attention of both scientific community and society for their diverse applications for developing new biomaterials derived from fungal mycelium. The self-constructing and aggregating mycelial networks can be used to produce several new biomaterials, both in conjunction with other organic/inorganic materials or in a pure state. Recent advances on the development of mycomaterials have emerged given their sustainability and their mechanical, thermogravimetric, or compression properties, which can mitigate the use of some substrates related to environmental issues in the industry. After a standardized review, not only have we critically revised the entire scientific literature on mycomaterials, whose publications are utterly scattered in several areas (biological, health, agriculture, engineering, and material science), but also propose a whole new classification proposal of these fungal-derived materials to help structure and standardize this quite new transdisciplinary knowledge field.

Keywords: biological materials, fungi, mycelium, mycomaterials, bioindustry.

Introduction

Fungi are a highly diverse group of organisms, occurring in all kinds of habitats on the planet and with high biotechnological importance in the industry. They have recently called the attention of the scientific community and society for their applications in the development of new biomaterials (Hyde et al., 2019; Appels et al., 2020). Biomaterials derived from fungal mycelium are a recent type of material that takes advantage of the mycelial interlocking self-aggregating networks and can be explored to offer more competitive and environmentally friendly, and self-regenerative products to the market (Camere & Karana, 2017; Kavanagh, 2017; Karana et al., 2018; Gandia et al., 2021). Moreover, materials derived from mycelial fungi represent an alternative dissociation of products of petrochemical origin, which is a very significant aspect of sustainable development and innovation (Faruk et al., 2012; Koronis, Silva & Fontul, 2013; Lelivelt et al., 2015; Appels et al., 2020). The search for better solutions and opportunities for these alternative biomaterials has led to a growing increase in scientific production (deeply analyzed in the current study), resulting in options for improving the initially proposed materials as well as the emergence of new types of materials with various applications.

The rationale of our study is to offer a standardized classification proposal for these fungal-derived materials and, thus, offer help to the audience of all researchers who are interested in the subject, understanding its importance as a modern example of transdisciplinarity, in the way it will be addressed: i) composite materials, comprising mycocomposites and hybrid materials derived from mycelium; and ii) pure materials, which encompass materials such as films and foams of pure mycelium and microfilament materials of chitin derived from mycelia. More recently, an intersection between the hybrids and the pure ones has arisen, which contemplates the inclusion of additives on the pure mycelia to improve the mechanical characteristics, the latter will also be addressed in the current study.

Initially, the basic components to produce materials of fungal origin or mycomaterials will be addressed, namely fungi, substrates, additives, and the enzymes and fermentation methods commonly used for their processing. Next, the proposed classification will be directed to the corresponding definition and most relevant parameters for the production of bio-based materials.

The Fungi

Fungi is a very versatile and diverse group of eukaryotic organisms concerning their structural and functional biology, which is evidenced in their key role in the decomposition of organic matter, carbon cycle, and nutrients, as saprotrophs of free life, in obligate mutualistic relationships, and as parasites/pathogens (Mosquera, 2007; Blackwell, 2011; Badotti et al., 2017; Tedersoo et al., 2018). Furthermore, there are estimates of up to 3.8 million fungal species, making this kingdom the second largest group of organisms, second only to insects (Hawksworth & Lücking, 2017). Nonetheless, only approximately 145,000 species were described, and this number is increasing due to the advancement and association between the different fungal identification methods (Aragão, 2015; Badotti et al., 2017). Consequently, new fungal species discoveries have led to an increase in the production of taxonomic data and to further refinement in fungal description and reclassification (Blackwell, 2011; Badotti et al., 2017; Tedersoo et al., 2018; Tomé et al., 2019).

Regarding the morphology of their cells, fungi can exhibit a somatic phase in the unicellular and pluricellular (or hyphal) forms. The yeast-like phase comprises single, delimited, and small cells (Esposito & Azevedo, 2004). The hyphal phase, which mycomaterials (*i.e.* fungal-based materials) are made of, has elongated and cylindrical cells that extend continuously from their ends (apical growth). Depending on the interaction of the physical-chemical environment and the set of hyphae, called mycelium, which corresponds to the fungal body, it can be long or diffuse, short or branched, or both (Esposito & Azevedo, 2004; Girometta et al., 2019). These traits can be related to features such as the strength and cohesion of the final product based on the mycomaterial. Delimiting the intracellular content and the external environment is the role of the cell wall of the fungal hyphae, which consists of glucans, chitin, and proteins (mainly mannoproteins), with ergosterol as the main constituent of the plasma membrane (Free, 2013). The cell wall performs functions such as giving rigidity and shape, allowing metabolism and ion exchange and is responsible for interactions with other organisms or materials (Free, 2013; Money, 2016).

To grow, fungi require an organic source of carbon and energy as well as nitrogen, phosphorus, sulfur, magnesium, potassium, and calcium, among other elements in different proportions (Money, 2016). The processes for obtaining these elements are diverse and take place mainly due to enzymatic mechanisms, such as those that occur in the degradation of plant biomass, which is carried out mainly by Basidiomycota fungi (Peralta et al., 2017; Ferreira et al., 2018; Tomé et al., 2019).

Usually, mycomaterials are produced from substrates derived from organic supports of plants, or agro-industrial residues. The composition of plant tissues varies depending on the species, but, in general, they are made up of cellulose, hemicelluloses, and lignin (Motta et al., 2018). More commonly, several agro-industrial residues have been studied for the growth of fungi for the production of bioactive compounds, such as phenolic compounds, antioxidants (Torres-León et al., 2019), and enzymes (de Souza et al., 2006; Anto, Trivedi & Patel, 2006; Singh, Kapoor & Kumar, 2012; Diaz et al., 2016), but also mycelium-based composites (de Lima et al., 2020). The fungal decomposition process results in a higher degradation pattern of lignocellulosic substances of agro-industrial residues, as is evident from the breakdown of the plant cell wall constituents as well as the increase in fungal enzyme activities.

The development of fungi on these residues is influenced by the production of enzymes that occur due to hydrolytic enzymes that enable them to grow on the surface and penetrate the intraparticle spaces to colonize all the substrate that is probably related to its composition (Geethanjali, Gowtham & Jayashankar, 2020). Studies carried out with *Pleurotus pulmonarius*, a Basidiomycota (Agaricomycetes) species, showed that the type of residue used for fermentation (wheat straw, corn straw, and soybean straw) directly influences the development of the fungus as mycelial growth rate, stipe length, pileus length, pileus width, and time to harvest (Wu et al., 2019). The areca husk, coffee husk, and paddy straw also are effectively used to grow ligninolytic fungi that showed high degradation of these wastes due to enzymatic action, such as laccase, manganese peroxidase (MnP), lignin peroxidase (LiP), and also carboxymethyl cellulase (CMCase) (Geethanjali, Gowtham & Jayashankar, 2020). Therefore, the complete degradation process of the agro-industrial waste by the filamentous fungi hyphae occurs due to its hydrolytic enzymes that enable them to grow on the substrate's surface and penetrate the intraparticle spaces to colonize all the substrate.

Basidiomycota is the most common fungal group for working with mycomaterials. The Phylum Basidiomycota is the second largest in the Kingdom Fungi (Blackwell, 2011; Tedersoo et al., 2018). This phylum contains macroscopic (mushroom) and microscopic unicellular (yeast) species, which stands out for their role in the carbon biogeochemical cycle as powerful wood decomposers. They are also present in different symbiotic relationships and as pathogens of other fungi, plants, and animals (Blackwell, 2011; Tomé et al., 2019). According to the type of wood decomposition, basidiomycota fungi have been classified as white-rot fungi (decomposing the three components of wood: cellulose, hemicellulose, and lignin) and brown-rot fungi (decomposing only cellulose and hemicellulose, but also modifying the lignin), which is related to the highly efficient enzymatic repertoire in these organisms (Peralta et al., 2017; Ferreira et al., 2018).

Basidiomycotan fungi have enzymatic and non-enzymatic mechanisms to degrade lignocellulosic biomass (Pelletier et al., 2013; Girometta et al., 2019). The enzymatic ones are two types, the first is an important hydrolytic system in the degradation of polysaccharides, which contains carbohydrate-active enzymes such as xylanases and cellulases, and the second is an oxidative ligninolytic system, which encompasses peroxidases (Peralta et al., 2017; Ferreira et al., 2018). It is worth noting that both mechanisms are extracellular, occurring due to the development of mycelial

fungal hyphae on dense substrates (Pelletier et al., 2013; Peralta et al., 2017; Girometta et al., 2019), which can facilitate the handling of the fungal metabolites for different purposes.

The exceptional ligninolytic system of basidiomycota fungi has led these organisms and their metabolites to be used in different types of industries, such as food, pharmaceutical, textile, and biotechnological industries (Peralta et al., 2017; Badotti et al., 2017; Tomé et al., 2019). In this last application, this edge has generated great interest due to the use of fungal structures (e.g. mycelia) or subproducts (e.g. enzymes) in the development of different types of materials. These fungal-based materials, or more strictly, mycelial materials, can be classified as pure or composite materials. Among the composite mycelium materials, there are the mycocomposites – a blend formed by substrate and mycelia – and mycelium hybrid materials, which comprise, for instance, hybrid films. Alternatively, pure mycelial materials can comprise the mycelial skins, such as films or amadou; and fungal microfilaments, such as nanopapers, and nanofibrils (Figure 1). Usually, these fungal-based materials have great potential to replace materials of petrochemical origin, a source extensively recognized for their polluting profile (Jones et al., 2017; Girometta et al., 2019). In the development of new bio-based materials, there are several variables inherent to each species, type of substrates, and production system that enhance the generation of products with different characteristics and uses. We can highlight, for instance, characteristics that improve the use of these materials as structural, acoustic, insulating material, shock absorber, fire protection, biodegradable, flexible, rigid, absorbent, or water-resistant (Holt et al., 2012; Arifin & Yusuf, 2013; Pelletier et al., 2013, 2017; Lelivelt et al., 2015; Haneef et al., 2017).



Figure 1. Proposed classification of fungal-based materials, derived from the literature investigated in this review.

Survey methodology

A comprehensive review of the scientific literature was performed to investigate when bio-based materials have become a new and important field of biotechnology and to indicate the relevant terms for describing the bio-based materials. We followed the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) 2020 protocol as a standardized method for reporting a systematic review (Figure S1) (Page et al., 2021). We conducted the literature searches in February 2021 in three databases: Web of Science – Core Collection, Scopus (Elsevier), and PubMed. We performed four searches using the three databases, considering a group of keywords for each search separately, grouped in four main topics: ‘Fungal Microfilaments’, ‘Fungal Skin’, ‘Hybrid Material’, and ‘Mycocomposites’ (Figure 2A). All the selected keywords and search strategies are shown in Table S1. These keywords were also used to determine which terms are used as synonyms in the literature.

For each record identified through database searching (n=1425), we evaluated the title, the abstract, and their keywords. Results were exported and analyzed using two scripts developed in Python 3. Firstly, results were submitted in a unique format because they came from different sources. For this purpose, the *format_input.py* script (Jasper, 2022a) was developed. Then, the script filtered the records based on the DOI or the document title, creating an output file divided into unique records (with DOI), without DOI, and duplicated items. For removing duplicates, we used the script *remove_duplicates.py* (Jasper, 2022b). We added 20 studies that were not retrieved in

the database searches that we identified in the literature, totaling 1445 records. After removing duplications, we screened 890 studies considered appropriate for further investigation, according to our eligibility criteria. The eligibility criteria for inclusion of studies consisted of considering papers that present any term related to bio-based materials, such as those presented in Figure 1, without restrictions of date, file format, or language. We considered the ‘material application’, which is the field in which this bio-based material is used; and the ‘origin’ of the material, which includes only materials strictly derived from filamentous fungi (Table S2). We excluded 770 records that were not related to the four main topics, evaluated the remained 120 records, and included 109 studies in the systematic review, considering the topics fungal microfilaments (n = 12), fungal skin (n = 10), hybrid material (n = 17), and mycocomposites (n = 70).

We identified that the first term that raised in the literature was ‘mycocomposites’, after 2013 (Figure 2A), and is the most used term to describe composite materials based on mycelium. The other terms were published only in 2017. It is worth noticing that the literature cited by these papers is intimately connected and overlapped (Figure 2B), which indicates that the same study frequently describes more than one type of bio-based materials.

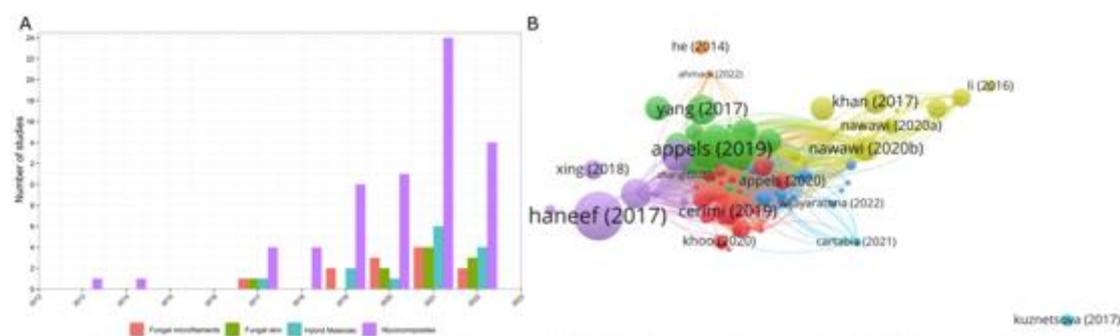


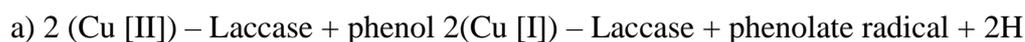
Figure 2. Scientific literature available in the field of biotechnology that discusses bio-based materials with the four most prevalent terms in literature. (A) The number of studies published by year; (B) Bibliographic coupling network of the connected papers, clustered in six main themes. Nodes represent papers and node size is proportional to the number of citations. Colors represent clusters of nodes constructed by connection strength.

Enzymes and Mycomaterials

Since the carbohydrate-active enzymes (CAZymes) produced by the wood-decaying fungi can promote the break of recalcitrant plant-based materials into subproducts of industrial interest, such as lignin, cellulose, and pectin, the production of these enzymes can be a focal point to be industrially exploited during the production of mycomaterials. A typical lignocellulolytic enzyme produced by basidiomycetes is laccase. It is commonly secreted by several genera, such as *Phanerochaete*, *Trametes*, *Pycnoporus*, *Nematoloma*, *Sporotrichum*, and *Stropharia*, with more than 125 different laccase-producing basidiomycetes genera described (Mikolasch & Schauer, 2009).

Fungal laccases are multi-copper oxidases with high versatility and low catalytic requirements, requiring only atmospheric O₂ for activation, and reducing it to water. This high redox potential, especially of certain basidiomycotan laccases, significantly increases their oxidation capacity compared to bacterial laccases, which provides these enzymes with a great potential for applications as biocatalysts in various biological activities related to the formation of pigments, degradation of lignin, detoxification, and pathogenesis. Moreover, the high industrial potential of these fungal-borne laccases is mainly due to their high capacity for relative non-specific oxidation, their independence from cofactors, and also by the use of available oxygen as an electron acceptor (de Salas & Camarero, 2021).

White-rot fungi are the most common laccase producers, and the major structural changes that occur by their action include demethylation, oxidation of carbon atoms, modification of the chains between carbon-carbon of the phenylpropane units, direct modifications of a chain arylglycerol-β-aryl ether, and hydroxylation and modification of aromatic rings. Laccases catalyze oxidation by extracting an electron from a phenolic substrate, generating a phenoxy radical (Kawai, Nakagawa & Ohashi, 2002).



The radicals formed act in non-catalytic reactions, such as radical coupling, deprotonation, and nucleophilic attack by water. Therefore, these multiple reactions produce polymerization, alkyl-aryl breaks, carbon oxidation, and demethylation (Kawai, Nakagawa & Ohashi, 2002).

In addition to laccase, enzymatic treatments of lignocellulosic materials with oxidases have also been reported, based on enzymatic oxidation and subsequent cross-linking of lignin and/or other plant-derived phenolics, such as tannins, promoting the modification of the chemical structure of lignin with exposure to these enzymes. The performance of peroxidase is similar to laccase; however, these require hydrogen peroxide as an electron acceptor. The most commonly used peroxidases for modifying lignocellulosic materials are lignin peroxidase (LiP), manganese peroxidase (MnP), versatile peroxidase (VP), and horseradish peroxidase (HRP) (Widsten & Kandelbauer, 2008).

The mechanism of action of MnP includes the oxidation of Mn^{2+} to Mn^{3+} , which oxidizes a wide range of phenolic lignin substrates. It also can oxidize non-phenolic structures, oxidize, and depolarize natural and synthetic lignin and recalcitrant compounds. On the other hand, LiP action involves the formation of cationic radicals through the oxidation of an electron, leading to side-chain cleavage, demethylation, intramolecular addition, and rearrangements. It also performs other oxidative processes such as hydroxylation of the methylene benzyl group, oxidation of benzyl alcohols, aldehydes, or ketones corresponding to the oxidation of phenol. Additionally, LiP also has an additional ability to oxidize a variety of phenolic compounds, with veratyl alcohol suggested as a redox mediator to improve lignin degradation activity. The enzyme catalytic cycle involves three main steps: (i) oxidation of the iron enzyme [Fe(III)] by hydrogen peroxide as an electron acceptor; (ii) the oxo-ferryl intermediate is reduced by a substrate molecule, which donates an electron to form the second intermediate, and (iii) subsequent donation of a second electron to compound II by the reduced substrate, returning the LiP to the oxidized ferric (Rekik et al., 2019).

Substrates for fungal growth and development of biomaterials

The agro-industrial activity is responsible for a large percentage of lignocellulosic residues that are still underutilized, such as palm oil residues, resulting from the defibration and processing of sisal, among other residues (Semedo, 2006; Moraes et al., 2017; Santos & Silva, 2018). For instance, only in Brazil, significant amounts of biomass are generated, and it is estimated that the volume may reach 1 Gt in 2030 (Moraes et al., 2017). The residues generated in the agro-industrial activity are useful for obtaining products for energy, food, and other biotechnological applications, as they are abundant, renewable, and cheap (de Siqueira et al., 2010; FitzPatrick et al., 2010; Jones et al., 2017).

Many approaches have been proposed to add value to agro-industrial waste, such as the development of materials derived from fungi since they can break plant-based substrates (de Siqueira et al., 2010; FitzPatrick et al., 2010; Jones, Huynh & John, 2018; Jones et al., 2020). In the production of these mycocomposites, the substrate can serve as the basic structure of the matrix for the material and as a source of nutrients for the growth of the fungus. Factors related to the size and structure of the substrate are relevant in the development of this type of material (Lelivelt et al., 2015; Pelletier et al., 2017; Girometta et al., 2019).

The type of substrate used for the growth of fungi can induce specific physiological and biochemical changes, influencing the density of cell biomass, which is reflected in the mechanical characteristics when it comes to the development of fungal-based materials (Elisashvili & Kvesitadze, 2005; Pelletier et al., 2013; Lelivelt et al., 2015; Girometta et al., 2019). Several substrates have been used for the growth of fungi belonging to Basidiomycota, aiming at products with different mechanical characteristics (Elisashvili & Kvesitadze, 2005; Pelletier et al., 2013; Jones et al., 2017; Girometta et al., 2019). For instance, when the same isolate of *Ganoderma lucidum* (strain CCMB601) was inoculated to substrates based on different concentrations of mining waste and palm oil residues (Figure 3) and incubated at the same conditions of temperature and humidity, the fungal mycelia grew and formed a different matrix depending upon the concentration of substrate particles (Figure 3; Sierra, *pers. obs.*). Fungal mycelium freely grew in control (without mining waste, Figure 3A) and in the presence of 50% of mining waste proportional to the substrate (substrate: mining waste = 2:1, Figure 3C) while in presence of 100% (substrate: mining waste = 1:1, Figure 3B)

and 200% of mining waste (substrate: mining waste = 1:2, Figure 3D), mycelium growth was reduced.

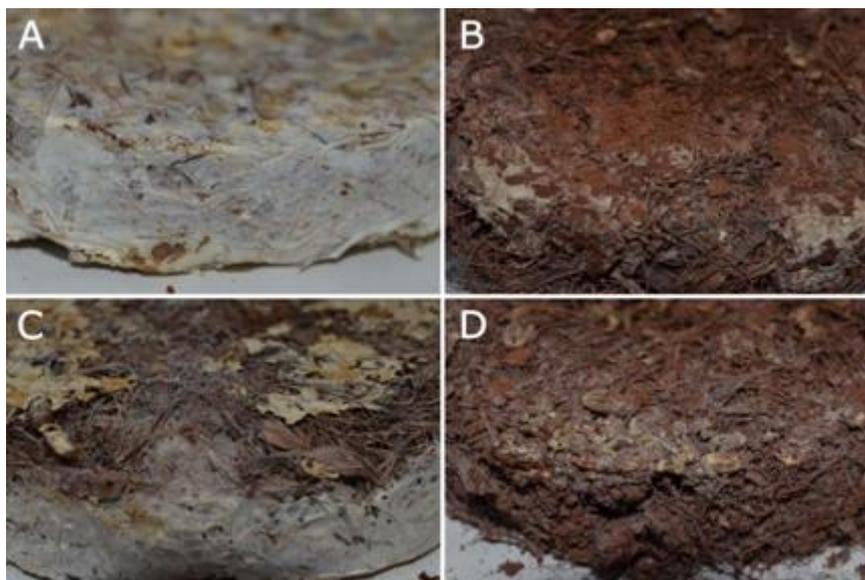


Figure 3. The same isolate of the fungus *Ganoderma lucidum* CCMB601 (Basidiomycota) growing on different substrates, with different compositions and sizes of particles: A) Palm oil residues; B) Palm oil residues associated with 100% of mining waste (1:1); C) Palm oil residues associated to 50% of mining waste (2:1); and D) Palm oil residues associated to 200% of mining waste (1:2). All substrates were incubated at the same temperature, time, and relative humidity, using the same size of mold.

Additives to enhance fungal growth on substrates

The use of additives for fungal growth is mostly addressed to supply macronutrients and/or micronutrients, often absent in the substrate, and their use, in many cases, represents a considerable increase in substrate colonization by fungal mycelia (Donini et al., 2006; Sánchez, 2010). In the development of materials derived from fungi, the use of additives has been explored in two ways, as a nutritional supplement or as growth support for fungi (Lelivelt et al., 2015; Jiang et al., 2016). For fungal growth, the use of additives is mainly to produce edible fungi, with preference being given to supplementation with wheat bran, sorghum, or corn, due to their rich content in carbon, nitrogen, and other elements (Donini et al., 2006; Sánchez, 2010; Menezes, 2014). As the additives directly influence fungal nutrition and growth, they induce mycelial production, contributing to improve the mechanical features of the final product (Bayer, McIntyre & Swersey, 2008; Arifin & Yusuf, 2013; Lelivelt et al., 2015).

Fungal production or growth systems for fungal-based material

Industrial-type systems for fungal growth have been developed, mainly to obtain the metabolites produced by them during growth. Such systems are called the fermentation process (or better-named bioprocess), which can be of the submerged (liquid) type (LSF) or in a solid state (SSF). Fermentation (or bioprocess) is the process that which a microorganism develops from a source of carbon and nutrients, aiming to obtain a product (Chahal, 1985; Mantovani et al., 2012; Chilakamarry et al., 2022).

The LSF occurs in the presence of water and usually with soluble substrates, and SSF occurs in the absence, or almost absence, of free water (Chahal, 1985; Mantovani et al., 2012; Chilakamarry et al., 2022). In SSF systems, growth takes place on the surface of the substrate, functioning as a source of growth and as a support, one of the advantages of these systems is the feasibility of using agro-industrial waste, especially for countries with an abundance of these kinds of wastes, such as Brazil, focusing on environmental sustainability (Chilakamarry et al., 2022). The use of these LSF and SSF systems is recently gaining new uses and is no longer limited only to the production of its metabolites but also to the direct improvement of the structure of the organism after growth, such as mushroom cultivation, mainly for the development of bio-derivative materials.

Fungal-based material

Materials derived from fungi, also considered bio-based, have been gradually positioning themselves within the area of Materials Science in an important way. The increasing interest in fungal-based materials is mainly due to the use of renewable raw materials, biodegradability, low energy consumption for their production, profitability potential, competitiveness with materials of petrochemical origin (cost-benefit ratio for the environment), and little generation of polluting waste; these being definitive factors in the circular economy and within sustainability policies (Macarthur, Waughray & Stuchtey, 2006; Jiang et al., 2016; Girometta et al., 2019; Appels et al., 2020; Appels & Wösten, 2021).

The development of materials derived from fungi is shown as a solution to the challenges posed by sustainability, mainly as a successful example of transdisciplinarity, partially overcoming some obstacles related to the standardization of the production process and the use of technical standards for characterization of the final product (Tejedor, Segalàs & Rosas-Casals, 2018; Girometta et al., 2019). Transdisciplinarity has allowed the integration of knowledge and collaboration between areas such as microbiology, design, and materials engineering. Moreover, it has led in a short time to the production of innovative and competitive materials of fungal origin in different markets, such as plastics, where EPS expanded polystyrene had a world market of 6.62 million tons for 2016 and is responsible for the large amount of plastic waste, which has already been found in coastal regions, and in the digestive system of eight species of fish (Macarthur, Waughray & Stuchtey, 2006; Tejedor, Segalàs & Rosas-Casals, 2018; Girometta et al., 2019; Appels et al., 2020; Song et al., 2020; Appels & Wösten, 2021).

Standards for the mechanical characterization of materials derived from fungi

The use of technical standards for the characterization of materials allows to determine the physical, chemical, and mechanical characteristics of the product, aiming to know the material and establish concomitantly the different applications. Its use seeks to standardize processes to reach reliable and reproducible results, thus achieving safe materials of quality and good performance (Luz & Almeida, 2012; Ratner et al., 2013). Different countries use specific standards according to their criteria and needs; however, it is common to use international standards that serve as a reference. An example is the standards established by the American Society for Testing and Materials (ASTM), which has around 12,800 voluntary agreements on globally applicable standards (Luz & Almeida, 2012; Ratner et al., 2013).

To date, no specific standards have been established for the characterization of materials derived from fungi; however, in some cases, the existing standards for synthetic materials are used, such as ASTM and ISO (Table 1), which together with discretion in the publication of data (due to the preference in the production of patents), have led to few reliable comparisons due to the variation of methods and standard settings (Holt et al., 2012; Girometta et al., 2019). It should be noted that, despite this type of materials being a recent and pioneering field, the standardization of production systems and know-how is being mostly in the hands of the companies that carry out the

economic exploitation of these materials, which is one of the great challenges for their industrial production (Girometta et al., 2019).

Table 1. ASTM and ISO standards used for the mechanical characterization of materials derived from fungi

Mechanical characteristic	Standards used	Reference
Bending by the three-point bending method to determine the stiffness of the material and the geometry of the material	- ASTM D7250 / D7250M-16 Standard Practice for Determining Sandwich Beam Flexural and Shear Stiffness - ASTM C393/C393M - 11e1 Standard Test Method for Core Shear Properties of Sandwich Constructions by Beam Flexure	[56]
Acoustic material properties, impedance, and absorption of acoustic materials	- ASTM E1050, 2010 Standard Test Method for Impedance and Absorption of Acoustical Materials Using a Tube, Two Microphone, and a Digital Frequency Analysis System. ASTM International - ISO 10534-1, 1996. Acoustics –Determination of Sound Absorption Coefficient and Impedance in Impedance Tubes Part 1: Method Using Standing Wave Ratio. International Organization for Standardization, Geneva.	[33]
Density determination	- ASTM D792 – 00 Standard Test Methods for Density and Specific Gravity (Relative Density) of Plastics by Displacement	[35]
Acoustic properties of the material were characterized to determine acoustic absorption, reflection, and continuous transmission	- ASTM E1050, 2010 Standard Test Method for Impedance and Absorption of Acoustical Materials Using a Tube, Two Microphone, and a Digital Frequency Analysis System. ASTM International - ISO 10534-1, 1996. Acoustics –Determination of Sound Absorption Coefficient and Impedance in Impedance Tubes	[38]

–Part 1: Method Using Standing Wave Ratio. International Organization for Standardization, Geneva.
 - ISO 10534-2, 1998. Acoustics –Determination of Sound Absorption Coefficient and Impedance in Impedance Tubes
 –Part 2: Transfer Function Method. International Organization for Standardization, Geneva.

The tests were carried out to evaluate the physical and mechanical properties of the material, such as compressive strength, bending strength, modulus of elasticity, density, dimensional stability, accelerated aging, water absorption, calorimetry, and thermal conductivity

- ASTM C165-07 [37]
 Standard Test Method for Measuring Compressive Properties for Thermal Insulations, ASTM International (2007).
 - ASTM C203-05a
 Standard Test Methods for Breaking Load and Flexural Properties of Block-Type Thermal Insulation, ASTM International (2005).
 - ASTM C303-10
 Standard Test Method for Dimensions and Density of Performed Block and Board-Type Thermal Insulation, ASTM International (2010).
 - ASTM C481-99
 Standard Test Method for Laboratory Aging of Sandwich Constructions, ASTM International (2005).
 - ASTM C1134-90
 Standard Test Method for Water Retention of Rigid Thermal Insulations Following Partial Immersion, ASTM International (2007).
 - ASTM E1354-11
 Standard Test Method for Heat and Visible Smoke Release Rates for Materials and Products Using Oxygen Consumption Calorimeter, ASTM International (2011).

Use of standards for comparative purposes of density, compression, and flexion of myocomposites with EPS	<ul style="list-style-type: none"> - ASTM C578–04 Standard Specification for Rigid, Cellular Polystyrene Thermal Insulation, West Conshohocken, PA (2004). - ASTM C62-13a Standard Specification for Building Brick (Solid Masonry Units Made From Clay or Shale), West Conshohocken, PA (2013). 	[34]
Density was evaluated without following any standard and compressive strength was also evaluated following the standard	<ul style="list-style-type: none"> - ASTM C165-2007 Standard Test Method for Measuring Compressive Properties of Thermal Insulations. 	[68]
Thermal conductivity and compressive strength were evaluated	<ul style="list-style-type: none"> - ASTM D5334 – 14 Standard Test Method for Determination of Thermal Conductivity of Soil and Soft Rock by Thermal Needle Probe Procedure - ASTM D2166 / D2166M - 13 Standard Test Method for Unconfined Compressive Strength of Cohesive Soil 	[69]

Some study approaches have tested fungal components as biomaterials, such as films, myocomposites, and fungal microfilaments. To facilitate the understanding of the material derived from fungi according to its composition and final product, we proposed a diagram (Figure 1) based on classifications described in the literature (Karana et al., 2018; Girometta et al., 2019; Appels et al., 2020; Gandia et al., 2021). We emphasize that in this review only materials derived from mycelium will be addressed exclusively. Materials derived from fungi of leveduriform origin (unicellular fungi) used in symbiosis with bacteria for the production of biomaterials (*e.g.* Kombucha-derived biofilm), as well as products derived from fungi such as hydrophobins, used in materials as fire retardants, are outside the scope of our systematic review (Alongi et al., 2014; Gilbert et al., 2021).

Among the criteria for choosing the species of fungi to be used in the field of these biomaterials, it is important to reinforce that the fungi cannot be pathogenic. Thus, preferably edible fungi or those that are harmless to man and other animals are considered excellent candidates for the study and development. Therefore, it is not surprising that among the genera, most studied as biomaterials are wood-decomposing Basidiomycota, especially species of the genera *Pleurotus*, *Ganoderma*, *Schizophyllum*, *Trametes*, and *Agaricus*. The 24 species of 18 distinct genera mentioned here also have a morphological and biochemical ultrastructure that give naturally interesting characteristics and that will be discussed ahead.

Mycelium Materials

Materials derived from mycelium are a recent type of material that takes advantage of forming interlocking networks capable of self-aggregating or adding other components that exhibit no inhibitions for fungal growth (Camere & Karana, 2017; Kavanagh, 2017; Karana et al., 2018; Gandia et al., 2021). This aggregation capacity has been explored to optimize and offer the market more competitive products. In general, the macroscopic and mechanical characteristics of mycelium-based materials are determined by variables such as the fungal strains, substrates, additives, growth conditions, and production system, which means that a change in any of these parameters will reflect in the characteristics of the final product (Lelivelt et al., 2015; Jiang et al., 2016; Camere & Karana, 2017; Jones et al., 2017; Karana et al., 2018; Appels et al., 2018, 2019, 2020; Girometta et al., 2019; Appels & Wösten, 2021).

Materials derived from mycelium can be classified into two types: i) compounds (or composites), which refer to materials made up of two or more materials, one of which must necessarily be the fungal structures; ii) pure materials, consisting exclusively of the presence of fungal hyphae (Karana et al., 2018; Appels et al., 2020; Gandia et al., 2021). For both types of materials, the pre-and post-treatment variables are diverse, aiming at optimizing their mechanical behavior. Each type of material, its generalities, and alternative names will be better subsequently described.

Composites of Mycelium Materials

In the area of materials science, composites are materials composed of two or more different phases, which differ in shape and constitution, in which one phase functions as a matrix and another as a reinforcement or aggregative. In the case of materials of fungal origin, hyphae function as binders (Meyers et al., 2008; Ramakrishna & Huang, 2016; Girometta et al., 2019). Remarkably, the mechanical properties are significantly different from those that occur in their constituents individually (Meyers et al., 2008; Ramakrishna & Huang, 2016). Biocomposites are a type of compounds in which one or more phases are of biological origin, that is, they are bio-derived and, in many cases, they can be bio-inspired materials (Faruk et al., 2012; Koronis, Silva & Fontul, 2013; Lelivelt et al., 2015; Jiang et al., 2016; Girometta et al., 2019). For instance, one product that uses agro-industrial waste as a surface for fungal growth can be considered as one type of biocomposite.

Mycocomposites

The term mycocomposite was coined by Jiang et al. (2016) and will be adopted in this review to refer to composite materials (Jiang et al., 2016). In mycocomposites (Table S3), the two main phases are: i) the matrix phase, consisting mainly of agro-industrial residues, which function as a carbon source for the growth of fungal mycelium; ii) the aggregating phase, constituted by the mycelium (Figure 1), which, in turn, functions as a reinforcing material due to its chemical constitution, mainly chitin and chitosan (Meyers et al., 2008; Arifin & Yusuf, 2013; Pelletier et al., 2013; Lelivelt et al., 2015; Jiang et al., 2016; Yang et al., 2017; Girometta et al., 2019; Hyde et al., 2019). It is important to highlight that the mycelium functions as a highly branched network, acting as an interfacial binder, which adds not only the substrate but other components of both organic and inorganic constitution (Arifin & Yusuf, 2013; Lelivelt et al., 2015; Jiang et al., 2016).

The development of mycocomposites has gained prominence as a disruptive, bioinspired, and bio-derived technology that was first introduced to the market as an innovative substitute for polystyrene, recognized as an inherently sustainable material due to the initial origin of its constituents (Bayer, McIntyre & Swersey, 2008; Holt et al., 2012; Arifin & Yusuf, 2013; Jiang et al., 2016; Teixeira et al., 2018; Girometta et al., 2019). The emergence of mycocomposites especially represents a dissociation of materials of petrochemical origin, presented as a great contribution to the actions

necessary for sustainable development and the fulfillment of the objectives of the 2030 agenda for sustainable development (Macarthur, Waughray & Stuchtey, 2006; Jones et al., 2017; Girometta et al., 2019; Appels et al., 2020; Appels & Wösten, 2021).

The initial proposal for the development of myco-composites was inspired by the natural growth of fungi on substrates, such as wood. The industrial proposal differs from the natural process by optimizing the fungal growth in different substrates that result in products with different mechanical characteristics using additives for fungal growth and nutrition, and manipulation of physicochemical parameters. The accelerated fungal growth is followed by a final drying phase made in the industrial process (Figure 4A). This last phase in the industrial process aims to stop the growth of the fungus and avoid the formation of basidiomata (in the case of the use of Basidiomycota species). The fungal strain is associated with a substrate, submitted to a process of shaping followed by a drying step to produce the myco-composite (Figure 4A) (Bayer, McIntyre & Swersey, 2008; Lelivelt et al., 2015; Jiang et al., 2016).

In the production process of myco-composites, several variables can be considered, all of which are subject to research and closely related to both substrate and fungi, the raw materials used, and the processes used to obtain a product with differentiated and competitive mechanical characteristics for distinct purposes (Figure 4B) (Jones et al., 2017; Girometta et al., 2019).

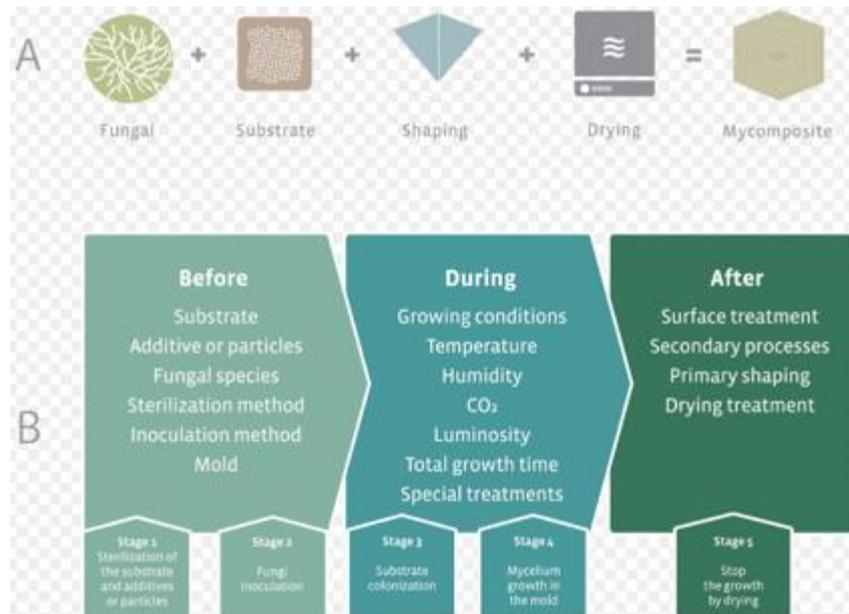


Figure 4. (A) Basic elements for the development of industrial mycomposites. (B) Variables that influence the mechanical and physical characteristics of the mycomposites, according to the stages of the production process. Modified from [19, 5].

Hybrid Mycelium Materials

As with mycomposites, hybrid mycelium materials are compounds based on fungal mycelium (Table S3), with the difference that the latter can be added with organic and inorganic compounds (Attias, 2020; Trabelsi et al., 2021; Elsacker et al., 2021; Elsacker, De Laet & Peeters, 2022a). The role of additives in the composition of these hybrids arises as a response to the need to improve the mechanical behavior of mycomposites *in natura* (only mycelium and substrate). It is expected that these additives allow an improvement in the production systems of these materials, work as binders supplying the limitations caused by the weak union between the substrate and the mycelium, fill the interfacial spaces, function as a carbon source, and concomitantly as a skeleton or support for growth (Sun et al., 2019; Attias, 2020; Elsacker et al., 2021).

Among the additives described are cellulose derivatives, whether microfibrils or cellulosic nanomaterials, the latter include cellulose nanocrystals (CNC), cellulose nanofibrils (CNF), and bacterial nanocellulose (NCB). Other additives are carbon nanotubes (CNT), polyacrylonitrile nanofibers (PAN), montmorillonite nanoclay, ground glass, and latex, among others (Nawawi et al., 2020a; Trabelsi et al., 2021; Sayfutdinova et al., 2022; Elsacker, De Laet & Peeters, 2022b). Of special attention is the need for separation between compositions of coarse materials, a term used for

compounds of agricultural residues or biowaste linked to the mycelium, and compositions with refined or sensitive materials, a term used when nanomaterials are part of the composition. The exploitation of the latter for the production of materials derived from mycelium is more recent and has a smaller number of publications, and this nanobiotechnology is considered promising for the future (El Naschie, 2006; Trabelsi et al., 2021).

The use of nanostructures as additional binders to mycelial structures, produced from renewable, biodegradable raw materials of low density and economic value, such as lignocellulosic fibers, which are very abundant in the world, has ecological and environmental benefits, in addition to providing excellent properties for mechanical features such as rigidity and tensile strength, flexibility, greater air permeability, filtration efficiency and economic advantages (Huang et al., 2003; Abdul Khalil et al., 2014; Irbe et al., 2021; Elsacker et al., 2021). This hybrid association with the use of nanostructures seems to influence the morphology of the hyphae, making them more regular, rigid, and flat, besides having a large surface area and uniting the natural fibers by hydrogen bonds and mechanical interlocking (Attias et al., 2021; Elsacker et al., 2021). From an ecologically correct point of view, Ahn et al. (2020) and Li et al. (2016) showed how it is possible to adopt hybrid fungal mycelia associated with environmentally benign clay nanotubes and blackberry tannin, in their work respectively, for the treatment of wastewater (Li et al., 2016; Ahn et al., 2020).

