UNIVERSIDAD TÉCNICA DEFERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERIA EN DISEÑO
VALPARAÓSO - CHILE

DISEÑO DE METODOLOGÍA PARA EL DESARROLLO DE BIOMATERIAL DE MICELIO Y SUSTRATO RECICLADO

- GREGORIO YÉVENES RUZ -

MEMORIA DE TITULACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO EN DISEÑO DE PRODUCTOS

- ROBERTO DÚRAN –

SEPTIEMBRE 2022

AGRADECIMIENTOS |

Se agradece cordialmente al profesor **Rodrigo Durán** por su apoyo, buena voluntad y disposición en este proyecto.

A mi familia por el apoyo y contención brindados desde la distancia y principalmente a **Constanza Jachura** que me acompaño a lo largo de todo este proceso.

¡Muchas gracias de verdad!

RESUMEN

El desarrollo de un material es un proceso complejo, lleno de contrariedades y obstáculos en el camino, debido a que, las variables productivas, es decir, las materias primas y los procesos utilizados en su producción tienen un impacto medible en las propiedades físicas del material fabricado, lo que implica que para alcanzar unas propiedades especificas o similares a las esperadas se debe encontrar el equilibrio ideal entre estas variables.

Esta tarea se complejiza aún más cuando se trata de biomateriales, ya que sus materias primas son de origen biológico y requieren de cuidados y manejos especiales.

Por este motivo, el autor se propone diseñar una metodología que permita a sus lectores medir el impacto de cada variable productiva, para poder calibrarlas y obtener los biomateriales deseados.

Con base a lo anterior, este trabajo establece las bases para el desarrollo de biomateriales sustentables, específicamente a base de micelio y sustratos reciclados o reutilizados, más específicamente, presenta el desarrollo y propuestas de una metodología completa y detallada para el desarrollo de biomateriales en base a micelio y sustratos reciclados; la

metodología propuesta se compone de 3 partes principales: proceso productivo, estaciones de trabajo para la producción y metodología para la experimentación y evaluación del material.

En conjunto con lo anterior se realizó un grupo de experimentos prácticos, en donde se fabricaron probetas de biomaterial, las cuales fueron sometidas al proceso de evaluación propuesto para estudiar su viabilidad y validar del método.

Para los experimentos se utilizó cartón (de cajas de huevo) como sustrato reciclado y 2 variaciones de micelio, Pleurotos Ostreatus (Gris y Floral).
En este informe se presenta una descripción completa y grafica del método de producción propuesto, sus respectivas subestaciones de trabajo y la metodología de experimentación (DOE), así como también los resultados del estudio de validación y sus respectivas conclusiones.

ABSTRACT |

The development of a material is a complex process, full of setbacks and obstacles along the way, because the productive variables, that is, the raw materials and the processes used in its production have a measurable impact on the physical properties of the material. manufactured, which implies that to achieve specific properties or similar to those expected, the ideal balance between these variables must be found.

This task becomes even more complex when it comes to biomaterials, since their raw materials are of biological origin and require special care and handling.

For this reason, the author proposes to design a methodology that allows his readers to measure the impact of each productive variable, in order to calibrate them and obtain the desired biomaterials.

Based on the above, this work establishes the bases for the development of sustainable biomaterials, specifically based on mycelium and recycled or reused substrates, more specifically, it presents the development and proposals of a complete and detailed methodology for the development of biomaterials based on to mycelium and recycled substrates; The proposed methodology is made up of 3 main parts: production

process, production workstations and methodology for experimentation and evaluation of the material.

In conjunction with the above, a group of practical experiments was carried out, where biomaterial test tubes were manufactured, which were subjected to the proposed evaluation process to study their viability and validate the method.

For the experiments, cardboard (from egg boxes) was used as recycled substrate and 2 variations of mycelium, Pleurotos Ostreatus (Grey and Floral).
This report presents a complete and graphic description of the proposed production method, its respective work substations and the experimentation methodology (DOE), as well as the results of the validation study and its respective conclusions.

INDICE |

AGRADECIMIENTOS | 2

RESUMEN | 3

ABSTRACT | 5

OBJETIVOS | 9

Objetivo Principal 12

Objetivos secundarios 12

CONTEXTO | 13

ESTADO DEL ARTE | 15

CAPITULO 1: METODOLOGIA PARA EL DESARROLLO DE BIOMATERIALES DE MICELIO Y SUSTRATOS RECICLADOS 25

INTRODUCCIÓN | 21

Proceso Productivo 22

Estación Productiva 23

Método de Experimentación 23

Validación Practica 23

TRABAJO PREVIO 27

Conociendo el material y sus procesos 27

Diseño de molde para micotectura 29

METODOLOGÍA I: PROCESO PRODUCTIVO DE MBF 36

OBEJTIVOS 36

INTRODUCCIÓN 37

Procesos A: Preparación de materias primas 37

Proceso B: Moldaje y prensado del MBF 41

Proceso C: Evaluación y compostaje 46

METODOLOGÍA II: DISEÑO DE ESTACIÓN PARA EL DESARROLLO DE MBF 49

Subestaciones A: preparación de materias primas 49

Subestaciones B: Moldaje y prensado del MBF 51

Subestaciones C: Evaluación y compostaje 52

METODOLOGÍA III: EXPERIMENTACIÓN Y EVALUACIÓN DE MBF 54

Método DOE: Design Of Experiment 55

Ensayos y sistema de medidas 61

Diseño de las maquinas 66

Flexión y Compresión 66

Tracción 67

Diseño del Experimento 69

CAPÍTULO 2: VALIDACIÓN DEL MÉTODO 74

INTRODUCCIÓN 76

DISEÑO DE LOS EXPERIMENTOS 77

EXP 1 77

EXP 2 81

Replicas experimento 84

RESULTADOS DE LOS EXPERIMENTOS: 85

EXPERIMENTO 1 – 1 Replica 85

EXPERIMENTO 2 – 3 Replicas 87

CONCLUSIONES 95

Anexos 98

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Proceso de Micotectura Circular - ©MOGU, https://mogu.bio/ 16
Figura 2 - Proceso de Micotectura - Kshitij Joshi y Otros 16
Figura 3 - Proceso de Micotectura - Ecoactive Design. 17
Figura 4 - Interior de incubadora cacera - Frascos inoculados y primeros moldes. (Elaboración propia) .. 28
Figura 5 - 1ra Plancha de MBF – Primer intento de desactivación en horno de cocina eléctrico. (Elaboración propia) 28
Figura 6 - 1ra Plancha MBF contaminada. (Elaboración propia) 29
Figura 7 - 1ra Plancha MBF contaminada - Vista detalle. (Elaboración propia) 29
Figura 8 - Molde 01 primera plancha MBF 31
Figura 9 - Detalle 1ra Plancha de MBF en Molde 01 ... 32
Figura 10 - Molde 2.0 - Ensamble Explosión 33
Figura 11 - Molde 2.0 - Ejemplo de apilado 33
Figura 12 - Primeras Planchas MBF - Moldes 2.0 33
Figura 13 - Cerrado de molde 3.0 - Vista diagonal con perspectiva 34
Figura 14 - Apilado de moldes, funcionamiento de las tapas - vista frontal con perspectiva 34
Figura 15 - Moldes 3.0, sistema de apilado, sin tapas - vista diagonal con perspectiva 35
Figura 16 – Moldes 3.0, sistema de apilado- vista frontal con perspectiva 35
Figura 17 - Estaciones y Proceso Productivo condensados 36
Figura 18 - Ejemplo de Diagrama de Pareto - Propiedad de MiniTab, web de ayuda 59
Figura 19 - Grafico de efectos principales - Propiedad de MiniTab, web de ayuda 59
Figura 20 - Grafico de efectos de interacciones - elaboración propia con MiniTab 60
Figura 21 - Grafico de Cubo - 3 Variables - elaboración propia con MiniTab 61
Figura 22 - Glosario: síntesis de funcionamiento ensayos caseros 63
Figura 23- Síntesis de funcionamiento ensayo de flexión - elaboración propia 63
Figura 24 - Síntesis de funcionamiento ensayo de Compresión - Elavoración propia 64
Figura 25 - Sintesis ensayo de tracción 65
Figura 26 - Detalle ruedas para el riel 66
Figura 27 - diseño 3d de máquina de Flexión y compresión 66
Figura 28- Ensayo de Flexión vista frontal 67
Figura 29 - ensayo flexión, muestra de control 67
Figura 30 - Ensayo Flexión - vista diagonal 67
Figura 31 - Ensayo Compresión - Vista frontalTracción 67

Figura 32 - Maquina tracción, luego del primer ensayo 68
Figura 33 - Comparación de rellenos Factor A - Vista en corte de un molde de doble cavidad 79
Figura 34 - Comparativa pares Isotrópicos y Anisotrópicos.....88
Figura 35 - Grafico de Pareto - Experimento 2 FLX - efectos estandarizados - 3 Rep.....90
Figura 36 - Grafico de efectos principales - Experimento 2 FLX - efectos estandarizados - 3 Rep.....90
Figura 37 - Gráfico de Cubo (medias ajustadas) - EXP 2 - FLX.....91
Figura 38 - Grafico de pareto - Experimento 2 TRC - efectos estandarizados - 3 rep 92
Figura 39 - Grafico de efectos principales - Experimento 2 TRC - efectos estandarizados - 3 rep.....92
Figura 40 -Gráfico de Cubo (medias ajustadas) - EXP 2 - TRC 93
Figura 41 - Grafico de Pareto - Experimento 2 |Dc| - efectos estandarizados - 3 rep 94
Figura 42 - Grafico de efectos principales - Experimento 2 |Dc| - efectos estandarizados - 3 rep 94
Figura 43 - Gráfico de Cubo (medias ajustadas) - EXP 2 - |Dc|.....94

INDICE DE TABLAS

Tabla 1- Protocolo de secado y absorción de agua en muestras secas. Punto y coma (;) indica pasos sucesivos dentro del mismo tratamiento - Gorobeta C y compañía. 20
Tabla 2 - Ejemplo de Experimento DOE factorial (2^3=8) 56
Tabla 3 - Experiencia 1: Probetas de Ensayo Floral y Gris 80
Tabla 4 - Cronograma experiencia 1 80
Tabla 5 - Experimento 2: Probetas de Ensayo Floral y Gris 83
Tabla 6 - Cronograma Exp 2 83
Tabla 7 - Resumen de resultados Exp 1 85
Tabla 8 - Resultados de PES, frente ensayos caceros .. 86
Tabla 9 - Resumen del diseño factorial Exp 2 89

OBJETIVOS

Objetivo Principal

Diseñar una metodología para el desarrollo de biomaterial de micelio y sustratos reciclados.

Objetivos secundarios

I. Identificar y clasificar los procesos y condiciones de **fabricación de un biomaterial a base de micelio**.

II. Diseñar una **estación de fabricación de biomateriales** a base de micelio que cumplan con las **condiciones de fabricación/producción.**

III. Establecer un **método de experimentación** para el biomaterial a base de micelio, considerando las **variables productivas y compositivas** del biomaterial en su **desempeño físico-mecánico.**

IV. **Evaluar el método de experimentación** del biomaterial por medio de una **experiencia práctica.**

CONTEXTO

Este proyecto de título se sustenta en 3 ejes principales que motivan la investigación, el factor ecológico, el emprendedor y el académico.

El factor ecológico es uno de los principales motores de esta investigación, ya que se busca potencias y favorecer el desarrollo y estudio de nuevos tipos biomateriales, que pueda remplazar el plástico en muchos de sus formatos y usos, esto debido al gran impacto que tienen los productos plásticos en el medio ambiente; principalmente en aquellos plásticos de 1 solo uso que representan alrededor de un 30% del total de plásticos producidos generando, con una vida útil que no representa ni un 1% del tiempo de su vida total, generando una contaminación prácticamente irreversible en de hábitat y ecosistemas de todo el planeta.

Por otro lado, se encuentra el factor emprendedor, muy ligado a la problemática de los plásticos de un solo uso, se encontró una oportunidad de mercado relacionada a los biomateriales como remplazo del plástico, en este contexto el autor junto a un grupo de compañeros de la universidad Santa María, crearon un equipo de trabajo llamado AMET, con el cual se postuló al Semillero 2020, concurso que fue adjudicado por el equipo con una propuesta de envases de un solo uso a base de micotectura (técnica de fabricación de biomaterial con micelio).

Esta instancia permitió al equipo y al autor a implicarse en el mundo fungí y principalmente a la micotectura, técnica mediante la cual se generar biomateriales a partir de hongos y material de sustrato biológico.
Si bien el emprendimiento no se pudo llevar a cabo por las condiciones de la pandemia, si se pudo hacer avances en la comprensión del material MBF (Espumas de Base de Micelio) y su producción.
En cuanto a lo académico, el proyecto anterior (semillero USM 2020) nos abrió la puerta a postular a un fondo de desarrollo institucional (FDI) de la USM, donde se hizo mayor foco a la investigación y la generación de contenido, charlas y cursos respecto a la micología y micotectura, además de proponer la producción de bloques de micotectura como remplazo de plumavit (PES) en los talleres de IDP y Arquitectura, siendo estas 2 carreas en la universidad las que más consumen este tipo de material.

Estas 3 razones son los pilares que motivan esta investigación, siendo este proyecto de título el primer cimiento sobre el cual se podrán edificar el futuro de la “mycoingenieria” (nombre del proyecto FDI).

ESTADO DEL ARTE

La Micotectura en una técnica ecológica para la fabricación de volúmenes a partir del micelio de hongos y la revalorización de residuos orgánicos, los cuales sirven de alimento y soporte para el micelio que aglutina todo el material orgánico, o sustrato en un solo volumen sólido de biomaterial sostenible y biodegradable.

Diversos autores han coincidido en nombrar a estos materiales de base biológica y micelio como Espumas en Base de Micelio o MBF por sus siglas en inglés (Mycelium-Based Foam).
A pesar de que la "espuma sólida" suele ser el resultado de la dispersión de burbujas de gas en una matriz sólida. Los compuestos a base de micelio no encajan exactamente en tal definición, pero, a pesar de esto, a menudo se colocan en la categoría de espuma debido a su alta porosidad y ligera rigidez. (Girometta, y otros, 2019).
Junto a los MBF existen los compuestos Sándwich a base de micelio o MBSC (Mycelium-Based Sándwich Composite en ingles) que son como su nombre lo indica materiales compuesto por un interior de MBF y cubiertas por 2 “tapas del sándwich” de otro material (idealmente biodegradable y ecológico) que mejora las propiedades físicas y mecánicas del compuesto de micelio y sustrato.

La variedad de métodos en el proceso productivo de los bio-compuestos fúngicos se basa básicamente en la colonización de un sustrato que se configura de forma simultánea o posterior al crecimiento micelial.