The improvement of the physical and mechanical properties of two-hybrid composites was also verified by Elsacker et al. (2021) that combined mycelium and bacterial cellulose as an organic additive, and by Sun et al. (2019) who investigated the use of hybrid systems of wood, fungal mycelium, and CNF as a binder, proving to be a good product to replace formaldehyde-based composites, such as MDF, MDP, agglomerates, and plywood, which can be a toxic and carcinogenic substance (Sun et al., 2019).

The growth of nanofiber mats associated with biological structures may be suitable to increase the mechanical stability of the product compared to the pure nanofiber mat. In this case, the mycelium confers good mechanical properties (Sabantina et al., 2019; Trabelsi et al., 2021). In the aforementioned studies, the polyacrylonitrile nanofiber mat was adopted, a synthetic acrylic polymer widely used in the manufacture of rugs, carpets, furniture upholstery, and clothes, since PAN is petroleum-derived and non-biodegradable.

In order to assure structural stability and surface area properties to mycocomposites, sphere fungal hyphae (FH) and CNTs were designed from a biological assembly method that fixed CNTs onto fungal hyphae (Zhu et al., 2018). The developed biomaterial has water pollution removal capability by surface adsorption and was tested under various conditions to evaluate the removal of uranium (U(VI)), and anionic (Congo red (CR)) and cationic (methyl violet (MV)) dyes. The authors used well-fitted Langmuir and Freundlich models to calculate the adsorption isotherms. In a similar work, although the degradation process is taking place, the authors proposed an assembly of fungal mycelium-carbon nanotube composites. This novel biomaterial was designed by adding carbon nanotubes into a fungal mycelium (*Penicillium oxalicum* SYJ-1) to evaluate PAH-degrading rates. The authors conclude the efficiency of inorganic nanomaterials and microorganisms as chemical adsorption and biodegradation composites (Zhou et al., 2022). On the other hand, a functionalized fungal mycelium was prepared as a bioceramic hybrid for enhanced water treatment (Ahn et al., 2020). The authors developed a scalable and simple methodology that structurally modified the fungal hyphae to maximize the rate of pollutant sorption, controlling the fungal dispersion growth and development. Pellets of *Aspergillus fumigatus* were dipped in halloysite nanotubes, a mesoporous clay mineral presenting a large surface area and sorption capacities, with room enough to the mycelium growth. In conclusion, heavy metals sorption was observed in the mycomaterial, when compared to the hybrid nanocomposite–mycelium without the fungal growth. Thus, hybrid nanocomposite–mycelium materials are promising for the fields of biotechnology in medicine, agriculture, environment, architecture, food packaging, and textile industry, among others (Sun et al., 2019; Sabantina et al., 2019; Irbe et al., 2021; Trabelsi et al., 2021).

The production process differs greatly in each case depending on the type and application of the hybrid mycelium material but can be summarized as shown in Figure

5. Table 2 lists all the fungal taxa used and their associated characteristics for the development of hybrid materials.

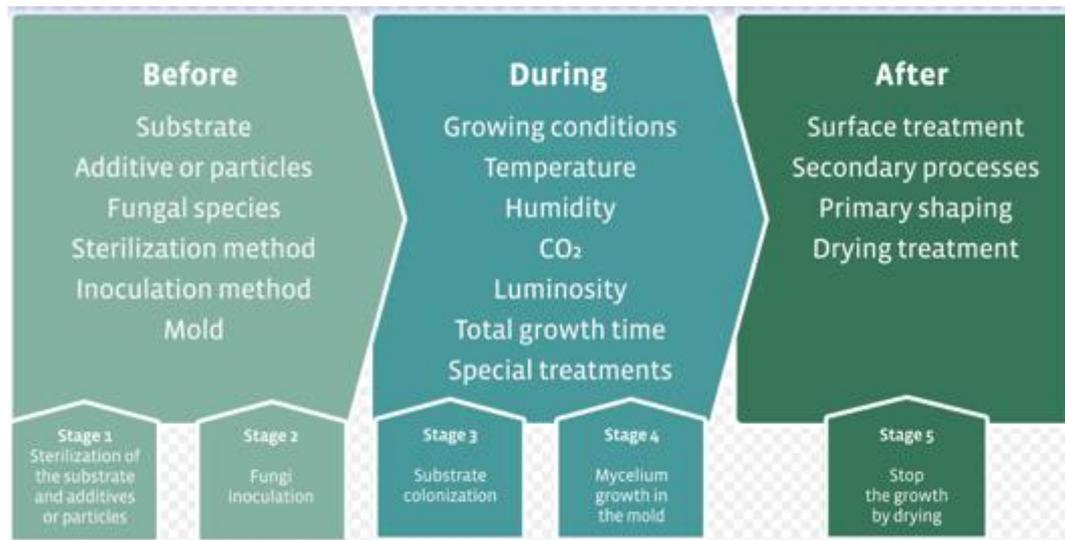


Figure 5. Schematic of the production process of hybrid mycelium materials. Modified from [5].

Table 2. Fungi used and their associated characteristics for the development of hybrid materials

HYBRID MATERIALS		
Fungi	Characteristics	Reference
<i>Trametes ochracea</i>	Good compatibility with nanocellulose observed in previous work	[81]
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Used for medical, nutritional, filter or packaging purposes, and promising candidate for the mechanical stabilization of nanofiber mats	[90]
<i>Ganoderma applanatum</i>	Good phytochemical properties and great potential for application in clinical nanotechnology engineering	[85]
<i>Fomes fomentarius</i>	Used in medicine for centuries as a source of medicinal and nutraceutical products	[85]
<i>Agaricus bisporus</i>	Leader among edible mushrooms	[85]
<i>Trametes versicolor</i>	Used in traditional medicine for great health effects	[85]
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Is a well-known edible mushroom, which grows in a short period and is the second mushroom cultivated in the world	[79]

White-rot basidiomycetes Ecovative Design	Unmentioned by	[80]
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Already adopted for removal of pollutants in aquatic environments	[88]
<i>Ganoderma lucidum</i>	Powerful oxidants	[88]
<i>Xylaria</i>	Unmentioned	[89]
<i>Trametes versicolor</i>	Commonly used	[77]

Pure Mycelium

Pure fungal materials are either the result of complete degradation of the substrate or are obtained by removing the fungal “skin” from the substrate. The properties of pure mycelium materials depend on the substrate, the type of fungus, and its growing conditions, as well as post-processing (Appels et al., 2019). Pure mycelium biomasses can be generated by growing the organism separately from its substrate, resulting in sustainable materials with adaptable properties ranging from foam, paper, and leather to materials with polymer-like characteristics. Furthermore, novel fermentation processes for pure mycelium materials can also increase the functionalities of this unique material when combined with appropriate post-growth treatments (Vandelook et al., 2021).

Pure mycelium foams are formed by aerial hyphae that grow on the surface of substrates when exposed to air. The production cycle extends over about 14 days, and the resulting biomass, of low density and high surface area due to the lack of lignocellulosic material in its structure foams, is then heat-treated at temperatures above 60°C to neutralise all the biological activity, being and be converted into products. The low density of this fungal biomass results in a highly competitive material in the sector of synthetic foams such as polystyrene and polyurethane ones, and as well as lightweight cargo packaging and thermal insulation materials sectors. An increasing diversity of sectors current commercialised applications of is finding in mycelium foam vary in different sectors (Gandia et al., 2021), and innovative products range from the solution for innovative products. These products range from skin care, such as sponges, synthetic leather and supports for paints and dyes, to shoe insoles, upholstery and textiles. Other relevant sectors that apply mycelium foam as biocompatible cellular support are the biomedical area and the food sector. (Gandia et al., 2021).

Pure mycelium products have a major advantage over their synthetic counterparts. When not combined with non-biodegradable elements, they are a great solution for low carbon and sustainable modes of production. Moreover, mycelium materials have been shown to have flame retardant properties and are less prone to combustion compared to petrochemical derived plastics (Vandelook et al., 2021).

Fungal leather

In the context of shifting social standards and increasing emphasis on environmental sustainability, the fungal derived-leather is now emerging as a promising alternative to replace, not only bovine leather but also the synthetic ones, that require hazardous chemicals use derived from fossil fuels. This results in a lack of biodegradability presenting the same limited end-of-life options as most plastics (Jones et al., 2021).

Mycelium leathers, also known as mycelium-based leather, is originated from Polyporales species (Basidiomycota) that use lignocellulosic substrates as source. The biomass generated by the development of hyphae might have light or rigid consistency, depending on their chemical structure, which is formed by flexible structures composed of chitin, glucans and glycoproteins. (Latgé, 2010; Raman et al., 2022). Agricultural and forest wastes are converted into substrates for most species, which allow the bioconversion of these resources without causing any unbalance or degradation of the natural ecosystem. (Latgé, 2010). Mostly, fungal-derived leather can be developed by two means, growing hyphal filaments in a liquid medium (liquid fermentation), pressed into a pure fibre pulp, and a solid state fermentation process, with physical and chemical treatments, where the mycelium layer's are formed on a surface composed of solid lignocellulosic nutrients (Raimbault, 1998; Viniestra-González et al., 2003; Islam et al., 2017; Kaplan-Bei, 2018; Ross et al., 2020; Jones et al., 2021). Different fermentation processes are commonly mentioned in literature, and the liquid state is based on standard media or low-cost agricultural waste, such as blackstrap molasses as raw material to fungal growth. Moreover, they can be separated into fibers, and are processed by traditional papermaking techniques such as fiber suspension, filtration, pressing and drying (Jones, Huynh & John, 2018; Weiland et al., 2019; Nawawi et al., 2020a; Jones et al., 2021, p. 202).

The produce industrial and construction materials sector have risen interest in mycelium-based technologies (Raman et al., 2022). However, experimental raw data is hardly accessible, whether from individual knowledge or intellectual property, avoiding the development of innovative technologies in different sectors, varying from mycology to engineering. The commercial Startups and established companies include Ecovative (ecovative.com, accessed on November 5th, 2022), MycoWork (mycoworks.com, accessed on November 2nd, 2022), Bolt Threads (boltthreads.com, accessed on November 25th, 2022), Desserto (desserto.com.mz, accessed on November 25th, 2022), Mycotech Lab (mycl.bio, accessed on November 25th, 2022), and Mycel (mycelproject.com, accessed on November 4th, 2022).

Fungal chitin nanofibers or microfilaments

Chitin microfibrils and nanofibrils are materials from chitin that are covalently linked to glucan, galactomannans, and proteins (such as mannoproteins and hydrophobins) and are part of a fungal cell wall, thus, forming a native compound (Nawawi et al., 2020a; Zin, Jimat & Nawawi, 2022). The main biological function of chitin is to provide structural support, being found and with the same function in other organisms such as crustaceans, insect exoskeletons, nematode eggs, and protozoan cysts (Góes-Neto et al., 2010; Khan et al., 2017; Nawawi et al., 2020a).

Structurally, chitin is a long unbranched polysaccharide, formed by N-acetylglucosamine in a similar way to a fiber and it is this fibrillar structure that makes it interesting to be explored as a material (Khan et al., 2017). Chitin is the second most abundant renewable polymer and commercially it has been explored in a common way from the crustacean industry, thus, giving them added value; however, their exploration on an industrial scale is inefficient due to factors associated with the availability and quality of the material, as well as the dependence on seasonal and regional fluctuation (Jones, Huynh & John, 2018; Nawawi et al., 2020a; Salehinik et al., 2021; Zin, Jimat & Nawawi, 2022). Other limitations of the use of crustacean chitin are those associated with the presence of the allergenic protein known as tropomyosin, limiting its use in food applications and as medical devices (Jones, Huynh & John, 2018; Zin, Jimat & Nawawi, 2022).

The extraction and defibrillation process to obtain chitin from crustaceans requires the demineralization of the shells, thus, adding an acid step, which together with the need to use specialized equipment, reduces advantages in this type of

commercial exploration. This is due to the generation of chemical residues that are environmental pollutants and because of the additional energy expenditure (Jones, Huynh & John, 2018; Zin, Jimat & Nawawi, 2022). On the other hand, in the separation of microfibers from the matrix of origin, the presence of β -glucans bound to fungal-derived chitin, contrary to that of crustaceans, leads to superior tensile properties, diversifying applications in areas such as engineering (Nawawi et al., 2020a). Considering the aforementioned disadvantages, the exploration of chitin of fungal origin arises as a renewable alternative, easily isolated and abundant by the production or fermentation systems that can be used to obtain the mycelium (raw material for obtaining chitin) (Yousefi et al., 2021; Zin, Jimat & Nawawi, 2022).

The study of fungal chitin nanofibrils emerges as a recent mechanism for optimizing the mechanical performance of materials derived from fungal mycelium, by eliminating both the non-structural elements of the mycelium and the substrates, the latter being used only as a source of carbon of the fungus and not as a structuring part of the material (Jones et al., 2018; Janesch et al., 2019). This allows exploration to improve resistance in materials derived from mycelium, since it seems to be associated with low mycelium-substrate affinity and with the presence of non-structural elements of the mycelium itself, such as some proteins and lipids (Jones, Huynh & John, 2018; Salehinik et al., 2021). It is worth noting that, although agricultural waste in the production of chitin micro and nanofibrils is not used as a structuring part but as a carbon source for fungal growth, its use continues to gain relevance due to the conversion of agricultural biomass into fungal biomass, transforming the biomass from low-value materials into high-value chitinous materials, and, thus, resulting in the production of low-cost, sustainable materials (Jones et al., 2018; Janesch et al., 2019; Nawawi et al., 2020a; Yousefi et al., 2021). Regarding yield, it was estimated that twice as many fungal chitin fibers are obtained as crab fibers, starting from the same initial mass of the raw matrix for each material (Nawawi et al., 2020a). Alternative names can be checked in Table S3 and fungi used for the development of fungal chitin nanofibers in Table 3.

Table 3. Fungi used and their associated characteristics for the development of fungal chitin nanofibers in the literature

FUNGAL CHITIN NANOFIBERS		
Fungi	Characteristics	Reference
<i>Agaricus bisporus</i>	The large-scale production of <i>A. bisporus</i> also makes it abundant and relatively stable in composition and properties, and subsequently an ideal model system for the investigation of nanofibrils and fungal chitin-glucan products.	[108]
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Probably because the chitin fiber is relatively shorter, the results related to hardness were better, on the other hand, a denser fibrous network could indicate that it can support a greater external load. This tensile strength is maintained when using only the fibers or when used as an additive to biopolymers such as PLA.	[103]
<i>Flammulina velutipes</i>	Higher tensile strength, which may be due to the long fiber length, seems to be related to greater chitin preservation. This tensile strength is maintained when using only the fibers or when used as an additive to biopolymers such as PLA.	
<i>Lentinula edodes</i>	The papers obtained have a darker color, probably because the intensity of the melanin is greater. This tensile strength is maintained when using only the fibers or when used as an additive to biopolymers such as PLA.	
<i>Mucor indicus</i>	According to some studies, the composition of the cell wall of this fungus, which includes the content of chitin and chitosan, can be manipulated by controlling the culture conditions.	[107]
<i>Agaricus bisporus</i>	The resulting nanopapers presented differentiated physical-chemical surface properties, being more hydrophobic than chitin from crustaceans.	[82]
<i>Trametes versicolor</i>	Good growth performance evidenced the viability of mycelial biomass production to be faster than in other fungi, it is considered a reliable source of chitin for applications in materials science due to its significant conversion performance (biomass into chitin-glucan), being industrially scalable using bioreactors and continuous culture techniques	[106]
<i>Agaricus bisporus</i>	Good yield but the growth rate is temporarily very slow and competes with food supply.	

Chitin microfibrils and nanofibrils in their pure form or as hybrids with components such as cellulose can be used for the development of high-performance membranes and filters, both for organic solvents and for water treatment, as well as for the production of plastic films, packaging, composites, cosmetics, and pharmaceuticals. All of them mainly due to the physicochemical and surface properties and composition, where chitin provides strength and rigidity, while glucan increases flexibility and hardness (Jones et al., 2018; Nawawi et al., 2020a; Yousefi et al., 2021). It should be noted that the diversification of specific applications can be expanded by regulating the physicochemical parameters of fungal growth (Table 4), which includes the variation in nutritional factors, which has led some researchers to develop methodologies to evaluate the suitability of the substrate to guarantee an optimal rate of fungal growth (Jones et al., 2018; Nawawi et al., 2020b). The extraction process of chitin microfibrils is relatively simple; however, it has some variations to improve the mechanical behavior of the material.

Table 4. Mechanical characterization and standards used for the development of hybrid materials and fungal chitin nanofibers

Type of material	Mechanical characteristic	Standards used	Reference
Hybrid materials	Tensile strength	ISO 1924-1:1992	[85]
	Tensile	MTS ISA 3125	[81]
	Without mechanical tests		[90]
	Without mechanical tests		[79]
	Three-point bending test to determine the modulus of rupture, modulus of elasticity, and internal bond strength	ASTM D1037:2012	[80]
	Without mechanical tests		[88]
	Without mechanical tests		[89]

	Three-point bending test to bending behavior analysis	ISO 16978 ISO 12344	[77]
	Tensile strength parallel	ASTM 1037	[77]
	Tensile behavior perpendicular	EN 319:1993	[77]
Fungal chitin nanofibers	Evaluate the tensile properties of paper and board using a constant rate of elongation apparatus	ASTM D828-97	[103]
	Ammonium molybdate spectrometric method for determining fungal cell wall phosphate content (AIM)	Norma europea ISO6878	[107]
	Method for evaluating the tensile strength and Young's modulus of fibers	ASTM C1557-14	[82]
	Standard test method for tensile properties of plastics adapted by authors	ASTM D638-14	[82]
	Plastics — Determination of tensile properties — Part 2: Test conditions for molding and extrusion plastics	ISO 527-2:2012	[106]

Molecular biology as a tool to produce sustainable biomaterials

An extensive number of fungal species of Basidiomycota and Ascomycota were shown here as potential sources of an enzymatic arsenal involved in different steps of the production of mycomaterials. Herein, we cited 18 genera of wood-decaying fungi (and 24 species) used in biomaterials. Although most of these fungi are well studied in metabolic and enzymatic assays, genomic studies are still a prominent field. At present, at least 20 species described here present the whole genome available at the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database (National Library of Medicine, 2022). A combination of molecular tools with the results of enzymatic and mechanical assays for choosing the best fungal strains and substrates is one of the strategies that can accelerate the discovery of novel genes of interest for increasing the quality of myocomposites.

Depending on the carbon source or fungal developmental state, differential gene expressions of carbohydrate-active enzymes can be induced. Several putative wood-degrading genes were detected from the transcriptome of the white-rot fungus *G. lucidum*, such as 13 potential lignin oxidases (LO families) and 9 potential lignin-degrading auxiliary enzymes (LDA families) differentially expressed by the fungus in different development states: as mycelium or as fruiting body (Yu et al., 2012). Additionally, more than four families of polysaccharide-degrading enzymes in 11 species of Polyporales deserve attention due to the enzymatic activity detected in lignocellulose breakdown when exposed to different carbon sources (Hori et al., 2013). As Polyporales is a group that has been studied as a potential source for enzymes that act in lignocellulose breakdown for many years, the discovery of such differential expression would help to better understand the enzyme production by these wood decaying fungi.

Using genomic, transcriptomic, or proteomic approaches, different points of control can be exploited to maximize the conversion efficiency of the agro-industrial substrates on molecules or subproducts of interest. For example, the identification of family genes encoding proteins involved in fungal colonization and adherence to surface (*e.g.* hydrophobins), in cellular wall constitution (*e.g.* ergosterol) (Free, 2013); and their impacts on the mechanical characteristics of bio-based materials, in the regulation of substrate degradation (*e.g.* peroxidases) (Peralta et al., 2017; Ferreira et al., 2018), and the effect of genetic mutations that improve fungal biomass production (*e.g.* chitin) (Jones et al., 2018). Hydrophobins are proteins responsible for fungal adherence to hydrophobic surfaces reported in Ascomycota and Basidiomycota fungi (Lo, Lai & Sunde, 2019), and the hydrophobin *sc3* gene impacts cell wall composition in the fungus *S. commune* (Appels et al., 2018; Wösten, 2019). The mechanical properties of the strain which has the *sc3* mutation are analogous to thermoplastics, which differs from the wild type (Appels et al., 2018). This suggests that the mechanical properties and water retention of the mycelium associated with the substrate can be influenced by the expression of proteins related to the fungal cell wall, giving greater resistance to compression, among others (Karana et al., 2018; Appels et al., 2018; Attias et al., 2021). Therefore, the investigation of genes of a fungal phenotype of interest in different stages of substrate colonization can play a central role to improve fungal development in several relevant steps to produce mycocomposites.

Conclusions

The comprehensive review of the literature has permitted: (i) a global understanding of fungal-derived biomaterials; (ii) to compile and explain all the terms used according to each type of material, which is extremely necessary to unify the nomenclature in relation to mycomaterials; (iii) to expand the scope of the information; (iv) to detect the applications of those mycomaterials and the possible improvements that can be proposed in this knowledge field to the biotechnological processes associated with their production. The use of mineral additives confers variability in the application of myocomposites since the additive interferes with their mechanical behavior. This variation in composition can result from flexible materials without additives to materials that are less flexible but more resistant to higher weight loads. One of the perspectives for this transdisciplinary field is the expansion of the analyses and characterization of the mycomaterials, overcoming the challenges brought by the production of limited mechanical characterization assays or with variable standardization.

The success and mechanical efficiency of myocomposites is established by mycelial growth as an aggregator of the components of the composite matrix. Fungal mycelium growth can be manipulated by optimizing the physicochemical conditions, carbon sources and intrinsic characteristics of the fungal isolate, which can bring great contributions to the improvement of the myocomposites.

Acknowledgements

We would like to thank the Graduate Programmes of Microbiology (<http://www.microbiologia.icb.ufmg.br/pos/>), Technological and Biopharmaceutical Innovation (<https://www.ufmg.br/pginovacaotecnologica/>), and Bioinformatics (<http://www.pgbioinfo.icb.ufmg.br/>) of the Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), ProRectory of Research of Federal University of Minas Gerais, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), and Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). We are also grateful to Rochel Montero Lago and Maria Catarina Kazuya for comments on earlier versions of the manuscript.

References

- Abdul Khalil HPS, Davoudpour Y, Islam MdN, Mustapha A, Sudesh K, Dungani R, Jawaid M. 2014. Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review. *Carbohydrate Polymers* 99:649–665. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.08.069.
- Ahn H, Rehman JU, Kim T, Oh MS, Yoon HY, Kim C, Lee Y, Shin SG, Jeon J-R. 2020. Fungal mycelia functionalization with halloysite nanotubes for hyphal spreading and sorption behavior regulation: A new bio-ceramic hybrid for enhanced water treatment. *Water Research* 186:116380. DOI: 10.1016/j.watres.2020.116380.
- Alongi J, Carletto RA, Bosco F, Carosio F, Di Blasio A, Cuttica F, Antonucci V, Giordano M, Malucelli G. 2014. Caseins and hydrophobins as novel green flame retardants for cotton fabrics. *Polymer Degradation and Stability* 99:111–117. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2013.11.016.
- Anto H, Trivedi UB, Patel KC. 2006. Glucoamylase production by solid-state fermentation using rice flake manufacturing waste products as substrate. *Bioresource Technology* 97:1161–1166. DOI: 10.1016/j.biortech.2005.05.007.
- Appels FVW, van den Brandhof JG, Dijksterhuis J, de Kort GW, Wösten HAB. 2020. Fungal mycelium classified in different material families based on glycerol treatment. *Communications Biology* 3:334. DOI: 10.1038/s42003-020-1064-4.
- Appels FVW, Camere S, Montalti M, Karana E, Jansen KMB, Dijksterhuis J, Krijgsheld P, Wösten HAB. 2019. Fabrication factors influencing mechanical, moisture- and water-related properties of mycelium-based composites. *Materials & Design* 161:64–71. DOI: 10.1016/j.matdes.2018.11.027.
- Appels FVW, Dijksterhuis J, Lukasiewicz CE, Jansen KMB, Wösten HAB, Krijgsheld P. 2018. Hydrophobin gene deletion and environmental growth conditions impact mechanical properties of mycelium by affecting the density of the material. *Scientific Reports* 8:4703. DOI: 10.1038/s41598-018-23171-2.
- Appels FVW, Wösten HAB. 2021. Mycelium Materials. In: Zaragoza Ó, Casadevall A eds. *Encyclopedia of Mycology*. Oxford: Elsevier, 710–718. DOI: 10.1016/B978-0-12-809633-8.21131-X.
- Aragão U da S. 2015. Bioconversão de resíduos agroindustriais por meio do cultivo de fungos do gênero PLEUROTUS spp.,. Dissertação Thesis. Bahia: Universidade Estadual de Feira de Santana.

- Arifin YH, Yusuf Y. 2013. Mycelium Fibers as New Resource for Environmental Sustainability. *Procedia Engineering* 53:504–508. DOI: 10.1016/j.proeng.2013.02.065.
- Attias N. 2020. Mycelium bio-composites in industrial design and architecture: Comparative review and experimental analysis. *Journal of cleaner production* v. 246:119037-. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.119037.
- Attias N, Reid M, Mijowska SC, Dobryden I, Isaksson M, Pokroy B, Grobman YJ, Abitbol T. 2021. Biofabrication of Nanocellulose–Mycelium Hybrid Materials. *Advanced Sustainable Systems* 5:2000196. DOI: 10.1002/adsu.202000196.
- Badotti F, de Oliveira FS, Garcia CF, Vaz ABM, Fonseca PLC, Nahum LA, Oliveira G, Góes-Neto A. 2017. Effectiveness of ITS and sub-regions as DNA barcode markers for the identification of Basidiomycota (Fungi). *BMC Microbiology* 17:42. DOI: 10.1186/s12866-017-0958-x.
- Bayer E, McIntyre G, Swersey BL. 2008. Method for producing grown materials and products made thereby.
- Blackwell M. 2011. The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *American Journal of Botany* 98:426–438. DOI: 10.3732/ajb.1000298.
- Camere S, Karana E. 2017. Growing materials for product design
- Chahal DS. 1985. Solid-State Fermentation with *Trichoderma reesei* for Cellulase Production. *Applied and Environmental Microbiology* 49:205–210. DOI: 10.1128/aem.49.1.205-210.1985.
- Chilakamarry CR, Mimi Sakinah AM, Zularisam AW, Sirohi R, Khilji IA, Ahmad N, Pandey A. 2022. Advances in solid-state fermentation for bioconversion of agricultural wastes to value-added products: Opportunities and challenges. *Bioresource Technology* 343:126065. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.126065.
- Diaz AB, Blandino A, Webb C, Caro I. 2016. Modelling of different enzyme productions by solid-state fermentation on several agro-industrial residues. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100:9555–9566. DOI: 10.1007/s00253-016-7629-y.
- Donini LP, Bernardi E, Minotto E, do Nascimento JS. 2006. EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM FARELOS NO CRESCIMENTO IN VITRO DE PLEUROTUS OSTREATUS EM MEIOS À BASE DE CAPIM-ELEFANTE (PENNISETUM SPP.). *Arquivos do Instituto Biológico* 73:303–309. DOI: 10.1590/1808-1657v73p3032006.

- El Naschie MS. 2006. Nanotechnology for the developing world. *Chaos, Solitons & Fractals* 30:769–773. DOI: 10.1016/j.chaos.2006.04.037.
- Elisashvili V, Kvesitadze G. 2005. Lignocellulose and White-Rot Basidiomycetes: Some Strategies for Their Potential Utilization. *International Journal of Medicinal Mushrooms*:344–345. DOI: 10.1615/IntJMedMushrooms.v7.i3.80.
- Elsacker E, De Laet L, Peeters E. 2022a. Functional Grading of Mycelium Materials with Inorganic Particles: The Effect of Nanoclay on the Biological, Chemical and Mechanical Properties. *Biomimetics* 7:57. DOI: 10.3390/biomimetics7020057.
- Elsacker E, De Laet L, Peeters E. 2022b. Functional Grading of Mycelium Materials with Inorganic Particles: The Effect of Nanoclay on the Biological, Chemical and Mechanical Properties. *Biomimetics* 7:57. DOI: 10.3390/biomimetics7020057.
- Elsacker E, Vandeloock S, Damsin B, Van Wylick A, Peeters E, De Laet L. 2021. Mechanical characteristics of bacterial cellulose-reinforced mycelium composite materials. *Fungal Biology and Biotechnology* 8:18. DOI: 10.1186/s40694-021-00125-4.
- Esposito E, Azevedo JL de. 2004. Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia.
- Faruk O, Bledzki AK, Fink H-P, Sain M. 2012. Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010. *Progress in Polymer Science* 37:1552–1596. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2012.04.003.
- Ferreira DSS, Kato RB, Miranda FM, da Costa Pinheiro K, Fonseca PLC, Tomé LMR, Vaz ABM, Badotti F, Ramos RTJ, Brenig B, Azevedo VA de C, Benevides RG, Góes-Neto A. 2018. Draft genome sequence of *Trametes villosa* (Sw.) Kreisel CCMB561, a tropical white-rot Basidiomycota from the semiarid region of Brazil. *Data in Brief* 18:1581–1587. DOI: 10.1016/j.dib.2018.04.074.
- FitzPatrick M, Champagne P, Cunningham MF, Whitney RA. 2010. A biorefinery processing perspective: Treatment of lignocellulosic materials for the production of value-added products. *Bioresource Technology* 101:8915–8922. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.125.
- Free SJ. 2013. Fungal cell wall organization and biosynthesis. *Advances in Genetics* 81:33–82. DOI: 10.1016/B978-0-12-407677-8.00002-6.
- Gandia A, van den Brandhof JG, Appels FWV, Jones MP. 2021. Flexible Fungal Materials: Shaping the Future. *Trends in Biotechnology* 39:1321–1331. DOI: 10.1016/j.tibtech.2021.03.002.

- Geethanjali PA, Gowtham HG, Jayashankar M. 2020. Biodegradation potential of indigenous litter dwelling ligninolytic fungi on agricultural wastes. *Bulletin of the National Research Centre* 44:173. DOI: 10.1186/s42269-020-00426-5.
- Gilbert C, Tang T-C, Ott W, Dorr BA, Shaw WM, Sun GL, Lu TK, Ellis T. 2021. Living materials with programmable functionalities grown from engineered microbial co-cultures. *Nature Materials* 20:691–700. DOI: 10.1038/s41563-020-00857-5.
- Girometta C, Picco AM, Baiguera RM, Dondi D, Babbini S, Cartabia M, Pellegrini M, Savino E. 2019. Physico-Mechanical and Thermodynamic Properties of Mycelium-Based Biocomposites: A Review. *Sustainability* 11:281. DOI: 10.3390/su11010281.
- Góes-Neto A, Diniz MVC, Santos LBL, Pinho STR, Miranda JGV, Lobao TP, Borges EP, El-Hani CN, Andrade RFS. 2010. Comparative protein analysis of the chitin metabolic pathway in extant organisms: A complex network approach. *Biosystems* 101:59–66. DOI: 10.1016/j.biosystems.2010.04.006.
- Haneef M, Ceseracciu L, Canale C, Bayer IS, Heredia-Guerrero JA, Athanassiou A. 2017. Advanced Materials From Fungal Mycelium: Fabrication and Tuning of Physical Properties. *Scientific Reports* 7:41292. DOI: 10.1038/srep41292.
- Hawksworth DL, Lücking R. 2017. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiology Spectrum* 5:5.4.10. DOI: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016.
- Holt GA, McIntyre G, Flagg D, Bayer E, Wanjura JD, Pelletier MG. 2012. Fungal Mycelium and Cotton Plant Materials in the Manufacture of Biodegradable Molded Packaging Material: Evaluation Study of Select Blends of Cotton Byproducts. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy* 6:431–439. DOI: 10.1166/jbmb.2012.1241.
- Hori C, Gaskell J, Igarashi K, Samejima M, Hibbett D, Henrissat B, Cullen D. 2013. Genomewide analysis of polysaccharides degrading enzymes in 11 white- and brown-rot Polyporales provides insight into mechanisms of wood decay. *Mycologia* 105:1412–1427. DOI: 10.3852/13-072.
- Huang Z-M, Zhang Y-Z, Kotaki M, Ramakrishna S. 2003. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology* 63:2223–2253. DOI: 10.1016/S0266-3538(03)00178-7.
- Hyde KD, Xu J, Rapior S, Jeewon R, Lumyong S, Niego AGT, Abeywickrama PD, Aluthmuhandiram JVS, Brahamanage RS, Brooks S, Chaiyasen A, Chethana KWT, Chomnunti P, Chepkirui C, Chuankid B, de Silva NI, Doilom M, Faulds C, Gentekaki E, Gopalan V, Kakumyan P, Harishchandra D, Hemachandran H, Hongsan S, Karunarathna A, Karunarathna SC, Khan S, Kumla J, Jayawardena RS, Liu J-K, Liu N,

- Luangharn T, Macabeo APG, Marasinghe DS, Meeks D, Mortimer PE, Mueller P, Nadir S, Nataraja KN, Nontachaiyapoom S, O'Brien M, Penkhrue W, Phukhamsakda C, Ramanan US, Rathnayaka AR, Sadaba RB, Sandargo B, Samarakoon BC, Tennakoon DS, Siva R, Sriprom W, Suryanarayanan TS, Sujarit K, Suwannarach N, Suwunwong T, Thongbai B, Thongklang N, Wei D, Wijesinghe SN, Winiski J, Yan J, Yasanthika E, Stadler M. 2019. The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. *Fungal Diversity* 97:1–136. DOI: 10.1007/s13225-019-00430-9.
- Irbe I, Filipova I, Skute M, Zajackina A, Spunde K, Juhna T. 2021. Characterization of Novel Biopolymer Blend MycoCel from Plant Cellulose and Fungal Fibers. *Polymers* 13:1086. DOI: 10.3390/polym13071086.
- Islam MR, Tudryn G, Bucinell R, Schadler L, Picu RC. 2017. Morphology and mechanics of fungal mycelium. *Scientific Reports* 7:13070. DOI: 10.1038/s41598-017-13295-2.
- Janesch J, Jones MP, Bacher M, Kontturi E, Bismarck A, Mautner A. 2019. Mushroom-derived chitosan-glucan nanopaper filters for the treatment of water. *Reactive and Functional Polymers* 146:104428. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2019.104428.
- Jasper G. 2022a.LBMCF/format-input. Available at <https://github.com/LBMCF/format-input> (accessed May 5, 2022).
- Jasper G. 2022b.LBMCF/remove-duplicates. Available at <https://github.com/LBMCF/format-input> (accessed May 7, 2022).
- Jiang L, Walczyk D, McIntyre G, Chan WK. 2016. Cost modeling and optimization of a manufacturing system for mycelium-based biocomposite parts. *Journal of Manufacturing Systems* 41:8–20. DOI: 10.1016/j.jmsy.2016.07.004.
- Jones M, Bhat T, Huynh T, Kandare E, Yuen R, Wang CH, John S. 2018. Waste-derived low-cost mycelium composite construction materials with improved fire safety. *Fire and Materials* 42:816–825. DOI: 10.1002/fam.2637.
- Jones M, Gandia A, John S, Bismarck A. 2021. Leather-like material biofabrication using fungi. *Nature Sustainability* 4:9–16. DOI: 10.1038/s41893-020-00606-1.
- Jones M, Huynh T, Dekiwadia C, Daver F, John S. 2017. Mycelium Composites: A Review of Engineering Characteristics and Growth Kinetics. *Journal of Bionanoscience* 11:241–257. DOI: 10.1166/jbns.2017.1440.
- Jones M, Huynh T, John S. 2018. Inherent species characteristic influence and growth performance assessment for mycelium composite applications. *Advanced Materials Letters* 9:71–80. DOI: 10.5185/amlett.2018.1977.

- Jones M, Mautner A, Luenco S, Bismarck A, John S. 2020. Engineered mycelium composite construction materials from fungal biorefineries: A critical review. *Materials & Design* 187:108397. DOI: 10.1016/j.matdes.2019.108397.
- Kaplan-Bei JH. 2018. Solution based post-processing methods for mycological biopolymer material and mycological product made thereby.
- Karana E, Blauwhoff D, Hultink E-J, Camere S. 2018. When the Material Grows: A Case Study on Designing (with) Mycelium-based Materials. 12.
- Kavanagh K (ed.). 2017. *Fungi*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. DOI: 10.1002/9781119374312.ch12.
- Kawai S, Nakagawa M, Ohashi H. 2002. Degradation mechanisms of a nonphenolic β -O-4 lignin model dimer by *Trametes versicolor* laccase in the presence of 1-hydroxybenzotriazole. *Enzyme and Microbial Technology* 30:482–489. DOI: 10.1016/S0141-0229(01)00523-3.
- Khan FI, Rahman S, Queen A, Ahamad S, Ali S, Kim J, Hassan MdI. 2017. Implications of molecular diversity of chitin and its derivatives. *Applied Microbiology and Biotechnology* 101:3513–3536. DOI: 10.1007/s00253-017-8229-1.
- Koronis G, Silva A, Fontul M. 2013. Green composites: A review of adequate materials for automotive applications. *Composites Part B: Engineering* 44:120–127. DOI: 10.1016/j.compositesb.2012.07.004.
- Latgé J-P. 2010. Tasting the fungal cell wall: Tasting fungal cell wall. *Cellular Microbiology* 12:863–872. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2010.01474.x.
- Lelivelt RJJ, Lindner G, Teuffel P, Lamers H. 2015. The production process and compressive strength of Mycelium-based materials. *First International Conference on Bio-based Building Materials. 22-25 June 2015, Clermont-Ferrand, France*:1–6.
- Li W, Yao W, Zhu W, Xi C, Duan T. 2016. In situ preparation of mycelium/bayberry tannin for the removal of strontium from aqueous solution. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 310:495–504. DOI: 10.1007/s10967-016-4808-3.
- de Lima GG, Schoenherr ZCP, Magalhães WLE, Tavares LBB, Helm CV. 2020. Enzymatic activities and analysis of a mycelium-based composite formation using peach palm (*Bactris gasipaes*) residues on *Lentinula edodes*. *Bioresources and Bioprocessing* 7:58. DOI: 10.1186/s40643-020-00346-2.
- Lo V, Lai JI-C, Sunde M. 2019. Fungal Hydrophobins and Their Self-Assembly into Functional Nanomaterials. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1174:161–185. DOI: 10.1007/978-981-13-9791-2_5.

- Luz AB da, Almeida SLM de. 2012. *Capítulo 5: Normas Técnicas e Caracterização Tecnológica dos Agregados*.
- Macarthur DE, Waughray D, Stuchtey MR. 2006. The New Plastics Economy: Rethinking the future of plastics. Available at <https://ellenmacarthurfoundation.org/the-new-plastics-economy-rethinking-the-future-of-plastics> (accessed December 21, 2022).
- Mantovani TRD, Meirelles LDP, Valle JS do, Linde GA, Colauto NB. 2012. Formulação de substratos na produção de biomassa micelial e de lacase de *Pleurotus ostreatus*. *Semina: Ciências Agrárias* 33:1681–1692. DOI: 10.5433/1679-0359.2012v33n5p1681.
- Menezes TAD. 2014. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA.
- Meyers MA, Chen P-Y, Lin AY-M, Seki Y. 2008. Biological materials: Structure and mechanical properties. *Progress in Materials Science* 53:1–206. DOI: 10.1016/j.pmatsci.2007.05.002.
- Mikolasch A, Schauer F. 2009. Fungal laccases as tools for the synthesis of new hybrid molecules and biomaterials. *Applied Microbiology and Biotechnology* 82:605–624. DOI: 10.1007/s00253-009-1869-z.
- Money NP. 2016. Chapter 2 - Fungal Cell Biology and Development. In: Watkinson SC, Boddy L, Money NP eds. *The Fungi (Third Edition)*. Boston: Academic Press, 37–66. DOI: 10.1016/B978-0-12-382034-1.00002-5.
- Moraes S, Massola C, Saccoccio E, Silva D, Tukoff-Guimarães Y. 2017. Cenário brasileiro da geração e uso de biomassa adensada. *REVISTA IPT TECNOLOGIA E INOVAÇÃO* 1. DOI: 10.34033/2526-5830-v1n4-5.
- Mosquera JCP. 2007. Evaluación del Crecimiento Y Producción de Lentinula edodes (SHIITAKE), en residuos agroindustriales. Bogotá: Facultad de Ciencias. Pontificia Universidade Javeriana.
- Motta IL, Miranda NT, Maciel Filho R, Wolf Maciel MR. 2018. Biomass gasification in fluidized beds: A review of biomass moisture content and operating pressure effects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 94:998–1023. DOI: 10.1016/j.rser.2018.06.042.
- National Library of Medicine. 2022. Home - Genome - NCBI. Available at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome> (accessed May 5, 2022).
- Nawawi WMFW, Jones MP, Kontturi E, Mautner A, Bismarck A. 2020a. Plastic to elastic: Fungi-derived composite nanopapers with tunable tensile properties. *Composites Science and Technology* 198:108327. DOI: 10.1016/j.compscitech.2020.108327.