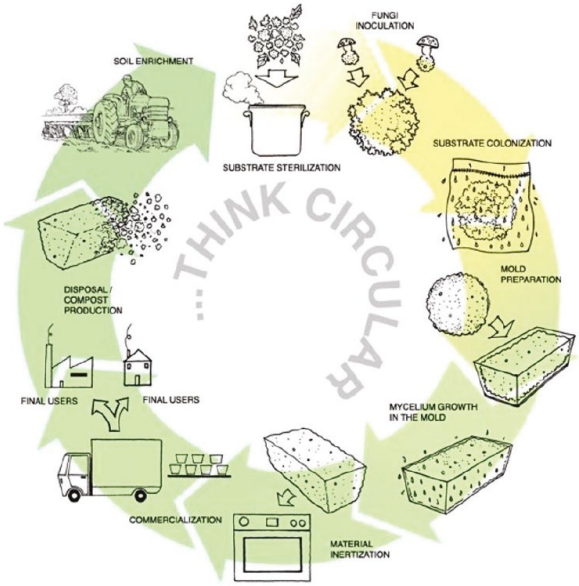


Figura 1 - Proceso de Micotectura Circular - ©MOGU, https://mogu.bio/

Una vez realizada la colonización, el material bio-compuesto es secado y/o prensado con diferentes protocolos de presión y temperatura, como se muestra en la *Figura 1* (Girometta, y otros, 2019)

Para esta investigación se tomaran como referentes en el proceso de fabricación de la investigación de Kshitij Joshi y compañía, los procesos descritos por Ecoactive Design, para.y el trabajo publicado en la revista Materials & Design, de Freek V.W. Appels y compañía, para generar un proceso acorde a capacidades y necesidades de la investigación.

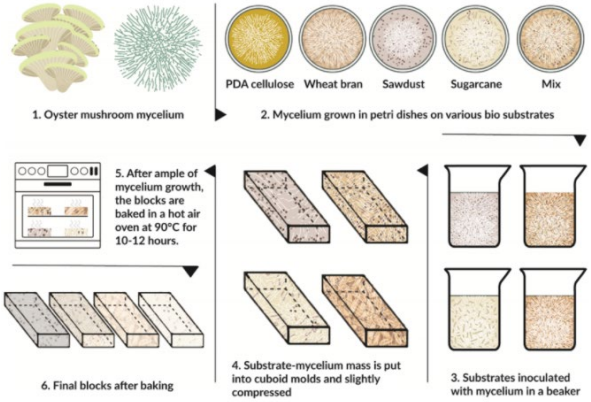


Figura 2 - Proceso de Micotectura - Kshitij Joshi y Otros

El proceso de Kshitij Joshi y compañia que se observa en la *Figura 2* es el siguiente: (Kshitij Joshi, 2020)

1. Los biosustratos cortados y secos se llenan por separado en vasos de precipitados de 250 ml de volumen.
2. Se añade agua Milli-Q hasta que los sustratos están completamente húmedos.
3. Estos sustratos se esterilizan en autoclave a 121 [°C] durante 20 min; después de lo cual,
4. los vasos de precipitados se inocularon con micelio completamente desarrollado en placas de Petri.

5. Los vasos precipitados inoculados se mantienen luego en la habitación oscura a 25 [°C] durante aproximadamente 2 semanas hasta que el micelio colonizé los sustratos completamente.
6. La masa de sustrato de micelio crecido se introduce, luego en un molde de bloques de madera (8 cm x 5,5 cm x 3 cm) y se comprime firmemente con un peso de 10 [kg] durante siete días. El volumen final se reduce en ~ 50%.
7. Se retira el molde del bloque de madera
8. El bloque de micelio crecido se mantiene para el crecimiento superficial del micelio en una caja estéril durante otra semana.
9. Posteriormente, los bio-bloques de micelio se hornearon en un horno de aire caliente a 90 [°C] durante 12 [hrs].

Por otro lado el proceso de Ecoactive que se describe en la *Figura 3* es el siguiente: (Ecovative Design, 2021)

1. Nuestros diseñadores generan un modelo 3D de su inserto de empaque Mushroom® y enrutan un positivo de tamaño real utilizando una máquina CNC.
2. Termoformamos lo positivo para hacer bandejas de crecimiento de PET, que se reutilizan cientos de veces y son reciclables. Las bandejas se llenan con MycoComposite ™, una mezcla de cáñamo hurds y micelio y se deja crecer durante 4 días.
3. Después de 4 días, las partes del empaque se sacan de la bandeja y se dejan crecer durante otros 2 días, lo que crea una capa aterciopelada de crecimiento excesivo.
4. Por último, las piezas se secan para desactivar el crecimiento futuro. El empaque de Mushroom® está listo para proteger su producto en el envío.

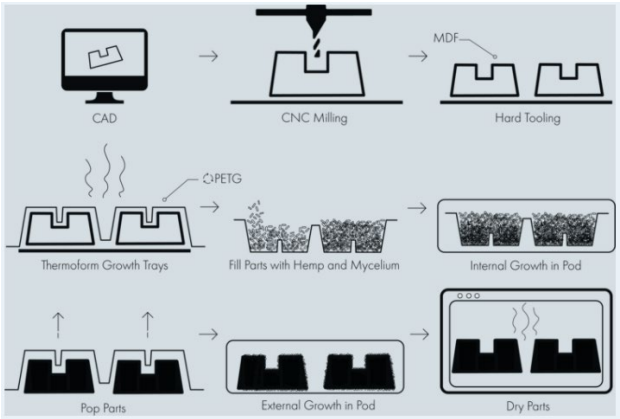


Figura 3 - Proceso de Micotectura - Ecoactive Design

Normalmente estas técnicas de micotectura son usadas en la fabricación de packaging sustentables, revestimientos y hasta decoraciones o arte urbano. (Ecovative Design, 2021) (MOGU, 2021) así como en investigación académica.

Freek V.W. Appels y compañía, profundizan aun mas en el proceso descrito, además de aclarar las medidas para el peso, temperatura y tiempo del secado por prensado, su proceso es el siguiente: (Freek V.W. Appels, 2019)

1. Los moldes de plástico termoformado (34 × 34 × 4 cm, PET-G) se llenaron con sustrato pre-cultivado.
2. El material se prensó a mano para distribuir el sustrato lo más uniformemente posible y se cubrió con papel de celofán perforado (0,35 µm, PPI comercial estándar).
3. Se permitió que el hongo creciera aún más a 25°C durante 14 días en la oscuridad.
4. Para lograr una colonización homogénea en ambos lados, las placas se desmoldaron y se mantuvieron en las mismas condiciones durante 10 días más en orientación opuesta para extender el crecimiento en el lado que estaba previamente en contacto con el moho.
5. El prensado en caliente (150 °C) o en frío (20 °C) se realizó con una prensa multiplaca mecánica con certificación CE (Vigevano, Italia) durante 20 min a F<30 kN.
6. Los materiales expuestos al prensado térmico se enfriaron a temperatura ambiente, mientras que los materiales no prensados o prensados en frío se secaron en condiciones ambientales durante 24 a 48 horas.

Para este proyecto se presenta el diseño de una metodología completa que permita facilitar la investigación y desarrollo de este tipo de material, utilizando micelio de hongo de fácil acceso y material de residuos orgánicos reciclado con las características necesarias para servir de sustrato para el crecimiento del micelio, se espera que mediante el método propuesto el o los investigadores puedan fabricar el material con las propiedades mas adecuadas para las necesidades que se busca resolver

Los MBF poseen propiedades mecánicas y físicas que le permiten competir con el EPS en algunas de sus principales aplicaciones, como embalaje, packaging y aislamiento, superándole ampliamente en sustentabilidad al tener un impacto mucho menor en su producción con una vida útil más acorde con su uso, debido a que los MBF son biodegradables y comportables a diferencias de los productos petroquímicos como el EPS. (Girometta, y otros, 2019)

Siempre que los BMF sean fabricados con sustratos de origen natural y no se le añadan ni pegamento, barniz ni revestimiento persistentes (especialmente en MBSC), estos serán totalmente biodegradables, aunque se espera que este

tratamiento mejore significativamente las propiedades físicas y mecánicas [105]

Otra ventaja de los MBF es que pueden mostrar una enorme variabilidad en función de:

- Especies y cepas de hongos
- Composición y estructura del sustrato
- Condiciones de incubación.