- Nawawi WMFBW, Jones M, Murphy RJ, Lee K-Y, Kontturi E, Bismarck A. 2020b. Nanomaterials Derived from Fungal Sources—Is It the New Hype? *Biomacromolecules* 21:30–55. DOI: 10.1021/acs.biomac.9b01141.
- Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, Shamseer L, Tetzlaff JM, Akl EA, Brennan SE, Chou R, Glanville J, Grimshaw JM, Hróbjartsson A, Lalu MM, Li T, Loder EW, Mayo-Wilson E, McDonald S, McGuinness LA, Stewart LA, Thomas J, Tricco AC, Welch VA, Whiting P, Moher D. 2021. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ (Clinical research ed.)* 372:n71. DOI: 10.1136/bmj.n71.
- Pelletier MG, Holt GA, Wanjura JD, Bayer E, McIntyre G. 2013. An evaluation study of mycelium based acoustic absorbers grown on agricultural by-product substrates. *Industrial Crops and Products* 51:480–485. DOI: 10.1016/j.indcrop.2013.09.008.
- Pelletier MG, Holt GA, Wanjura JD, Lara AJ, Tapia-Carillo A, McIntyre G, Bayer E. 2017. An evaluation study of pressure-compressed acoustic absorbers grown on agricultural by-products. *Industrial Crops and Products* 95:342–347. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.10.042.
- Peralta RM, da Silva BP, Gomes Côrrea RC, Kato CG, Vicente Seixas FA, Bracht A. 2017. Chapter 5 - Enzymes from Basidiomycetes—Peculiar and Efficient Tools for Biotechnology. In: Brahmachari G ed. *Biotechnology of Microbial Enzymes*. Academic Press, 119–149. DOI: 10.1016/B978-0-12-803725-6.00005-4.
- Raimbault M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electronic Journal of Biotechnology* 1:174–188. DOI: 10.2225/vol1-issue3-fulltext-9.
- Ramakrishna S, Huang Z-M. 2016. Biocomposites. In: *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*. Elsevier, B9780128035818010000. DOI: 10.1016/B978-0-12-803581-8.00965-6.
- Raman J, Kim D-S, Kim H-S, Oh D-S, Shin H-J. 2022. Mycofabrication of Mycelium-Based Leather from Brown-Rot Fungi. *Journal of Fungi* 8:317. DOI: 10.3390/jof8030317.
- Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE. 2013. Introduction - Biomaterials Science: An Evolving, Multidisciplinary Endeavor. In: Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE eds. *Biomaterials Science (Third Edition)*. Academic Press, xxv–xxxix. DOI: 10.1016/B978-0-08-087780-8.00153-4.
- Rekik H, Zarái Jaouadi N, Bouacem K, Zenati B, Kourdali S, Badis A, Annane R, Bouanane-Darenfed A, Bejar S, Jaouadi B. 2019. Physical and enzymatic properties of a new manganese peroxidase from the white-rot fungus *Trametes pubescens* strain i8 for

- lignin biodegradation and textile-dyes biodecolorization. *International Journal of Biological Macromolecules* 125:514–525. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.053.
- Ross P, Scullin M, Wenner N, Chase J, Miller Q, Saltidos R, McGaughy P. 2020. Mycelium growth bed with perforation layer and related method for creating a uniform sheet of mycelium from a solid-state medium.
- Sabantina L, Kinzel F, Hauser T, Többer A, Klöcker M, Döpke C, Böttjer R, Wehlage D, Rattenholl A, Ehrmann A. 2019. Comparative Study of *Pleurotus ostreatus* Mushroom Grown on Modified PAN Nanofiber Mats. *Nanomaterials* 9:475. DOI: 10.3390/nano9030475.
- de Salas F, Camarero S. 2021. Fungal Laccases as Biocatalysts for Wide Range Applications. In: *Encyclopedia of Mycology*. Elsevier, 233–246. DOI: 10.1016/B978-0-12-809633-8.21087-X.
- Salehinik F, Behzad T, Zamani A, Bahrami B. 2021. Extraction and characterization of fungal chitin nanofibers from *Mucor indicus* cultured in optimized medium conditions. *International Journal of Biological Macromolecules* 167:1126–1134. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.11.066.
- Sánchez C. 2010. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85:1321–1337. DOI: 10.1007/s00253-009-2343-7.
- Santos EMC, Silva OA da. 2018. SISAL NA BAHIA - BRASIL. *Mercator (Fortaleza)* 16. DOI: 10.4215/rm2017.e16029.
- Sayfutdinova A, Samofalova I, Barkov A, Cherednichenko K, Rimashevskiy D, Vinokurov V. 2022. Structure and Properties of Cellulose/Mycelium Biocomposites. *Polymers* 14:1519. DOI: 10.3390/polym14081519.
- Semedo I. 2006. O Mercado de Energia Renovável: Viabilidade Econômica do Dendê na Agricultura Familiar no Baixo Sul - Bahia. Universidade Federal da Bahia Faculdade de Ciências Econômicas.
- Singh R, Kapoor V, Kumar V. 2012. Utilization of Agro-industrial Wastes for the Simultaneous Production of Amylase and Xylanase by Thermophilic Actinomycetes. *Brazilian Journal of Microbiology* 43:1545–1552. DOI: 10.1590/S1517-83822012000400039.
- de Siqueira FG, de Siqueira EG, Jaramillo PMD, Silveira MHL, Andreus J, Couto FA, Batista LR, Filho EXF. 2010. The potential of agro-industrial residues for production of holocellulase from filamentous fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation* 64:20–26. DOI: 10.1016/j.ibiod.2009.10.002.

- Song YK, Hong SH, Eo S, Han GM, Shim WJ. 2020. Rapid Production of Micro- and Nanoplastics by Fragmentation of Expanded Polystyrene Exposed to Sunlight. *Environmental Science & Technology* 54:11191–11200. DOI: 10.1021/acs.est.0c02288.
- de Souza DF, Kirst Tychanowicz G, Giatti Marques de Souza C, Peralta RM. 2006. Co-production of ligninolytic enzymes by *Pleurotus pulmonarius* on wheat bran solid state cultures. *Journal of Basic Microbiology* 46:126–134. DOI: 10.1002/jobm.200510014.
- Sun W, Tajvidi M, Hunt CG, McIntyre G, Gardner DJ. 2019. Fully Bio-Based Hybrid Composites Made of Wood, Fungal Mycelium and Cellulose Nanofibrils. *Scientific Reports* 9:3766. DOI: 10.1038/s41598-019-40442-8.
- Tedersoo L, Sánchez-Ramírez S, Kõljalg U, Bahram M, Döring M, Schigel D, May T, Ryberg M, Abarenkov K. 2018. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Diversity* 90:135–159. DOI: 10.1007/s13225-018-0401-0.
- Teixeira JL, Matos MP, Nascimento BL, Griza S, Holanda FSR, Marino RH. 2018. Production and mechanical evaluation of biodegradable composites by white rot fungi. *Ciência e Agrotecnologia* 42:676–684. DOI: 10.1590/1413-70542018426022318.
- Tejedor G, Segalàs J, Rosas-Casals M. 2018. Transdisciplinarity in higher education for sustainability: How discourses are approached in engineering education. *Journal of Cleaner Production* 175:29–37. DOI: 10.1016/j.jclepro.2017.11.085.
- Tomé LMR, Badotti F, Assis GBN, Fonseca PLC, da Silva GA, da Silveira RMB, Costa-Rezende DH, Dos Santos ERD, de Carvalho Azevedo VA, Figueiredo HCP, Góes-Neto A. 2019. Proteomic fingerprinting for the fast and accurate identification of species in the Polyporoid and Hymenochaetoid fungi clades. *Journal of Proteomics* 203:103390. DOI: 10.1016/j.jprot.2019.103390.
- Torres-León C, Ramírez-Guzmán N, Ascacio-Valdés J, Serna-Cock L, dos Santos Correia MT, Contreras-Esquivel JC, Aguilar CN. 2019. Solid-state fermentation with *Aspergillus niger* to enhance the phenolic contents and antioxidative activity of Mexican mango seed: A promising source of natural antioxidants. *LWT* 112:108236. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.06.003.
- Trabelsi M, Mamun A, Klöcker M, Brockhagen B, Kinzel F, Kapanadze D, Sabantina L. 2021. Polyacrylonitrile (PAN) nanofiber mats for mushroom mycelium growth investigations and formation of mycelium-reinforced nanocomposites. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics* 16:15589250211037982. DOI: 10.1177/15589250211037982.

- Vandelook S, Elsacker E, Van Wylick A, De Laet L, Peeters E. 2021. Current state and future prospects of pure mycelium materials. *Fungal Biology and Biotechnology* 8:20. DOI: 10.1186/s40694-021-00128-1.
- Viniegra-González G, Favela-Torres E, Aguilar CN, Romero-Gomez S de J, Díaz-Godínez G, Augur C. 2003. Advantages of fungal enzyme production in solid state over liquid fermentation systems. *Biochemical Engineering Journal* 13:157–167. DOI: 10.1016/S1369-703X(02)00128-6.
- Weiland K, Jones MP, Fortea-Verdejo M, Mautner A, Bismarck A, John S. 2019. Waste-derived nanocellulose-chitin hybrid materials with tunable physical properties
- Widsten P, Kandelbauer A. 2008. Adhesion improvement of lignocellulosic products by enzymatic pre-treatment. *Biotechnology Advances* 26:379–386. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2008.04.003.
- Wösten HAB. 2019. Filamentous fungi for the production of enzymes, chemicals and materials. *Current Opinion in Biotechnology* 59:65–70. DOI: 10.1016/j.copbio.2019.02.010.
- Wu N, Tian F, Moodley O, Song B, Jia C, Ye J, Lv R, Qin Z, Li C. 2019. Optimization of agro-residues as substrates for *Pleurotus pulmonarius* production. *AMB Express* 9:184. DOI: 10.1186/s13568-019-0907-1.
- Yang Z (Joey), Zhang F, Still B, White M, Amstislavski P. 2017. Physical and Mechanical Properties of Fungal Mycelium-Based Biofoam. *Journal of Materials in Civil Engineering* 29:04017030. DOI: 10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0001866.
- Yousefi N, Jones M, Bismarck A, Mautner A. 2021. Fungal chitin-glucan nanopapers with heavy metal adsorption properties for ultrafiltration of organic solvents and water. *Carbohydrate Polymers* 253:117273. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117273.
- Yu G-J, Wang M, Huang J, Yin Y-L, Chen Y-J, Jiang S, Jin Y-X, Lan X-Q, Wong BHC, Liang Y, Sun H. 2012. Deep Insight into the *Ganoderma lucidum* by Comprehensive Analysis of Its Transcriptome. *PLOS ONE* 7:e44031. DOI: 10.1371/journal.pone.0044031.
- Zhou M, Liao J, Li G, Yu Z, Xie D, Zhou H, Wang F, Ren Y, Xu R, Dai Y, Wang J, Huang J, Zhang R. 2022. Expandable carboxymethyl chitosan/cellulose nanofiber composite sponge for traumatic hemostasis. *Carbohydrate Polymers* 294:119805. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.119805.
- Zhu W, Li Y, Dai L, Li J, Li X, Li W, Duan T, Lei J, Chen T. 2018. Bioassembly of fungal hyphae/carbon nanotubes composite as a versatile adsorbent for water pollution control. *Chemical Engineering Journal* 339:214–222. DOI: 10.1016/j.cej.2018.01.134.

Zin MI, Jimat DN, Nawawi WMF. 2022. Physicochemical properties of fungal chitin nanopaper from shiitake (*L. edodes*), enoki (*F. velutipes*) and oyster mushrooms (*P. ostreatus*). *Carbohydrate Polymers* 281:119038. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.119038.

Supplementary Material

Current situation and future perspectives for the use of fungi in the biomaterial industry and proposal for a new classification of fungal-derived materials

Luz Alba Ballen Sierra¹, Thairine Mendes-Pereira¹, Glen Jasper Yupanqui García², Carla Queiroga Werkhaizer³, Juliana Barros de Rezende³, Thiago Augusto Borges Rodrigues³, Fernanda Badotti⁴, Emanuelle Santos de Carvalho Cardoso⁵, Andréa Miura da Costa⁵, Ana Paula Trovatti Uetanabaro^{1,5}, Maria Teresa Paulino Aguilar⁶, Aristóteles Góes-Neto^{1,2,3}

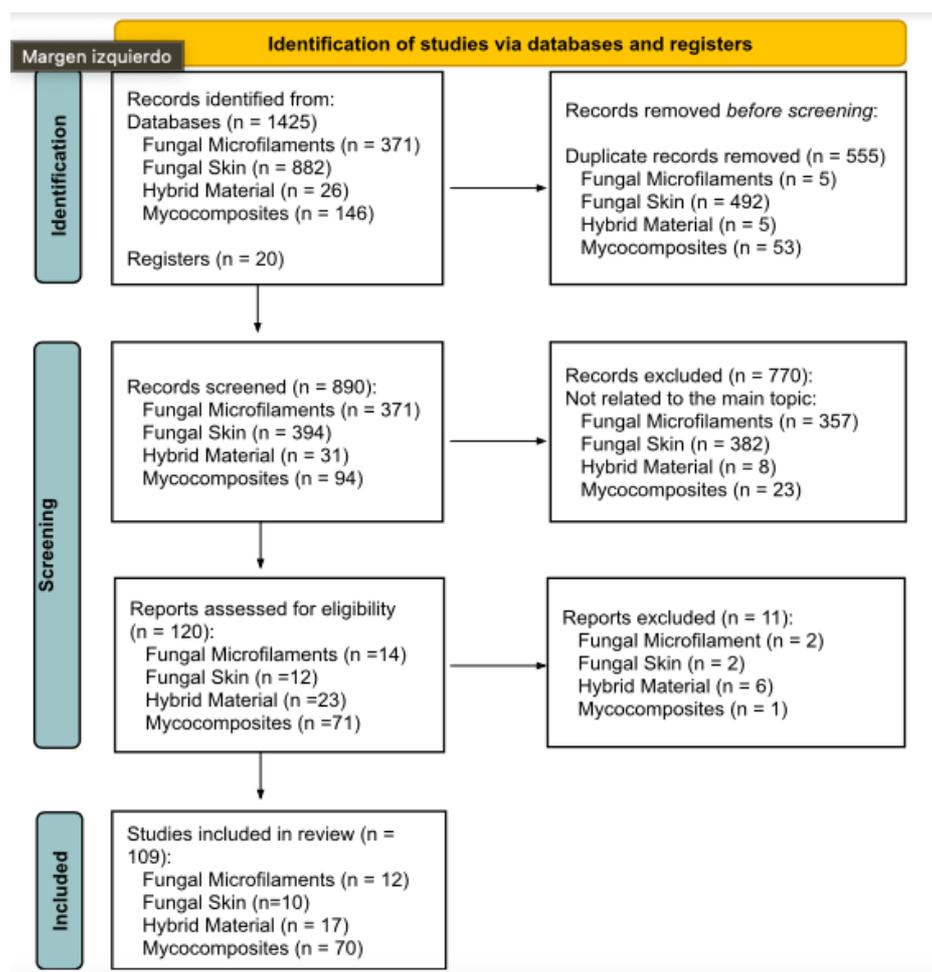


Figure S1: Global view of the records through database searching. PRISMA diagram shows the main results of the searches for papers in three databases: Web of Science – Core Collection, Scopus (Elsevier), and PubMed. We performed four searches in February 2021 using the three databases, considering a group of keywords for each search separately, grouped in four main topics: ‘Fungal Microfilaments’, ‘Fungal Skin’, ‘Hybrid Material’, and ‘Mycocomposites, according to the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) suggested flow-chart for literature selection process (Page et al., 2021).

Table S1: Search strategies and keywords selected for the screening of information that indicates related studies to bio-based materials.

Search 1	
Database	Keywords
PubMed	((((Mycocomposite [Title/Abstract]) OR (Mycelium based composites [Title/Abstract]) OR (Composite foam mycelia[Title/Abstract]) OR (Mycelium-based materials[Title/Abstract]) OR (Fungal mycelium packaging [Title/Abstract]) OR (Myco Foam mushroom-based [Title/Abstract]) OR (Fungal Mycelium-Based Biofoam [Title/Abstract]) OR (Mycelium derived materials[Title/Abstract]) OR (Mycelium composites [Title/Abstract]) OR (Mycelium boards [Title/Abstract]) OR (Composite mycelium material [Title/Abstract]) OR (Mycelium material[Title/Abstract])) AND ((fungi [Title/Abstract]) OR (fungal [Title/Abstract]) OR (fungus [Title/Abstract]) OR (mycelium [Title/Abstract]) OR (mushroom [Title/Abstract])))
Scopus	(TITLE-ABS-KEY("Mycocomposite" OR "Mycelium based composites" OR "Composite foam mycelia" OR "Mycelium-based materials" OR "Fungal mycelium packaging" OR "Myco Foam mushroom-based" OR "Fungal Mycelium-Based Biofoam" OR "Mycelium derived materials" OR "Mycelium composites" OR "Mycelium boards" OR "Composite mycelium material" OR "Mycelium material") AND TITLE-ABS-KEY("fungi" OR "fungal" OR "fungus" OR "mycelium" OR "mushroom"))
Web of Science	TS=((("Mycocomposite" OR "Mycelium based composites" OR "Composite foam mycelia" OR "Mycelium-based materials" OR "Fungal mycelium packaging" OR "Myco Foam mushroom-based" OR "Fungal Mycelium-Based Biofoam" OR "Mycelium derived materials" OR "Mycelium composites" OR "Mycelium boards" OR "Composite mycelium material" OR "Mycelium material") AND ("fungi" OR "fungal" OR "fungus" OR "mycelium" OR "mushroom"))
Search 2	
Database	Keywords
PubMed	((((Mycocomposite [Title/Abstract]) OR (Fungal chitin nanofibers [Title/Abstract]) OR (Fungal chitin nanopapers [Title/Abstract]) OR (Fungal structural polymers [Title/Abstract]) OR (Fungal nanomaterials [Title/Abstract]) OR (fungal chitin nanomaterials [Title/Abstract]) OR (fungal glucan nanomaterials [Title/Abstract]) OR (Natural fungal chitin nanofibrils [Title/Abstract]) OR (Natural fungal chitosan nanofibrils [Title/Abstract])) OR (((Nanopapers [Title/Abstract]) OR (Chitosan glucan nanopapers [Title/Abstract])) AND (common white button mushroom [Title/Abstract]))) AND ((fungi [Title/Abstract]) OR (fungal [Title/Abstract]) OR (fungus [Title/Abstract]) OR (mycelium [Title/Abstract]) OR (mushroom [Title/Abstract])))
Scopus	((TITLE-ABS-KEY ("Mycocomposite" OR "Fungal chitin nanofibers" OR "Fungal chitin nanopapers" OR "Fungal structural polymers" OR "Fungal nanomaterials" OR "fungal chitin nanomaterials" OR "fungal

	glucan nanomaterials" OR "Natural fungal chitin nanofibrils" OR "Natural fungal chitosan nanofibrils") OR (TITLE-ABS-KEY ("Nanopapers" OR "Chitosan glucan nanopapers") AND TITLE-ABS-KEY ("common white button mushroom")) AND TITLE-ABS-KEY ("fungi" OR "fungal" OR "fungus" OR "mycelium" OR "mushroom"))
Web of Science	TS=(((("Mycocomposite" OR "Fungal chitin nanofibers" OR "Fungal chitin nanopapers" OR "Fungal structural polymers" OR "Fungal nanomaterials" OR "fungal chitin nanomaterials" OR "fungal glucan nanomaterials" OR "Natural fungal chitin nanofibrils" OR "Natural fungal chitosan nanofibrils") OR (("Nanopapers" OR "Chitosan glucan nanopapers") AND "common white button mushroom")) AND ("fungi" OR "fungal" OR "fungus" OR "mycelium" OR "mushroom"))
Search 3	
Database	Keywords
PubMed	((((Hybrid biocomposites from mycelium [Title/Abstract]) OR (Nanofiber mats, composite from fungal mycelium [Title/Abstract]) OR (Mycelium Hybrid Materials [Title/Abstract]) OR (Mycocel biopolymers [Title/Abstract]) OR (Fungal mycelium-nanocellulose [Title/Abstract])) AND ((fungi[Title/Abstract]) OR (fungal [Title/Abstract]) OR (fungus[Title/Abstract]) OR (mycelium [Title/Abstract]) OR (mushroom [Title/Abstract])))
Scopus	(TITLE-ABS-KEY("Hybrid biocomposites from mycelium" OR "Nanofiber mats, composite from fungal mycelium" OR "Mycelium Hybrid Materials" OR "Mycocel biopolymers" OR "Fungal mycelium-nanocellulose") AND TITLE-ABS-KEY("fungi" OR "fungal" OR "fungus" OR "mycelium" OR "mushroom"))
Web of Science	TS=(((Hybrid biocomposites from mycelium) OR (Nanofiber mats, composite from fungal mycelium) OR (Mycelium Hybrid Materials) OR (Mycocel biopolymers) OR (Fungal mycelium-nanocellulose)) AND ((fungi) OR (fungal) OR (fungus) OR (mycelium) OR (mushroom)))
Search 4	
Database	Keywords
PubMed	((((Pure mycelium materials [Title/Abstract]) OR (Fungal skin [Title/Abstract]) OR (Mycelium films [Title/Abstract]) OR (Flexible Fungal Materials [Title/Abstract]) OR (fungal flexible materials [Title/Abstract]) OR (FFMs [Title/Abstract])) AND ((fungi [Title/Abstract]) OR (fungal [Title/Abstract]) OR (fungus [Title/Abstract]) OR (mycelium [Title/Abstract]) OR (mushroom [Title/Abstract])))
Scopus	(TITLE-ABS-KEY ("Pure mycelium materials" OR "Fungal skin" OR "Mycelium films" OR "Flexible Fungal Materials" OR "fungal flexible materials" OR "FFMs") AND TITLE-ABS-KEY ("fungi" OR "fungal" OR "fungus" OR "mycelium" OR "mushroom"))
Web of Science	TS=(((("Pure mycelium materials" OR "Fungal skin" OR "Mycelium films" OR "Flexible Fungal Materials" OR "fungal flexible materials" OR

	"FFMs") AND ("fungi" OR "fungal" OR "fungus" OR "mycelium" OR "mushroom"))
--	--

Table S2: Inclusion and exclusion criteria for the literature review

Inclusion criteria	Description of potential applications
Material application	Structuring in construction, sound or thermal insulation, furniture, packaging, textiles, reinforcing or structuring nanocomposites
Origin	Materials strictly derived from filamentous fungi
Exclusion criteria	
Material application	Medical, food, nutraceutical or bioceutical applications
Origin	Materials derived from Bacteria, yeast or symbiotic culture of bacteria and yeast (SCOBY), or any of these in interactions with filamentous fungi

Table S3: Other names used to describe mycocomposites, hybrid materials, and fungal chitin nanofibers in literature

Type of biomaterial	Synonyms	Reference
Mycocomposites	Mycelium-based composites	(Appels et al., 2019)
	Composite foam mycelia	(Arifin & Yusuf, 2013)
	Mycelium-based materials	(Lelivelt et al., 2015; Karana et al., 2018)
	Fungal mycelium packaging	(Holt et al., 2012)
	MycoFoam mushroom-based	(Macarthur, Waughray & Stuchtey, 2006)
	Fungal Mycelium-Based Biofoam	(Yang et al., 2017)
	Mycelium-derived materials	(Jones et al., 2020; Appels et al., 2020)
	Mycelium composites	(Jones et al., 2020)
	Mycelium boards	(Vasquez & Vega, 2019)
	Composite mycelium material	(Appels et al., 2020)
	Mycelium material	(Appels et al., 2020)
Hybrid Materials	Hybrid biocomposites from mycelium	(Attias et al., 2021)
	Mycelium–nanocellulose biocomposite	(Attias et al., 2021)
	Hybrid NC–mycelium biocomposites	(Attias et al., 2021)

	Nanofiber mats, composite from fungal mycelium	(Sabantina et al., 2019)
	Bio-based composites	(Sabantina et al., 2019)
	PAN/mycelium composites	(Sabantina et al., 2019)
	Mycelium Hybrid Materials	(Attias et al., 2021)
	Mycocel biopolymers	(Irbe et al., 2021)
	Fungal mycelium–nanocellulose	(Irbe et al., 2021)
	Mycelium-reinforced nanocomposites	(Trabelsi et al., 2021)
	Mycelium/PAN composites	(Trabelsi et al., 2021)
	Mycelium-enhanced nanocomposites	(Trabelsi et al., 2021)
	Bio-mycelium composites	(Trabelsi et al., 2021)
	Mycelium-reinforced biocomposites	(Trabelsi et al., 2021)
	Hybrid panel composites	(Sun et al., 2019)
	Hybrid systems of wood, mycelium and CNF	(Sun et al., 2019)
	HNT-fungus hybrids	(Ahn et al., 2020)
	HNT-doped fungal mycelia hybrid	(Ahn et al., 2020)
	Mycelium/BT hybrid materials	(Li et al., 2016)
	Hybrid biological material	(Li et al., 2016)
	Hybridisation of mycelium composites	(Elsacker et al., 2021)
	Hybrid materials	(Elsacker et al., 2021)
	Hybridisation of mycelium materials	(Elsacker et al., 2021)
	Hybridization of mycelium materials	(Elsacker, De Laet & Peeters, 2022)
Fungal Nanofibers	Chitin Fungal microfilaments	(Jones et al., 2018)
	Chitin Fungal biopolymers and the fungal biorefinery	(Jones et al., 2020)
	Chitin Fungal chitin	(Janesch et al., 2019; Nawawi et al., 2020a)
	Chitin Nanomaterials Derived from Fungal Sources	(Nawawi et al., 2020a, 2020b)
	Chitin nanofibers from fungal	(Nawawi et al., 2020a)
	Chitin nanopapers from a fungal	(Nawawi et al., 2020a)
	Nanopapers derived from common white-button mushroom	(Nawawi et al., 2020b)
	Chitosan-glucan nanopapers derived from common white button mushroom	(Nawawi et al., 2020b)
	Fungal chitin nanofibers	(Janesch et al., 2019)
	Fungal structural polymers	(Nawawi et al., 2020b)
	Fungal nanomaterials	(Nawawi et al., 2020b)

	Chitin/ glucan nanomaterials	(Appels et al., 2020)
	Natural nanofibrils (chitin and chitosan),	(Jones et al., 2018)
	Fungal chitin-glucan nanopapers	(Yousefi et al., 2021)
	FChNF. Nanopapers	(Yousefi et al., 2021)
	Nanofibers obtained from mushrooms	(Zin, Jimat & Nawawi, 2022)
	Chitin Nanofibers (ChNF)	(Salehinik et al., 2021)
	(FChNF) Fungal Chitin Nanofibers	(Nawawi et al., 2020b)
	Chitinous materials and nanofibers derived from fungal mycelium	(Jones et al., 2018)
	Chitinous composites and nanofibers	(Jones et al., 2018)

References

Ahn H, Rehman JU, Kim T, Oh MS, Yoon HY, Kim C, Lee Y, Shin SG, Jeon J-R. 2020. Fungal mycelia functionalization with halloysite nanotubes for hyphal spreading and sorption behavior regulation: A new bio-ceramic hybrid for enhanced water treatment. *Water Research* 186:116380. DOI: 10.1016/j.watres.2020.116380.

Appels FVW, van den Brandhof JG, Dijksterhuis J, de Kort GW, Wösten HAB. 2020. Fungal mycelium classified in different material families based on glycerol treatment. *Communications Biology* 3:334. DOI: 10.1038/s42003-020-1064-4.

Appels FVW, Camere S, Montalti M, Karana E, Jansen KMB, Dijksterhuis J, Krijgsheld P, Wösten HAB. 2019. Fabrication factors influencing mechanical, moisture- and water-related properties of mycelium-based composites. *Materials & Design* 161:64–71. DOI: 10.1016/j.matdes.2018.11.027.

Arifin YH, Yusuf Y. 2013. Mycelium Fibers as New Resource for Environmental Sustainability. *Procedia Engineering* 53:504–508. DOI: 10.1016/j.proeng.2013.02.065.

Attias N. 2020. Mycelium bio-composites in industrial design and architecture: Comparative review and experimental analysis. *Journal of cleaner production* v. 246:119037-. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.119037.

Attias N, Reid M, Mijowska SC, Dobryden I, Isaksson M, Pokroy B, Grobman YJ, Abitbol T. 2021. Biofabrication of Nanocellulose–Mycelium Hybrid Materials. *Adv. Sustainable Syst.* 5 (2). 2000196. <https://doi.org/10.1002/adsu.202000196>.

Elsacker E, De Laet L, Peeters E. 2022. Functional Grading of Mycelium Materials with Inorganic Particles: The Effect of Nanoclay on the Biological, Chemical and Mechanical Properties. *Biomimetics* 7:57. DOI: 10.3390/biomimetics7020057.

Elsacker E, Søndergaard A, Van Wylick A, Peeters E, De Laet L. 2021. Growing living and multifunctional mycelium composites for large-scale formwork applications using robotic abrasive wire-cutting. *Construction and Building Materials* 283:122732. DOI: 10.1016/j.conbuildmat.2021.122732.

- Holt GA, McIntyre G, Flagg D, Bayer E, Wanjura JD, Pelletier MG. 2012. Fungal Mycelium and Cotton Plant Materials in the Manufacture of Biodegradable Molded Packaging Material: Evaluation Study of Select Blends of Cotton Byproducts. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy* 6:431–439. DOI: 10.1166/jbmb.2012.1241.
- Irbe I, Filipova I, Skute M, Zajakina A, Spunde K, Juhna T. 2021. Characterization of Novel Biopolymer Blend Mycocel from Plant Cellulose and Fungal Fibers. *Polymers* 13:1086. DOI: 10.3390/polym13071086.
- Janesch J, Jones MP, Bacher M, Kontturi E, Bismarck A, Mautner A. 2019. Mushroom-derived chitosan-glucan nanopaper filters for the treatment of water. *Reactive and Functional Polymers* 146:104428. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2019.104428.
- Jones M, Huynh T, John S. 2018. Inherent species characteristic influence and growth performance assessment for mycelium composite applications. *Advanced Materials Letters* 9:71–80. DOI: 10.5185/amlett.2018.1977.
- Jones M, Mautner A, Luenco S, Bismarck A, John S. 2020. Engineered mycelium composite construction materials from fungal biorefineries: A critical review. *Materials & Design* 187:108397. DOI: 10.1016/j.matdes.2019.108397.
- Karana E, Blauwhoff D, Hultink E-J, Camere S. 2018. When the Material Grows: A Case Study on Designing (with) Mycelium-based Materials. *International Journal of Design*, 12(2).
- Lelivelt RJJ, Lindner G, Teuffel P, Lamers H. 2015. The production process and compressive strength of Mycelium-based materials. *First International Conference on Bio-based Building Materials. 22-25 June 2015, Clermont-Ferrand, France*:1–6.
- Li W, Yao W, Zhu W, Xi C, Duan T. 2016. In situ preparation of mycelium/bayberry tannin for the removal of strontium from aqueous solution. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 310:495–504. DOI: 10.1007/s10967-016-4808-3.
- Macarthur DE, Waughray D, Stuchtey MR. 2006. The New Plastics Economy: Rethinking the future of plastics. Available at <https://ellenmacarthurfoundation.org/the-new-plastics-economy-rethinking-the-future-of-plastics> (accessed December 21, 2022).
- Nawawi WMFW, Jones MP, Kontturi E, Mautner A, Bismarck A. 2020a. Plastic to elastic: Fungi-derived composite nanopapers with tunable tensile properties. *Composites Science and Technology* 198:108327. DOI: 10.1016/j.compscitech.2020.108327.
- Nawawi WMFBW, Jones M, Murphy RJ, Lee K-Y, Kontturi E, Bismarck A. 2020b. Nanomaterials Derived from Fungal Sources—Is It the New Hype? *Biomacromolecules* 21:30–55. DOI: 10.1021/acs.biomac.9b01141.
- Sabantina L, Kinzel F, Hauser T, Többer A, Klöcker M, Döpke C, Böttjer R, Wehlage D, Rattenholl A, Ehrmann A. 2019. Comparative Study of *Pleurotus ostreatus*

Mushroom Grown on Modified PAN Nanofiber Mats. *Nanomaterials* 9:475. DOI: 10.3390/nano9030475.

Salehinik F, Behzad T, Zamani A, Bahrami B. 2021. Extraction and characterization of fungal chitin nanofibers from *Mucor indicus* cultured in optimized medium conditions. *International Journal of Biological Macromolecules* 167:1126–1134. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.11.066.

Sun W, Tajvidi M, Hunt CG, McIntyre G, Gardner DJ. 2019. Fully Bio-Based Hybrid Composites Made of Wood, Fungal Mycelium and Cellulose Nanofibrils. *Scientific Reports* 9:3766. DOI: 10.1038/s41598-019-40442-8.

Trabelsi M, Mamun A, Klöcker M, Brockhagen B, Kinzel F, Kapanadze D, Sabantina L. 2021. Polyacrylonitrile (PAN) nanofiber mats for mushroom mycelium growth investigations and formation of mycelium-reinforced nanocomposites. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics* 16:15589250211037982. DOI: 10.1177/15589250211037982.

Vasquez ESL, Vega K. 2019. From plastic to biomaterials: prototyping DIY electronics with mycelium. In: *Adjunct Proceedings of the 2019 ACM International Joint Conference on Pervasive and Ubiquitous Computing and Proceedings of the 2019 ACM International Symposium on Wearable Computers*. UbiComp/ISWC '19 Adjunct. New York, NY, USA: Association for Computing Machinery, 308–311. DOI: 10.1145/3341162.3343808.

Yang Z (Joey), Zhang F, Still B, White M, Amstislavski P. 2017. Physical and Mechanical Properties of Fungal Mycelium-Based Biofoam. *Journal of Materials in Civil Engineering* 29:04017030. DOI: 10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0001866.

Yousefi N, Jones M, Bismarck A, Mautner A. 2021. Fungal chitin-glucan nanopapers with heavy metal adsorption properties for ultrafiltration of organic solvents and water. *Carbohydrate Polymers* 253:117273. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117273.

Zin MI, Jimat DN, Nawawi WMF. 2022. Physicochemical properties of fungal chitin nanopaper from shiitake (*L. edodes*), enoki (*F. velutipes*) and oyster mushrooms (*P. ostreatus*). *Carbohydrate Polymers* 281:119038. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.119038.

CAPÍTULO 2

Desenvolvendo micocompósitos a partir de aditivos e rejeitos minerais, resíduos agrícolas e isolados da família Ganodermataceae (Fungi Basidiomycota) de origem brasileira.

REFERENCIAL TEÓRICO

Ciência dos materiais e Biocompósitos

A ciência dos materiais é uma ciência interdisciplinar que relaciona as propriedades de um material com a sua composição, sendo uma disciplina que desde sua concepção na década de 1950 ampliou-se em três vertentes: metais, polímeros e cerâmicas (e suas combinações, compósitos) (MEYERS, MARC ANDRÉ *et al.*, 2008). No início dos anos 90, foram iniciados estudos relacionados a estruturas baseadas em sistemas biológicos, um novo ramo da ciência dos materiais. Desde então, a junção entre a biologia e a ciência dos materiais vem evoluindo de forma acelerada (MEYERS, MARC ANDRÉ *et al.*, 2008; CHEN; MCKITTRICK; MEYERS, 2012).

A ciência dos materiais biológicos pode ser dividida em três áreas amplas podendo ou não se sobreporem: *i*) materiais biológicos: corresponde ao estudo de materiais naturais (por exemplo, osso, penas, pele); *ii*) Materiais bioinspirados também chamada de biomimética: trata-se da síntese de novos materiais, dispositivos e estruturas, inspirados em sistemas observados nas ciências biológicas; *iii*) biomateriais: aborda o desenvolvimento e aplicação de materiais que tenham uma boa compatibilidade com sistemas biológicos, sendo majoritariamente estudados e desenvolvidos na área biomédica (por exemplo, implantes) (MEYERS, MARC A. *et al.*, 2011; CHEN; MCKITTRICK; MEYERS, 2012)

Segundo, CHEN; MCKITTRICK; MEYERS (2012) as estruturas e características únicas dos materiais biológicos são representados por seis componentes inter-relacionados, a seguir:

- **Automontagem** - as estruturas são montadas de baixo para cima, e não de cima para baixo, devido à falta de um andaime preexistente. Mensagens genéticas, atividade celular e atividade enzimática desempenham um papel fundamental.

- **Funcionalidade** - muitos componentes servem para mais de um propósito; por exemplo, penas fornecem capacidade de vôo, camuflagem e isolamento.
- **Hierarquia** - existem diferentes níveis de escala organizada (nano a ultra escalas), conferindo propriedades distintas e traduzíveis de um nível para o seguinte.
- **Hidratação** - as propriedades são altamente dependentes do nível de água na estrutura. Há algumas exceções notáveis, como o esmalte, mas essa regra se aplica à maioria dos materiais biológicos e é de importância primordial.
- **Condições moderadas de síntese** - a maioria dos materiais biológicos é fabricada à pressão atmosférica e temperatura ambiente e em um ambiente aquoso, uma diferença significativa da fabricação de materiais sintéticos.
- **Evolução e restrições ambientais** - a disponibilidade limitada de elementos úteis dita a morfologia e as propriedades resultantes (CHEN; MCKITTRICK; MEYERS, 2012).

Tais particularidades exclusivas e específicas dos materiais biológicos, são o resultado de processos evolutivos que, conseqüentemente, acabam influenciando positivamente as propriedades físicas e mecânicas do material, diferenciando-os dos contrapartes sintéticos, sendo que nestes últimos, segundo MEYERS, MARC ANDRÉ *et al.*, (2008) a evolução não é uma consideração e o seu progresso depende exclusivamente do desenvolvimento da ciência e da tecnologia (MEYERS, MARC ANDRÉ *et al.*, 2008).

Compósitos sintéticos apresentam uma serie de disparidades frente aos não-sintéticos, as quais vão desde sua origem da Petroquímica, até a sua destinação final. Geralmente compósitos sintéticos são difíceis de reciclar devido à complexidade na separação dos seus constituintes. Além disso, quando materiais sintéticos atingem suas limitações, uma nova geração de tecnologia deve ser identificada e desenvolvida (MEYERS, MARC ANDRÉ *et al.*, 2008; MEYERS, MARC A. *et al.*, 2011; CHEN; MCKITTRICK; MEYERS, 2012; GRUNENFELDER *et al.*, 2014; JIANG *et al.*, 2017)

Os compósitos são materiais compostos por duas ou mais fases constituintes distintas (sejam metais, polímeros e/ou cerâmicas), que divergem em forma e constituição. Assim, nos compósitos, as propriedades mecânicas são significativamente diferentes das apresentadas pelos seus constituintes isoladamente, quando não estão formando o compósito (MEYERS, MARC ANDRÉ *et al.*, 2008; RAMAKRISHNA; HUANG, 2016). Já os biocompósitos, também denominados de compósitos verdes ou de base biológica, são compostos nos quais uma ou mais fases são de origem biológica, e comumente são materiais com uma matriz, frequentemente de origem petroquímica, e um material de reforço, sendo neste último geralmente utilizadas fibras de origem vegetal, como o linho, o sisal, o cânhamo, entre outros. (FARUK *et al.*, 2012; KORONIS; SILVA; FONTUL, 2013; LELIVELT *et al.*, 2015; JIANG *et al.*, 2017).

Os biocompósitos vem ganhando muita força no setor industrial, não somente pela ampla serie de propriedades mecânicas e aplicações, mas também por serem provenientes de recursos renováveis e, como uma alternativa sustentável, trazendo benefícios para os seus produtores, clientes e, especialmente, para o meio ambiente, devido à escassez e a problemáticas do uso de recursos derivados do petróleo (FARUK *et al.*, 2012; KORONIS; SILVA; FONTUL, 2013; JIANG *et al.*, 2017). No entanto, como descrito por FARUK (2012), estes materiais verdes também se encontram sobre pressão competitiva do mercado global, exigindo pesquisas contínuas na procura de novos materiais (FARUK *et al.*, 2012).

Recentemente um novo biocomposito foi lançado no mercado, chamando a atenção pela possibilidade de substituição de um material muito poluente como é o poliestireno (material utilizado para embalagens e como material isolante). A quantidade de artigos científicos publicados abordando este novo material ainda é relativamente pequena, mas esse novo biomaterial já apresenta um número considerável de patentes depositadas em diversos países, entre eles o Brasil. Trata-se de uma espuma de micélio, também nomeada por JIANG *et al.*, (2017) de micocomposito, denominação que será adotada no presente trabalho para se referir ao uso de micélio fúngico como parte de um biocomposito (JIANG *et al.*, 2017)

Micocompósitos

Os micocompósitos são materiais que utilizam micélios de fungos em sua composição. Em geral, resíduos agroindustriais servem como fonte de carbono para o crescimento do fungo, o qual constitui o fator agregador do substrato. O micélio representa as estruturas somáticas dos fungos que se apresentam como uma rede altamente ramificada que, portanto, atua como ligantes interfaciais (ARIFIN; YUSUF, 2013; LELIVELT *et al.*, 2015; JIANG *et al.*, 2017).

A diversidade de métodos para a produção de micocompósitos depende da colonização do fungo no substrato. No entanto, os processos de produção coincidem em seis passos centrais e divergem na escolha da condição de cada um destes passos, explicitados a seguir:

1. Preparação do substrato: a escolha do substrato está relacionada com a região onde os micocompósitos estão sendo produzidos e de as características que se deseja no produto final, sendo a disponibilidade, o custo, e a composição os fatores mais relevantes. Segundo KARANA *et al.*, (2018), as propriedades mecânicas do produto final são influenciadas significativamente pelo substrato escolhido, sendo que este deve conter os nutrientes necessários para o correto desenvolvimento do micélio (GIROMETTA *et al.*, 2019; KARANA *et al.*, 2018; LELIVELT *et al.*, 2015; PELLETIER, M.G. *et al.*, 2013);
2. Sistema de esterilização: depende da disponibilidade de equipamentos e técnicas para evitar o crescimento de micro-organismos contaminantes e da quantidade de substrato, podendo ser esterilizados em autoclave ou por processos de pasteurização (KARANA *et al.*, 2018; LELIVELT *et al.*, 2015);
3. Inoculação do substrato: a utilização de grãos inoculados com o fungo de interesse é um dos sistemas mais utilizados, porém também são descritos o uso de discos contendo a cultura fúngica ou esporos em meio líquido (JIANG *et al.*, 2017; KARANA *et al.*, 2018; LELIVELT *et al.*, 2015; PELLETIER, MG *et al.*, 2017);
- 4.

5. Crescimento do fungo: as condições de crescimento variam na escolha da temperatura, umidade, pH e tempo de incubação e, muitas vezes, são pré-determinadas pelo isolado fúngico utilizado, componente central no desenvolvimento de micocompósitos (KARANA *et al.*, 2018; LELIVELT *et al.*, 2015);
6. Acabamentos: os acabamentos descritos na literatura reportam o uso de camadas de diversos materiais, como o linho ou materiais fibrosos. Esses materiais devem apresentar afinidade com o micélio fúngico, cumprindo a função de agregação, o que interfere nas características mecânicas do produto final, conferindo maior resistência (JIANG *et al.*, 2017);
7. Finalização do crescimento: trata-se de uma secagem a altas temperaturas para estabilização do material. Diversas metodologias tem sido testadas, determinando a relação do tempo com a temperatura, no entanto, a secagem dos materiais também depende do tipo de equipamento utilizado. Os protocolos de secagem também são influenciados pelas características do substrato e de sua capacidade de retenção de umidade, o que indica a necessidade de se ter padrões específicos segundo cada caso (JIANG *et al.*, 2017; KARANA *et al.*, 2018; LELIVELT *et al.*, 2015);

O processo de produção de micocompósitos é uma metodologia barata que requer pouca energia, o que torna estes materiais altamente competitivos em relação aos sintéticos. Além disso, os micocompósitos são intrinsecamente seguros, como descrito por JIANG, (2017), uma vez que os matérias desse tipo tem um elevado grau de resistência à radiação UV, química, oxidação e temperatura (faixa de ponto de ignição de 200 a 400°C) (JIANG *et al.*, 2017)

Os micocompósitos vem ganhando força no mercado mundial por três motivos principais: *i*) origem, já que são originados de recursos renováveis e viabilizam o uso de resíduos agroindustriais; *ii*) uso, uma vez que dão a possibilidade de substituição de produtos de origem petroquímica, como por exemplo o poliestireno; *iii*) destinação final, já que, ao fim da meia-vida dos micocompósitos, estes podem ser utilizados como adubo em jardins sem nenhum efeito nocivo devido à ausência de aditivos de origem química (ARIFIN; YUSUF, 2013; GIROMETTA *et al.*, 2019).

Segundo GIROMETTA et al., 2019, 2018 as características mecânicas do produto estão diretamente ligadas à seleção do substrato e do fungo, os quais serão descritos a seguir para uma melhor compreensão.

Fungos

O Reino Fungi é composto por um grupo de organismos muito versátil e diverso em sua biologia estrutural e funcional (MOSQUERA, 2007). O número total de espécies é estimado em mais de 5 milhões, o que faz dos fungos o segundo maior grupo de organismos, somente superado pelos insetos. Desse total, apenas aproximadamente 145 mil espécies foram descritas (SANTOS, NADIENE AV et al., 2015).

Os fungos podem apresentar fase somática na forma unicelular e pluricelular ou hifal. A fase unicelular compreende células únicas, delimitadas e pequenas (LOGUERCIO-LEITE; ESPOSITO, 2004), já a fase hifal têm células alongadas e cilíndricas que se estendem continuamente a partir de suas extremidades (crescimento apical). A depender da interação do ambiente físico-químico e do genoma de cada táxon, o conjunto de hifas, denominado de micélio, que corresponde ao corpo do fungo, pode ser longo ou difuso, curto ou ramificado ou ambos. Da mesma forma, o genoma e o meio ambiente determinam a seletividade específica de espécies nos processos de degradação de substratos (GIROMETTA et al., 2019; GALVAGNO; FORCHIASSIN, 2010).

Segundo GADD, (2007) os fungos, incluindo os basidiomicetos, tem se destacado ainda pelo seu papel em processos geológicos (Geomicrologia), principalmente em habitats terrestres, estando envolvidos em transformações orgânicas e inorgânicas, ciclagem de elementos, transformações de rochas e minerais, formação de minerais micogênicos, interações de fungos com argilas, e com metais. Todas essas transformações biogeoquímicas são importantes para as áreas de biotecnologia ambiental e biorremediação (GADD, 2007).

No reino Fungi, o filo *Basidiomycota* tem sido foco de diversas pesquisas para o desenvolvimento de micocompósitos por três motivos principais, a seguir:

1. Mecanismos enzimáticos e não-enzimáticos de degradação da celulose, hemicelulose e lignina, que ocorrem por meio do desenvolvimento das hifas

em substratos densos (GIROMETTA et al., 2019; PELLETIER, M.G. et al., 2013);

2. Linhagens de *Ganoderma* usualmente apresentam três tipos de hifas, generativas, de ligação e esqueléticas. Segundo JONES (2017) há evidências que relacionam o sistema mítico presente no fungo com o desempenho mecânico dos micocompósitos (JONES, M; HUYNH; JOHN, 2018; JONES, MITCHELL et al., 2017). Dessa forma, fungos do gênero *Ganoderma* representam um bom grupo de estudo para esse tema;
3. Amplo conhecimento sobre as condições ideais de crescimento em função de serem grandemente utilizados para o consumo humano e animal (BAYER, 2006; LELIVELT et al., 2015);

Fungos da família Ganodermataceae (filo Basidiomycota) são de grande interesse na área dos micocompósitos. Estes organismos apresentam basidiomas pileados, sésseis e estipitados, sistema hifal trimítico com presença de hifas esqueléticas arboriformes e ligadoras e presença de basidiósporos com parede dupla no qual a porção interna apresenta ornamentação, sendo esta uma característica exclusiva do táxon (RYVARDEN, 2004).

A família Ganodermataceae apresenta distribuição cosmopolita, ocorrendo em praticamente todos os domínios fitogeográficos, sendo conhecidas 54 espécies no Brasil (RYVARDEN, 2004; CAMPACCI, GUGLIOTTA, 2009; GOMES-SILVA, GIBERTONI, 2010; GUGLIOTTA et al., 2013). Os fungos pertencentes a esta família são considerados parasitas de cerne ou raízes de árvores, bem como causadoras de podridão branca na madeira (FURTADO, 1981; RYVARDEN, 2004; GLEN et al., 2009; KINGE, AM, 2011).

A degradação da madeira e de diversos resíduos lignocelulósicos ocorre de forma eficiente por possuírem um sistema mais eficiente de enzimas extracelulares quando comparado com o de bactérias e fungos unicelulares (RODRIGUES, 2012; SUDHA et al., 2013). Além disso, estes fungos podem ser cultivados utilizando-se matérias primas baratas, apresentam elevada capacidade de utilização do substrato, alto nível de expressão proteica e baixo índice de contaminação (GRIMM et al., 2005; GUIMARÃES et al., 2006).

As características intrínsecas dos fungos que compõe a família Ganodermataceae fazem com que estes sejam interessantes para a produção de diversos micocompósitos, como no desenvolvimento de caixas de armazenagem, embalagens, placas isolantes e outros produtos substitutos do plástico e da madeira (FRANCO *et al.*, 2014). Desta maneira, diversas variáveis inerentes a cada espécie, bem como aos sistemas de produção, potencializam a geração de produtos com características e usos diversos, sejam como material estrutural, acústico, isolante, absorvente de choques, protetor ao fogo, biodegradável, flexível, rígido, absorvente ou resistente à água (ARIFIN; YUSUF, 2013; HANEEF *et al.*, 2017; HOLT *et al.*, 2012; LELIVELT *et al.*, 2015; PELLETIER, M.G. *et al.*, 2013; PELLETIER, MG *et al.*, 2017).

Substratos

O Brasil representa uma grande potência mundial no setor agrícola. No país, quantidades significativas de biomassa são geradas e estima-se que o volume possa alcançar 1 gigatonelada (1Gt) em 2030 (DE MORAES *et al.*, 2017). Os resíduos gerados na atividade agroindustrial são úteis para a obtenção de produtos com fins energéticos, alimentares, entre outras aplicações biotecnológicas, pois são abundantes, renováveis e baratos (FITZPATRICK *et al.*, 2010; SIQUEIRA *et al.*, 2010).

Muitas abordagens têm sido propostas com o objetivo de agregar valor a esses resíduos, como por exemplo o desenvolvimento de micocompósitos (FITZPATRICK *et al.*, 2010; SIQUEIRA *et al.*, 2010; JONES; HUYNH; JOHN, 2018). Na produção de micocompósitos, o substrato pode servir como estrutura de base para o material e também como fonte de nutrientes para o crescimento do fungo. Fatores relacionados ao tamanho e estrutura do substrato, têm se mostrado relevantes (GIROMETTA *et al.*, 2019; LELIVELT *et al.*, 2015; PELLETIER, M.G. *et al.*, 2013). Com relação ao tamanho, têm se observado que partículas >2 mm afetam a densidade do micocompósito como produto final enquanto que tamanhos muito finos diminuem a aeração dentro do material, e assim, influenciam no crescimento do fungo. Por outro lado, o uso de fibras tem sido associado com mudanças na densidade e com maior resistência a compressão no biomaterial. (GIROMETTA *et al.*, 2019; LELIVELT *et al.*, 2015; PELLETIER, M.G. *et al.*, 2013).

O tipo de substrato utilizado para o crescimento dos fungos pode induzir mudanças fisiológicas e bioquímicas específicas, influenciando na densidade da biomassa celular

que se reflete nas características mecânicas quando se trata do desenvolvimento de micocompósitos. Segundo HANEF *et al.*, (2017) foi observado um maior conteúdo de quitina, alongamento das hifas e resistência, em micélios crescidos sobre meios de cultura contendo celulose pura do que quando crescidos em caldo de celulose-batata-dextrose (PDB) (GIROMETTA *et al.*, 2019; HANEEF *et al.*, 2017; LELIVELT *et al.*, 2015; PELLETIER, M.G. *et al.*, 2013).

Desta forma, a escolha do substrato é um fator determinante para as características do material que se deseja obter. Diversos substratos têm sido utilizados para o crescimento de fungos pertencentes ao filo Basidiomycota, objetivando produtos com características mecânicas diversas (Tabela 1). O tipo de micocompósitos que até agora tem sido mais explorado é na forma de espumas de alta ou baixa densidade, úteis como materiais de construção e na indústria automotiva pelas promissoras propriedades de absorção acústica (GIROMETTA *et al.*, 2019; ELISASHVILI; KVESITADZE, 2005; JONES, MITCHELL *et al.*, 2017; PELLETIER, M.G. *et al.*, 2013) .

Tabela 1. Diferentes combinações de fungos, substratos e características mecânicas avaliadas para a produção de micocompósitos de acordo com a literatura

Nome do trabalho	Fungo	Substrato	Testes mecânico	Autor
The production process and compressive strength of Mycelium-based materials	<i>Coriolus versicolor</i> <i>Pleurotus ostreatus</i>	Lascas de madeira, fibras de cânhamo, fibras soltas de cânhamo e tapetes não tecidos de fibras de cânhamo.	Testes de compressão	(LELIVELT <i>et al.</i> , 2015)
Manufacturing of biocomposite sandwich structures using mycelium-bound cores and preforms	Não descrita	kenaf - cânhamo farinha de milho - cânhamo (50/50% em peso)	Flexão pelo método de flexão de três pontos para determinar a rigidez e resistência. Usa as normas ASTM D7250 e ASTM C393	(JIANG <i>et al.</i> , 2017)
An evaluation study of mycelium based acoustic absorbers grown on agricultural by-product substrates	Não descreve ao nível de espécie no entanto descreve que é do filo Basidiomycota	Palha de arroz, Cânhamo, Fibra de Kenaf, Grama, Fibra de Sorgo, Fibra de algodão Linho	Testes para isolamento acústico e mediu as relações de ondas estacionárias de acordo com a norma ISO 10534-1. Também usa a norma (ASTM) E1050, 2010 (Produção de materiais de baixa densidade)	(PELLETIER <i>et al.</i> , 2013)
Mycelium Fibers as New Resource For Environmental Sustainability	Não descrita	Casca de arroz e grãos de trigo.	Foram feitos testes de porosidade avaliado por MEV e de densidade seguindo a norma ASTM D-792.	(ARIFIN; YUSUF, 2013)
An evaluation study of pressure-compressed acoustic absorbers	Não descreve ao nível de espécie no entanto descreve que é do filo Basidiomycota	Brocas de algodão, Grama, Palha de arroz,	Avaliar as propriedades acústicas de transmissão nos padrões ISO 10534-1 e ISO 10534-2	(PELLETIER <i>et al.</i> , 2017)

grown on agricultural by-products		Talos de sorgo, Talos de milho Fibra de Kenaf,	e ASTM E-1050. (Produção de materiais de alta densidade)	
Method For Producing Rapidly Renewable Chitinous Material Using Fungal Fruiting Bodies And Product Made Thereby	Descreve no referencial teórico mais não nos <i>claims</i> <i>Basidiomycetes;</i> <i>Polyporales;</i> <i>Ganoderma lucidum.</i> <i>Fomes fomentarius</i> <i>Ganoderma appalantum</i> <i>Pleurotus ostreatus</i>		_____	https://www.lens.org/lens/patent/113-138-132-907-704
Method For Producing Grown Materials And Products Made Thereby	<i>Pleurotus ostreatus, Agrocybe brasiliensi, Flammulina velutipes, Hypholoma capnoides, Hypholoma sublaterium, Morchella angusticeps, Macrolepiota procera Coprinus comatus.</i>	Substrato de partículas discretas e um material nutriente O material nutriente é um carboidrato complexo, uma cadeia polissacarídica e um grupo de gordura	-----	https://www.lens.org/lens/patent/048-924-977-769-692

No entanto, uma grande porcentagem dos resíduos lignocelulósicos produzidos no Brasil é ainda subutilizada (DE MORAES *et al.*, 2017; REGINA *et al.*, 2009), como os resíduos de dendê, o resíduo sólido resultante do desfibramento de folhas de sisal e o resíduo do beneficiamento das fibras secas de sisal (popularmente chamado de pó de bateadeira) (ONILDO ARAUJO DA SILVA., 2017). Estes três resíduos são provenientes de cultivos do Estado da Bahia e decorrem predominantemente da agricultura familiar (ONILDO ARAUJO DA SILVA., 2017; SEMEDO, 2006).

Resíduos de dendê

O dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.), também conhecido como palma africana ou coqueiro de dendê, é uma cultura perene que se adapta a climas tropicais úmidos e apresenta um ciclo de 25 anos, atingindo uma altura de até 15 metros. Trata-se de uma oleaginosa com produtividade considerável, que apresenta frutos conhecidos como dendê. Estes apresentam uma polpa fibrosa (mesocarpo) da qual se extrai o óleo de dendê, produto de grande interesse comercial, e a amêndoa ou endocarpo (SEMEDO, 2006).

A economia brasileira tem se beneficiado de forma significativa da cultura do dendê, especialmente em função da produção de óleo, levando o país a ocupar posições de destaque entre os produtores mundiais. A produção nacional girou em torno de 36.915 toneladas de cachos em 2017, com rendimento médio de R\$ 11 milhões segundo dados do IBGE, (2019), sendo que grande parte do cultivo provém da agricultura familiar e tem contribuído na geração de renda das famílias envolvidas com essa atividade agrícola (DOS SANTOS, ORILDO RIBEIRO; CORREA; FRANÇA, 2019; CEPLAC, 2019 ; EMBRAPA,1998).

Em torno de 80% da cultura do dendezeiro tem sido destinada para a indústria de alimentos, 10% para a indústria oleoquímica e os outros 10% para a indústria bioenergética. No processamento do fruto são gerados diversos tipos de resíduos, assim, para cada tonelada de óleo produzida são gerados 1.271 kg de cachos vazios, 710 kg de fibra e 222 kg de casca, resíduos compostos principalmente por celulose e lignina (DOS SANTOS, ORILDO RIBEIRO; CORREA; FRANÇA, 2019; SEMEDO, 2006; CEPLAC, 2019 ; EMBRAPA,1998). Uma pequena parte destes resíduos tem sido

utilizada como adubo para plantações, entretanto, o grande volume de resíduos produzido representa um grave problema econômico, pelo desperdício que representa, e ecológico, por ser um material de difícil decomposição (DOS SANTOS, ORILDO RIBEIRO; CORREA; FRANÇA, 2019; SEMEDO, 2006; CEPLAC, 2019; EMBRAPA,1998)

Os resíduos de dendê não têm sido utilizados para o desenvolvimento de micocompósitos, mas sim para a produção de cogumelos comestíveis. A composição química (32% celulose, 11% hemicelulose e 41% de lignina), bem como a estrutura fibrosa deste substrato indicam que o mesmo é adequado para o crescimento de fungos da família Ganodermataceae e para o desenvolvimento de micocompósitos (FERREIRA, 2013; LELIVELT *et al.*, 2015; EMBRAPA 2018).

Resíduos do processamento da fibra de sisal

A fibra de sisal é uma das fibras duras mais produzidas no mundo, ocupando aproximadamente 70% da produção comercial entre as fibras deste tipo. A fibra de sisal é obtida da planta *Agave sisalana*, cuja cultura no Brasil ocorre na região do semiárido, também conhecida como região sisaleira da Bahia (ONILDO ARAUJO DA SILVA., 2017).

O Brasil é um dos maiores produtores de sisal no mundo, exportando cerca de 85% da fibra bruta e produtos manufaturados, particularmente cordas, aos Estados Unidos. Em 2017 o Estado da Bahia produziu 74.841 toneladas (t) de fibras de sisal, o que representou um rendimento médio de R\$190 milhões segundo dados do IBGE (IBGE, 2019b). A produção de sisal no Brasil acontece predominantemente em pequena escala, quando comparado com países como Kenya ou Tanzania. Esta atividade representa uma importante fonte de renda e sobrevivência para os produtores rurais da região sisaleira, permitindo-lhes superar as limitações de produção agrícola associadas ao clima e tipo de solo do local (SANTOS, EDINUSIA MOREIRA CARNEIRO; SILVA, 2017; FAO, 2019).

O cultivo do sisal e seus processos de beneficiamento tem passado por diversas fases comerciais, que envolvem uma fase inicial de crescimento econômico após sua inserção no Brasil, com posteriores períodos de declínio, sendo esta última fase associada principalmente ao surgimento de fibras sintéticas, doenças na plantação e ausência de tecnologia nos processos. No entanto, desde 2010 a atividade econômica relacionada ao cultivo de sisal se encontra num processo de recuperação, principalmente em função da substituição do uso de fibras sintéticas por fibras biodegradáveis no mercado internacional (SANTOS, EDINUSIA MOREIRA CARNEIRO; SILVA, 2017; FAO, 2019).

A fibra de sisal apresenta importantes características como resistência mecânica, baixo custo, é biodegradável e é hidrofílica, o que tem permitido sua utilização em materiais destinados à indústria automobilística, moveleira e na construção civil. Além disso, novas aplicações vêm surgindo, como por exemplo na indústria de papel ou como material de reforço em compósitos de plástico (FAO, 2019; EMBRAPA ALGODÃO, 2019; GIL-CASTELL *et al.*, 2016; KRISHNAIAH; RATNAM; MANICKAM, 2017).

Segundo a EMBRAPA ALGODÃO (2019), no processo de beneficiamento da fibra de sisal só 3% a 5% do peso das folhas são aproveitadas e o restante constitui os chamados resíduos de desfibramento e os resíduos de beneficiamento das fibras secas, que são gerados tanto na fase rural como na fase urbana do processo (Figura. 1). Os resíduos de desfibramento são compostos em média por 81% de suco ou seiva clorofilada, 15% de mucilagem ou polpa (formado pela cutícula e por tecido polissacarídico e parenquimatoso) e 1% de bucha (fibras curtas). Os resíduos do beneficiamento das fibras secas estão majoritariamente representados pelo pó de bateadeira (ONILDO ARAUJO DA SILVA., 2017).

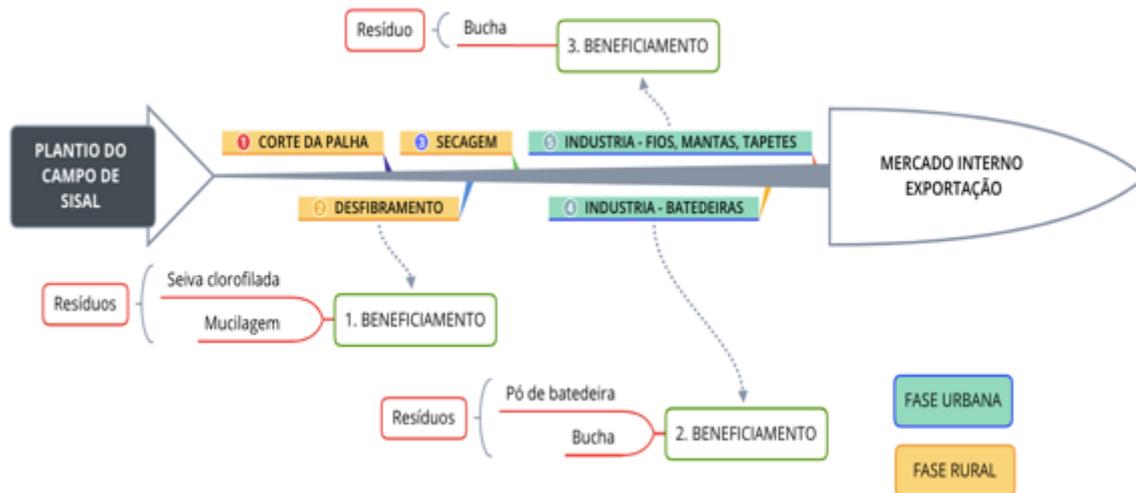


Figura. 1. Etapas da fase rural e urbana do processo de beneficiamento da fibra de sisal e os tipos de resíduos gerados segundo cada uma das etapas. Imagem modificada de SANTOS E SILVA (2017).

A maior parte dos resíduos de processamento do sisal de origem rural é deixada na forma de pilhas, enquanto aqueles gerados em áreas urbanas são destinados a aterros sanitários. Dessa forma, esses subprodutos não são corretamente aproveitados e ainda contribuem com problemas ambientais. A utilização racional desse tipo de resíduo mostra-se como uma excelente oportunidade de emprego e renda no Brasil (NERINI *et al.*, 2016). Alguns usos que tem sido descritos para os resíduos do processo de beneficiamento do sisal, são *i*) adubo neutralizante da acidez do solo devido ao seu elevado pH (BRANDÃO; ALMAS-BAHIA, 2015); *ii*) uso de resíduos líquidos de sisal na produção de praguicidas, nematicidas e medicamentos veterinários (FAO, 2019); *iii*) produção de cogumelos comestíveis (BRANDÃO; ALMAS-BAHIA, 2015).

O uso de resíduos do processo de beneficiamento do sisal apresenta-se ainda promissor como substrato para o crescimento de fungos. No entanto, até o momento, não existem trabalhos que utilizem resíduos do processamento da fibra do sisal para o crescimento de fungos que compõe biocompósitos.

Aditivos como fonte nutricional ou como suporte para o crescimento fúngico

Os aditivos de origem mineral tem sido utilizados para diversos fins na área da agronomia, seja para alimentação animal ou para o tratamento de solos e, em muitos casos, com bons resultados nutricionais e econômicos. Contrariamente, o uso destes compostos para o crescimento de fungos não é uma prática comum, já que se tem preferência pela suplementação com farelos de trigo ou de milho (DONINI *et al.*, 2006).

No desenvolvimento de micocompósitos, o uso de aditivos tem sido explorado de duas formas, como suplemento nutricional ou como suporte de crescimento para os fungos (JIANG *et al.*, 2017; LELIVELT *et al.*, 2015). Além disso, os aditivos devem contribuir para o melhoramento das características mecânicas do produto final (ARIFIN; YUSUF, 2013; BAYER; MCLNTYRE, 2017; LELIVELT *et al.*, 2015). Alguns exemplos de aditivos que tem sido utilizados para produção de micocompósitos são o vidro moído, cuja adição contribui para melhorar as propriedades de resistência ao fogo (JONES, MITCHELL *et al.*, 2018). O silano atua como agente de acoplamento, alterando a flexibilidade e resistência à compressão do material (HE *et al.*, 2014) enquanto que a vermiculita tem sido utilizada para dar volume ao produto final, enquanto que os polímeros de estireno atuam como partículas isolantes (BAYER; MCLNTYRE, 2017).

A atividade mineradora produz uma grande quantidade de compostos que podem ser utilizados como aditivos, dentre eles os resíduos gerados durante a exploração mineral, bem como fontes minerais pouco utilizadas em função do baixo valor comercial. Dentre os minerais negligenciados estão os serpentinitos, metapiroxenitos e filitos. Esses compostos são abundantes na região do quadrilátero ferrífero de Minas Gerais e seu uso tem sido investigado como suplemento nutricional para o solo, em função da sua constituição e ausência de elementos tóxicos (CARMIGNANO, 2015; REZENDE, 2018).

Rejeitos de mineração e minerais de baixo valor econômico representam matérias primas de grande interesse para o desenvolvimento de micocompósitos, pois são abundantes e de baixo custo, além de poderem representar uma fonte importante de minerais para o crescimento do fungo. No entanto, até o momento não existem trabalhos que utilizem rejeitos de mineração nem tampouco as rochas serpentinito, metapiroxenito e filito como aditivos para o desenvolvimento de biocompósitos em geral, e micocompósitos em particular.

Rejeito de mineração de ferro

Os recentes acidentes acontecidos pelo rompimento das barragens de Mariana, MG, em 2015, e Brumadinho MG, em 2019, evidenciam a necessidade de buscar soluções sustentáveis para o uso de rejeitos de mineração.

Como descrito no documento Gestão e Manejo de Rejeitos da Mineração, do IBRAM (2016), a Mineração é um conjunto de atividades designadas a pesquisar, descobrir, mensurar, extrair, tratar ou beneficiar e transformar recursos minerais de forma a torná-los benéficos econômicos e sociais. No entanto, no processo de beneficiamento dos minerais, dois tipos de resíduos são gerados, resíduos sólidos de extração (estéril) e aquele proveniente do tratamento/beneficiamento (rejeitos), cujo conteúdo varia segundo o tipo de minério que está sendo explorado.

Os processos acelerados de crescimento populacional e industrial tem acentuado o aumento na demanda de insumos minerais, o que, conseqüentemente, vem levando a um aumento na geração de resíduos sem um concomitante aumento do crescimento nos processo de tratamento ou beneficiamento destes resíduos. A falta de uma destinação ambientalmente sustentável levou a criação de diques de contenção e barragens para depositar estes rejeitos (IBRAM, 2016), como as utilizadas em Mariana e Brumadinho que romperam e causaram danos ambientais incalculáveis.

Nos mencionados acidentes de rompimento das barragens observam-se problemas de gestão, manejo e fiscalização que levaram a impactos ambientais ainda não mensuráveis, além das perdas humanas. Os riscos associados ao rompimento das barragens são os mais significativos para a indústria da mineração, mas medidas

indispensáveis para a mitigação desses riscos ainda não foram efetivamente tomadas (DONINI *et al.*, 2006).

Ainda de acordo com o documento Gestão e Manejo de Rejeitos da Mineração do IBRAM (2016), existe a necessidade constante de projetos de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação que proponham novos usos para os rejeitos gerados pela exploração de minérios. Dentre os destinos propostos está a fabricação de insumos para a construção civil, como blocos de pavimentação e alvenaria. Esta é uma aplicação altamente sustentável, uma vez que a construção civil também é responsável pelo alto consumo de recursos não-renováveis (FRANCO *et al.*, 2014).

Serpentinito

O serpentinito é uma rocha metamórfica, formada principalmente por minerais do grupo das serpentinas, como antigorita e lizardita. Sua fórmula geral e simplificada é $Mg_3 Si_2 O_5 (OH)_4$, contém de 32 a 38% de óxido de magnésio (MgO), de 35 a 40% de óxido de silício (SiO₂), e de 12 à 13% de H₂O (VIEIRA *et al.*, 2018).

O serpentinito tem sido utilizado como fertilizante de solo, contribuindo no balanceamento da relação Ca/Mg e favorecendo o desenvolvimento de micro-organismos que podem produzir ácidos húmicos (BARBOSA DE SOUZA PRATES *et al.*, 2014; DE MELO; CORTELETTI; ZAIDAN, 2004; PICHLER, 2014; TEIXEIRA *et al.*, 2009).

Filito

O filito é uma rocha metamórfica de granulação fina constituída basicamente de sericita, caulinita e quartzo, composta em média por 60,20% de SiO₂, 22,33% de Al₂O₃, 6,27% de Fe₂O₃, 3,84% de K₂O, 1,09% de Na₂O e 0,78% de TiO₂ (BIONDI; MARCZYNSKI, 2004).

Devido à natureza química e mineralógica dos filitos, estes podem compor até 50% de massas cerâmicas, aumentando a resistência mecânica dos revestimentos nos quais é utilizada como por exemplo em louças de mesa, ladrilhos de piso, azulejos, alguns materiais refratários e em cerâmicas elétricas, podendo ser também usadas como substitutos parciais de argilas (BIONDI; MARCZYNSKI, 2004; MORETO, 2006).

Os filitos são rochas muito comuns na mineração, apresentam baixo valor comercial, cujo preço não justifica os custos de transporte para grandes distâncias entre a empresa mineradora e a indústria, sendo necessárias novas aplicações que permitam agregar valor a este material (BIONDI; MARCZYNSKI, 2004).

Metapiroxenito

Os metapiroxenitos são rochas de granulação grossa do conjunto vulcano-sedimentar. O termo metapiroxenito pode ser entendido como um termo genérico para o termo esteatito, composto por silicatos de magnésio com teores médios de MgO superiores à 25%, e de SiO₂ superiores à 45%. Os metapiroxenitos são constituídos predominantemente por clinopiroxênio (mineral cuja estrutura é dada por cadeias de silicatos), hornblenda (composto por ferro e alumínio), e plagioclásio (ALMEIDA, 2012; FERREIRA FILHO; ARAÚJO; CRUZ, 2017; ULIANA, 2010).

Caracterização mecânica dos micocompósitos

A caracterização mecânica dos micocompósitos é fundamental para se determinar os potenciais usos do produto final, além de cumprir a função de padronização de acordo com normas internacionais específicas. É desta forma que se permite criar um diálogo universal, no entanto, a ausência de materiais do tipo dos micocompósitos dificulta uma comparação objetiva, devido ao uso de métodos e padrões diferentes e ao ajuste a normas específicas para materiais que divergem com os micocompósitos na origem, constituição e destino final, como por exemplo o poliestireno (GIROMETTA *et al.*, 2019., 2019; JIANG *et al.*, 2017; JONES, MITCHELL *et al.*, 2017).

O processo de caracterização dos micocompósitos tem-se ajustado principalmente as normas ISO (International Standardization Organization) e as da ASTM (American Society for Testing and Materials), e a seleção de um dos conjuntos de normas se dá principalmente pela especificidade do caráter a avaliar ou pelo ajuste dos processos e resultados as normas. Um exemplo disto é a avaliação das propriedades acústicas de transmissão de um micocompósito desenvolvido por PELLETIER (2013, 2017) que, inicialmente, usou as duas normas e acabou se ajustando somente as ISO em vista dos resultados não-favoráveis pela normas ASTM (PELLETIER, M.G. *et al.*, 2013; PELLETIER, MG *et al.*, 2017). Isto evidencia a discordância tanto entre as

próprias normas, quanto na pouca quantidade de trabalhos com materiais do tipo dos micocompósitos (GIROMETTA *et al.*, 2019; JIANG *et al.*, 2017; JONES, MITCHELL *et al.*, 2017).

Entre os principais tipos de caracterização descritos na literatura para micocompósitos, encontram-se a resistência à compressão, a resistência à flexão e, em menor proporção, a resistência à ignição. A resistência à compressão é uma das caracterizações majoritariamente realizadas para este tipo de biocompósitos porque o maior interesse em pesquisas tem sido o desenvolvimento de materiais de embalagem. Segundo GIROMETTA, (2019) a resistência à compressão para micocompósitos, quando se utilizam substratos como polpa de serragem macerada, grão de milho, farelo de trigo e fibra natural, varia consistentemente entre 29 kPa e 567 kPa, valores altamente competitivos com diversas categorias de poliestireno expandido (EPS) que apresentam uma resistência entre 20 kPa e 700 kPa. O mesmo autor indica que a seleção do substrato e da espécie fúngica utilizada tem um papel muito importante no desempenho compressivo (GIROMETTA *et al.*, 2019).

A resistência à flexão tem sido associada diretamente à porosidade do material e ao tamanho das partículas utilizadas como substrato para o crescimento do fungo. Portanto, quanto maior o tamanho das partículas, maior a possibilidade de trincas e conseqüentemente, diminui-se a resistência à flexão. Alguns autores sugerem que o conteúdo de polissacarídeos do fungo também tem um papel importante na resistência à flexão, relacionando assim a resistência à flexão com a biologia estrutural do fungo (GIROMETTA *et al.*, 2019).

A resistência à ignição para micocompósitos é pouco explorada, entretanto, alguns estudos apontam que a taxa de liberação de calor é considerada particularmente importante na modelagem do crescimento e na propagação de incêndios, sendo esta taxa relacionada à composição do substrato, os quais pela sua composição, principalmente celulosa (material orgânico inflamável), contribuem na perda de massa e liberação de calor (GIROMETTA *et al.*, 2019; JONES, MITCHELL *et al.*, 2018). Para avaliar este comportamento, tem sido utilizados aditivos, como o vidro moído, o qual aumenta a resistência a ignição (JONES, MITCHELL *et al.*, 2018).

Por fim, sabe-se que a caracterização mecânica dos materiais é um fator importante para a compreensão do comportamento dos mesmos frente ao uso específico que seja pretendido. Logo, é necessário se ajustar temporalmente aos sistemas de padronização nacionais, internacionais e aos descritos na literatura para finalmente obter-se materiais comercialmente competitivos e seguros. Adicionalmente, é necessário incluir os dados e métodos relacionados a caracterizações mecânicas específicas para micocompósitos, de modo a permitir, em um futuro próximo, uma comparação mais objetiva, contemplando a origem e o processo de produção.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular e Computacional de fungos (LBCMF) do departamento de Microbiologia (ICB/UFMG); Laboratório de Química Inorgânica do Departamento de Química (UFMG); no Laboratório de Ensaio Mecânicos - LABMEC do Serviço de Integridade Estrutural e Materiais Avançados – SEMAV que pertence ao Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear - CDTN

1. Aquisição, preservação e manutenção da linhagem fúngica

Tanto a linhagem comercial do fungo basidiomiceto *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst (CCMB601), quanto as linhagens: *Ganoderma sp. 1* - DHCR 356, *Ganoderma sp. 1* - DHCR 379 e *Ganoderma australe* - CCMB 456; foram cedidas para o desenvolvimento do presente trabalho e se encontram depositadas no herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana HUEFS e na Coleção de Culturas de Microorganismos da Bahia (CCMB) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

A preservação das linhagens foi feita, adicionando-se 5 *plugs* de micélio (0,5 cm Ø) da matriz primária em frascos de vidro autoclavados contendo água destilada estéril, conforme descrito em Castellani (1967) (ARIFIN; YUSUF, 2013). Os isolados, durante os experimentos, foram mantidos em placas de Petri em meio de cultura à base de Batata-Dextrose-Ágar (BDA), incubada em estufa do tipo B.O.D. à 30 °C, na ausência de luz, sendo repicada mensalmente (DE MENEZES *et al.*, 2016).

Como método de preservação e de inoculação para posteriores ensaios, foi feita a inoculação em grãos de trigo, da seguinte maneira: grãos de trigo lavados foram cozidos em água fervente por aproximadamente 15 min na proporção 1:2 (g:ml), o excesso de água foi retirado e foi feita a adição de 2 % sulfato de cálcio (CaSO₄) em relação ao peso seco do grão (kg). A mescla foi acondicionada em frascos de vidro (ocupando 3/4 do seu volume) e autoclavada a 121 °C por 15 min. Quando a mistura estava à temperatura ambiente, foi realizada a inoculação pela transferência de 6 *plugs* de cultura (Ø 4-6 mm) da matriz primária (inóculo em BDA). A incubação foi feita em estufa tipo B.O.D. na ausência de luz à temperatura de 30 ± 1 °C até a completa colonização dos grãos (DE MENEZES *et al.*, 2016).

2. Obtenção e caracterização físico-química dos resíduos agroindustriais

Para a realização desta etapa foram utilizados cinco tipos de substrato, dos quais quatro, foram cedidos pela professora, colaboradora desse projeto, Dra. Ana Cristina Fermino Soares, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), sendo eles: Pó de bateadeira (sisal) (Pó), Bucha de sisal (Bs), Resíduo sólido de sisal (Rss) e Resíduos de dendê (De). Um último substrato, o Farelo de arroz (Fa), foi cedido por um agricultor da região de Brumadinho, MG, sendo este último resíduo utilizado neste trabalho como controle positivo de crescimento pelo seu conteúdo de nutrientes assimiláveis por este tipo de fungos.

Esses resíduos secos foram triturados separadamente em triturador de forragem e moinho de facas e peneirados numa peneira com um diâmetro de furo de ≤ 5 mm, equipamento pertencente a escola de veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Em seguida, os substratos foram acondicionados em sacos plásticos e armazenados em um ambiente seco para análises posteriores. Os seguintes parâmetros foram avaliados: umidade, pH, cinzas, nitrogênio total, proteínas, carbono. Os dados de caracterização foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e depois, comparados pelo teste de Tukey a 95% de confiança ($\alpha= 0,05$), através do *software* Minitab 17.

Umidade

É definida como o teor percentual de água presente na amostra e a sua determinação inicia-se com a pesagem de cerca de 1 g (com precisão de 0,1 mg) da biomassa, a qual foi colocada em um cadinho previamente tarado. Posteriormente a amostra no cadinho é levada a uma estufa e mantido por 24 horas. A secagem é realizada à temperatura de $105 \pm 5^{\circ}\text{C}$, até peso constante (MORAIS; ROSA; MARCONCINI, 2010).

pH

A determinação do potencial de hidrogênio iônico (pH), que é um fator que varia de 0 a 14 e está diretamente relacionado à capacidade de desenvolvimento dos micro-organismos, foi efetuado utilizando um potenciômetro previamente calibrado: 10 g de cada amostra foi diluída em 100 mL de água destilada e, em seguida, foram feitas as leituras (ZENEON; PASCUET; TIGLEA, 2008; GAVA; DA SILVA; FRIAS, 2009).