Por ejemplo, en 2020 Kshitij Joshi y compañía tuvieron muy buenos resultados con sus bio-bloques, demostrando una excelente estabilidad térmica, propiedades hidrofóbicas y resistencia mecánica, además la resistencia a la compresión de estos bio-bloques fue de aproximadamente 6.0−7.5 [N/mm^2], que es 5 a 6 veces más alto que el material de embalaje de poliestireno utilizado habitualmente. (Kshitij Joshi, 2020).

Por otro lado, la revisión de Girometta y compañia, concluye que los bio-compuestos a base de micelio presentan baja densidad y buenas propiedades de aislamiento, tanto en aspectos acústicos como térmicos. Las propiedades mecánicas son aparentemente inferiores en comparación con el poliestireno expandido (EPS), que es el principal competidor sintético. (Girometta, y otros, 2019).

Estas propiedades de los bio bloques los hacen aptos para reemplazar a los materiales no biodegradables que se usan comúnmente en aplicaciones de embalaje, paneles de pared y (filtración de desechos tóxicos?).

Para este trabajo de Tesis se definieron 3 propiedades físico mecánicas principales que serán el eje conductor del desarrollo tecnológico y académico, estas son:

a) Resistencia a la flexión
b) Compresibilidad
c) Resistencia a la tracción

Cabe aclarar que decide a tomar en cuenta el parámetro de resistencia a la flexión, a pesar de ser comúnmente usado en materiales rígidos como cerámicos, por ser una de las fuerzas a las que este material más podría ser sometido en instancias de embalaje, maquetación o construcción. también se tendrán en cuenta los siguientes aspectos respecto a este parámetro descritos por Solomon, Vinoth, Sudhakar, & Hemalatha:

a) La resistencia a la flexión disminuye al aumentar el tamaño de la muestra y, en consecuencia, la probabilidad de grietas.
b) Los valores atribuidos a la resistencia a la flexión son más altos que los valores correspondientes de la resistencia a la tracción porque solo una fracción del volumen de la muestra está sujeta a tensión de tracción cuando se realiza una prueba de flexión.
c) La porosidad contribuye en gran medida a una menor resistencia a la flexión, principalmente

porque la carga se aplica en un área de sección transversal más pequeña.

En cuanto a los otros 2 parámetros se escogen por ser vitales en el desempeño de los futuros productos de MBF, principalmente el de compresibilidad o la capacidad de carga que es la característica física más crucial que se necesita para que un material se utilice para embalaje u otras aplicaciones sostenibles.

Para tener una mejore referencia sobre las propiedades mecánicas de los bio-compuestos de micelio se usará la *Tabla 1* realizada por Girometta C, Picco A. y compañía en su trabajo de revisión micológica.

Density ($g\ cm^{-3}$)	Thermal Conductivity ($W\ m^{-1}K^{-1}$)	Young's Modulus (MPa)	Compressive Strength (kPa)	Flexure Strength (kPa)	Tensile Strength (kPa)	Material	Ref.
0.183 ± 15.1	-	-	41.72 ± 13.49	10.91 ± 4.41	49.90 ± 20.00	MBF	[24]
0.25	-	-	-	-	-	MBF	[34]
0.05–0.06	0.078–0.081	-	-	-	-	MBF	[35]
0.10–0.14	-	66.14–71.77	670–1180	-	100–200	MBSC	[37]
0.16–0.28	-	-	-	-	-	MBF	[39]
0.07–0.22	0.10–0.18	123–675 *	1–72 *	7–26 *	-	MBF	[40]
0.10–0.24	-	2–97	-	50–860	10–240	MBF	[18]
0.16–0.28	0.05–0.07	5.39–58.63	29–567	-	-	MBF	[41]
-	4.27–8.35	-	-	-	-	Other	[42]
0.3–0.55	-	-	-	-	-	MBF	[43]
0.19–0.59	-	-	-	-	-	MBF	[44]
0.29–0.35	-	-	156–340	-	-	MBF	[45]
0.29–0.34	-	-	125–311	-	-	MBSC	[45]

* Values are not comparable with literature as normalized by the authors to a standard polystyrene density.

Tabla 1- Protocolo de secado y absorción de agua en muestras secas. Punto y coma (;) indica pasos sucesivos dentro del mismo tratamiento - Gorobeta C y compañía.

I. INTRODUCCION

INTRODUCCIÓN

En esta memoria, se presenta el desarrollo y propuestas de una metodología completa y detallada para el desarrollo de Espumas en Base de Micelio o MBF por sus siglas en inglés “Mycelium-Based Foam”, es decir, biomaterial de micelio y sustratos reciclados.

La metodología propuesta se compone de 3 partes principales:

I. **Proceso Productivo**
II. **Estación Productiva**
III. **Método de Experimentación**

Proceso Productivo

Luego de investigar y probar los procesos encontrados en la literatura y otros medios de información, se estableció un proceso productivo estándar para la producción de MBF, el cual, sirve de base para comenzar a trabajar en el desarrollo de biomateriales de micelio y sustrato reciclado; este proceso se compone de 2 etapas de producción y otra de evaluación:

A. **Preparación de Materias Primas**
B. **Fabricación del Biomaterial**
C. **Evaluación y Compostaje del Material**

Al mismo tiempo, cada una de estas etapas se compone de sus propios subprocesos que en conjunto permiten la elaboración, desarrollo y

evaluación de muestras del material en forma de probetas.

Propiedades Físicas y mecánicas del MBF

Dentro de las primeras 2 etapas (A y B) podemos encontrar múltiples variables que pueden afectar, en mayor o menor medida las propiedades físico-mecánicas del MBF, desde las diferentes materias primas utilizadas (micelio y/o sustrato) como las magnitudes utilizadas en los diferentes procesos y subprocesos, como por ejemplo el tiempo de moldaje, temperatura de secado, fuerza del prensado, entre otras.

El método propuesto tiene en consideración este problema, permitiendo ajustar todas estas variables productivas, para que mediante la 3ra etapa (C) se pueda evaluar el impacto de cada 1 de ellas de forma gradual, permitiendo calibrar las variables, permitiendo lograr las propiedades físico-mecánicas deseadas.

Estación Productiva

En conjunto con el proceso productivo se propone un diseño de estación, que permite realizar los diferentes procesos necesarios para el desarrollo del material y la producción de las muestras para el estudio, esta estación se compone de múltiples subestaciones encargadas de realizar las diferentes etapas del proceso productivo.

Para cada subestación se definieron los componentes, herramientas e indumentaria necesarias para su funcionamiento.

Método de Experimentación

Para concretar el desarrollo del material MBF es necesario evaluar sus propiedades y desempeño físico-mecánico, por esta razón se propone un método para evaluar el material que se produce a lo largo del desarrollo de este. Por esta razón se establece un protocolo de acción, o metodología para evaluar el desempeño del material mediante el método DOE (Design of experiment), de 3 factores y 8 probetas.

Este método permite distinguir y medir el impacto que tiene las diferentes variables utilizadas en la producción del material, con sus propiedades físico-mecánicas, facilitando y acelerando el proceso de calibración o ajuste de dichas variables para optimizar el MBF fabricado.