Cinzas

O teor de cinzas corresponde aos minerais presentes na amostra e a sua determinação foi feita por incineração em mufla. Para a análise de cinzas, inicialmente foram pesados 5 g de material em cadinhos previamente tarados. As amostras nos cadinhos foram levadas para mufla com uma rampa de aquecimento de 1 °C até chegar a 700 °C, mantendo a temperatura por duas horas. Eles foram tampados e transferidos para um dessecador onde permaneceram por 1 hora. Posteriormente, foram pesados e a diferença obtida corresponde ao carbono fixo e as cinzas foram consideradas como o resíduo depositado no interior do cadinho. (ZENEON; PASCUET; TIGLEA, 2008; MORAIS; ROSA; MARCONCINI, 2010; SANTOS *et al.*, 2015).

$$\% \text{ Cinzas Base Úmida} = \frac{\text{Massa de cinzas (g)}}{\text{Massa da amostra (g)}} \times 100$$

Equação 1. Cálculo para determinar a porcentagem de cinzas base úmida

$$\% \text{ Cinzas Base Seca} = \frac{\text{Cinzas Base úmida (g)}}{\text{Sólidos}} \times 100$$

$$\text{Sólidos} = 100 - \text{Umidade}$$

Equação 2. Cálculo para determinar a porcentagem de cinzas base seca

Carbono

O conteúdo de carbono foi determinado de acordo com cálculo descrito em Mantovani, Linde e Colauto (2007), considerando que este elemento representa 50% da matéria orgânica. (MANTOVANI, T RD; LINDE; COLAUTO, 2007; SANTOS, NADIENE AV *et al.*, 2015)

$$\text{Carbono (\%)} = (\text{Sólidos} - \text{Cinzas base seca}) \times 0,5$$

$$\text{Sólidos} = 100 - \text{Umidade}$$

Equação 3. Cálculo para determinar a porcentagem de carbono

Nitrogênio total e proteínas

A determinação de Nitrogênio total possibilita uma avaliação do estado nutricional e também contribui para a determinação do conteúdo de proteínas que são moléculas complexas formadas por aminoácidos de importância nutricional e funcional aos organismos vivos. Para a análise de nitrogênio total, foi aplicado o método Kjeldahl modificado, o qual envolve três etapas: digestão, destilação e titulação, e os resultados foram expressos em %, sendo multiplicado por um fator de conversão (6,25) para a determinação de proteínas (ZENEBO; PASCUET; TIGLEA, 2008).

$$\text{Proteína total (\%)} = \text{N (\%)} \times 6,25$$

Equação 4. Cálculo para determinar a porcentagem de proteínas totais

3. Caracterização físico-química dos suportes e/ou aditivos de origem mineral

Os aqui nomeados de suportes e/o aditivos de origem mineral são utilizados como materiais funcionais para induzir o crescimento no cultivo dos distintos isolados do gênero *Ganoderma* aqui avaliados, funcionando como suplemento, ou simplesmente, para dar volume ao material aqui pretendido.

Foram utilizados cinco tipos de aditivos de origem mineral, dos quais três, foram cedidos pela Empresa Pedras Congonhas Extração Arte e Indústria, sendo eles:

Serpentinito (S), Metapiroxenito (M) e Filito (F) (Granulometria < 2,00 mm (Peneira Mesh # 10)) . Os dois primeiros aditivos com granulometrias diferentes, a saber: *i*) grânulos com tamanho < 2,00 mm (Peneira Mesh # 10) (Amostras S1-M1) e, *ii*) grânulos onde o 70% do material tem um tamanho < 0,044 mm (Peneira Mesh <#325) (Amostras S2-M2).

Os outros suportes e/o aditivos são o Rejeito de mineração (RM), cedido pelo Laboratório de Química Inorgânica do Departamento de Química (UFMG) e a Vermiculita expandida (V), com granulometria < 2,00 mm, a qual foi adquirida na empresa Vermiculita do Brasil marca Izo Flok, sendo este último utilizado neste trabalho como controle positivo devido ao seu uso já descrito no desenvolvimento de materiais semelhantes aos pretendidos neste trabalho.

Esses materiais suporte ou aditivos foram submetidos a uma análise química para determinação dos teores de elementos nas amostras por espectrometria de fluorescência de raios-X por energia dispersiva – EDXRF, usando-se um Espectrômetro Shimadzu, modelo EDX 720 de propriedade da Empresa Pedras Congonhas Extração Arte e Indústria. A metodologia de EDXRF permite fazer a determinação simultânea ou sequencial dos elementos contidos em diversos tipos de amostras, sejam cerâmicas, solos, rochas ou líquidos, sem a destruição da amostra, e sem nenhum pré-tratamento químico, podendo atingir limites de detecção da ordem de 1 a 20 ppm (WASTOWSKI *et al.*, 2010).

Na análise química utilizando a EDXRF foi seguida a metodologia utilizada pela Empresa Pedras Congonhas Extração Arte e Indústria, assim: *a*) pesagem de 1,5g \pm 0,1g de cera de polietileno e 15g \pm 0,1g do produto seco em um cadinho; *b*) pulverização da mistura no moinho de panela em malha 325 Mesh - 0,044 mm (Amostra de granulometria na ordem de 10 mm: 185 segundos no pulverizador - Amostra de granulometria menor que 0,030 mm: 15 segundos no pulverizador); *c*) transferência do material pulverizado para o cilindro onde é produzida uma pastilha prensada de 15 g em 10 t na prensa eletro-hidráulica; *d*) análise da pastilha no EDX-720 no qual os resultados são expressos em porcentagem.

4. Avaliação do crescimento micelial nos diferentes resíduos agroindustriais

Para a definição da composição do meio de cultura contendo o melhor substrato ou mistura de substratos que favorecem o crescimento micelial de cada um dos distintos isolados fúngicos aqui testados, foi utilizado um planejamento de misturas estabelecido pelo software Statistica® v. 3.0, realizado para cinco variáveis (2⁵), do qual se derivou em 31 ensaios realizados em triplicata (Tabela 2), incluindo formulações puras 100% e misturas de 50% e 33%,

Tabela 2. Planejamento de misturas formulado a base de resíduos do processamento e do beneficiamento do sisal, resíduos de processamento do dendê e farelo de arroz, em diferentes proporções

Ensaio	1	2	3	4	5
	Pó de Batedeira (Pó)	Farelo de Arroz (Fa)	Bucha de sisal (Bs)	Resíduo sólido de sisal (Rss)	Resíduo de Dendê (De)
1	100%	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00	100%	0,00	0,00	0,00
3	0,00	0,00	100%	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,00	100%	0,00
5	0,00	0,00	0,00	0,00	100%
6	50%	50%	0,00	0,00	0,00
7	50%	0,00	50%	0,00	0,00
8	50%	0,00	0,00	50%	0,00
9	50%	0,00	0,00	0,00	50%
10	0,00	50%	50%	0,00	0,00
11	0,00	50%	0,00	50%	0,00
12	0,00	50%	0,00	0,00	50%
13	0,00	0,00	50%	50%	0,00
14	0,00	0,00	50%	0,00	50%
15	0,00	0,00	0,00	50%	50%
16	33%	33%	33%	0,00	0,00
17	33%	33%	0,00	33%	0,00

18	33%	33%	0,00	0,00	33%
19	33%	0,00	33%	33%	0,00
20	33%	0,00	33%	0,00	33%
21	33%	0,00	0,00	33%	33%
22	0,00	33%	33%	33%	0,00
23	0,00	33%	33%	0,00	33%
24	0,00	33%	0,00	33%	33%
25	0,00	0,00	33%	33%	33%
26	0,25	0,25	0,25	0,25	0,00
27	0,25	0,25	0,25	0,00	0,25
28	0,25	0,25	0,00	0,25	0,25
29	0,25	0,00	0,25	0,25	0,25
30	0,00	0,25	0,25	0,25	0,25
31	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20

Os ensaios foram realizados contendo meios de cultura formulados como indicado no planejamento de misturas (Tabela 2) e tinham o acréscimo de ágar (15 g/l). O pH dos meios foi ajustado para 6,5 com o auxílio de soluções de HCl 0,1 M e NaOH 0,1 M. Os meios de cultivo foram preparados e acondicionados em erlenmeyers de 500 ml, autoclavados a 121°C por 15 min e vertidos em placas Petri (90 mm Ø x 15 mm). Após o resfriamento do meio, no centro de cada placa, foi inoculado um *plug* de micélio da matriz primária (Ø 5 mm). Os cultivos foram incubados em estufa tipo B.O.D. a 30 ± 1 °C, na ausência de luz (DE MENEZES *et al.*, 2016).

As leituras foram realizadas a cada 48 horas durante 21 dias. Para tal, dois eixos ortogonais (diâmetro da colônia) foram traçados na tampa da placa de Petri, cujo ponto de cruzamento coincide com o centro do disco de cultura (Ø 5 mm). O crescimento foi avaliado com base na média dos eixos medidos em cada uma das repetições (SANTOS; GÓES NETO, 2015)

Com base nos resultados estatísticos obtidos do crescimento seguindo o planejamento proposto na Tabela 2, foram selecionados os ensaios significativos e foi feita uma análise de variância (ANOVA) tendo duas variáveis distintas, a saber: (i) composição do meio de cultivo e (ii) tempo de cultivo (em dias) para verificar se há

diferença estatística entre os crescimentos (Software GraphPad Prism). Os ensaios foram feitos em triplicata repetindo-se as formulações cujos resultados tinham se mostrado significativos. Foram mantidas as condições de temperatura e ausência de luz, no entanto, o tempo total de crescimento foi menor em concordância com os resultados obtidos na primeira avaliação (Crescimento seguindo o planejamento de misturas proposto na Tabela 2). O crescimento foi avaliado pela medida dos eixos ortogonais (diâmetro da colônia) como descrito anteriormente.

5. Avaliação do crescimento micelial em resíduos agroindustriais aditivados com materiais de origem mineral

Os aditivos minerais testados foram: Serpentinó (S1 (Granulometria <0,2 mm) e S2 (Granulometria <0,044 mm)), Metapiroxenito ((M1 (Granulometria <0,2 mm) e M2 (Granulometria <0,044 mm)), Filito (F), Rejeito de Mineração (RM), e Vermiculita (V), ressaltando que este último suporte foi utilizado neste trabalho como controle positivo, e não é de interesse, para este estudo, que faça parte de misturas ideais.

Para a determinação do efeito dos suportes de origem mineral no crescimento micelial de cada um dos distintos isolados fúngicos aqui testados, foram testados os aditivos mantendo uma proporção substrato aditivo de 1/1 g/g.

Os meios de cultivo foram preparados contendo o aditivo em igual massa que os substratos ou misturas definidas pelo nível de significância no crescimento para cada isolado (ver seção 4) e acondicionados em erlenmeyers de 500 ml, autoclavados a 121°C por 15 min e vertidos em placas Petri (90 mm Ø x 15 mm). Após o resfriamento do meio, no centro de cada placa, foi inoculado um *plug* de micélio da matriz primária (Ø 5 mm). Os cultivos foram incubados em estufa tipo B.O.D. a 30 ± 1 °C, na ausência de luz (DE MENEZES *et al.*, 2016).

As leituras foram realizadas a cada 48 horas durante 21 dias. Para tal, dois eixos ortogonais (diâmetro da colônia) foram traçados na tampa da placa de Petri, cujo ponto de cruzamento coincide com o centro do disco de cultura (Ø 5 mm). O crescimento foi avaliado com base na média dos eixos medidos em cada uma das repetições (SANTOS; GÓES NETO, 2015)

Com base nos resultados estatísticos obtidos do crescimento, foram selecionados os ensaios significativos e foi feita uma análise de variância (ANOVA) tendo duas variáveis distintas, a saber: (i) composição do meio de cultivo e (ii) tempo de cultivo (em dias) para verificar se há diferença estatística entre os crescimentos (Software GraphPad Prism). Concomitantemente ao período de crescimento, foram realizadas fotografias com 4 e 8 dias de crescimento de uma amostra por cada ensaio.

6. Caracterização do material

Analise macroscópica e microscópica do micocompósito

Devido ao acesso restrito aos distintos serviços e laboratórios produto da pandemia por Covid 19, foi necessário restringir ao mínimo o número de amostras a fim de permitir o acesso e execução de outros projetos em igual estado de emergência. Desta forma foi selecionado o isolado CCMB601 pelo fato de ser o fungo com melhor crescimento visualmente observável com relação ao menor tempo de crescimento. A mesma condição foi utilizada para a seleção dos aditivos usados para o crescimento e posterior geração das imagens.

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de energia Dispersiva (EDS) foram realizadas no Microscópio Eletrônico de Varredura FIB - Quanta FEG 3D FEI, do Centro de Microscopia (CM) da UFMG. A MEV foi realizada para análise da superfície das amostras e para compreender melhor a ligação e organização do material, já o EDS foi realizado em algumas amostras para avaliação da composição elementar da amostra.

Fragmentos dos crescimentos após 20 dias de incubação foram coletados e dispostos em tubos Falcon. Nas amostras foi realizada uma fixação primária e uma fixação secundária, seguidas de uma desidratação e secagem em ponto crítico de CO₂, para posteriormente serem montadas em *stub* e metalizadas, este processo foi realizado seguindo os protocolos do Centro de Microscopia da UFMG.

Para caracterização macromorfológica, examinamos e fotografamos os espécimes usando um estereoscópio Leica EZ4E (Leica Microsystems, Ernst-Leitz-Straße, Alemanha). Para caracterização micromorfológica, foram realizados cortes à mão livre dos espécimes. Os substratos seccionados foram montados em lâminas com água, KOH 3% e calcofluor white (Sigma-Aldrich) para microscopia de fluorescência

com exame de luz UV. As lâminas foram fotografadas usando um microscópio Olympus BX50.

Análise térmica por Termogravimetria (TGA)

Realizou-se a análise termogravimétrica (TGA) para estudar o comportamento de decomposição térmica das amostras. Para realização do ensaio, amostras de aproximadamente 10 mg foram cortadas da parte interna dos corpos de prova com auxílio de um bisturi, as amostras foram homogeneizadas em FastPrep Homogeneizador (MP Biomedicals) em tubos de 2mL contendo esferas de cerâmica e sílica por 2 ciclos de 6m/s por 40s. Para este ensaio foi utilizado o equipamento TGA-TA Instruments, modelo Q5000 do Laboratório Materiais Poliméricos Multicomponentes, foi utilizada a atmosfera de nitrogênio com taxa de fluxo de 50 ml/min razão de aquecimento de 10 °C /minuto, atingindo a temperatura máxima de 1000 °C. (HANEED *et al.*, 2017; JONES, MITCHELL *et al.*, 2018).

Devido ao acesso restrito aos distintos serviços e laboratórios produto da pandemia por Covid 19, foi necessário restringir ao mínimo o número de amostras a fim de permitir o acesso e execução de outros projetos em igual estado de emergência. Desta forma foi selecionado o isolado CCMB601 pelo fato de ser o fungo com melhor crescimento visualmente observável com relação ao menor tempo de crescimento. As relações de aditivo foram escolhida por representar a mínima e a máxima concentração, sendo selecionados somente aqueles que pareciam influenciar positivamente no crescimento do fungo.

Corpos de prova

A confecção dos corpos de prova foi realizada para cada tipo de ensaio seguindo as normas específicas da ASTM. Estes protótipos ou corpos de prova foram obtidos após 30 dias de incubação seguido de uma etapa de secagem. O tempo de incubação corresponde à etapa de crescimento dos isolados fúngicos sobre os demais componentes (substrato e aditivo) definidas na seção 5 e a secagem corresponde a etapa de finalização do processo, que ocorre por 48 horas sob temperatura de aproximadamente 60 °C.

Caracterização da densidade

A densidade foi obtida a partir da relação entre massa e volume das amostras produzidas. A massa dos corpos de prova foi medida após a secagem realizada na etapa anterior em balança profissional digital mini do modelo TN – series 100gx0,001g, feito em seis réplicas. O volume de cada amostra foi obtido a partir das dimensões das amostras medidas usando paquímetro digital. O volume foi calculado da seguinte maneira:

$$V = L \times C \times H$$

Onde L é a largura, C é o comprimento e H é a altura.

Os locais e número de medições foram selecionados com base na norma ASTM C303 – 21. A espessura foi medida ao longo das bordas em quatro locais diferentes, perto dos quatro vértices. O comprimento e a largura foram medidos em três locais, sendo duas medidas realizadas próximas às extremidades e a terceira no centro.

Análise teste de compressão

As dimensões dos corpos de prova para este ensaio foram regidos pela norma ASTM C165-07 (Standard Test Method for Measuring Compressive Properties of Thermal Insulations) (HE *et al.*, 2014; HOLT *et al.*, 2012; JIANG *et al.*, 2019; LÓPEZ NAVA *et al.*, 2016) (Figura. 2), foram produzidas 6 replicas por ensaio, usando a linhagem CCMB601 com o seu respectivo substrato e distintas proporções de filito (aditivo) (Tabela 3)

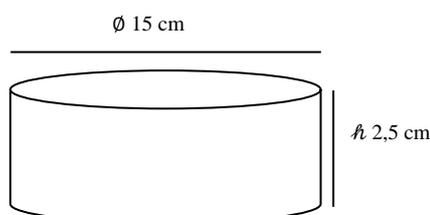


Figura. 2. Dimensões do corpo de prova segundo a norma ASTM C165-07.

Tabela 3. Formulação de misturas a base de resíduos de dendê, pó de bateadeira com o aditivo em distintas proporções

Relação S/A¹: Relação Substrato/Aditivo; D²: Dendê; PB³: Pó de bateadeira; F⁴: Filito.

<i>Linhagem</i>	Controle	Teste 2		Teste 3	
		Relação S/A¹-1/0,5		Relação S/A¹-1/2	
CCMB 601	75% D ² + 25% PB ³	75% D ² + 25% PB ³	50% F ⁴	75% D ² + 25% PB ³	200% F ⁴

O ensaio de resistência à compressão foi regido pelo procedimento B da norma ASTM C165-07. O ensaio de compressão foi executado na Máquina Universal Instron 5882, a temperatura ambiente de 24 °C, com velocidade de deslocamento do cabeçote de 125,00 mm/min. Os dados obtidos durante os ensaios foram captados pelo software do equipamento e posteriormente feito análise de dados. Foi colocada uma leve precarga para retirar as folgas do equipamento.

Análise teste de flexão

As dimensões dos corpos de prova para este ensaio foram regidos pela norma ASTM C203–05a (Standard Test Methods for Breaking Load and Flexural Properties of Block-Type Thermal Insulation)(JIANG *et al.*, 2019; LÓPEZ NAVA *et al.*, 2016) (Figura. 3), foram produzidas 6 replicas por ensaio, usando a linhagem CCMB601 com o seu respectivo substrato e distintas proporções de rejeito de mineração (Tabela 4)

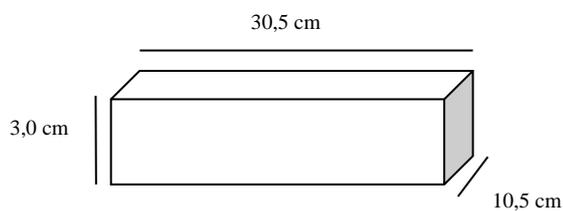


Figura. 3. Dimensões do corpo de prova segundo a norma ASTM C 203– 05a.

Tabela 4. Formulação de misturas a base de resíduos de dendê, pó de bateadeira com o aditivo em distintas proporções

Relação S/A¹: Relação Substrato/Aditivo; D²: Dendê; PB³: Pó de bateadeira; RM⁴:

<i>Linhagem</i>	Controle	Teste 2		Teste 3	
		Relação S/A¹-1/0,5		Relação S/A¹-1/2	
CCMB 601	75% D ² + 25% PB ³	75% D ² + 25% PB ³	50% RM ⁴	75% D ² + 25% PB ³	200% RM ⁴

Rejeito de Mineração.

O ensaio de flexão foi regido pelo procedimento da norma ASTM C203 – 05a. O ensaio de flexão foi executado na Máquina Universal Instron 5882, a temperatura ambiente de 24 °C, com velocidade de deslocamento do cabeçote de 10,00 mm/min, Os dados obtidos durante os ensaios foram captados pelo software do equipamento e posteriormente feito análise de dados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição do substrato e dos aditivos utilizados para o crescimento dos fungos determinam as características mecânicas dos micocompósitos. Desta forma, a primeira etapa deste trabalho consistiu na caracterização físico-química dos resíduos agroindustriais e aditivos de interesse.

1. Caracterização físico-química dos resíduos agroindustriais

Os parâmetros umidade, pH, sólidos, proteínas totais, nitrogênio base úmida, nitrogênio base seca, cinzas base úmida, cinzas base seca, carbono e relação carbono–nitrogênio, foram determinados em amostras de resíduos de processamento (Rss) e de beneficiamento do sisal (Bs, Pó), farelo de arroz (Fa) e de dendê (De). Na determinação de cada um dos parâmetros foi observada uma variação altamente significativa nos valores de pH (variação de até 10^3 , já que os valores de pH correspondem a uma escala logarítmica de base 10), assim como uma variação significativa nos teores de cinzas, carbono, nitrogênio, proteínas totais (tanto em base úmida como em base seca) e relação C:N nos diferentes substratos testados. Nos demais parâmetros analisados, a variação, entre os distintos substratos, foi não significativa (Tabela 5).

Tabela 5. Caracterização físico-química de amostras de resíduos do processamento do sisal, resíduos do processamento de dendê e do farelo de arroz, sendo este ultimo utilizado como controle positivo.

Parâmetros	Resíduos				
	<i>Resíduos do Processamento de Sisal</i>	<i>Resíduos do processo de beneficiamento de Sisal</i>			
	Resíduo Solido de Sisal (Rss)	Bucha de sisal (Bs)	Pó de bateadeira (Pó)	Farelo de arroz (Fa)	Resíduo de Dendê (De)
Umidade (%)	11,818±2,90	8,376±0,52	9,988±1,39	13,243±0,29	11,203±2,28
pH	8,18±0,03	6,18±0,03	8,29±0,19	6,33±0,03	5,16±0,01
[H⁺]	3,03333E-05 ^h	1,43333E-10 ^h	1,7E-09 ^h	4,66667E-07 ^h	6,93333E-06 ^h
Sólidos (%)^a	88,181±2,90	91,623±0,52	90,011±1,39	86,756±0,29	88,796±2,28
Proteínas totais (%)^b	5,55±0,07	4,59±0,04	4,55±0,08	8,62±0,07	5,48±0,03
Nitrogênio^{Bu} (%)^c	0,890±0,01	0,737±0,00	0,730±0,01	1,377±0,01	0,883±0,06
Nitrogênio^{Bs} (%)^d	1,010±0,02	0,804±0,00	0,811±0,82	1,587±0,01	0,995±0,02
Cinzas^{Bu} (%)^e	13,878±5,13	7,216±0,07	42,913±5,26	16,259±0,77	3,419±0,05
Cinzas^{Bs} (%)^f	15,674±5,48	7,877±0,10	47,740±6,54	18,742±0,92	3,853±0,14
Carbono (%)	36,253±2,32	41,873±0,30	21,135±3,94	34,007±0,55	42,471±1,21
C/N^g	35,906±0,27	52,080±0,31	26,140±5,53	21,433±0,49	42,709±2,11

^a Sólidos: 100-umidade; ^b Proteínas totais: Nitrogênio total (%)x6,25; ^c Nitrogênio base úmida (%): Nitrogênio total; ^d Nitrogênio base seca (%): (Nitrogênio base úmida/sólidos)x100; ^e Cinzas base úmida (%): (Massa de cinzas (g)/Massa da amostra(g))x100; ^f Cinzas base seca (%): (Cinzas Base úmida (g)/sólidos)x100; ^g Relação Carbono – Nitrogênio; ^h Valores de concentração de íons H⁺; Valores= média±desvio padrão.

Após as determinações físico-químicas, realizou-se a comparação das médias de cada um dos parâmetros utilizando o teste de Tukey com 95% de confiança. A análise de comparação das médias nos permite entender as diferenças entre os substratos, o qual é relevante para explicar quais parâmetros estão provavelmente relacionados com o crescimento dos isolados fúngicos posteriormente, uma vez que estão diretamente associados aos requerimentos nutricionais dos fungos (Griffin, 1994). Foi possível observar que existe diferença significativa entre 64% das médias comparadas nos correspondentes fatores avaliados para todos os substratos ($p < 0,05$). Os resultados destas medidas encontram-se detalhados no Apêndice A.

Os valores de pH apresentaram-se mais elevados para os resíduos do processamento e beneficiamento do sisal (6,18 – 8,29) quando comparados ao do dendê (5,1). No que tange aos resíduos bucha de sisal (Bs) e farelo de arroz (Fa), o valor do pH encontra-se entre 6,18 e 6,33 sem diferença estatística significativa pelo teste de Tukey. Os valores de pH dos resíduos pó de bateadeira (Po) e resíduo sólido de sisal (Rss) foram 8,29 e 8,18, respectivamente, também sem diferença significativa entre eles. Segundo KAVANAGH (2017), a faixa ótima de pH para o crescimento de fungos basidiomicetos varia entre 4 e 6 enquanto que, para o *Ganoderma lucidum*, o valor de 6,5 tem sido reportado (DE MENEZES *et al.*, 2016). Assim, com base nos valores de pH, os resíduos Bs e De são os mais adequados ao crescimento dos fungos testados.

Durante o processamento dos resíduos, tanto os de sisal quanto os de dendê, foi observada a presença de partículas de coloração branca, motivo pelo qual foram procuradas informações mais precisas sobre estes materiais. Os fornecedores nos informaram que estes resíduos foram lavados e aditivados com 5% de cal e expostos ao sol, para evitar o crescimento de micro-organismos fermentadores e contaminantes. Desta forma, fazem-se necessárias novas análises de determinação de pH nos resíduos *in natura*.

Com relação ao conteúdo de nitrogênio e de proteínas totais, os menores valores foram determinados para Bs e Pó, enquanto que os maiores teores foram encontrados nas amostras de farelo de arroz (Tabela 5). Para os parâmetros nitrogênio e proteínas foi determinado pelo teste de Tukey que não ha diferença estatística significativa entre Bs e Pó, nem entre o Rss e o De. Segundo DONINIT *et al* (2006), há uma relação direta do aumento da biomassa de fungos basidiomicetos com o conteúdo de nitrogênio nos

meios de cultivo. O aditivo utilizado pelos autores apresentava cerca de 7,38% de nitrogênio na sua composição. Os fungos são organismos não-diazotróficos, ou seja, não podem fixar o nitrogênio, sendo necessária a suplementação com componentes nitrogenados quando a composição do meio não satisfaz os requerimentos mínimos de crescimento (DONINI *et al.*, 2006; KAVANAGH, 2017). Desta maneira é possível que os nossos resíduos precisem de adição de aditivos ricos em nitrogênio para se obter um bom crescimento, uma vez que o maior valor encontrado nos substratos estudados ainda é bem abaixo do sugerido pelos autores citados anteriormente..

O resíduo Pó apresenta teor de cinzas (base úmida e seca) superior aos demais resíduos, sendo que os valores chegam a ser muito superiores aos determinados em amostras de De (Tabela 5). Todos os resíduos apresentaram valores significativamente diferentes quando comparados ao pó de bateadeira, de acordo com resultados do teste Tukey com 95% de confiança. Segundo MANTOVANI *et al.*, (2012) o melhor crescimento de um isolado basidiomiceto foi sobre substratos contendo entre 1,7 e 5% de cinzas. Desta maneira, com base nos resultados dos teores de cinzas, os isolados de Ganodermataceae testados provavelmente teriam seu crescimento favorecido nos resíduos de De e na Bs, mas não no Pó.

Dentre todos os resíduos analisados aquele que apresentou o menor valor para o parâmetro carbono/nitrogênio foi o resíduo Pó, o que pode ser explicado em função do baixo conteúdo de carbono neste resíduo (Tabela 4). A relação C/N é um fator importante para o crescimento de fungos, e está relacionado com a formação de micélio. Alguns autores, como Galvagno e Forchiassin (2010), destacam que uma relação C/N maior ou igual a 10 fornecerá um alto conteúdo proteico, no entanto, em excesso, favorecerá a acumulação de álcool, metabólitos secundários, lipídios ou polissacarídeos extracelulares. Segundo MENEZES (2016), para o crescimento do *Ganoderma lucidum* a melhor relação de C/N é de 40 (DE MENEZES *et al.*, 2016), que foi o mesmo valor obtido para o resíduo de dendê.

2. Caracterização química dos aditivos de origem mineral

A caracterização química dos aditivos minerais utilizados neste trabalho revelou a presença de 19 óxidos, com MgO, SiO₂, Fe₂O₃, Cr₂O₃, Al₂O₃, e TiO₂ sendo comum para todos os aditivos (Tabela 6).

Tabela 6. Caracterização química das amostras de aditivos minerais utilizados no presente trabalho. A determinação dos compostos foi realizada por espectrometria de fluorescência de raios-X por energia dispersiva – EDXRF

Óxidos	Serpentinito (<2,00mm) 20 fev2017	Serpentinito (70% <0,044 mm) SPC V1-20FEV2017	Metapiroxenito (<2,00mm) 20 fev2017	Metapiroxenito (70% <0,044 mm) SPC V1-20FEV2017	Rejeito de mineração	Filito
MgO (%)	36,134	37,043	31,792	25,276	1,526	2,045
SiO₂ (%)	35,742	36,500	36,666	49,372	61,321	47,761
Fe₂O₃ (%)	8,915	10,862	9,665	8,404	0,448	3,093
Cr₂O₃ (%)	1,221	1,167	0,709	0,532	0,042	0,041
Al₂O₃ (%)	1,214	1,310	1,684	2,200	30,799	37,852
TiO₂ (%)	0,030	0,058	0,049	0,058	0,373	0,753
CaO (%)	0,189	0,419	0,067	1,812	-----	-----
NiO (%)	0,187	0,212	0,178	0,088	-----	-----
MnO (%)	0,125	0,135	0,140	0,110	-----	0,013
P₂O₅ (%)	0,020	0,020	0,020	0,020	-----	-----
Co₂O₃ (%)	0,015	0,022	0,018	0,013	-----	-----

K₂O (%)	-----	-----	-----	-----	5,213	8,218
S₀₃ (%)	-----	-----	-----	-----	0,205	0,145
Ag₂O (%)	-----	-----	-----	-----	0,022	-----
ZrO₂ (%)	-----	-----	-----	-----	0,021	0,022
V₂O₅ (%)	-----	-----	-----	-----	0,014	0,029
Rb₂O (%)	-----	-----	-----	-----	0,010	0,022
SrO (%)	-----	-----	-----	-----	0,003	0,004
Y₂O₃ (%)	-----	-----	-----	-----	0,002	0,005

As amostras de serpentinito apresentaram os teores mais elevados de óxido de magnésio (36,1 - 37,0%) e ferro (III) (8,95 –10,86%) e os mais baixos teores de óxido de silício (35,7 – 36,5%). Por outro lado, o rejeito de mineração apresentou os valores mais baixos de óxido de magnésio (1,5%) e de ferro (III) (0,44%) e o mais alto de óxido de silício (61,32%) (Tabela 6).

Todos os aditivos avaliados neste estudo apresentaram óxido de cromo (III), sendo que os percentuais entre as amostras variaram em média de 1,2% (serpentinito) a 0,04% (rejeito de mineração e filito). Altas concentrações de óxido de alumínio foram detectadas para o rejeito de mineração (30,79%) e o filito (37,85%) enquanto que o percentual deste composto em amostras de serpentinito foi bem inferior (1,21 – 1,3%). A presença de óxido de titânio também ocorreu em todos os aditivos testados, sendo os maiores percentuais detectados no filito (0,75%) e no rejeito de mineração (0,37%) enquanto que os menores percentuais ocorreram no serpentinito (0,030 – 0,058%) e no metapiroxenito (0,049 – 0,058%) (Tabela 6).

A presença dos óxidos de silício, magnésio, ferro, alumínio, cálcio, níquel, manganês, potássio, e cromo já foi descrita para a vermiculita, material utilizado no desenvolvimento de micocompósitos, utilizando fungos do filo Basidiomycota por BAYER (2006) e UGARTE; SAMPAIO; FRANÇA, (2008). Estes elementos estão presentes na maioria dos aditivos minerais avaliados neste trabalho e portanto, espera-se que os mesmos não interfiram de forma negativa no crescimento dos isolados fúngicos.

A literatura que trata sobre a suplementação com minerais para o crescimento de fungos é escassa, principalmente aquela relacionada ao pó de rochas (rochas trituradas e moídas), como podem ser caracterizados os aditivos aqui utilizados. A suplementação de meios de cultura para favorecer o crescimento de isolados da família *Ganodermataceae* tem sido realizada principalmente com sais minerais e tem sido justificada principalmente para o aumento de biomassa ou para a produção de enzimas de interesse comercial (HELM *et al.*, 2009; JO *et al.*, 2009).

3. Avaliação do crescimento micelial em resíduos agroindustriais

A análise do crescimento dos isolados do gênero *Ganoderma* foi realizada utilizando um único resíduo agroindustrial ou em misturas, utilizando-se tanto as resíduo puro 100% como em proporções de, 50% e 33%. Inicialmente foi feito um teste de avaliação do crescimento micelial *in vitro*, em placas de Petri. Isto permitiu definir previamente o efeito da formulação mais adequada para o crescimento de cada um dos isolados aqui testados. Assim, a análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos indicou que o modelo quadrático explica e se ajusta melhor aos nossos dados (isto pelo valor de $p < 0.05$, F maior do que o F tabelado e r^2 perto de 1). O modelo quadrático se mantém para todos os isolados, independentemente do dia avaliado. A seguir se descrevem as ANOVAs correspondentes as avaliações do dia quatro e oito de crescimento, dias escolhidos pela melhor visualização e correlação dos dados, já que para dias posteriores alguns isolados já tinham crescido na placa toda.

As tabelas 7 e 8 apresentam o resultado das ANOVAs para o isolado CCMB601, o qual é um isolado já domesticado, utilizado comercialmente para a produção de basidiomas de *Ganoderma lucidum* e corresponde ao nosso controle positivo (De Menezes, 2016) para avaliar, inicialmente, os substratos e aditivos. Os resultados das ANOVAs, para os isolados DHCR 359, DHCR 379, CCMB 456, aparecem no Apêndice B. Destacam-se, que os valores de p e F das ANOVAs, para todos os isolados, apresentaram diferença significativa (95% de probabilidade), indicando uma alta confiabilidade do efeito do substrato sobre o crescimento.

Tabela 7. Análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos para a resposta de crescimento micelial do isolado CCMB601 do dia quatro de crescimento, em diferentes proporções de substratos

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	GL erro	MQ erro	F⁴	p	r²	r² ajustado
Linear	32,20222	4	8,050554	24,67441	26	0,949016	8,483056	0,000161	0,566177	0,499435
Quadrático	8,63317	2	4,316586	16,04124	24	0,668385	6,458233	0,005700	0,717964	0,647455
Ajustado	56,87663	30	1,895888							

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	F⁴	p
Linear	40,83539	6	6,805898	24,67441	10,18260	0,000013
Erro	16,04124	24	0,668385	16,04124		
Ajustado	56,87663	30	1,895888			

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Tabela 8. Análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos para a resposta do crescimento micelial do isolado CCMB601 do dia oito de crescimento, em diferentes proporções de substratos

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	GL erro	MQ erro	F⁴	p	r²	r² ajustado
Linear	51,70449	4	12,92612	38,94461	26	1,497870	8,629671	0,000143	0,570381	0,504285
Quadrático	19,13073	4	4,78268	19,81388	22	0,900631	5,310368	0,003786	0,781422	0,701939
Ajustado	90,64910	30	3,02164							

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

	SQ	GL	MQ	F	p
Modelo	70,83522	8	8,854403	9,831332	0,000010
erro	19,81388	22	0,900631		
ajustado	90,64910	30	3,021637		

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Os resultados dos diagramas de Pareto das ANOVAs, ajustados seguindo o modelo quadrático são apresentados nos gráficos 1 e 2. Estes resultados nos permitem inferir, com 95% de confiança, que o substrato que mostra efeito no crescimento em ambos os dias foi o De, entretanto, o Pó não teve efeito no dia 4, mas teve efeito no dia 8. Em misturas, a interação Bs-De teve um efeito negativamente significativo no dia 4 e 8. Além disso, a mistura Rss-De também apresentou um efeito negativamente significativo no dia 8, evidenciando-se uma interferência quadrática a adição do Rss e a Bs interferindo no efeito do De, consequentemente inibindo o crescimento do isolado CCMB601.

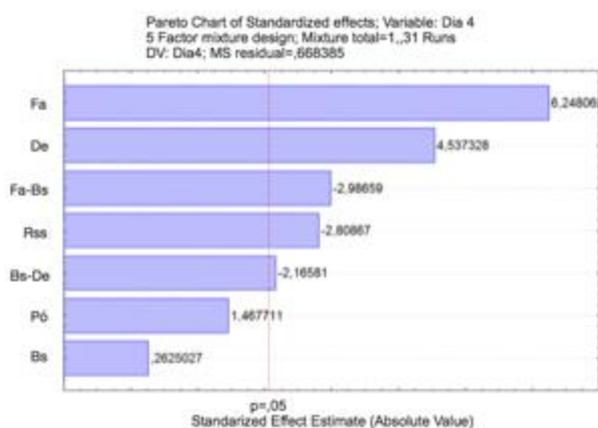


Gráfico 1. Diagrama de Pareto do ANOVA ajustado, seguindo o modelo quadrático para o dia 4 de crescimento do isolado CCMB 601

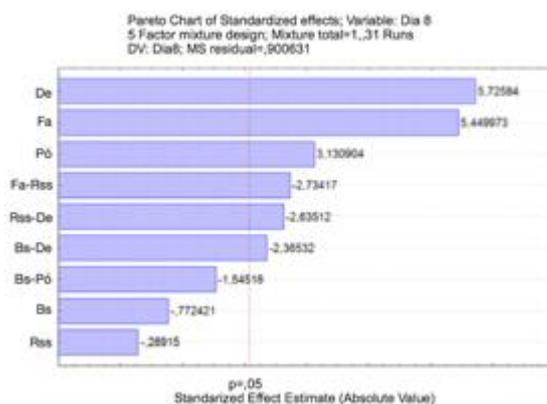


Gráfico 2. Diagrama de Pareto do ANOVA ajustado seguindo o modelo quadrático para o dia 8 de crescimento do isolado CCMB 601

Os diagramas de Pareto da ANOVA ajustados, aqui apresentados para os dias quatro e oito de crescimento do isolado CCMB 601, representam os mesmos efeitos observado para os isolados DHCR 359, DHCR 379 e CCMB 456. Na Tabela 9 são apresentados de forma condensada os efeitos de cada substrato, ou mistura de substratos, para cada um dos isolados e os diagramas de Pareto para estes isolados são apresentados no **Apêndice B**

Tabela 9. Dados condensados dos resultados do diagrama de Pareto do ANOVA ajustado, evidenciando o efeito de cada substrato ou mistura de substratos para os isolados DHCR 359, DHCR 379 e CCMB 456

		DHCR 359		DHCR 379		CCMB456	
Efeito		Dia 4	Dia 8	Dia 4	Dia 8	Dia 4	Dia 8
Significativo	Fa ¹ ,	Fa ¹ ,	Fa ¹ ,	Fa ¹ , De ² , Pò ³	Fa ¹ ,	Fa ¹ , De ² , Pò ³	
	De ²	De ² ,	De ²		De ²		
		Pò ³			Pò ³		
Negativamente significativo	Rss ⁴	-----	Rss ⁴	-----	Bs ⁵	-----	
Negativamente significativo em misturas	Bs ⁵ -	Fa ¹ -	Bs ⁵ -	Fa ¹ -Rss ⁴	Fa ¹ -	Fa ¹ -Rss ⁴	
	Rss ⁴	Rss ⁴	Rss ⁴	Bs ⁵ -De ²	Rss ⁴		
	Bs ⁵ -	Bs ⁵ -	Bs ⁵ -				
	De ²	De ²	De ²				

¹Fa: Farelo de Arroz; ²De: Resíduo de dendê; ³Pó: Pó de bateadeira; ⁴RSS: Resíduo Solido de sisal; ⁵Bs: Bucha de sisal

Os resultados referentes ao efeito do substrato no crescimento dos isolados DHCR 359, DHCR 379 e CCMB 456, produto dos diagramas de Pareto e apresentados de forma condensada na Tabela 9, evidenciam que o resíduo de dendê tem efeitos significativos tanto no dia 4 como no dia 8, entretanto, o Pó não teve efeito no dia 4, mais teve efeito no dia 8 para os isolados DHCR, enquanto que, para o isolado CCMB 456, o pó tem efeito em ambos os dias.

Quando em misturas, observa-se que para todos os isolados (DHCR 359, DHCR 379, CCMB456), em ambos os dias de crescimento e sobre diversos tipos de misturas, quando foi utilizado o Rss há uma interferência quadrática, indicando que a adição deste substrato interfere no efeito de outros substratos e, conseqüentemente, inibindo o crescimento dos isolados fúngicos. Esta mesma situação também foi observada para o nosso isolado controle (CCMB 601). No entanto, a influência negativamente significativa no crescimento dos isolados fúngicos, quando se utilizou o Rss, não pode ser atribuída aos conteúdos de nitrogênio, proteínas e relação C:N, uma vez que foi comprovado pelo teste de Tukey da caracterização físico-química dos resíduos que, para estes parâmetros, não há diferença significativa entre as médias do Rss e De, sendo que neste último, inclusive, o crescimento foi significativo.