Validación Practica

En conjunto con la propuesta de metodología también se recreó con los medios disponibles la metodología propuesta, para validar y probar su viabilidad, principalmente el Método de Experimentación, para esto se trabajó con las siguientes materias primas:

- **Micelio:** Pleurotos Ostreatus, cepa Gris y Flora como micelio base
- **Sustrato reciclado:** Cartón de caja de huevo

Los resultados de la validación también se presentan en esta memoria de forma que puedan servir de base para futuras investigaciones sobre el MBF.

II. CAPITULO 1: METODOLOGIA PARA EL DESARROLLO DE BIOMATERIALES DE MICELIO Y SUSTRATOS RECICLADOS

TRABAJO PREVIO

En esta sección de la memoria se presenta el trabajo previo realizado para conocer y comprender de forma practica los procesos de micotectura y producción de MBF, además de identificar los aspectos problemáticos que puede traer este tipo de procesos e investigación.

Conociendo el material y sus procesos

Objetivo

Comprender la técnica de desarrollo del material, sus ventajas y desventajas, identificar puntos de mejora

Primer acercamiento

Este primer acercamiento a la micotectura y el cultivo de hongos tiene como objetivo generar experiencia en los procesos productivos artesanales del material, los cuales serán utilizados en un futuro para desarrollar experimentos de evaluación, Además de verificar que la técnica estudiada es realmente realizable en las condiciones estructurales y socioeconómicas (limitadas por el contexto de pandemia Covid 19) en las que se desarrolla este proyecto.

Los resultados de esta experiencia fueron alentadores, se logró cultivar en una incubadora

casera el micelio de Pleurotus Ostreatus en el material del sustrato escogido para los experimentos (caja de cartón de huevo), esto inoculándolo directamente desde grano de trigo (sustrato en él se adquirió el micelio) demostrando que es posible reproducir el micelio mediante la inoculación de sustratos como se observa en la figura 4, al mismo tiempo esto probaba que el proceso de pasteurización con olla a presión o pasteurización estándar desde ahora en adelante, era efectivo, ya que de lo contrario el micelio cultivado en el sustrato de cartón de huevo que fue pasteurizado con ese proceso, se habría contaminado y/o muerto.

Figura 4 - Interior de incubadora cacera - Frascos inoculados y primeros moldes. (Elaboración propia)

Además, ese pudo testear con 2 moldes exitoso el proceso de moldeado de planchas de MBF (Figura 5), las cuales lamentablemente se contaminaron luego de un proceso poco exitoso de secado del micelio en un horno eléctrico (80 minutos a 90 C°), el cual no solo, no desactivo el micelio también dejo suficiente humedad para que este siga creciendo, al igual que otros organismos perjudiciales que lo colonizaran y pudrieron la plancha de MBF como se aprecia en las figuras 6 y 7, dejándola inutilizable para testeo u otras actividades más allá del compostaje.

De esta experiencia se comprende que es importante lograr una desactivación completa del material para cortar su crecimiento, además de que este se debe secar completamente antes de exponer a ambientes no aislados ni previamente higienizados.

Figura 5 - 1ra Plancha de MBF – Primer intento de desactivación en horno de cocina eléctrico. (Elaboración propia)

Este primer acercamiento permitió definir la indumentaria básica de trabajo y los procesos mínimos que se utilizarán en adelante durante los siguientes experimentos de estudio del material, además de servir de base para el diseño de 2 experiencias que permitirán evaluar el material de forma cuantitativa y compararle con su principal competencia en el mercado, el Poliestireno Expandido (EPS) o “Plumavit”.

Finalmente, mediante este primer acercamiento a la fabricación de planchas de MBF se pudo testear el primero de los diseños de molde que se plantearon para este proyecto.

Figura 6 - 1ra Plancha MBF contaminada. (Elaboración propia)

Figura 7 - 1ra Plancha MBF contaminada - Vista detalle. (Elaboración propia)

Diseño de molde para micotectura

1era Versión – Molde 1.0

Una de partes fundamentales del proceso de fabricación de cualquier estructura de MBF es su molde, ya que este es el que le da forma al material mediante un proceso de aglutinación y colonización del sustrato en su interior.

Los moldes para la micotectura son rellenados sustrato completa o parcialmente colonizado por micelio sano de diferentes cepas de hongos.

En este sentido se definieron diferentes especificaciones que debe cumplir el molde en base a lo estudiado en la literatura y el entendimiento de los procesos de moldaje

generales adquiridos durante la carrera de ingeniería en Diseño de Productos.

Especificaciones del molde:

El volumen de moldaje debe permitir generar la mayor cantidad de probetas para los siguientes tipos de ensayos mecánicos estandarizados para materiales compuestos:

Tracción: Norma ASTM D3039 2008 para materiales compuestos: (Anexo 1)

- Volumen mecanizable con dimensiones de al menos: 250 x 15 x (6,4 + 1,5 + 1,5) [mm]

Flexión: Norma ASTM D7264M-07 materiales compuestos (Anexo 2)

- Volumen mecanizable con dimensiones de al menos: 160 x 13 x 6 [mm]

Impacto: Norma ASTM D5628-10 materiales compuestos (Anexo 3)

- Volumen mecanizable con dimensiones de al menos: 58 x 58 x (espesor variable) [mm]

Además, por la imposibilidad de acceder a la universidad, puntualmente al taller de prototipado de la carrera de IDP o cualquier otro taller de carpintería y/o mecánico se opta por solicitar la impresión del molde en PLA mediante impresoras 3D, para esto se contó con la ayuda y supervisión de Jorge Maggiolo, encargado del taller de la carrera en la USM, por lo que se debió adaptar el diseño del molde a las limitaciones y ventajas de la impresión 3D, específicamente a la impresora 3D modelo Ultimaker 2+ la cual tiene un volumen de impresión de solo: 223 x 220 x 205 [mm] con un superficie máxima de: 223 x 220 [mm].

Se debió considerar las siguientes especificaciones para el molde y su tapa:

- Largo <= 223 [mm]
- Ancho <= 220 [mm]
- Alto <= 205 [mm]
- Tiempo de impresión <= 12 [hrs]
- No usar soportes de impresión, para evitar imperfecciones en las superficies internas del molde

En cuanto a las especificaciones funcionales se definieron las siguientes:

- Reutilizable: el molde se debe poder usar cientos de veces sin necesidad de repararlo.
- Entradas para oxigeno al interior del molde.

Versatilidad: que se pueda graduar el espesor de la plancha de MBF

Luego de varias iteraciones, principalmente para optimizar el uso de la impresora 3D se definió un molde con las siguientes características: (Anexo 6)

Base del molde:

Se opto por un diseño simple similar a una caja de zapatos abierta, el cual cumple con las siguientes características:

- Volumen interior:
    - 160 [mm] x 180 [mm] x 15 [mm]
- Espesor paredes:
    - 2 [mm]

Tapa del molde:

- 8 entradas de Oxigeno distribuidas de formas simétrica por la superficie que conectan el exterior con el micelio.
- 1 volumen en el centro de la tapa que permite encajarla en la base del molde, además de presionar el sustrato en el interior del molde
    - 5 [mm] de profundidad
- 2 pestañas para facilitar apertura del molde.

Este conjunto nos permite moldear un volumen de:

- 160 [mm] x 180 [mm] x 10 [mm] = 288000 [mm3]

Es decir, una plancha de MBF con un volumen de 288000 [mm3] (288 [cm3]) la cual mediante mecanizado no permitiría fabricar múltiples probetas para los distintos ensayos planteados. Para el resto de las probetas mas delgadas se diseño un Adaptador de espesor el cual es una extensión de volumen de fijación de la tapa, con el cual se podía moldear un volumen con el mismo largo y ancho, pero con un espesor aún menor, llegando a los 6 [mm].