Quando se utilizou o substrato Bs, para os isolados DHCR, evidencia-se uma influência negativamente significativa quando em misturas para os dois dias de crescimento. Já para o isolado CCMB 456, a Bs tem uma influência negativamente significativa quando usado individualmente. A influência negativamente significativa no crescimento dos isolados fúngicos DHCR e CCMB 456 quando se utilizou o resíduo a Bs (bucha de sisal) não pode ser atribuída ao pH, uma vez que não há diferença significativa entre este resíduo e o farelo de arroz (que compreende o substrato que é o nosso controle positivo).

Os resíduos do processo de beneficiamento do sisal apresentaram os piores resultados, tanto individualmente como em misturas, quando comparados ao resíduo de dendê e ao farelo de arroz, com exceção do pó de batedeira de sisal que ainda pode ser utilizado em uma mistura, mas numa porcentagem baixa. O efeito negativo no crescimento dos isolados por resíduos do processo de beneficiamento do sisal pode ser atribuído à presença de saponinas, composto químico comum em sisal (SIDANA; SINGH; SHARMA, 2016). Segundo OSBOURNE e MORRISEY (1999), a atividade antifúngica das saponinas esteroidais é geralmente associada à formação de complexos com esteroides presentes na membrana celular fúngica, alterando a sua permeabilidade e integridade (MORRISSEY; OSBOURN, 1999) e, portanto, interferindo negativamente no desenvolvimento fúngico.

A seguir são apresentados os gráficos de superfície de resposta, os quais nos permitem avaliar a interação entre os substratos e o seu efeito no crescimento dos isolados fúngicos. O gráfico superfície de resposta para o isolado CCMB601 (Gráfico 3), com quatro dias (lado esquerdo) e oito dias (lado direito) de crescimento, evidencia o efeito significativo do De e do Pó e salienta uma boa interação entre estes resíduos para o estabelecimento de um bom meio de cultura (MC), contrariamente à interação com o Rss. É importante destacar que o valor de r^2 na ANOVA, para todos os isolados nos dois dias de crescimento, apresenta valores acima de 0,70, indicando que há uma probabilidade de 70% de correspondência entre os dados obtidos estatisticamente e experimentalmente.

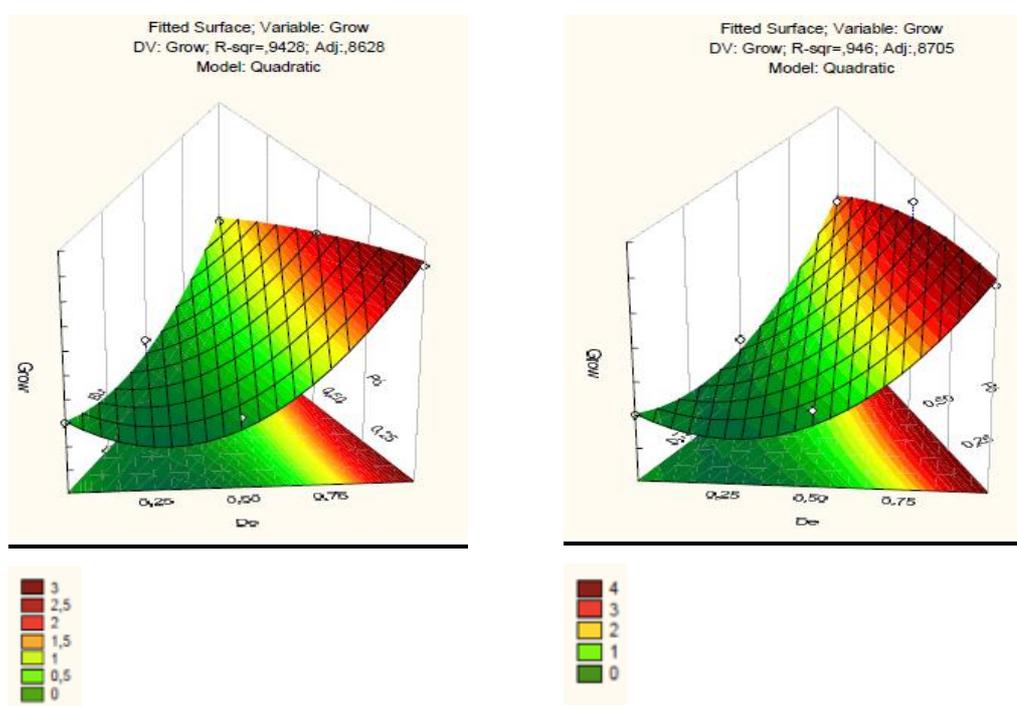


Gráfico 3. Gráficos de superfície de resposta para o isolado CCMB601 com quatro dias (lado esquerdo) e oito dias (lado direito) de crescimento, evidenciando o efeito significativo dos resíduos utilizados e a interação entre eles.

Nestes gráficos de análise de superfície de resposta, evidencia-se que o melhor MC pode ser obtido utilizando-se até 100 % de resíduo de dendê, tanto para o dia quatro (crescimento de 3 cm) como para o dia oito de crescimento (crescimento de 4 cm-limite da placa). Não obstante, para ambos os casos pode-se adicionar o resíduo Pó como constituinte de uma mistura sem interferir no crescimento do isolado CCMB 601. Logo, observa-se que, para o dia quatro, até 25% de Pó, e para o dia oito, entre 25% e 50% de

pó de bateadeira, podem ser adicionados, e se atingem os mesmos diâmetros de crescimento do que quando se utiliza somente o resíduo de dendê.

Os gráficos de análise de superfície de resposta, aqui apresentados para os dias quatro e oito de crescimento do isolado CCMB 601, são representativos da interação entre misturas para os isolados DHCR 359, DHCR 379 e CCMB 456 e os gráficos para estes últimos isolados são apresentados no Apêndice. Na Tabela 10 são apresentados de forma condensada as porcentagens resultantes da interação entre os resíduos que tiveram efeitos significativos no crescimento para cada um dos isolados.

Tabela 10 Resultados condensados (em porcentagem) obtidos dos gráficos de análise de superfície de resposta, evidenciando a interação entre os substratos que tiveram efeitos significativos no crescimento para cada um dos isolados: DHCR 359, DHCR 379 e CCMB 456

	DHCR 359		DHCR 379		CCMB456	
Efeito	Dia 4	Dia 8	Dia 4	Dia 8	Dia 4	Dia 8
Taxa que induz maior crescimento (Diâmetro de crescimento)	100% De ¹ (2,5 cm)	100% De ¹ (4 cm)	100% De ¹ (2,5 cm)	100% De ¹ (4 cm)	100% De ¹ (1 cm)	100% De ¹ (2 cm)
Taxa sem interferência (Mistura ideal) (Diâmetro de crescimento)	25% de Pó ² (Mistura : De ¹ - Pó ²) (2,5 cm)	25% de Pó ² (Mistura : De ¹ - Pó ²) (4 cm)	25% de Pó ² (Mistura : De ¹ - Pó ²) (2,5 cm)	25% de Pó ² (Mistura : De ¹ - Pó ²) (4 cm)	25% de Pó ² (Mistura : De ¹ - Pó ²) (1 cm)	25% de Pó ² (Mistura : De ¹ - Pó ²) (2 cm)

¹De: Resíduo de dendê; ²Pó: Pó de bateadeira

Nos resultados condensados obtidos dos gráficos de análise de superfície de resposta (Tabela 10), é possível observar que a taxa de 100% de resíduo de dendê permite o crescimento dos isolados DHCR 359, DHCR 379 e CCMB 456, sendo que para o dia oito de crescimento ambos os isolados DHCR atingem o crescimento total

da placa; Esse resultado divergido isolado CCMB 456, o qual, para o mesmo dia de crescimento, atinge 2 cm de crescimento micelial em placa, com as medidas de crescimento em relação ao tempo reduzidas, quando comparado com os demais isolados aqui testados.

Com relação ao uso dos resíduos em misturas, observou-se que, para todos os casos, pode-se utilizar até aproximadamente um 25% de Pó quando misturada com De (Tabela 9). Esta porcentagem aproximada de Pó não interferiu significativamente no crescimento dos isolados DHCR 359, DHCR 379 e CCMB 456. Observou-se para todos os isolados (DHCR 359, DHCR 379, CCMB 456 e CCMB 601) que o efeito negativo do pó de bateadeira se reduz com o aumento do tempo de incubação, sendo menos visível após oito dias de crescimento do que após de quatro dias. Provavelmente isto deve ter ocorrido devido à necessidade de adaptação dos isolados ao substrato. Segundo NTOUGIAS et al., (2012), fungos do filo *Basidiomycota* apresentam uma lenta adaptação devido à necessidade de produção de enzimas para a adequação dos mecanismos de degradação aos constituintes do substrato, os quais respondem à disponibilidade de nutrientes e ao potencial genético do fungo (MINOTTO et al., 2014; NTOUGIAS et al., 2012).

As variáveis significativas obtidas até aqui foram selecionadas para uma 2ª etapa experimental de confirmação dos resultados. Nesta segunda etapa, foi feita então uma análise de variância com dois fatores - *two-way* ANOVA para todos os isolados (DHCR 359, DHCR 379, CCMB 456 e CCMB 601) tendo duas variáveis distintas, a saber: composição do meio de cultivo e tempo de cultivo (em dias) (Gráfico 3). Esta análise de variância foi feita para verificar se há diferença estatística de forma experimental entre os crescimentos. Os ensaios foram feitos em triplicata, repetindo as formulações cujos resultados tinham se mostrado significativos, mantendo-se as porcentagens de 100% De (E), uma mistura de 75% De (E) e 25% Pó (A) e uma outra mistura de 50% De (E) e 50% Pó (A).

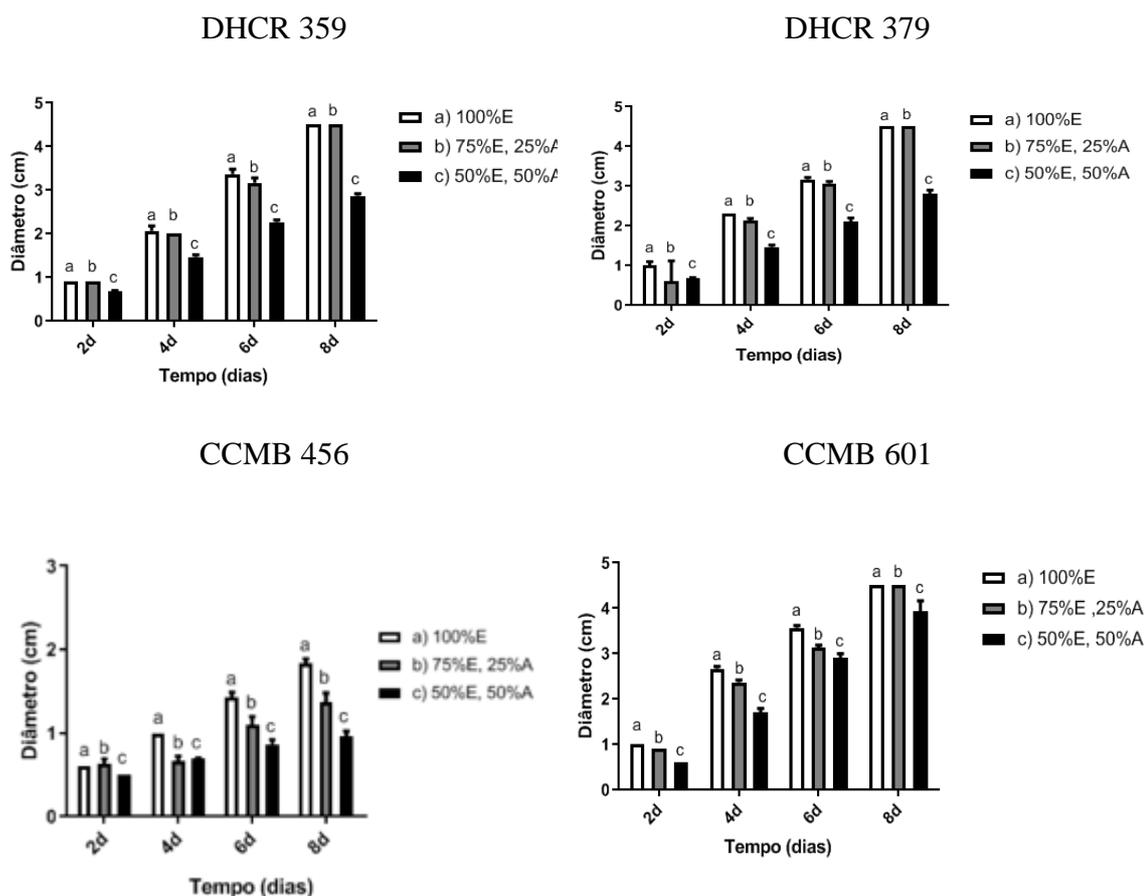


Gráfico 3. Gráficos de análise de variância com dois fatores - two-way ANOVA para todos os isolados, DHCR 359, DHCR 379, CCMB 456 e CCMB 601, tendo duas variáveis distintas, a saber: composição do meio de cultivo e tempo de cultivo (em dias)

Através de a análise de variância com dois fatores - two-way ANOVA (Gráfico 3) foi possível confirmar estatisticamente que, tanto para o DHCR 359, DHCR 379 como para o CCMB 601, não houve diferença significativa entre 100% de resíduo de De e uma mistura de 75% de De e 25% de Pó. No entanto, notou-se que, para o isolado CCMB 601, é possível agregar até um 50% de Pó, sem que isso representasse uma diferença muito ampla no crescimento quando comparada com os outros resultados para o mesmo isolado.

A amplitude da porcentagem de substrato que pode ser utilizada para o crescimento do isolado CCMB 601, variando do 0% a 50% de Pó de bateadeira, é interessante para ensaios futuros de caracterização mecânica, uma vez que, segundo CALLISTER (2007) o tamanho da partícula utilizada e a porosidade entre a matriz (substrato) tem efeitos no teste de resistência a flexão, comumente utilizado para a caracterização de espumas como o poliestireno (CALLISTER; RETHWISCH, 2007)

Para o isolado CCMB456 o melhor substrato é 100% de resíduo de dendê e há uma diferença significativa que inviabiliza o uso do pó de batedeira em proporções de 25% e 50%, evidenciado por diâmetros menores de crescimento. Observa-se que para este isolado, foi confirmado que as medidas de crescimento em relação ao tempo são reduzidas, quando comparadas com os outros isolados.

O crescimento significativo dos isolados utilizados neste trabalho sobre resíduos de dendê confirma o observado por BARBOSA 2017, indicando que os resíduos do dendezeiro tem potencial para o crescimento de fungos basidiomicetos, variando segundo o tipo de fungo utilizado (BARBOSA; RODRIGUES; OLIVEIRA, 2017).

Isolados do gênero *Ganoderma*, tanto o isolado comercial utilizado como controle positivo (CCMB601), quanto os isolados de origem brasileira dos Biomas Amazônia e Mata Atlântica (DHCR 359, DHCR 379, CCMB 456), crescidos em resíduos de dendê e pó de batedeira de sisal, podem ser utilizados no desenvolvimento de micocompósitos. Além disso, o crescimento desses isolados agrega valor aos resíduos de dendê e ao pó de batedeira de sisal, até agora negligenciados e constituindo-se importantes passivos ambientais.

4. Avaliação do crescimento micelial em resíduos agroindustriais aditivados com minerais

Pelos resultados no item 6.3, foi determinado para o experimento a seguir que as porcentagens dos substratos utilizados segundo sua significância no crescimento para os isolados CCMB 601 e DHCR 379 é de 75% dendê + 25% pó de batedeira, já para o isolado CCMB 456 será utilizado 100% dendê, esta seleção de resíduos foi utilizada de acordo com os experimentos prévios quando se provou estatisticamente o seu efeito significativo no crescimento dos isolados fúngicos testados. Foi decidida a exclusão do isolado DHCR 359 em vista da necessidade de diminuir o número amostral, pelo fato de ter a mesma origem geográfica de coleta e a que tinha-se observado igual comportamento de crescimento e adensamento micelial com o isolado DHCR 379.

Este experimento consistiu na avaliação do uso de aditivos puros, aditivados aos correspondentes substratos, a fim de avaliar o efeito desses no crescimento dos

isolados do gênero *Ganoderma* aqui utilizados. Os aditivos testados foram: Serpentinó (S), Metapiroxenó (M), Filito (F), Rejeito de Mineraçãó (RM), e Vermiculita (V), ressaltando que este último aditivo (ou suporte) foi utilizado neste trabalho como controle positivo, e não é de interesse para este estudo que faça parte de misturas ideais.

Nossos resultados mostraram que todos os aditivos apresentaram um efeito estatisticamente significativo no crescimento dos isolados fúngicos, sendo o Filito o aditivo associado ao melhor crescimento para os isolados CCMB456 e CCMB601 após 4 dias de incubação (gráfico 4). O CCMB601 apresenta também um maior adensamento micelial indistintamente do tipo de aditivo utilizado (Figura. 4)

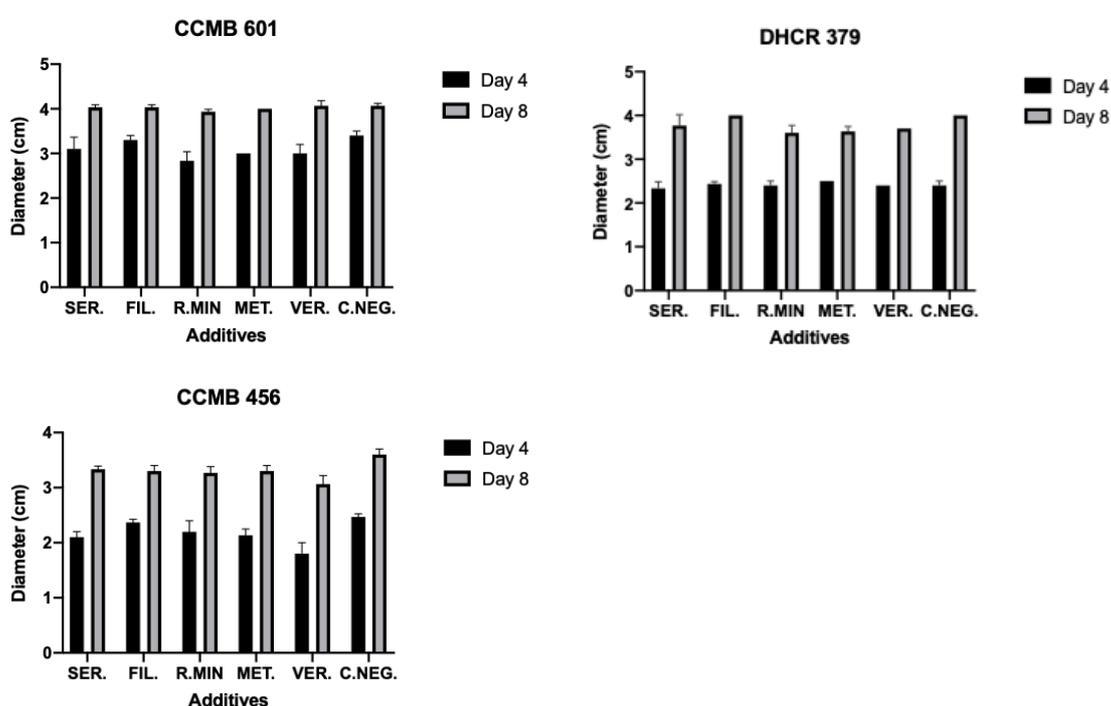


Gráfico 4. Gráficos de análise de variância com dois fatores - two-way ANOVA para todos os isolados, DHCR 359, DHCR 379, CCMB 456 e CCMB 601, tendo duas variáveis distintas, a saber: composição do meio de cultivo e tempo de cultivo (em dias)

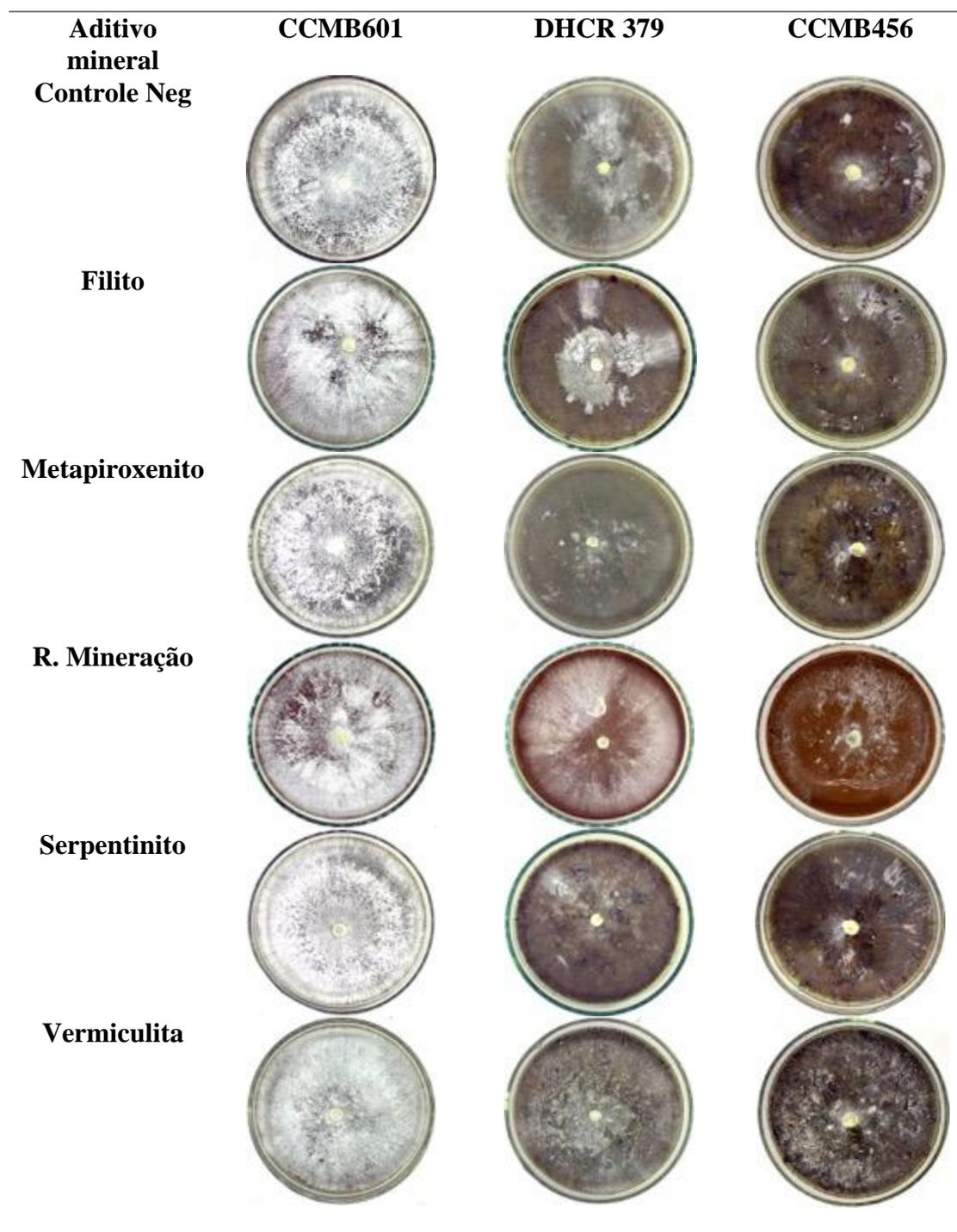


Figura. 4. Imagens do crescimento radial na avaliação do crescimento micelial em resíduos agroindustriais aditivados os com minerais Serpentinuito (S), Metapiroxenito (M), Filito (F), Rejeito de Mineração (RM), e Vermiculita (V)(controle positivo), após 8 dias de crescimento.

O aditivo Filito teve o efeito significativo com a maior influencia para três dos quatro isolados avaliados. O filito teve baixo conteúdo de óxido de magnésio, cerca de 2%, quando comparado a uma media de 32% do mesmo óxido para os outros minerais.

Além disso, apresentou alto conteúdo de Al_2O_3 , cerca de 37%, quando comparado a uma média de 1,25% para os demais minerais. No entanto é necessária a procura de mais referências bibliográficas, visando uma melhor compreensão do efeito ou relação de estes óxidos com o crescimento fúngico.

Como complementação aos ensaios de avaliação do uso de aditivos puros ou em misturas e seu efeito no crescimento, foi realizado também um controle visual pela realização de fotografias. As imagens foram tomadas no dia dez de crescimento de uma réplica biológica para cada ensaio e permitiram distinguir a presença ou ausência de crescimento. Desta forma, foi possível visualizar o crescimento micelial como uma massa embranquecida cotonosa sobre as placas de coloração mas escura (Figura. 4).

Nota-se ainda o crescimento micelial em todas as placas, o que poderia ser um indicativo inicial da não-inibição por parte dos substratos aditivados. O crescimento segundo JIANG *et al.*, (2017) responde a um gradiente de concentração ideal de oxigênio, temperatura entre outros fatores físico-químicos (JIANG *et al.*, 2017), fatores importantes a serem considerados para o desenvolvimento de micocompósitos.

O maior adensamento observado em alguns ensaios evidencia provavelmente a assimilação da suplementação com os aditivos de origem mineral aqui utilizados, Segundo VALGINHAK (2018), o adensamento do micélio de fungos basidiomicetos como o *G. lucidum*, está diretamente relacionado com a utilização dos nutrientes do substrato, do aditivo e das características de crescimento do próprio isolado (VALGINHAK; DALLA SANTA, 2018), já que os fungos estão envolvidos em processos de dissolução de minerais (GADD, 2007)

Segundo GADD (2007), diversos minerais, incluindo os óxidos de cálcio, ferro e manganês, estão associados a hifas fúngicas, principalmente em processos de dissolução de minerais em transformações biogeoquímicas, constituindo-se em um exemplo de transformação de silicatos e rochas para formar argilas durante o processo de intemperismo biológico (GADD, 2007). Por tanto há possibilidade de degradação dos minerais usados neste trabalho por nossos fungos, sendo uma atividade fúngica para obter alguns elementos para o seu próprio crescimento o que acaba consequentemente transformando o aditivo mineral.

O crescimento de fungos do filo *Basidiomycota* sobre a vermiculita e diversos tipos de rochas não é um fato surpreendente, uma vez que, segundo GADD (2007) os próprios fungos estão os envolvidos na conversão de biotita em vermiculita. No mesmo trabalho de revisão de Geomicologia, GADD (2007) descreve a transformação de micas (grupo do qual a vermiculita faz parte) para argilas expansíveis devido à alta produção de ácidos orgânicos e a extração direta de K^+ e Mg^{2+} por hifas fúngicas na rizosfera. Tal fato evidencia o importante papel dos fungos nas transformações biogeoquímicas e explica o crescimento dos nossos isolados fúngicos na presença dos aditivos.

Segundo VALGINHAK (2018), em meios de cultura sintéticos utilizados para o crescimento de linhagens de *Ganoderma*, tem-se observado um crescimento micelial mais significativo quando se utiliza sais minerais como fosfato de potássio, cloreto de cálcio, e sulfato de magnésio, evidenciando o importante papel da suplementação mineral no crescimento de fungos basidiomicetos (VALGINHAK; DALLA SANTA, 2018).

5. Caracterização do material

Análise macroscópica e microscópica do micocompósito

Tanto a caracterização macroscópica com uso de estereoscópio, quanto a microscópica seja por MEV ou pelo uso de microscópio de fluorescência (amostra corada por *calcoflúor white*), são ferramentas usadas no presente trabalho para compreender a organização interna do material e de forma qualitativa a presença dos aditivos fíto e rejeito de mineração em relações de substrato aditivo de 1/0.5 e 1/ 2.

Uma vez que os micocompósitos são materiais secos após o crescimento, na geração de imagens por MEV, para compreender melhor a organização estrutural interna são melhores as imagens provenientes de material fresco do que material seco (imagens linha A e B Figura. 5). Isto provavelmente é influenciado pelo vácuo utilizado e a presença de vapor de água durante o processamento das amostras no microscópio. Durante a sessão foi possível observar a necessidade de melhorar a homogeneização na mistura, no entanto, o acoplamento do aditivo pelo micélio é satisfatório

Durante o crescimento devem-se evitar os espaços internos do material, o que também varia segundo a aplicação, uma vez que este espaçamento tem a ver com a porosidade do material e conseqüentemente com o comportamento mecânico

O uso de material fibroso como substrato para o crescimento é bom, uma vez que estas fibras permitem um maior agregação pelo entrelaçamento das fibras que é reforçado pelas fibras de micélio ao não ser inibidas pelos componentes usados nas misturas usadas como matrizes (Figuras 5, 6 e 7).

No desenvolvimento de novos materiais como os micocompósitos em que é importante compreender a agregação da matriz pelo fungo é importante se pensar o relacionado aos custos, desta forma, a técnica de coloração com calcofluor White, surge como uma proposta viável para fazer essa observação de afinidade fungos substrato e por um custo baixo, já que o processamento, montagem e aquisição das imagens de uma amostra por MEV tem um custo aproximado de 100 reais comparada enquanto que, com a técnica de calcufluor, tem um custo de 5 reais para a obtenção da imagem, indicando que o custo para obtenção por MEV é 20 vezes superior.

A coloração com Calcufluor White é uma metodologia usada na área de Micologia na qual o branco de calcoflúor é um corante fluorocromo não-específico que se liga aos fungos, permitindo sua rápida identificação através de microscopia de fluorescência em esfregaços diretos, ou seja não precisa de preparação da amostras como o MEV. Desta forma, no desenvolvimento de micocompósitos, resulta como uma ferramenta rápida e barata que permite a visualização do fungo e sua associação com os demais componentes presentes no micocompósito (Figura 8).

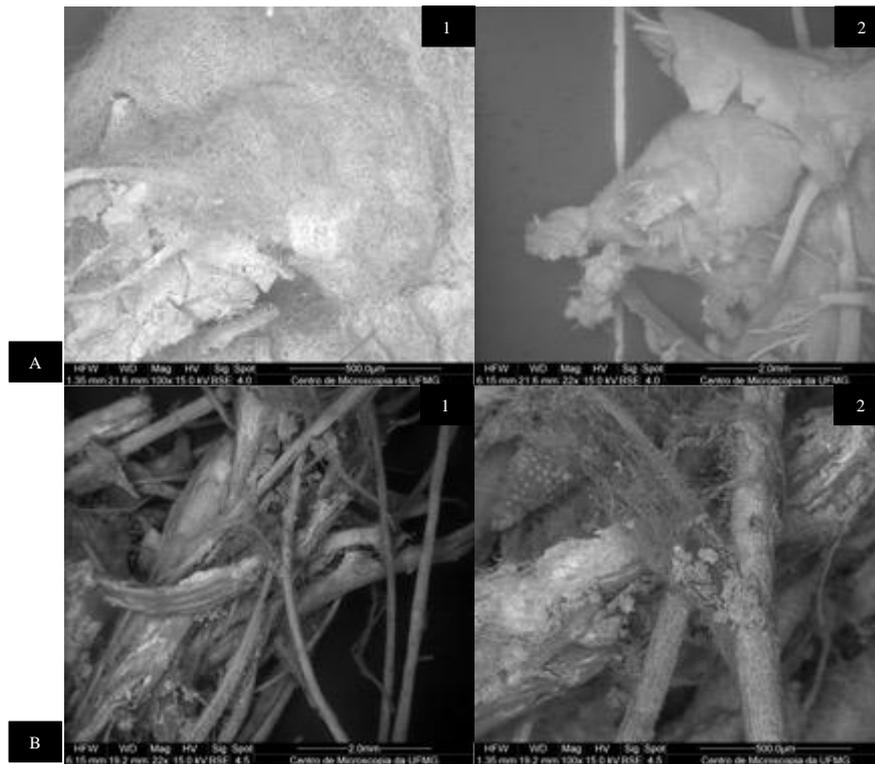


Figura. 5 Electromicrografia do CCMB601 grupo controle só com substrato sem nenhuma aditivo imagens após secagem (línea superior A) e imagens em fresco (línea inferior B).

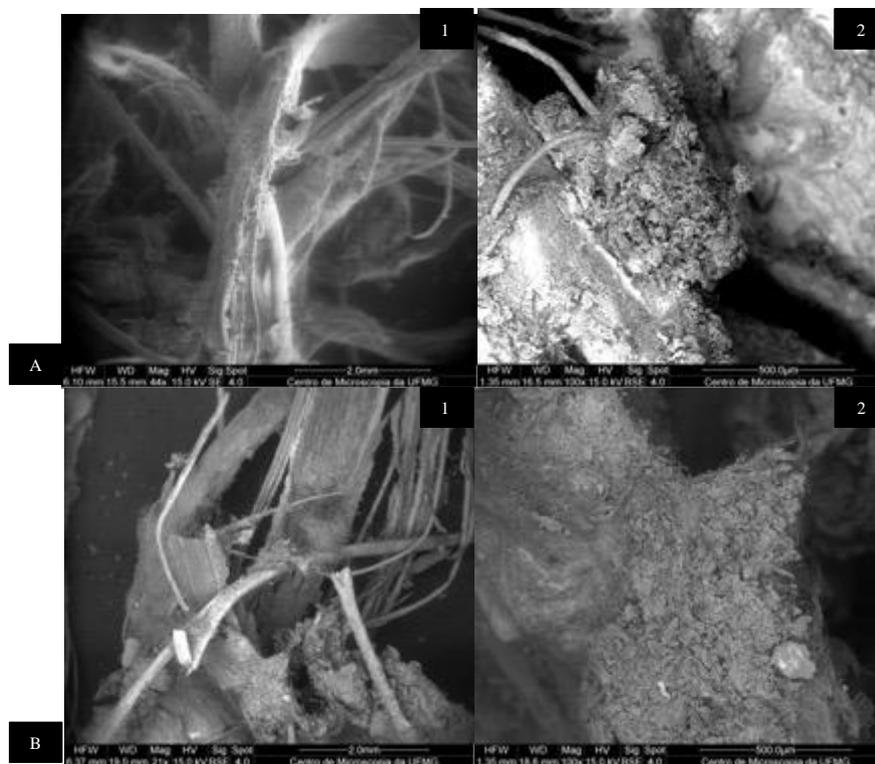


Figura. 6 Electromicrografia do CCMB601 com o aditivo filito na proporção de 0,5 com relação ao substrato (línea superior A) e na proporção de 2 com relação ao substrato (línea inferior B).

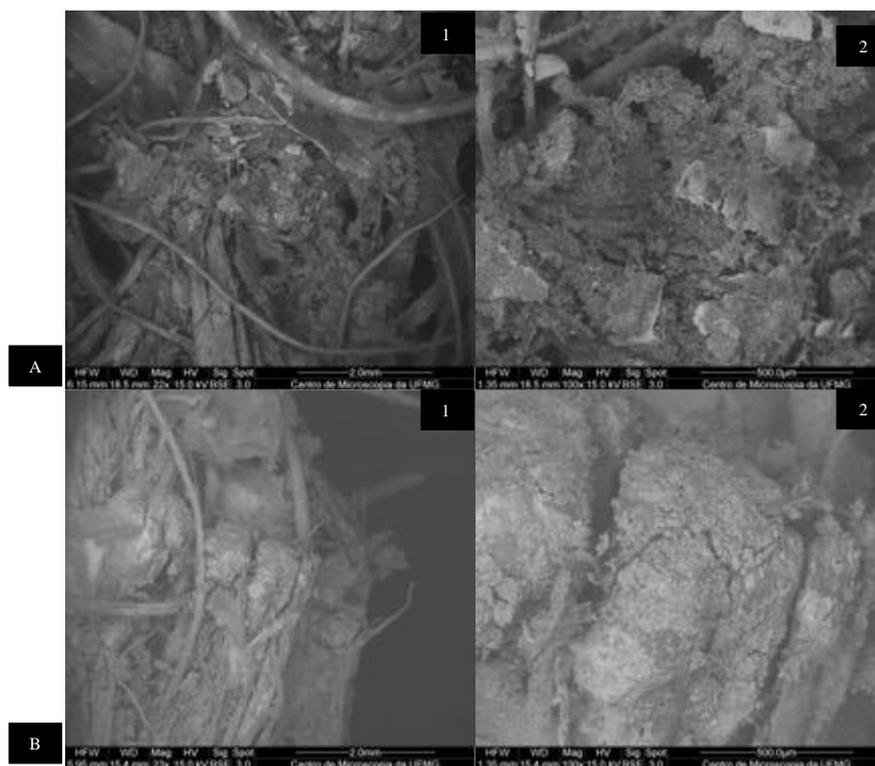


Figura. 7 Electromicrografia do CCMB601 com o aditivo rejeito de mineração na proporção de 0,5 com relação ao substrato (línea superior A) e na proporção de 2 com relação ao substrato (línea inferior B).



Figura. 8 Imagens obtidas da linhagem CCMB601 só com substrato (A) (B) e com rejeito de mineração na relação 1/1 (C), observadas com lupa (A) e por microscopia de fluorescência e corada por Calcofluor White (B) (C).

Análise térmica por Termogravimetria (TGA)

A estabilidade térmica dos corpos de prova está representada pelas curvas de TG (Figura. 9 linhas coloridas) que relacionam a perda de massa dos materiais em função do aumento da temperatura, permitindo assim a identificação dos componentes da amostra.

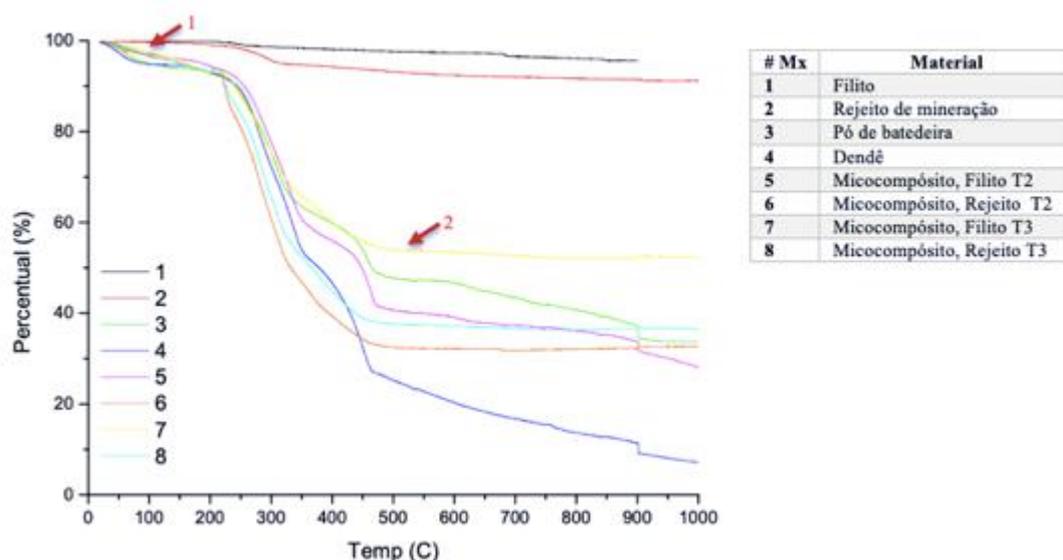


Figura. 9 Análise termogravimétrica das amostras contendo aditivos puros, substratos puros e misturas pós-crescimento com o fungo CCMB601. Observe o primeiro evento de perda de água ($\uparrow 1$) com uma resistência por parte dos materiais que tinham os aditivos e no segundo evento a proteção no percentual de perda massa quando usado o aditivo filito em proporção 2/1 (relação aditivo substrato).

A análise das curvas termogravimétricas mostrou que a perda de massa dos materiais, de maneira geral, ocorre em etapas diferentes segundo a composição. A primeira etapa ocorre por volta de 100°C e está relacionada à liberação da água presente nos materiais, sejam biológicos ou minerais, sendo esta água livre ou não ligada aos materiais (SEERIG, 2019). Nessa temperatura as curvas de TG das amostras que continham material biológico tem uma pequena queda na temperatura $\leq 100^\circ\text{C}$, note-se que para os micocompositos que continham algum dos aditivos na sua composição apresentam uma pequena resistência, já para os materiais de origem mineral essa primeira perda não é visível (Figura. 9 ($\uparrow 1$)).

Na temperatura ao redor dos 250 °C inicia a desestruturação térmica do material, que para os materiais de origem biológico pela composição fibrosa dos substratos corresponde à decomposição da hemiceluloses que apresentam uma rango de perda entre os 200-375 °C (GIROMETTA *et al.*, 2019). Por outro lado no caso do filito se observa uma perda de massa ao redor dos 250 °C que evidencia a desidroxilação do mineral gibbsita (mineral hidroxilado que compõe o filito), com contribuição significativa da goethita que tem um pico de perda ao redor dos 263 °C (SEERIG, 2019).