Testeo del Diseño de Molde 1.0

Este primer prototipo de molde se testeo moldeando una plancha de 160 [mm] x 180 [mm] x 10 [mm] (sin adaptador) utilizando sustrato de cartón de Huevo y Micelio de Pleurotus Ostreatus Gris los cuales fueron previamente cultivados en una incubadora cacera hasta alcanzar un alto grado de colonización.

Figura 8 - Molde 01 primera plancha MBF

El sustrato con el micelio se des aglomero y se colocó de forma desordenada pero pareja en el interior del molde casi hasta completar todo el volumen interior, finalmente se tapó con fuerza para compactar el sustrato con la tapa del molde, fijándola con cinta de papel adhesiva.

Figura 9 - Detalle 1ra Plancha de MBF en Molde 01

Luego de 2 semanas de incubación en la incubadora cacera se obtuvo una plancha de MBF muy uniforme y fiel a la forma del molde, llenando casi la totalidad del espacio destinado para su crecimiento, como se aprecia en la figura 8 y 9.

Observaciones:

Se destaca enormemente que el desmoldaje de los moldes de PLA es bastante simple ya que el micelio no se adhiere a su superficie, con excepciones en las que la superficie del molde que presenta mucha rugosidad.

Sin embargo, a pesar de los esfuerzos por el ahorro de material y tiempo en la impresión 3D cada Base y Tapa del molde sigue demorando más de 10 y 7 [hrs] por impresión respectivamente, lo cual es un problema para su fabricación siendo muy propensos a fallas en la impresora o costes energéticos.

Se presenta la problemática del espacio para colocar los moldes en la incubadora, teniendo que apilarlos por el espacio en su interior, esta solución presenta el problema de que los moldes apilados taparían los accesos de oxígeno de los moldes inferiores.

Por esta razón se tendrá en cuenta estas observaciones en futuros moldes

2da versión: Experimentos 1 y 2

Para esta segunda versión de molde o Moldes 2.0 se mantiene el objetivo de la eficiencia y el ahorro de material y tiempo de impresión, pero se enfoca en desarrollar las probetas directamente en cada molde, es decir de cada compartimiento de moldaje debe salir 1 probeta para ensayos, además se define un solo modelo de probeta para una serie de ensayos comparativos diseñados por el autor.

Especificaciones del molde:

Al igual que en el primer prototipo de molde es importante cumplir con las especificaciones propias de la impresión 3D, manteniendo el mismo modelo de maquina y por lo tanto la misma superficie y espacio de impresión.

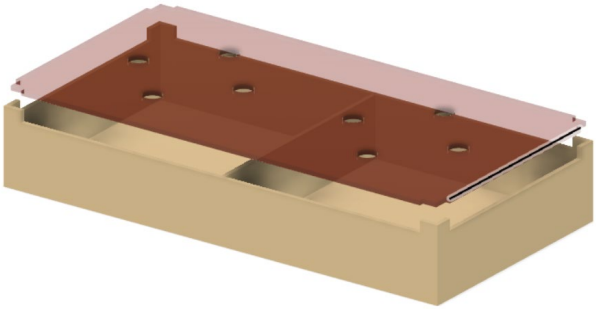


Figura 10 - Molde 2.0 - Ensamble Explosión

El nuevo modelo de molde será usado en para fabricar 8 probetas diferentes las cuales tendrán 4 procesos diferentes los cuales serán realizados por parejas de probetas, por esta razón se decide implementar moldes con 2 compartimientos de moldajes y 1 sola tapa, para facilitar su manipulación, producción y etiquetado, a la vez que se ahorra material y tiempo de impresión.

Este nuevo modelo reduce el espesor de las paredes a solo 1,20 [mm] además de agregar una extensión en cada 1 de las 4 esquinas del molde las cuales tienen 2ble función:

- Encajar tapa del molde, tapando ambas cavidades de moldaje al mismo tiempo
- Facilitar el apilado de los moldes para mantener el acceso de oxígeno al interior de los moldes

La tapa de este molde también tiene un espesor de 1.20 [mm] economizando el material de impresión.

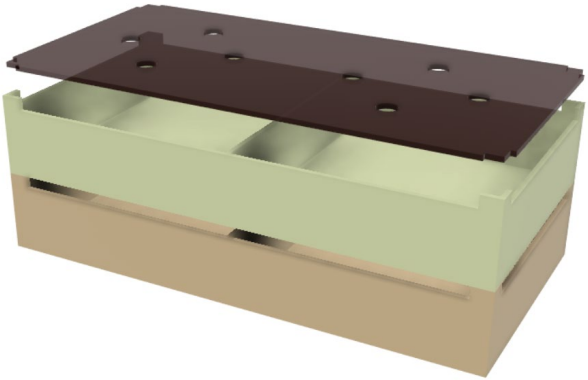


Figura 11 - Molde 2.0 - Ejemplo de apilado

Además, esta tiene recortes en sus extremos que calzan con las extensiones de la base molde creando un calce perfecto entre ambas partes.

Testeo del Diseño de Molde 1.0

Estos moldes se probaron exitosamente en los 2 experimentos diseñadas por el autor logrando generar las probetas con las dimensiones esperadas, con pequeñas diferencias de poco impacto.

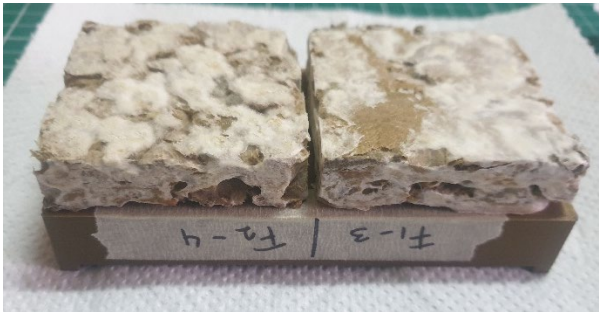


Figura 12 - Primeras Planchas MBF - Moldes 2.0

Observaciones:

Si bien las propuestas de este nuevo molde funcionaron bien hubo problemas por el espesor de las paredes, provocando fracturas en algunas de las extensiones para apilar los moldes, estas fracturas ocurrieron principalmente al momento de encajar las tapas en los diferentes moldes ya que estas, a pesar de haber utilizado márgenes de seguridad de 0,5 [mm] en el modelo impreso, las tapas eran ligeramente más grandes que el calce para su encaje.

Por esta razón en futuros modelos (molde 3.0) se optará por rediseñar el sistema de apilado simplificando su construcción.

Además, este sistema de tapas no permitía compactar de forma efectiva el sustrato con micelio al interior de los moldes, al no tener el volumen de prensado del primer modelo (Molde 1.0).

Por último, en cuanto al sistema de apilado si bien fue efectivo al ser tan pequeña la superficie de apoyo era muy inestable, en especial para incubadoras donde el molde se flotando sobre agua al interior de una caja plástica.

El conocimiento adquirido con estos 2 primeros prototipos permite diseñar un molde que se ajuste a cualquier tipo de plancha de MBF de base rectangular, combinando lo mejor que ambos modelos de moldes.