Na temperatura ao redor dos 350 °C se observa uma nova perda de massa novamente para os materiais que contem material biológico na sua composição, isto pela presença tanto do substrato como do fungo, portanto a perda de massa corresponderia à degradação térmica de distintos componentes como a celulosa presente no substratos, da quitina fúngica e da lignina que pese a sua complexa composição tem uma perda de massa entre 300 a 450 °C (GIROMETTA *et al.*, 2019). Para o Filito foi observado um pico ao redor dos 700 °C que poderia corresponder à queima da caulinita que apresenta uma perda de massa ao redor dos 734°C (SEERIG, 2019).

Foram observados padrões de degradação semelhantes para os materiais que continham a mistura substrato - fungo, concomitantemente foi observado que os materiais que tinham como aditivo o filito em proporções de 2/1 (relação aditivo substrato) tinham um porcentual de perda de massa menor que o resto dos materiais (Figura. 9 (↑2)), o que poderia significar uma proteção à queima, impactando a estabilidade térmica dos materiais. Foi observado que a maior adicionamento seja de rejeito ou de filito menor o porcentual de perda de massa.

Na literatura existe uma grande discussão com relação ao erro significativo que pode se apresentar nas análises termogravimétrica em vista da heterogeneidade do crescimento do fungo no substrato e da pequena quantidade de massa coletada para fazer as análises, pelo qual se sugere uma análises separada dos componentes (GIROMETTA *et al.*, 2019). O anterior pode ser sobrepesado com uma homogeneização de quantidades maiores de massa usando o equipamento FastPrep, equipamento comumente utilizado para provocar a lise mecânica de material biológico.

Corpos de prova

As medidas e formatos dos corpos de prova, tanto para o teste de compressão como para o de flexão, foram estabelecidas pelas normas usadas para cada um dos ensaios (Figura. 10) (Figura. 11). No entanto a confecção dos corpos de prova ou protótipos depende de um molde (Figura. 12), que será o que dá o formato. A seleção de um material correto para a produção do protótipo composto pelo micocompósito é importante, uma vez que se precisa do crescimento de um microrganismo (o fungo), por tanto é necessário garantir condições de assepsia para evitar perdas de material e retraços na produção.



Figura. 10 Imagens dos protótipos produzidos para o teste de compressão compostos pelo isolado CCMB601 e o aditivo filito; (A) vista da cara superior do micocompósito; (B) vista da cara inferior do micocompósito; (C) vista da cara lateral do micocompósito



Figura. 11 Imagens dos protótipos produzidos para o teste de flexão compostos pelo isolado CCMB601 e o aditivo rejeito de mineração; (A) vista da cara superior do micocompósito; (B) vista da cara lateral do micocompósito



Figura 12. Imagens dos moldes utilizados para a produção dos protótipos, (A) silicone (B) Papelão coberto alumínio (C) Aro de PVC (D) PET, Plástico termoformado

Diversos materiais foram testados no presente trabalho, onde foi observado que os materiais de silicone pese a que suportam níveis de temperaturas e pressão altos, compatíveis com o uso do autoclave, não são favoráveis desde a perspectiva da microbiologia, uma vez que pequenas arestas no interior induzem a contaminação de tipo bacteriano principalmente (Figura. 12 A).

O uso de materiais como o alumínio ou o PVC (Figura. 12 B-C), resultaram ser viáveis usando técnicas de desinfecção simples, como o uso de hipoclorito ou a exposição a radiação UV. Outros materiais como o plástico termoformado PET (Figura. 12 D), resultam interessantes pela variabilidade no formato e a fácil desinfecção, estes se apresentam como promissores para testes futuros.

Pensar em moldes que sejam reutilizáveis, recicláveis e amigáveis com o meio ambiente é um fator que deve ser pensado na escala industrial, a fim de gerar menos resíduos pensando na relação custo benefício e no tipo de material que esta sendo produzido.

Caracterização da densidade

A densidade de um material é uma propriedade específica que considera a razão entre a massa (m) e o volume (v). Em micocompósitos o espaçamento interno produto da ausência do entrelaçamento das fibras do substrato e das fibras miceliais determinam a densidade do material, conseqüentemente, o preenchimento destes espaços com partículas como os aditivos minerais fazem com que a densidade do material mude (Gráfico 5).

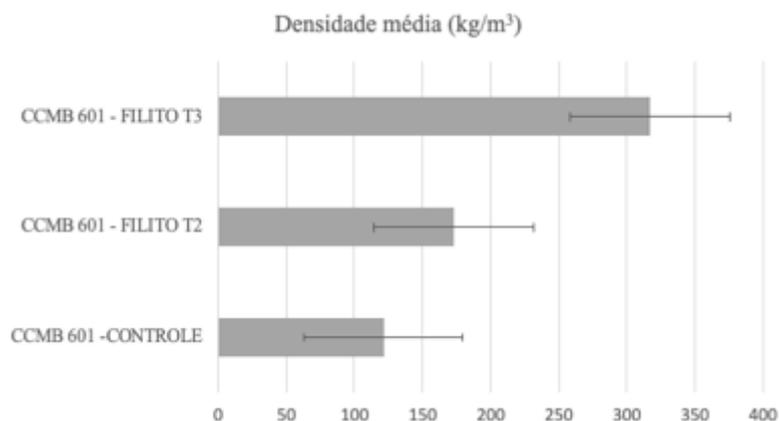


Gráfico 5. Comparação entre os valores obtidos de densidade para as amostras produzidas dos grupos controle, com filito relação 0,5/1 (T2) e com filito relação 2/1 (T3), quando utilizado o isolado CCMB601

A mudança da densidade, quando utilizados aditivos minerais na mistura, é produto da somatória da densidade dos constituintes incluindo a densidade própria dos aditivos. Em micocompósitos aditivados com filito é possível observar um que quanto maior a adição em massa do aditivo maior a densidade observada (Gráfico 5)

A densidade de micocompósitos compostos só por dendê, pó de bateadeira e o isolado CCMB601 apresenta uma densidade ao redor de 125 kg/m³, já quando aditivado o filito numa proporção de 0,5/1 (aditivo/substrato) a densidade aumenta para 175 kg/m³ e de forma crescente a densidade aumenta para 320 kg/m³ quando acrescentado o aditivo numa proporção 2/1 (aditivo/substrato). Por tanto a densidade se vê diretamente afetada pelo uso de aditivos como parte de misturas em micocompósitos.

Os dados da densidade a partir de micocompósitos aditivados com filito estão dentro dos relatados na literatura, com faixas entre 100 a 390 kg/m³, porém só quando usados substratos de origem agrícola como o serragem e a palha (APPELS, FREEK VW *et al.*, 2019). Uma das características relevantes para os materiais derivados de micélio com aplicações como material de embalagem tem sido a sua semelhança com o poliestireno expandido, tendo em comum a baixa densidade. No entanto é diferença na origem destes materiais que faz dos bioderivados bons competidores frente aos derivados do petróleo (GIROMETTA *et al.*, 2019; JONES, MITCHELL *et al.*, 2017).

Análise teste de compressão

Seguindo os direcionamentos da norma ASTM C165-07 foi selecionada a faixa entre 20% - 25% como a porcentagem de deformação limite para todos os grupos amostrais. Desta forma, a carga suportada pelo grupo que continha uma proporção de 2/1 (relação: aditivo – suporte) é 3,6 vezes maior que a do grupo controle (sem aditivo) para a deformação entre o 20% - 25% (Figura. 13 A-C). A resistência à compressão é crescente com relação ao adicionamento do filito usado como aditivo, o que se evidencia com o aumento das cargas aplicadas (Figura.. 13 A-B-C). Uma das variações à norma foi a não realização de cortes a partir de uma placa maior, porque presumiu-se que isso poderia provocar fraturas prévias no material em vista de ser um material fibroso.

Fazendo uma correlação entre os dados obtidos na análise da densidade e a carga suportada pelos materiais derivados de micélio, foi corroborado que ao se aumentar a densidade do material se aumenta a resistência, isto foi comprovado pelo uso de aditivos como modificadores destes comportamentos mecânicos (APPELS, FREEK V. W.; WÖSTEN, 2020). Por outro lado os micocompósitos desenvolvidos neste trabalho tem valores de resistência à compressão competitivos com materiais de poliestireno que apresentam resistência entre 20 kPa e 700 kPa (GIROMETTA *et al.*, 2019).

Na observação macroscópica dos protótipos produzidos para a realização do teste de compressão (Figura. 14) foi observada uma alta variação na geometria entre replicas de um mesmo grupo amostral, esta variação precisa ser corrigida uma vez que os protótipos apresentaram uma irregularidade superficial muito alta, com deformações em alguns locais que obstruíam o transcurso dos ensaios, por tanto precisa se ter um maior controle da geometria da estrutura para estudo posteriores.

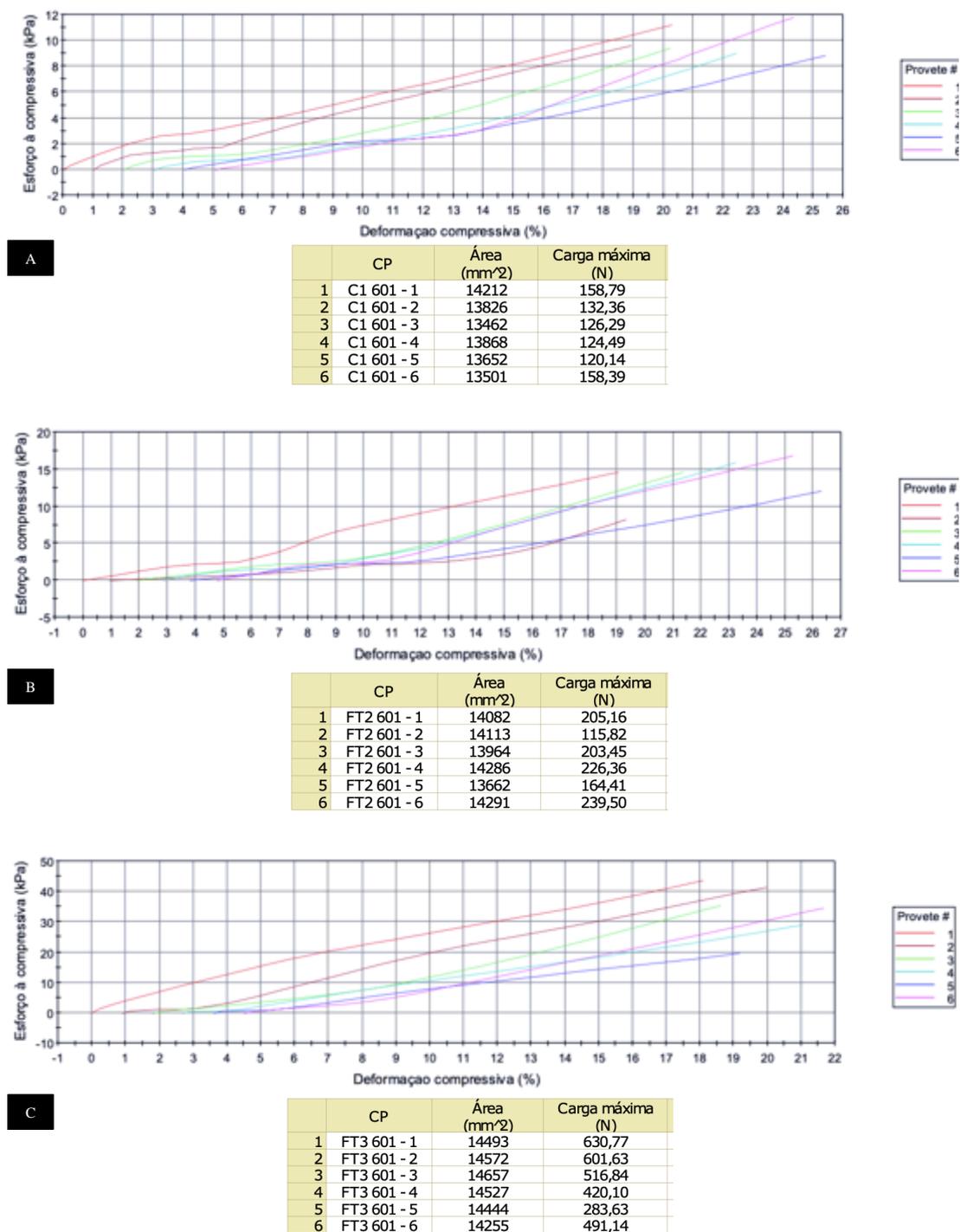


Figura. 13. Gráficos e tabelas dos resultados da análise do teste de compressão; (A) do micocompósito puro, grupo controle sem aditivo; (B) do micocompósito com filito, relação 0,5/1 (T2); (C) com filito relação 2/1 (T3), quando utilizado o isolado CCMB601



Figura. 14 Imagens dos protótipos produzidos para o teste de compressão; (A) do micocompósito puro, grupo controle sem aditivo; (B) do micocompósito com filito, relação 0,5/1 (T2); (C) com filito relação 2/1 (T3), quando utilizado o isolado CCMB601

Análise teste de flexão

Na análise do piloto do teste de flexão foi observado que quanto maior a quantidade de rejeito adicionado menor a flexão do material (Figura. 15). Desta forma, a extensão da deformação tem uma tendência a ser maior no grupo controle tendo a extensão máxima de 50 mm para uma das réplicas do grupo (Figura. 15 A), contrario ao grupo com rejeito na proporção aditivo substrato de 2/1 cuja maior extensão esta entorno dos 37 mm (Figura. 15 C).

A porosidade do material e o tamanho das partículas de substrato usadas como fonte de carbono para o fungo estão relacionadas com a resistência à flexão. Portanto, quanto maior o tamanho das partículas, e menor os espaços internos maior a possibilidade de trincas, levando à perda de resistência de flexão. Alguns autores sugerem que o conteúdo de polissacarídeos do fungo também tem um papel importante na resistência à flexão, relacionando assim a resistência à flexão com a biologia estrutural do fungo (GIROMETTA *et al.*, 2019).

Na análise macroscópica dos corpos de prova observa-se que, da mesma forma que ocorreu com os protótipos do teste de compressão, os protótipos para o teste de flexão também apresentam muita variação entre réplicas de um mesmo grupo amostral (Figura. 16). Esta variação precisa ser corrigida uma vez que os protótipos apresentaram uma irregularidade superficial muito alta, com deformações em alguns locais que obstruíam o transcurso do ensaio, portanto, também é preciso se ter um maior controle da geometria da estrutura.

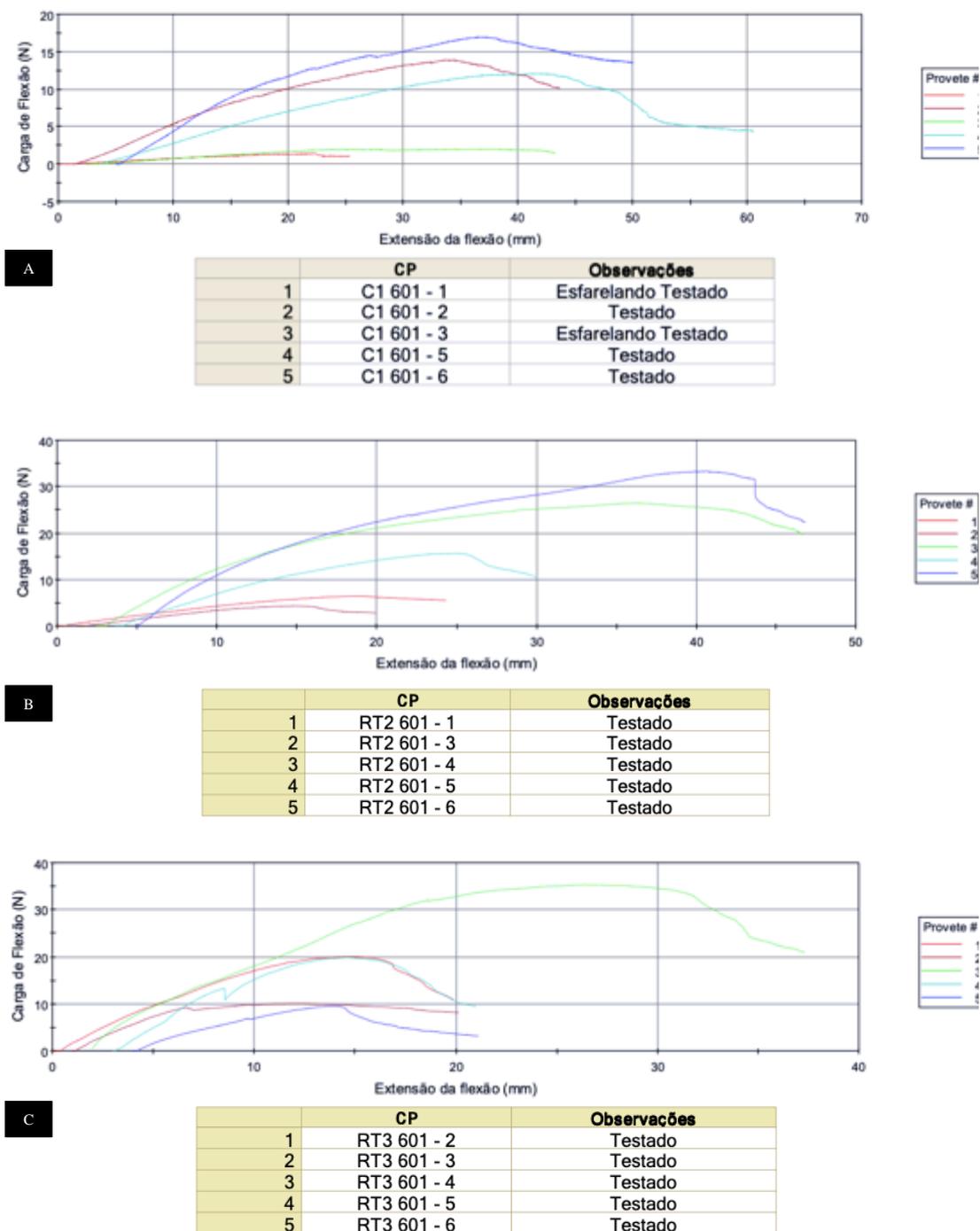


Figura. 15 Gráficos e tabelas dos resultados da análise do teste de flexão; (A) do microcompósito puro, grupo controle sem aditivo; (B) do microcompósito com rejeito de mineração, relação 0,5/1 (T2); (C) com rejeito de mineração relação 2/1 (T3), quando utilizado o isolado CCMB601



Figura. 16 Imagens dos protótipos produzidos para o teste de flexão; (A) do micocompósito puro, grupo controle sem aditivo; (B) do micocompósito com rejeito de mineração, relação 0,5/1 (T2); (C) com rejeito de mineração relação 2/1 (T3), quando utilizado o isolado CCMB601

CONCLUSÕES

O uso de aditivos minerais da uma variabilidade na aplicação dos micocompósitos, o aditivamento interfere no comportamento mecânico dos mesmo indo desde matérias flexíveis sem aditivo para materiais menos flexíveis porém mais resistentes a cargas superiores quando usados os aditivos.

Foram determinadas as características físico-químicas dos resíduos de dendê, de desfibramento de folhas de sisal e os do beneficiamento das fibras secas de sisal. se observando diferenças significativas entre valores médios de pH, nitrogênio, proteínas e relação C/N, sendo estes os fatores que mais influenciam o desenvolvimento micelial dos isolados fúngicos testados.

Foram determinadas as características químicas dos minerais serpentinito, filito e metapiroxenito, e do rejeito de mineração, e as principais diferenças estão nos conteúdos de MgO, SiO₂, Fe₂O₃, Cr₂O₃, Al₂O₃.

O melhor substrato e mistura de substratos que propiciam o melhor desenvolvimento micelial dos isolados CCMB 601, DHCR 359 e DHCR 379 é 75% resíduo de dendê + 25% pó de batedeira (sisal) enquanto que, para o isolado CCMB 456, o melhor é 100% resíduo de dendê. A seleção desses substratos (e mistura de substratos) foi baseada na análise estatística do efeito significativo no crescimento dos fungos.

A linhagem CCMB 601 suportou maior adição de pó de batedeira (sisal) após 4 dias de crescimento. No entanto, não há diferença significativa entre meios contendo 100% de resíduo de dendê e meios contendo até 25% de pó de batedeira (sisal) com 75% de dendê, porém, após 8 dias de crescimento o CCMB601 é o único isolado que permite a maior adição de pó de batedeira (sisal) em até 50% sem uma diferença muito significativa.

As linhagens DHCR 359 e DHCR 379 se comportaram de forma muito semelhante. Para ambas, é possível adicionar até 25% de pó de batedeira (sisal) no meio composto de dendê, sem que haja interferência significativa no crescimento desses isolados fúngicos. Além disso, para esses dois isolados, o efeito negativo do pó de batedeira (sisal) se reduz com o aumento do tempo de incubação, sendo menos visível após 8 dias de crescimento do que após 4 dias.

A linhagem CCMB 456 se comportou de modo relativamente distinto das demais isolados, podendo crescer sem diferença significativa, apenas em meio contendo 100% de resíduo de dendê.

Para todas as linhagens, a adição de resíduos sólidos de sisal ou de bucha de sisal, em qualquer proporção, influenciou negativamente, de forma significativa, o crescimento ao longo do tempo.

Todos os minerais foram significativos individualmente, mas não as interações entre eles, chama a atenção o filito, aditivo mineral que apresentou o maior efeito no crescimento para a maioria dos isolados do gênero *Ganoderma* aqui utilizados, isto pela sua composição superior de oxido de alumínio e inferior de oxido de magnésio quando comparado aos demais minerais.

O rejeito de mineração pode sim ser utilizado como aditivo para o crescimento dos isolados fúngicos aqui avaliados.

O uso do aditivo filito influencia de forma significativa o crescimento da maioria dos isolados do gênero *Ganoderma* aqui utilizados, com exceção do isolado CCMB 601 para o qual foi também significativo, mais não ao mesmo nível dos demais isolados.

Foi constatado que a adição de aditivos minerais ao micocompósito acarreta em variações de propriedades mecânicas. Avaliou-se que a adição de filito altera densidade e a resistência à compressão do material, se observando um aumento de ambos caracteres ao aumentar o uso do aditivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, M.P.; PEIL, R.M.N.; NASCIMENTO, J.S. Crescimento micelial de *Lentinus sajor caju* (Fr.) Fr. e *Pleurotus* spp. em diferentes resíduos agrícolas. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 28, n. 5, p. 895-902, sept./oct. 2012.

ALMEIDA, Soraya. Condições físicas de formação de associações metamórficas do cinturão ultramáfico Carrancas-Liberdade, MG. *Revista Brasileira de Geociências*, v. 42, n. 1, p. 162–186, 2012.

APPELS, Freek V. W.; WÖSTEN, Han A. B. Mycelium Materials. *Reference Module in Life Sciences*. [S.l.]: Elsevier, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012809633821131X>>.

APPELS, Freek VW *et al.* Fabrication factors influencing mechanical, moisture-and water-related properties of mycelium-based composites. *Materials & Design*, v. 161, p. 64–71, 2019.

ARIFIN, Yusnani Hajar; YUSUF, Yusri. Mycelium Fibers as New Resource for Environmental Sustainability. *Malaysian Technical Universities Conference on Engineering & Technology 2012, MUCET 2012*, v. 53, p. 504–508, 1 jan. 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877705813001847>>.

BARBOSA DE SOUZA PRATES, Fabiano *et al.* Acúmulo de nutrientes e produtividade de crambe em função da fertilização com torta de mamona e serpentinito. *Ciência Rural*, v. 44, n. 5, 2014.

BARBOSA, Jhonatas Rodrigues; RODRIGUES, IC dos S; OLIVEIRA, Marcos Ene Chaves. Avaliação da produtividade e eficiência biológica de macrofungos comestíveis cultivados em resíduos agroindustriais da Amazônia. In: EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL-ARTIGO EM ANAIS DE CONGRESSO (ALICE), 2017, [S.l.]: In: SIMPÓSIO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS NA AMAZÔNIA, 6 ..., 2017.

BAYER, Eben; MCLNTYRE, Gavin. Method for Producing Grown Materials and Products Made Thereby. 23 fev. 2017.

BIONDI, JC; MARCZYNSKI, ES. Caracterização física e química dos filitos Açungui (PR) visando sua utilização pela indústria cerâmica (Physical and chemical characteristics of Açungui phillites (PR, Brazil) for their use by ceramic industries). *Cerâmica*, v. 50, n. 313, p. 21–32, 2004.

BRANDÃO, VICTOR FERREIRA; ALMAS-BAHIA, CRUZ DAS. DINÂMICA DE DECOMPOSIÇÃO E LIBERAÇÃO DE MACRONUTRIENTES DE MATERIAIS VEGETAIS EM AMBIENTE SEMIÁRIDO. 2015.

CALLISTER, William D; RETHWISCH, David G. *Materials science and engineering: an introduction*. [S.l.]: John Wiley & Sons New York, 2007. v. 7.

CAMPACCI, T.V.; GUGLIOTTA, A.M. 2009. A review of Amaurodermain Brazil, with *A. oblongisporum* newly recorded from the neotropics. *Mycotaxon*, 110: 423- 436.

CARMIGNANO, Ottavio Raul Domenico Riberti. Avaliação do comportamento do serpentinito na cultura da soja. 2015.

CHEN, Po-Yu; MCKITTRICK, Joanna; MEYERS, Marc André. Biological materials: Functional adaptations and bioinspired designs. *Progress in Materials Science*, v. 57, n. 8, p. 1492–1704, 1 nov. 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079642512000242>>.

DE MELO, Gilberto Caldeira Bandeira; CORTELETTI, Rpsyelle Cristina; ZAIDAN, Sumaia. APROVEITAMENTO DO REJEITO DA ROCHA SERPENTINITO. 2004.

DE MENEZES, Thais Almeida *et al.* Production of Basidiomata and Ligninolytic Enzymes by the Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom, *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes), in Licuri (*Syagrus coronata*) Wastes in Brazil. *International journal of medicinal mushrooms*, v. 18, n. 12, 2016.

DE MORAES, Sandra Lúcia *et al.* Cenário brasileiro da geração e uso de biomassa adensada. *Revista IPT: Tecnologia e Inovação*, v. 1, n. 4, 2017.

DONINI, LP *et al.* Efeito da suplementação com farelos no crescimento in vitro de

Pleurotus ostreatus em meios à base de capim-elefante (Pennisetum spp.). *Arq. Inst. Biol.*, v. 73, p. 303–309, 2006.

DOS SANTOS, Orildo Ribeiro; CORREA, Nadia Cristina Fernandes; FRANÇA, Luiz Ferreira. Processo de transformação termoquímica da torta do mesocarpo do dendê para obtenção de biocombustíveis. *Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, v. 62, 2019.

ELENA SAVINO, Carolina Girometta. Physical-Mechanical and Thermodynamic Properties of Mycelium-Based Biocomposites: A Review. Preprints org buscar?¿¿¿¿?, 2018.

ELISASHVILI, Vladimir; KVESITADZE, George. Lignocellulose and White-Rot Basidiomycetes: Some Strategies for Their Potential Utilization. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, v. 7, n. 3, p. 344–345, 2005.

ELSACKER, Elise *et al.* Mechanical, physical and chemical characterisation of mycelium-based composites with different types of lignocellulosic substrates. *BioRxiv*, p. 569749, 2019.

FARUK, Omar *et al.* Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010. *Topical Issue on Polymeric Biomaterials*, v. 37, n. 11, p. 1552–1596, 1 nov. 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670012000391>>.

FERREIRA, Crisley Mara de Azevedo. Avaliação da torta de dendê (*Elaeis guineensis*) para produção de bioetanol de segunda geração. 2013.

FERREIRA FILHO, CÉSAR F; ARAÚJO, SYLVIA M; CRUZ, HENRYETTE P. Estruturas vulcânicas preservadas em granulitos da sequência vulcano-sedimentar Juscelândia, Go. *Revista Brasileira de Geociências*, v. 29, n. 4, p. 461–468, 2017.

FITZPATRICK, M.; CHAMPAGNE, P.; CUNNINGHAM, M.F.; WHITNEY, R.E. A biorefinery processing perspective: Treatment of lignocellulosic materials for the production of value-added products. *Bioresource Technology*, v.101, p. 8915-8922, 2010.

FRANCO, Luiza Carvalho *et al.* Aplicação de rejeito de mineração como agregado para

a produção de concreto. In: ANAIS DO 56 CONGRESSO BRASILEIRO DO CONCRETO, ISSN, 2014, [S.l: s.n.], 2014. p. 2175–8182.

GADD, Geoffrey M. Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. *Mycological research*, v. 111, n. 1, p. 3–49, 2007.

GANDIA, Antoni *et al.* Flexible Fungal Materials: Shaping the Future. *Trends in Biotechnology*, 2021.

GAVA, Altanir Jaime; DA SILVA, Carlos Alberto Bento; FRIAS, Jenifer Ribeiro Gava. *Tecnologia de alimentos*. [S.l.]: NBL Editora, 2009.

GIL-CASTELL, O. *et al.* Impact of hydrothermal ageing on the thermal stability, morphology and viscoelastic performance of PLA/sisal biocomposites. *Polymer Degradation and Stability*, v. 132, p. 87–96, out. 2016.

GIROMETTA, Carolina *et al.* Physico-Mechanical and Thermodynamic Properties of Mycelium-Based Biocomposites: A Review. *Sustainability*, v. 11, n. 1, p. 281, 2019.

GRIMM, L. H.; KELLY, S.; KRULL, R.; HEMPEL, D.C. Morphology and productivity of filamentous fungi. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 69, n. 3, p. 75-84, 2005.

GRUNENFELDER, L.K. *et al.* Bio-inspired impact-resistant composites. *Biomineralization*, v. 10, n. 9, p. 3997–4008, 1 set. 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706114001330>>.

GUGLIOTTA, A.M.; ABRAHÃO, M.C.; GIBERTONI, T.B.; CHIKOWSKI, R.S.; LIRA, C.R.S.; GOMES-SILVA, A.C.; ARAÚJO NETA, L. Polyporales in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB128424>; Acesso em Janeiro, 2019.

GUIMARÃES, L. H. S.; PEIXOTO NOGUEIRA, S. C.; MICHELIN, M. M. Screening of Filamentous Fungi for Production of Enzymes of Biotechnological Interest. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 37, n.4, p. 74-80, 2006.

HANEEF, Muhammad *et al.* Advanced materials from fungal mycelium: fabrication and tuning of physical properties. *Scientific reports*, v. 7, p. 41292, 2017.

HE, Juan *et al.* Study on the mechanical properties of the latex-mycelium composite. In: APPLIED MECHANICS AND MATERIALS, 2014, [S.l.]: Trans Tech Publ, 2014. p. 415–420.

HELM, CV *et al.* Avaliação de basidiomicetos do gênero Ganoderma quanto ao potencial de síntese de enzimas lignocelulolíticas. In: EMBRAPA FLORESTAS-ARTIGO EM ANAIS DE CONGRESSO (ALICE), 2009, [S.l.]: In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE FLORESTAS ENERGÉTICAS, 1., 2009, Belo ..., 2009.

HOLT, GA *et al.* Fungal mycelium and cotton plant materials in the manufacture of biodegradable molded packaging material: Evaluation study of select blends of cotton byproducts. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, v. 6, n. 4, p. 431–439, 2012.

JIANG, Lai *et al.* Bioresin infused then cured mycelium-based sandwich-structure biocomposites: Resin transfer molding (RTM) process, flexural properties, and simulation. *Journal of Cleaner Production*, v. 207, p. 123–135, 2019.

JIANG, Lai *et al.* Manufacturing of biocomposite sandwich structures using mycelium-bound cores and preforms. *Journal of Manufacturing Processes*, v. 28, p. 50–59, 1 ago. 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1526612517301019>>.

JO, Woo-Sik *et al.* Culture conditions for the mycelial growth of *Ganoderma applanatum*. *Mycobiology*, v. 37, n. 2, p. 94–102, 2009.

JONES, M; HUYNH, T; JOHN, S. Inherent species characteristic influence and growth performance assessment for mycelium composite applications. *Advanced Materials Letters*, v. 9, n. 1, p. 71–80, 2018.

JONES, Mitchell *et al.* Mycelium composites: A review of engineering characteristics and growth kinetics. *Journal of Bionanoscience*, v. 11, n. 4, p. 241–257, 2017.

JONES, Mitchell *et al.* Waste-derived low-cost mycelium composite construction materials with improved fire safety. *Fire and Materials*, 2018.

KARANA, Elvin *et al.* When the material grows: A case study on designing (with) mycelium-based materials. *Int. J. Des*, v. 12, p. 119–136, 2018.

KAVANAGH, Kevin. *Fungi: biology and applications*. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2017.

KORONIS, Georgios; SILVA, Arlindo; FONTUL, Mihail. Green composites: A review of adequate materials for automotive applications. *Composites Part B: Engineering*, v. 44, n. 1, p. 120–127, 1 jan. 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359836812004350>>.

KRISHNAIAH, Prakash; RATNAM, Chantara Thevy; MANICKAM, Sivakumar. Enhancements in crystallinity, thermal stability, tensile modulus and strength of sisal fibres and their PP composites induced by the synergistic effects of alkali and high intensity ultrasound (HIU) treatments. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 34, p. 729–742, jan. 2017.

LELIVELT, RJJ *et al.* The production process and compressive strength of Mycelium-based materials. In: FIRST INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIO-BASED BUILDING MATERIALS. 22-25 JUNE 2015, CLERMONT-FERRAND, FRANCE, 2015, [S.l.: s.n.], 2015. p. 1–6.

LOGUERCIO-LEITE, C. Taxonomia dos fungos. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. de. *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. Caxias do Sul: Educs, 2004. 510 p.

LÓPEZ NAVA, JA *et al.* Assessment of edible fungi and films bio-based material simulating expanded polystyrene. *Materials and Manufacturing Processes*, v. 31, n. 8, p. 1085–1090, 2016.

MACARTHUR, Dave Ellen; WAUGHROY, D; STUCHTEY, MR. The New Plastics Economy, Rethinking the Future of Plastics. In: WORLD ECONOMIC FORUM, 2016, [S.l.: s.n.], 2016.

MANTOVANI, TRD; LINDE, GA; COLAUTO, NB. Effect of the addition of nitrogen sources to cassava fiber and carbon-to-nitrogen ratios on *Agaricus brasiliensis* growth. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 53, n. 1, p. 139–143, 2007.

MANTOVANI, Talita Rafaela D'Agostini *et al.* Formulação de substratos na produção de biomassa micelial e de lacase de *Pleurotus ostreatus*. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 33, n. 5, p. 1681–1691, 2012.

MEYERS, Marc A. *et al.* Biological materials: A materials science approach. *Special Issue on Natural Materials / Papers from the Third International Conference on the Mechanics of Biomaterials and Tissues*, v. 4, n. 5, p. 626–657, 1 jul. 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616110001128>>.

MEYERS, Marc André *et al.* Biological materials: Structure and mechanical properties. *Progress in Materials Science*, v. 53, n. 1, p. 1–206, 1 jan. 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079642507000254>>.

MINOTTO, Elisandra *et al.* Crescimento micelial de *Agaricus bisporus* em meios de cultivo e substratos alternativos. *Revista de la Facultad de Agronomía*, v. 113, 2014.

MORAIS, João Paulo Saraiva; ROSA, M de F; MARCONCINI, José Manoel. Procedimentos para análise lignocelulósica. *Campina Grande: Embrapa Algodão*, 2010.

MORETO, Ana Lucia Rodolfo. Características química, mineralógica e tecnológica dos filitos da região de Itapeva-SP empregados na indústria de cerâmica. 2006.

MORRISSEY, John P; OSBOURN, Anne E. Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, v. 63, n. 3, p. 708–724, 1999.

MOSQUERA, JUAN CARLOS PEDREROS. evaluación del Crecimiento y Producción de *Lentinula edodes* (Shiitake), en Residuos Agroindustriales. *Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia*, 2007.

NERINI, Francesco Fuso *et al.* Powering production. The case of the sisal fibre production in the Tanga region, Tanzania. *Energy Policy*, v. 98, p. 544–556, nov. 2016.

NTOUGIAS, Spyridon *et al.* Biodegradation and detoxification of olive mill wastewater by selected strains of the mushroom genera *Ganoderma* and *Pleurotus*. *Chemosphere*, v. 88, n. 5, p. 620–626, 2012.

ONILDO ARAUJO DA SILVA., Santos Edinusia Moreira Carneiro. SISAL IN

BAHIA-BRAZIL. *Mercator (Fortaleza)*, v. 16, 2017.

PANDEY, Ashok *et al.* Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, v. 74, n. 1, p. 69–80, ago. 2000.

PELLETIER, M.G. *et al.* An evaluation study of mycelium based acoustic absorbers grown on agricultural by-product substrates. *Industrial Crops and Products*, v. 51, p. 480–485, 1 nov. 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669013005050>>.

PELLETIER, MG *et al.* An evaluation study of pressure-compressed acoustic absorbers grown on agricultural by-products. *Industrial crops and products*, v. 95, p. 342–347, 2017.

PICHLER, Rosimeri Franck. Design, tecnologia e valorização local: estudo de técnicas de beneficiamento em serpentinito para uso como material gemológico aplicado ao design de joias. 2014.

RAMAKRISHNA, S.; HUANG, Z.-M. Biocomposites. *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*. [S.l.]: Elsevier, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128035818009656>>.

REGINA, Magali *et al.* Atividade de enzimas oxidativas do *Lentinula edodes* em substratos agroindustriais. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 30, n. 4, p. 881–888, 2009.

RODRIGUES J M, DIAS M, ALBINO S, PEREIRAD , MEGUMI M C. (2012) Lignocellulolytic Enzyme Production Of *Pleurotus Ostreatus* Growth In Agroindustrial Wastes. *Brazilian Journal of Microbiology*,. 1508-1515 , ISSN 1517- 8382.

RYVARDEN, L. 2004. Neotropical polypores Part 1. Synopsis Fungorum n° 19.

SANTOS; GÓES NETO. *BIOCONVERSÃO DE RESÍDUOS DA PALMEIRA SYAGRUS CORONATA POR MEIO DO CULTIVO DE LINHAGENS DE PLEUROTUS SPP.* 2015. 68 f. Tese – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, 2015.

SANTOS, Nadiene AV *et al.* Kinetic study of pyrolysis of castor beans (*Ricinus*

communis L.) presscake: an alternative use for solid waste arising from the biodiesel production. *Energy & Fuels*, v. 29, n. 4, p. 2351–2357, 2015.

SEERIG, Tamiris. Estéreis em minas de minério de ferro: sua caracterização como material pozolânico após calcinação em forno flash. 2019.

SEMEDO, Isidoro. O mercado de energia renovável: viabilidade econômica do dendê na agricultura familiar do Baixo Sul-Bahia. 2006.

SIDANA, Jasmeen; SINGH, Bikram; SHARMA, Om P. Saponins of Agave: Chemistry and bioactivity. *Phytochemistry*, v. 130, p. 22–46, 2016.

SIQUEIRA, F.G.; SIQUEIRA, E.G.; JARAMILLO, P.M.D.; SILVEIRA, M.H.L.; ANDREAS, J.; COUTO, F.A.; BATISTA, L.R.; FILHO, E.X.F. The potential of agro-industrial residues for production of holocellulase from filamentous fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 64, p. 20-26, 2010.

TEIXEIRA, Aline MS *et al.* Caracterização da rocha serpentinito para aplicação como corretivo de solos ácidos. *Paper accept at the XXIII Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, Gramado, Rio Grande do Sul*, 2009.

UGARTE, José Fernandes de Oliveira; SAMPAIO, João Alves; FRANÇA, Silvia Cristina Alves. Vermiculita. [S.l.]: CETEM/MCTI, 2008. .

ULIANA, Daniel. Caracterização tecnológica do minério de fosfato do complexo alcalino de Salitre, MG-área Fosfertil. 2010.

VALGINHAK, Débora Anzolin; DALLA SANTA, Herta Stutz. Potencial de utilização de resíduos da indústria papelreira como substratos para cultivo de *Ganoderma lucidum* (Reishi). *Revista Agrogeoambiental*, v. 10, n. 3, 2018.

VIEIRA, S.S. PAZ, G. M. TEIXEIRA, A. P. C. MOURA, E. M. CARMIGNANO, O. R. SEBASTIÃO, R. O. C., LAGO, R. M. Solid state reaction of serpentinite $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$ with Li^+ to produce Li_4SiO_4/MgO composites for the efficient capture of CO_2 . *Journal of Environmental Chemical Engineering* 6(2018) 4189-4185.