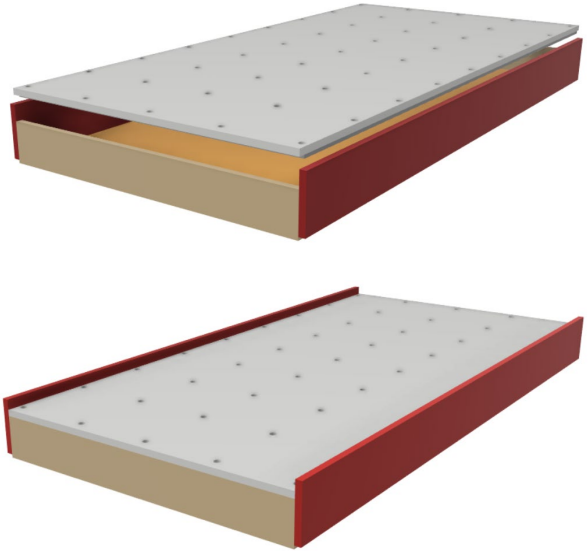


Figura 13 - Cerrado de molde 3.0 - Vista diagonal con perspectiva

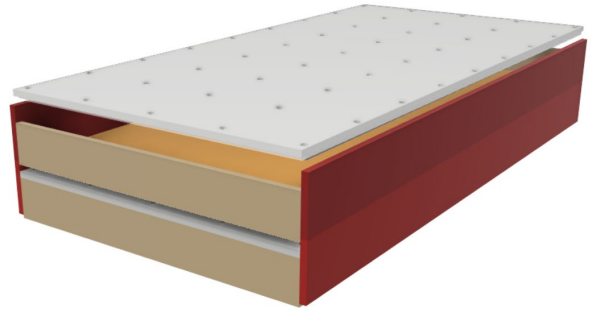


Figura 14 - Apilado de moldes, funcionamiento de las tapas - vista frontal con perspectiva

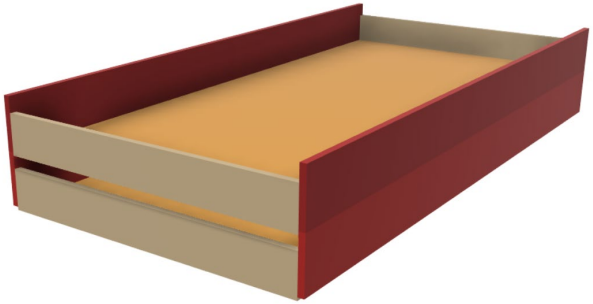


Figura 15 - Moldes 3.0, sistema de apilado, sin tapas - vista diagonal con perspectiva

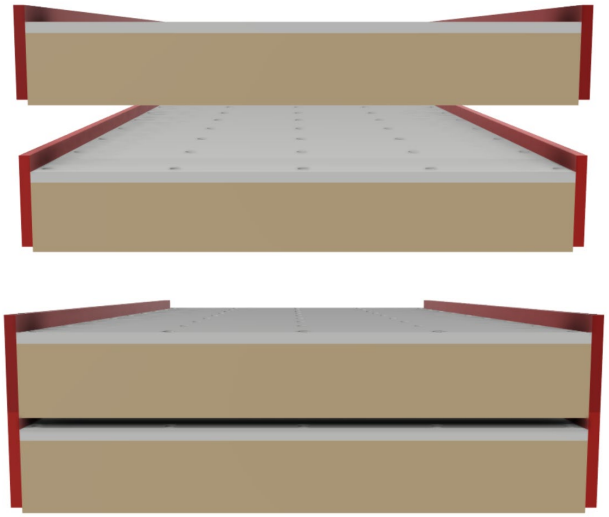


Figura 16 – Moldes 3.0, sistema de apilado- vista frontal con perspectiva

METODOLOGÍA I: PROCESO PRODUCTIVO DE MBF

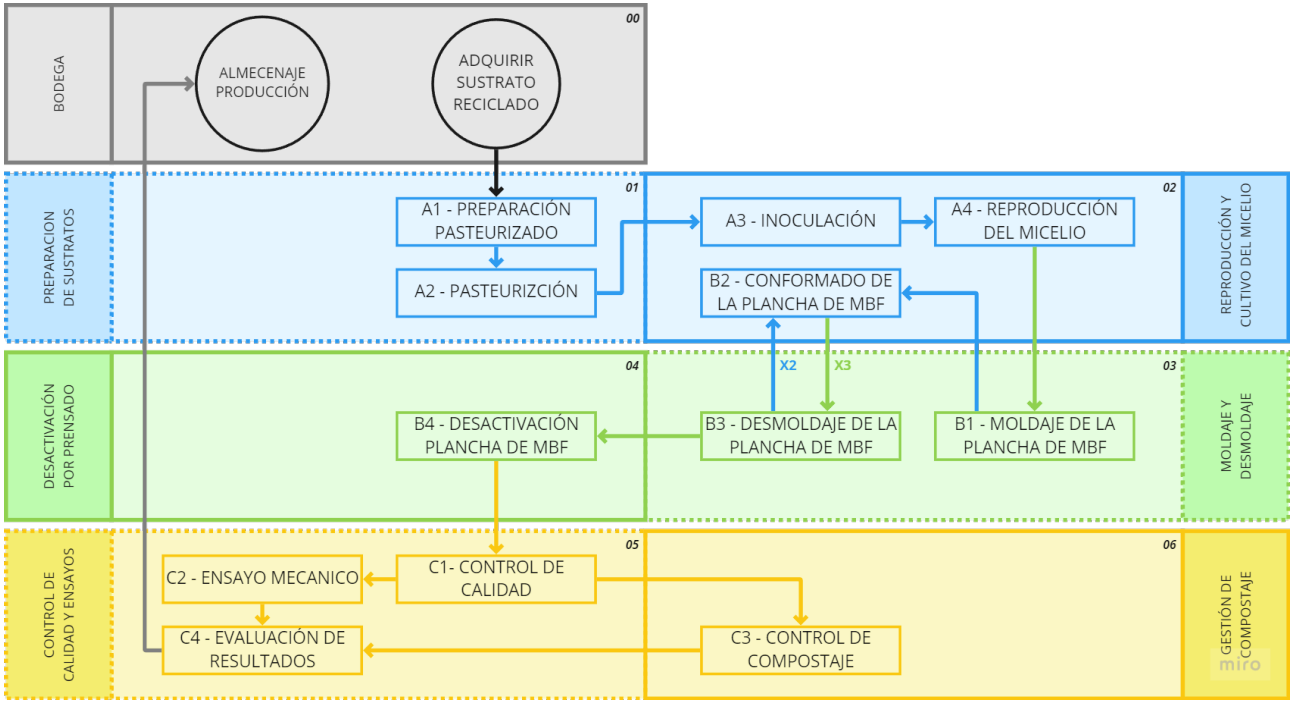


Figura 17 - Estaciones y Proceso Productivo condensados

OBEJTIVOS

El diseño del método de producción para material MBF, tiene en cuenta el objetivo de:

I. Identificar y clasificar los procesos y condiciones de **fabricación de un biomaterial a base de micelio**.

INTRODUCCIÓN

En este capítulo se detalla el proceso para la fabricación de material de MBF en base a micelio y sustrato reciclado que se observa en la figura 17, este proceso se clasificó en 3 categorías principales, para facilitar su entendimiento y aplicación, cada 1 de estas cuentas con múltiples subprocesos; en esta sección del capítulo se detallarán cada 1 de estas categorías y los procesos subyacentes a cada una de ellas con sus respectivos objetivos y requisitos correspondientes. Las categorías de procesos son se describen a continuación:

PROCESOS A: PREPARACIÓN MATERIAS PRIMAS

Engloban todos los procesos relativos a la preparación y la gestión de las materias primas para el proceso productivo previo a la fabricación del MBF.

PROCESOS B: MOLDAJE Y PRENSADO

Estos procesos detallan como se transforma el sustrato colonizado por micelio a un bloque o volumen sólido y funcional de MBF

PROCESOS C: ENSAYO, EVALUACIÓN Y COMPOSTAJE

Los procesos de esta categoría corresponden a las pautas para evaluar el resultado del material obtenido, es decir, se evaluarán sus propiedades mecánicas y su capacidad de compostaje.