WASTOWSKI, Arci Dirceu *et al.* Caracterização dos níveis de elementos químicos em solo, submetido a diferentes sistemas de uso e manejo, utilizando espectrometria de

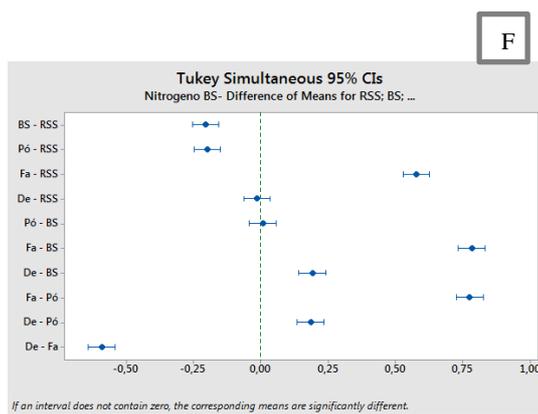
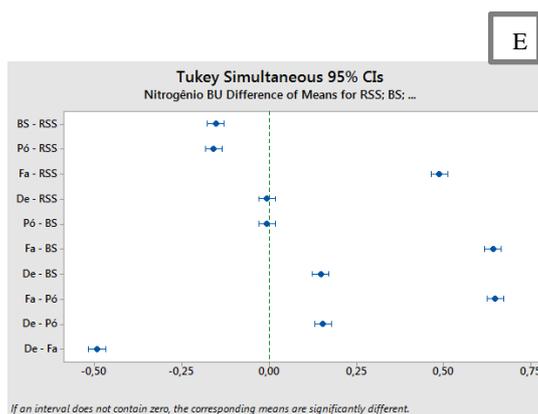
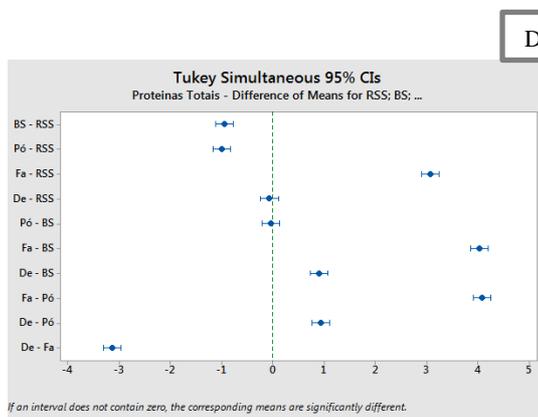
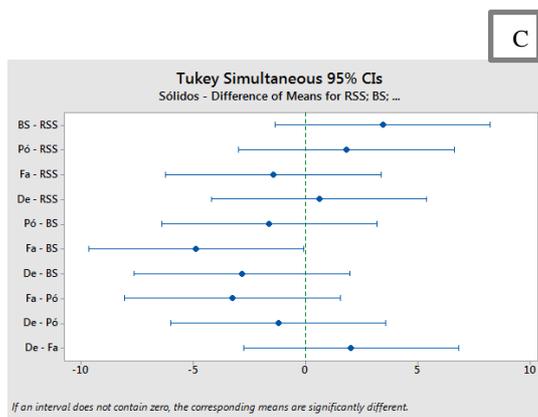
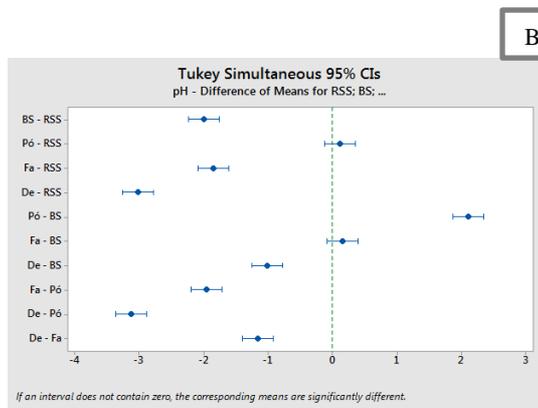
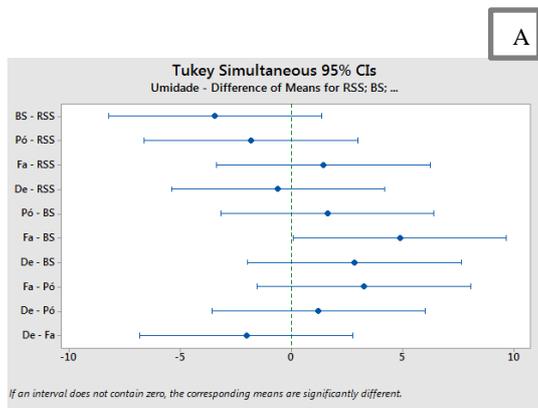
fluorescência de raios-x por energia dispersiva (EDXRF). *Química Nova*, v. 33, n. 7, p. 1449–1452, 2010.

WÖSTEN, Han AB. Filamentous fungi for the production of enzymes, chemicals and materials. *Current opinion in biotechnology*, v. 59, p. 65–70, 2019.

ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 1a ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p

APENDICES

Apêndice A . Intervalos de comparação das médias pelo teste de Tukey entre os distintos substratos para cada uma das variáveis avaliadas



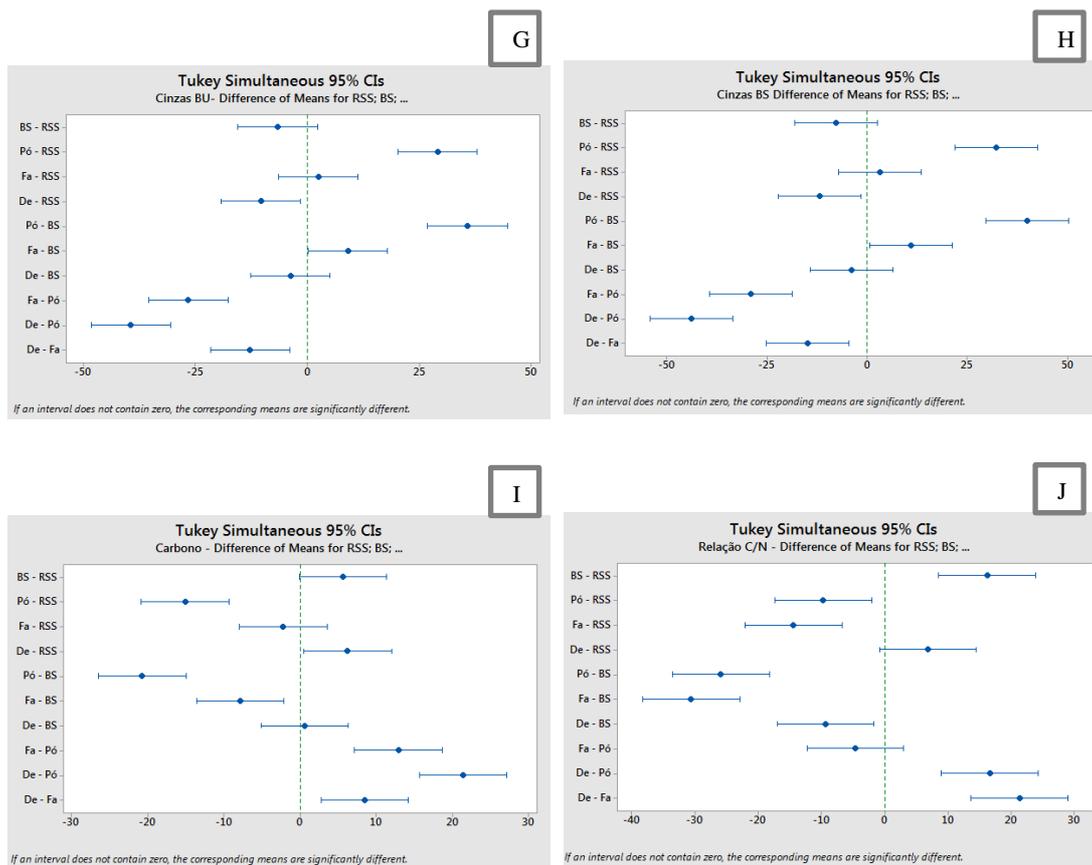


Figura 2. Intervalos de comparação das médias pelo teste Tukey entre os distintos substratos para cada uma das variáveis avaliadas (A): umidade, (B): pH, (C): sólidos, (D): proteínas totais, (E): nitrogênioibu, (F): nitrogêniobs, (G): cinzasbu, (H): cinzasbs, (I): carbono e (J): relação C:N. Nos gráficos, observa-se a linha descontínua em zero, se um intervalo não contém zero, as médias correspondentes são significativamente diferentes.

Apêndice B. Análise de variância ANOVA na avaliação de resíduos agroindustriais

Tabela 3. Análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos para a resposta crescimento micelial do isolado DHCR 359 do dia quatro de crescimento, em diferentes proporções de substratos

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	GL erro	MQ erro	F⁴	p	r²	r² ajustado
Linear	23,25539	4	5,813847	18,23278	26	0,701261	8,290561	0,000189	0,560531	0,492920
Quadrático	6,45173	2	3,225867	11,78105	24	0,490877	6,571640	0,005296	0,716038	0,645048
Ajustado	41,48817	30	1,382939							

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	F⁴	p
Linear	29,70712	6	4,951187	24,67441	10,08641	0,000014
Erro	11,78105	24	0,490877	16,04124		
Ajustado	41,48817	30	1,382939			

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Tabela 4. Análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos para a resposta crescimento micelial do isolado DHCR 359 do dia oito de crescimento, em diferentes proporções de substratos

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	GL erro	MQ erro	F⁴	p	r²	r² ajustado
Linear	48,93982	4	12,23496	38,94993	26	1,498074	8,167123	0,000210	0,556832	0,488652
Quadrático	31,93298	10	3,19330	7,01694	16	0,438559	7,281343	0,000274	0,920162	0,850304
Ajustado	87,88975	30	2,92966							

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	F⁴	p
Linear	62,60054	7	8,942934	24,67441	8,133408	0,000053
Erro	25,28921	23	1,099531	16,04124		
Ajustado	87,88975	30	2,929658			

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Tabela 5. Análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos para a resposta crescimento micelial do isolado DHCR 379 do dia quatro de crescimento, em diferentes proporções de substratos

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	GL erro	MQ erro	F⁴	p	r²	r² ajustado
Linear	22,50220	4	5,625549	18,22533	26	0,700974	8,025329	0,000236	0,552506	0,483661
Quadrático	6,23991	2	3,119954	11,98542	24	0,499393	6,247498	0,006542	0,705717	0,632146
Ajustado	40,72753	30	1,357584							

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	F⁴	p
Linear	28,74210	6	4,790351	9,592355	0,000020
Erro	11,98542	24	0,499393		
Ajustado	40,72753	30	1,357584		

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado

Tabela 6. Análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos para a resposta crescimento micelial do isolado DHCR 379 do dia oito de crescimento, em diferentes proporções de substratos

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	GL erro	MQ erro	F⁴	p	r²	r² ajustado
Linear	48,91963	4	12,22991	38,13256	26	1,466637	8,338743	0,000182	0,561957	0,494566
Quadrático	31,38954	10	3,13895	6,74302	16	0,421439	7,448184	0,000239	0,922540	0,854763
Ajustado	87,05219	30	2,90174							

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	F⁴	p
Linear	62,55796	7	8,936851	8,391675	0,000042
Erro	24,49423	23	1,064966		
Ajustado	87,05219	30	2,901740		

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado

Tabela 7. Análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos para a resposta crescimento micelial do isolado CCMB 456 do dia quatro de crescimento, em diferentes proporções de substratos

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	GL erro	MQ erro	F⁴	p	r²	r² ajustado
Linear	5,119672	4	1,279918	4,144199	26	0,159392	8,029988	0,000235	0,552649	0,483826
Quadrático	1,603690	3	0,534563	2,540509	23	0,110457	4,839563	0,009371	0,725762	0,642298
Ajustado	9,263871	30	0,308796							

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	F⁴	p
Linear	6,723362	7	0,960480	8,695519	0,000032
Erro	2,540509	23	0,110457		
Ajustado	9,263871	30	0,308796		

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado

Tabela 8. Análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos para a resposta crescimento micelial do isolado CCMB 456 do dia oito de crescimento, em diferentes proporções de substratos

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	GL erro	MQ erro	F⁴	p	r²	r² ajustado
Linear	17,92697	4	4,481743	14,95389	26	0,575150	7,792310	0,000288	0,545210	0,475242
Quadrático	5,01488	3	1,671625	9,93901	23	0,432131	3,868331	0,022400	0,697727	0,605730
Ajustado	32,88086	30	1,096029							

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	F⁴	p
Linear	22,94185	7	3,277407	7,584292	0,000090
Erro	9,93901	23	0,432131		
Ajustado	32,88086	30	1,096029		

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado

Apêndice C. Diagramas de Pareto da ANOVA na avaliação do efeito no crescimento dos substratos.

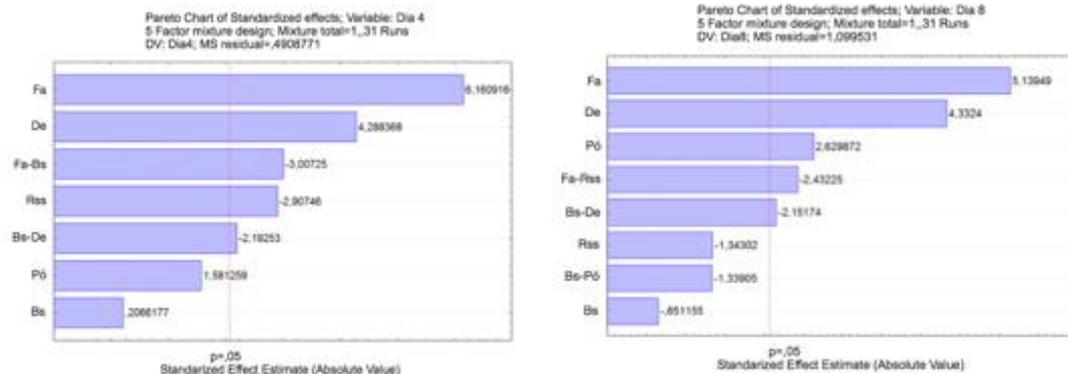
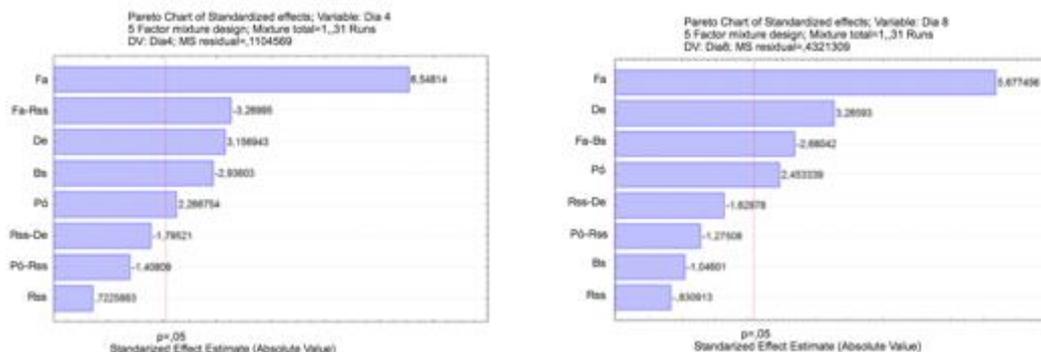


Gráfico 4. Diagrama de Pareto da ANOVA ajustada seguindo o modelo quadrático para os dias quatro e oito de crescimento do isolado DHCR 359



Gráfico 5. Diagrama de Pareto da ANOVA ajustada seguindo o modelo quadrático para os dias quatro e oito de crescimento do isolado DHCR 379



Apêndice D. Análise de variância ANOVA na avaliação de aditivos minerais

Tabela 9. Análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos para a resposta crescimento micelial do isolado DHCR 359, em diferentes proporções de aditivos minerais

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	GL erro	MQ erro	F⁴	p	r²	r² ajustado
Linear	0,052385	6	0,008564	0,1070022	29	0,003690	2,320680	0,059478	0,324389	0,184607
Quadrático	0,014922	1	0,014922	0,092100	28	0,003289	4,536590	0,042103	0,418589	0,273237
Ajustado	0,158407	35	0,004526							

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	F⁴	p
Linear	0,066307	7	0,009472	2,879818	0,021342
Erro	0,092100	28	0,0032289		
Ajustado	0,158407	35	0,004526		

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Tabela 10. Análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos para a resposta crescimento micelial do isolado DHCR 379, em diferentes proporções de aditivos minerais

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	GL erro	MQ erro	F⁴	p	r²	r² ajustado
Linear	0,034439	6	0,005740	0,158805	29	0,005476	1,048164	0,415433	0,178214	0,008189
Quadrático	0,061613	5	0,012323	0,097192	24	0,004050	3,042879	0,028847	0,497050	0,266531
Ajustado	0,193244	35	0,005521							

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	F⁴	p
Linear	0,096052	11	0,008732	2,156221	0,056040
Erro	0,097192	24	0,004050		
Ajustado	0,193244	35	0,005521		

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Tabela 11. Análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos para a resposta crescimento micelial do isolado CCMB 456, em diferentes proporções de aditivos minerais

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	GL erro	MQ erro	F⁴	p	r²	r² ajustado
Linear	0,037255	6	0,006209	0,158201	29	0,005455	1,138207	0,365591	0,190605	0,023144
Quadrático	0,029518	3	0,009839	0,128684	26	0,004949	1,987963	0,140497	0,341624	0,113724
Ajustado	0,195456	35	0,005584							

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	F⁴	p
Linear	0,066773	9	0,007419	1,499011	0,200442
Erro	0,128684	26	0,004949		
Ajustado	0,195456	35	0,005584		

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Tabela 12. Análise de variância (ANOVA) ajustada aos valores experimentais significativos para a resposta crescimento micelial do isolado CCMB601, em diferentes proporções de aditivos minerais

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	SQ erro	GL erro	MQ erro	F⁴	p	r²	r² ajustado
Linear	0,036121	6	0,006020	0,155290	29	0,005355	1,124244	0,372991	0,188708	0,020855
Quadrático	0,007808	1	0,007808	0,147482	28	0,005267	1,482414	0,233559	0,229501	0,036876
Ajustado	0,191410	35	0,005469							

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado.

Modelo	SQ¹ efeito	GL² efeito	MQ³ efeito	F⁴	p
Linear	0,043929	7	0,006276	1,191441	0,339552
Erro	0,147482	28	0,005267		
Ajustado	0,191410	35	0,005469		

¹Soma de quadrados; ²Graus de liberdade; ³Quadrados médios; e ⁴F calculado

Apêndice E. Diagrama de Pareto do ANOVA para aditivos minerais

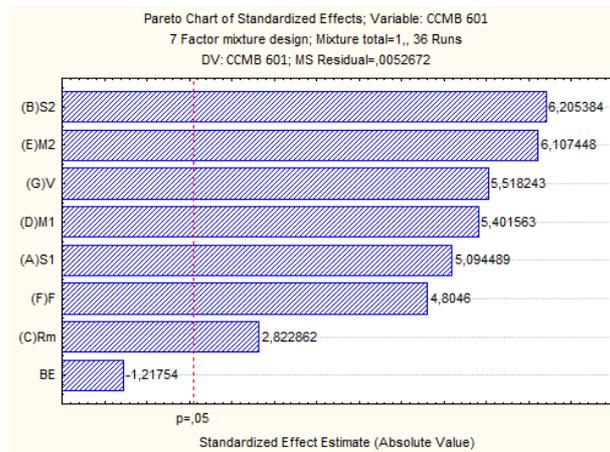


Gráfico 6. Diagrama de Pareto do ANOVA ajustada seguindo o modelo quadrático para o dia dez de crescimento do isolado CCMB 601

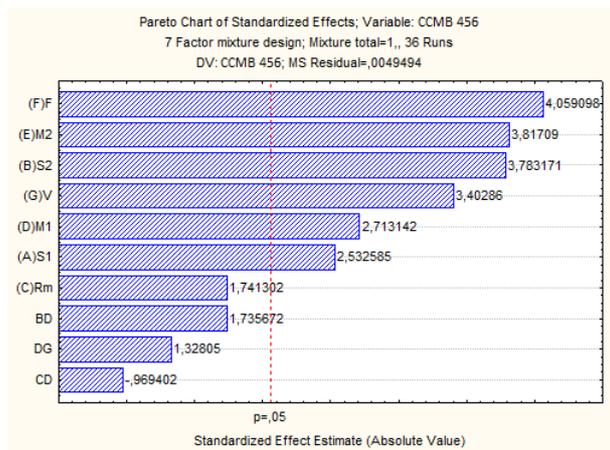


Gráfico 7. Diagrama de Pareto do ANOVA ajustada seguindo o modelo quadrático para o dia dez de crescimento do isolado CCMB 456

CAPÍTULO 3

Deposito da patente de invenção, intitulada “Micocompósitos De Resíduos Agrícolas Contendo Aditivos De Origem Mineral, Processo De Obtenção E Uso” com numero de processo BR 10 2020 013568 6 ante o Instituto Nacional de Propriedade Industrial, este deposito foi com apoio da Coordenadoria de Transferência e Inovação Tecnológica (CTIT)

DISCUSSÃO INTEGRADA

O desenvolvimento de micocompósitos tem surgido como uma proposta inovadora, que atende a questões de sustentabilidade e meio ambiente, principalmente no desenvolvimento de materiais com usos diversos nos setores industrial, seja como materiais de embalagem ou de isolamento acústico ou térmico (APPELS, FREEK V. W.; WÖSTEN, 2020; GIROMETTA *et al.*, 2019; JIANG *et al.*, 2017; MACARTHUR; WAUGHRAY; STUCHTEY, 2016).

Até o momento não foram estabelecidas normas específicas para a caracterização de materiais derivados de fungos, porém em alguns casos são utilizadas as normas existentes para materiais sintéticos, como a ASTM e a ISO, que juntamente com a descrição na publicação dos dados (de patentes), levaram a poucas comparações confiáveis devido à variação de métodos e ajustes padrão, no entanto, o uso destas normas como ponto de partida na busca de uma padronização é relevante (GIROMETTA *et al.*, 2019; HOLT *et al.*, 2012).

A produção de artigos científicos sobre materiais derivados de fungos é uma linha de pesquisa relativamente jovem. Estes biomateriais vem sendo explorados como filmes, micocompósitos e microfilamentos de quitina. No entanto surge a necessidade de organizar os termos e compreender a origem e constituição destes materiais como uma oportunidade para facilitar o estudo e desenvolvimento dos materiais derivados de fungos (KARANA *et al.*, 2018; GIROMETTA *et al.*, 2019; WÖSTEN, 2019; APPELS, FREEK V. W.; WÖSTEN, 2020; GANDIA *et al.*, 2021).

Para o desenvolvimento dos micocompósitos existem diversas variáveis, como a seleção do isolado fúngico, dos substratos e o uso de aditivos, que podem influenciar nas características mecânicas do produto final. No presente estudo os resíduos do processo de beneficiamento do sisal apresentaram os piores resultados, tanto individualmente como em misturas, quando comparados ao resíduo de dendê e ao farelo de arroz, com exceção do pó de batedeira de sisal que ainda pode ser utilizado em uma mistura, mas numa porcentagem baixa. O efeito negativo no crescimento dos isolados por resíduos do processo de beneficiamento do sisal pode ser atribuído à presença de saponinas, composto químico comum em sisal (SIDANA *et al.*, 2016). Segundo OSBOURNE e MORRISEY (1999), a atividade antifúngica das saponinas esteroidais é geralmente associada à formação de complexos com esteroides presentes na

membrana celular fúngica, alterando a sua permeabilidade e integridade (OSBOURNE; MORRISSEY JP, 1999) e, portanto, interferindo negativamente no desenvolvimento fúngico.

A amplitude da porcentagem de substrato que pode ser utilizada para o crescimento do isolado CCMB 601, variando do 0% a 50% de Pó de batedeira, é interessante para ensaios futuros de caracterização mecânica, uma vez que, segundo CALLISTER (2007) o tamanho da partícula utilizada e a porosidade entre a matriz (substrato) tem efeitos no teste de resistência a flexão, comumente utilizado para a caracterização de espumas como o poliestireno (CALLISTER; RETHWISCH, 2007)

O crescimento significativo dos isolados utilizados neste trabalho sobre resíduos de dendê confirma o observado por BARBOSA 2017, indicando que os resíduos do dendezeiro tem potencial para o crescimento de fungos basidiomicetos, variando segundo o tipo de fungo utilizado (BARBOSA; RODRIGUES; OLIVEIRA, 2017).

Isolados do gênero *Ganoderma*, tanto o isolado comercial utilizado como controle positivo (CCMB601), quanto os isolados de origem brasileira dos Biomas Amazônia e Mata Atlântica (DHCR 359, DHCR 379, CCMB 456), crescidos em resíduos de dendê e pó de batedeira de sisal, podem ser utilizados no desenvolvimento de micocompósitos. Além disso, o crescimento desses isolados agrega valor aos resíduos de dendê e ao pó de batedeira de sisal, até agora negligenciados e constituindo-se importantes passivos ambientais.

Os aditivos serpentinito, metaproxenito, filito, e rejeito de mineração tiveram um efeito significativo sobre o crescimento dos fungos utilizados, porém o aditivo filito teve o efeito significativo com a maior influencia para três dos quatro isolados avaliados. O filito teve baixo conteúdo de óxido de magnésio, cerca de 2%, quando comparado a uma media de 32% do mesmo óxido para os outros minerais. Além disso, apresentou alto conteúdo de Al_2O_3 , cerca de 37%, quando comparado a uma media de 1,25% para os demais minerais. No entanto é necessária a procura de mais referencias bibliográficas, visando uma melhor compreensão do efeito ou relação de estes óxidos com o crescimento fúngico.

O maior adensamento observado em alguns ensaios evidencia provavelmente a assimilação da suplementação com os aditivos de origem mineral aqui utilizados, Segundo VALGINHAK (2018), o adensamento do micélio de fungos basidiomicetos como o *G. lucidum*, está diretamente relacionado com a utilização dos nutrientes do substrato, do aditivo e das características de crescimento do próprio isolado (VALGINHAK; DALLA SANTA, 2018), já que os fungos estão envolvidos em processos de dissolução de minerais (GADD, 2007).

Na análise termogravimétrica foram observados padrões de degradação semelhantes para os materiais que continham a mistura substrato - fungo, concomitantemente foi observado que os materiais que tinham como aditivo o filito em proporções de 2/1 (relação aditivo substrato) tinham um percentual de perda de massa menor que o resto dos materiais, o que poderia significar uma proteção à queima, impactando a estabilidade térmica dos materiais. Foi observado que a maior adição seja de rejeito ou de filito, menor o percentual de perda de massa, portanto estudos posteriores para compreender esta característica pode resultar interessante para exploração destes materiais com aplicações de resistência a ignição.

Na literatura existe uma grande discussão com relação ao erro significativo que pode se apresentar nas análises termogravimétrica em vista da heterogeneidade do crescimento do fungo no substrato e da pequena quantidade de massa coletada para fazer as análises, pelo qual se sugere uma análise separada dos componentes (GIROMETTA *et al.*, 2019). O anterior pode ser superado com uma homogeneização de quantidades maiores de massa usando o equipamento FastPrep, equipamento comumente utilizado para provocar a lise mecânica de material biológico.

Fazendo uma correlação entre os dados obtidos na análise da densidade e a carga suportada pelos materiais derivados de micélio, foi corroborado que ao se aumentar a densidade do material se aumenta a resistência, isto foi comprovado pelo uso de aditivos como modificadores destes comportamentos mecânicos (APPELS, FREEK V. W.; WÖSTEN, 2020). Por outro lado os micocompósitos desenvolvidos neste trabalho tem valores de resistência à compressão competitivos com materiais de poliestireno que apresentam resistência entre 20 kPa e 700 kPa (GIROMETTA *et al.*, 2019).

Na observação macroscópica dos protótipos produzidos para a realização do teste de compressão e de flexão foi observada uma alta variação na geometria entre replicas de um mesmo grupo amostral, esta variação precisa ser corrigida uma vez que os protótipos apresentaram uma irregularidade superficial muito alta, com deformações em alguns locais que obstruíam o transcurso dos ensaios, por tanto precisa se ter um maior controle da geometria da estrutura para estudo posteriores.

CONCLUSÃO

A revisão prévia da literatura permitiu uma compreensão global sobre os materiais derivados de micélio fúngico, a compreensão sobre os termos usados de acordo com cada tipo de material, o que é necessário para se unificar a nomenclatura em relação aos biomateriais e ampliar o alcance das informações, além de tornar possível detectar as aplicações dos materiais e as melhoras que podem ser propostas na área em relação aos processos biotecnológicos associados à produção dos micocompósitos.

O melhor substrato e mistura de substratos que propiciaram o melhor desenvolvimento micelial dos isolados do fungo *Ganoderma* CCMB 601, DHCR 359 e DHCR 379 foi 75% de resíduo de dendê + 25% de pó de batedeira (sisal). Para o isolado CCMB 456, o melhor foi 100% de resíduo de dendê. A seleção desses substratos (e mistura de substratos) foi baseada na análise do efeito significativo no crescimento dos fungos. A linhagem CCMB 601 suportou maior adição de pó de batedeira (sisal) após 4 dias de crescimento. No entanto, não há diferença entre meios contendo 100% de resíduo de dendê e meios contendo até 25% de pó de batedeira (sisal) com 75% de dendê. Após 8 dias de crescimento o CCMB601 foi o único isolado que permitiu maior adição de pó de batedeira (sisal) em até 50% sem diferença no crescimento. Para todas as linhagens, a adição de resíduos sólidos de sisal ou de bucha de sisal, em qualquer proporção, influenciou negativamente o crescimento ao longo do tempo.

Todos os minerais adicionados individualmente influenciaram no crescimento do fungo, destacando-se o filito, com composição superior de óxido de magnésio e inferior de óxido de alumínio quando comparado aos demais minerais, foi o aditivo mineral que apresentou o maior efeito no crescimento para a maioria dos isolados do gênero *Ganoderma* aqui utilizados.

O rejeito de mineração pode ser utilizado como aditivo para o crescimento dos isolados fúngicos aqui avaliados, o que permitiria uma agregação de valor para este passivo ambiental. Foi constatado que a adição de minerais ao micocompósito acarreta em variações de propriedades mecânicas. Nesse sentido, o filito altera a densidade e a resistência à compressão do material, observando-se um aumento de ambas as características ao aumentar o uso do aditivo. O uso de aditivos minerais confere uma variabilidade na aplicação dos micocompósitos, já que o aditivamento interfere no comportamento mecânico dos mesmos, variando desde matérias flexíveis sem aditivo para materiais menos flexíveis porém mais resistentes a cargas superiores de peso quando usados os aditivos.

PERSPECTIVAS

- Diante dos resultados descritos neste trabalho, pretendemos expandir a análise de caracterização dos materiais superando os desafios interpostos pela produção de corpos de prova irregulares e ensaios de caracterização mecânica limitados. Esta etapa já está em andamento pela criação da Gluon Bio, uma Startup que nasce no LBMCF e que esta em fase de testes mediante parceria com NDA (Acordo de Confidencialidade) com o setor de desenvolvimento de novos materiais na Stellantis Stellantis - Fiat, Chrysler, Jeep, Renault. América Latina
- O sucesso e eficiência mecânica dos micocompósitos esta estabelecida pelo crescimento micelial como ente agregador dos componentes da matriz do compósito, na área da micologia se sabe que este crescimento pode ser manipulado pela otimização das condições físico-químicas, por tanto a sua verificação podem trazer grandes contribuições para o melhoramento do material.

ANEXOS

Anexo A - Resumos em anais de congressos (n= 2)

SIERRA, L. A. B.; OLIVEIRA, L. I. Q. ; SILVA, A. B. ; GOES-NETO, A. ; BADOTTI, F. . DESENVOLVENDO MICOCOMPÓSITOS: AVALIAÇÃO DO USO DE ADITIVOS DE ORIGEM MINERAL PARA O CRESCIMENTO DE FUNGOS DA FAMÍLIA GANODERMATACEAE. In: 1st International Congress on Science, Biodiversity and Sustainability, 2019, Belo Horizonte, MG. 1st International Congress on Science, Biodiversity and Sustainability, 2019.

SIERRA, L. A. B.; FERMINO, A. C. ; KOBLITZ, M. G. ; GOES NETO, A A STEP FOR THE DEVELOPMENT OF MYCOCOMPOSITES: EVALUATION OF THE USE OF SISAL AND AFRICAN OIL PALM WASTES, AS GROWTH SUBSTRATES FOR Ganodermataceae (FUNGI) OF BRAZILIAN ORIGIN. In: IV International Symposium on Microbiology and Biotechnology and II Brazilian Congress of Agricultural, Agricultural and Environmental Microbiology; November, 2018, in Viçosa, Minas Gerais State, Brazil.

Anexo B - Capítulos de livro publicado e aceitos para publicação (n=2)

SIERRA, L. A. B. Cuidados interculturais no parto e nascimento: saberes tradicionais e as políticas de saúde. PROENF-Saúde Materna e Neonatal; Artmed Panamericana Editora; 2019, Brasil. O Capítulo de livro já foi aceito e se encontra em processo editorial.

Paula Luize Camargos Fonseca, Thairine Mendes-Pereira, Luiz Marcelo Ribeiro Tomé, Felipe Ferreira da Silva, Gabriel Quintanilha-Peixoto, Daniel Silva Araújo, **Luz Alba Ballen Sierra** ...Eric Roberto Guimarães Rocha Aguiar & Aristóteles Góes-Neto. (2021). Microbial Consortia: Using Omics sciences for understanding the role of microorganisms and their potentialities in agriculture and environmental sustainability. In: Environmental and Agricultural Microbiology: Advances and Applications. 1ed. Wiley-Scrivener.

Anexo C – Patentes (n=1)

SIERRA, L. A. B.; GOES NETO, A. ; DOMENICO, O. R. ; BADOTTI, F. .
MICOCOMPÓSITOS DE RESÍDUOS AGRÍCOLAS CONTENDO ADITIVOS DE ORIGEM MINERAL, PROCESSO DE OBTENÇÃO E USO. 2020, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202001356, título: "MICOCOMPÓSITOS DE RESÍDUOS AGRÍCOLAS CONTENDO ADITIVOS DE ORIGEM MINERAL, PROCESSO DE OBTENÇÃO E USO", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 01/07/2020

Anexo D - Submissão de projetos (n=5)

- Em curso: (até dia 30) - GluonBio: biorevestimentos para a indústria automobilística"
- Edital Rota 2030 2/2022 Embrapii - Equipamentos de segurança veicular
- GluonBio: biorevestimentos para a indústria automotiva- protótipos em fase de testes mediante parceria com NDA (Acordo de Confidencialidade) com o setor de desenvolvimento de novos materiais na Stellantis Stellantis - Fiat, Chrysler, Jeep, Renault. América Latina
- Submissão do projeto intitulado "GluonBio: biorevestimentos para a indústria automobilística" Edital Sebrae Catalisa ICT - Planos de Inovação 2022
- Submissão do Projeto "Pitch GluonBio" para edital de aceleração de startups deep tech 2022. Promovido por Biotechtown - Hub de Biotecnologia e Ciências da Vida em Nova Lima - MG.
- Submissão do projeto intitulado; *“Novas tecnologias para o ressurgimento da arquitetura de terra tradicional: uso do rejeito de mineração associado a micocompósitos como uma oportunidade regional”* no ano 2019. Atendendo á Chamada Publica FAPEMIG 09/2018 - Pesquisa, Desenvolvimento E Inovação Para Recuperação Das Áreas Impactadas Pelo Rompimento Da Barragem De Fundão – Mariana – MG

Anexo E - Prêmios e títulos (n=1)

Um dos melhores trabalhos apresentados na sessão de pôsteres no 1st Congress on Science, Biodiversity and Sustainability, Universidade Federal de Minas Gerais, em Belo Horizonte, MG, Brasil. (2019).

Anexo F - Formação Complementar (n=7)

Nome do Curso	Ano
Extensão universitária em Curso de Extensão Universitária na modalidade de Difusão: Capacitação no Uso e manejo de animais de laboratório. (Carga horária: 60h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil.	2020
Biossegurança em Ambiente de Saúde. (Carga horária: 20h).	2019
Exame para obtenção do Certificado de Proficiência em Língua Portuguesa para Estrangeiros - Celpe-Bras	2019
Extensão universitária em Coleta e Identificação de Fungos Poliporoides. (Carga horária: 25h). Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil.	2018
IX Percurso Formativo em Docência do Ensino Superior. (Carga horária: 60h). Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil.	2018
Mushroom Production In Agroidustrial Wastes. (Carga horária: 8h). Universidade Federal de Viçosa, UFV, Brasil.	2018
Curso Geral De Propriedade Intelectual À Distância. (Carga horária: 75h). Instituto Nacional da Propriedade Industrial, INPI, Brasil.	2016

Anexo G - Participação em bancas de trabalhos de conclusão - Trabalhos de conclusão de curso de graduação (n=2)

Trabalho de participação	Ano
VAZ, A. B. M.; <u>SIERRA, L. A. B.</u> ; FONSECA, P. L. C.. Participação em banca de Brenda Luana Cassimiro Alves Pinto. Ação do cogumelo <i>Agaricus blazei</i> no tratamento e prevenção do câncer. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Faculdade de Minas.	2017
VAZ, A. B. M.; <u>SIERRA, L. A. B.</u> ; FONSECA, P. L. C.. Participação em banca de Mariana Martins Marcílio; Aline Aparecida da Silva. Automedicação: A resistência bacteriana pelo	2017

uso indiscriminado de antibióticos. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Faculdade de Minas.

Anexo H - Participação em eventos (n=14)

Nome do evento	Ano
IV Workshop de Tecnologias Limpas. “PRODUÇÃO DE BIOMATERIAIS USANDO MICÉLIO FÚNGICO E RESÍDUO AGRÍCOLA” Apresentado no formato Painel Virtual. <u>Atuação como apresentadora</u>	2021
1st International Congress on Science, Biodiversity and Sustainability. Desenvolvendo Micocompósitos: Avaliação Do Uso De Aditivos De Origem Mineral Para O Crescimento De Fungos Da Família Ganodermataceae. Belo Horizonte, MG. (Congresso). <u>Atuação como apresentadora de pôster e participante</u>	2019
Jornada de Internacionalização do Programa de Bacteriologia y Laboratorio Clínico UCMC. Bogotá Colômbia. Estudios Multidimensionales en Micología. <u>Atuação como apresentadora</u>	2019
Explora UFMG Jovem, durante a 20ª UFMG Jovem. “O maravilhoso mundo do fungos heróis e vilões”. <u>Atuação como apresentadora</u>	2019
XXII Semana da Biologia “ Fungi- Omicas um estudo abrangente do mundo dos fungos” Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Atuação como Conferencista	2018
II congresso internacional Paulo Freire “O legado global”, Universidade Federal de Minas Gerais. <u>Atuação como monitora</u>	2018
IV Simpósio Internacional de Microbiologia e Biotecnologia II Congresso Brasileiro de Microbiologia Agropecuária, Agrícola e Ambiental. A Step For The Development Of Mycocomposites: Evaluation Of The Use Of Sisal And African Oil Palm Wastes, As Growth Substrates For Ganodermataceae (Fungi) Of Brazilian	2018

-
- Origin. 2018. (Congresso). Atuação como apresentadora de pôster e participante
- Mesa redonda, Febre Amarela: desafios presentes. 2018. 2018
(Outra). Atuação como ouvinte
- Redação de Patentes, Além dos Guias. 2018. (Oficina). Atuação como ouvinte 2018
- Técnicas de NGS, principais aplicações e tendências. 2018. 2018
(Palestra). Atuação como ouvinte
- V SIMPÓSIO DE MICROBIOLOGIA DA UFMG PROFESSOR EDUARDO OSÓRIO CISALPINO: Desafios Atuais no Enfrentamento de Doenças Microbianas; Diversidade De Fungos Poliporóides (Basidiomicetos) Da Trilha Da Borboleta Da Estação Ecológica Da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. 2018.
Atuação na organização e como participante
- III Mostra Interativa do 3 Encontro de Ciência Cultura e Arte do ICB. Desde a coleta até o produto. 2017. Atuação como apresentadora de pôster e organizadora 2017
- Conferência Internacional Sul- Americana: Territorialidades e Humanidades; Mesa redonda intitulada “*América Latina e educação: Saberes, inclusão e resistência?. 2016*”. Atuação na Composição da mesa. 2016
- Seminário de Internacionalização da UFMG "Tendencias e desafio no ensino superior: BRICS e america latina ". 2016. (Seminário). 2016
-

Anexo I - Outros (n=1)

Atuação como Bolsista no eixo ciências da vida e da natureza, junto ao curso de Formação Intercultural de Educadores Indígenas FIEI, que faz parte da Faculdade de Educação da Universidade Federal de Minas Gerais.