Cada una de estas labores cuenta con una seria de subprocesos secuenciales los cuales se deben realizar para obtener información sobre las propiedades del MBF y de las variables particulares del proceso ejecutado.

Procesos A: Preparación de materias primas

En esta categoría encontramos los siguientes subprocesos:

- A1: Preparación Pasteurizado
- A2: Pasteurización
- A3: Inoculación
- A4: Reproducción e Incubación del Micelio

A continuación, se presentará en detalle estos subprocesos, sus objetivos y sus procedimientos.

A1 - PREPARACIÓN PASTEURIZADO

Propósito:

Su propósito principal es el de trabajar el material seleccionado para el sustrato dejando listo para su pasteurización y posterior inoculación

Procedimiento:

El procedimiento para este proceso es el siguiente:

A1.1) Seleccionar:

Un buen material de residuos para reciclar en forma de sustrato debe tener las siguientes características mínimas para permitir el crecimiento del hongo (micelio):

- Combatividad con tipo de pudrición del hongo usado
- Ser de origen biológico
- Idealmente sea resúltate de otro proceso relacionado con la industria que se quiere impactar con el material
- Ser de fácil acceso para el investigador
- Facticidad para el guardado y acumulación del mismo

Una vez escogida la materia prima, estas se someterán a revisión, considerando los siguientes protocolos en base al estado de la materia prima:

- **Óptima:**
  - **Definición:** Materia que no presenta contaminación de ningún tipo, ni humedad notoria que pueda proliferar su contaminación, además los trozos del material deben ser mayores a los usados para el sustrato (no polvo).
  - **Procedimiento:** Esta materia se deberá contabilizar y almacenar con el resto de la materia prima disponible en sus respectivos cubículos de almacenaje para la posterior preparación de sustrato.

- **Dañada:**
  - **Definición:** Materia que presenta algún tipo de contaminación menor aislable y/o un elevado grade de humedad (sobre 30%).
  - **Procedimiento** se deberán restaurar la materia prima procurando perder la menor cantidad de material posible, aislando y retirando zonas contaminadas y/o secando el exceso de humedad; el material resultante se clasificará como calidad Óptima.

- **Irreparable:**
  - **Definición:** Materia que no puede ser utilizado por estar completamente contaminado, podrido o hecho polvo
  - **Procedimiento** Este marial se deberá compostar, reciclar o derivar a otras entidades que puedan hacer uso del material inutilizable en nuestra u otra cadena productiva sustentable.

Cabe aclarar que dependiendo el material estos criterios podrían quedar obsoletos, por esto se sugiere actualizar los criterios según considere el investigador.

Finalmente se selecciona el material de calidad óptima para preparar el sustrato, en las cantidades necesarias para el sustrato.

A1.2) Dimensionar

Una vez seleccionado el material a utilizar, este se debe dimensionar para facilitar su pasteurización y crecimiento del micelio, en relación con las dimisiones establecidas por el investigador y las propiedades mecánicas que se busquen en el proceso; para lograr esto de mejor forma se sugiere:

1. Romper o trozar material elegido en trozos fáciles de manipular y sumergir.
2. Remojar por 15 minutos, esto facilita su trozado.
3. Trozar y/o cortar el material en el tamaño específico del experimento (o rango de tamaño).
4. Estrujar material para escurrir exceso de humedad.

A1.3) Embazar Material

Una vez redimensionado el material se deberá guardar en frascos de vidrio, cullas tapas han sido previamente adaptadas.

A continuación, se procede a realizar el subproceso de Pasteurización que habilitara al material reciclado para convertirse en un sustrato ideal para el crecimiento del micelio.

Observaciones

Se deberá establecer posibles alianzas y/o proveedores para los materiales, es decir, su procedencia y tipo de material, para un flujo optimo del material de sustrato, y mantener las cantidades de micelio necesarias para establecer la producción futura.

A2 - PASTEURIZCIÓN

El proceso de pasteurización (según se considera en el cultivo de setas) consiste en la eliminación de casi todas las esporas de mohos (Trichoderma), hongos invasores de un sustrato y muchas de sus bacterias patógenas.

Propósito:

El propósito de este subproceso es el de eliminar los agentes perjudiciales del sustrato para que el micelio pueda cultivarse y crecer sano y libre de otros agentes biológicos que puedan alterar su comportamiento.

Procedimiento:

Para pasteurizar el material reciclado y formar el sustrato el procedimiento es el siguiente:

A2.1) Preparación de pasteurización:

1. Introducir fondo falso en olla.
2. Se debe colocar los frascos dentro de la olla a presión sobre el fondo falso
3. Verter Agua limpia equivalente a 1/3 del volumen total de la olla.
4. Cerrar olla con cuidado de lograr un hermetismo total que pueda conservar la presión (el vapor de agua) en su interior.

A2.2) Pasteurización del sustrato:

5. Colocar Olla a fuego alto por aproximadamente 1 hora o hasta que comience la ebullición
6. Bajar el fuego al mínimo durante 40 minutos.
7. Apagar el fuego

A2.3) Enfriado del sustrato:

8. Colocar olla en agua fría acelerar enfriamiento del contenido para manipular sustratos.

En caso de contar con autoclave seguir las indicaciones generales del aparato para pasteurizar la cantidad deseada de sustrato.

A3 - INOCULACIÓN

El término Inocular, tiene varios usos. En el terreno de la medicina, de la biología y la agricultura, este término hace referencia a transmitir accidental o voluntariamente en el organismo agentes patógenos o toxinas, con fines terapéuticos o experimentales, por ejemplo, se usa este término en la agricultura cuando se habla de inocular un sustrato para que los hongos e incluso setas crezcan. siendo en este caso, el hongo el agente externo que llega a colonizar o influir el biotipo inerte al que llamamos sustrato.

Propósito:

Este subproceso tiene como propósito replicar el micelio otorgándole un nuevo, nutritivo y amplio medio (sustrato) donde extenderse y preservar su existencia.

Es decir, se comienza el cultivo del micelio para que este se extienda por todo el sustrato y así tener disponible para la producción de MBF y su reproducción de más micelio que permita continuar con el ciclo productivo.

Procedimiento:

Con lo anterior en cuenta, este proceso de inoculación es el siguiente:

A3.1) Preparación para inocular

1. Se Abre el Frasco o recipiente donde se pasteurizo el sustrato a inocular
2. Se abre el recipiente con micelio ya inoculado previamente, recién sacado de incubación.

A3.2) Inoculación 70-30

3. Se realiza una mezcla de 70% sustrato nuevo y 30% de sustrato previamente inoculado y totalmente colonizado
4. Se guarda la mezcla en recipiente cerrado, pero con entrada de aire protegido por un filtro de partículas.

A3.3) Etiquetado y registro

5. Etiquetar sustrato inoculado con un código que resuma:
    a. Fecha inoculación
    b. Tipo de sustrato o mix de sustrato
    c. Tipo de micelio (cepa del hongo)
    d. Fecha estimada de termino de colonización (2 semanas)
6. Otras variables que se estén investigando.
7. Crear registro del sustrato y su etiquetado.

Se llevan a incubación todos los sustratos inoculados.

A4 - REPRODUCCIÓN E INCUVACIÓN DEL MICELIO

Este es uno de los subprocesos más importante en la preparación de las materias primas, ya que este depende su correcto desempeño y proliferación en el tiempo.

En este subproceso es donde el micelio toma el protagonismo ya este debe crecer, nutrirse y esparcirse en los diferentes sustratos inoculados.

Para que el micelio pueda propagarse por el sustrato inoculado requiere de las siguientes condiciones ambientales:

- Humedad: 60%
- Temperatura 15° C
- Ausencia de luz solar: 0 a 50 [lumens]

Propósito:

Este proceso tiene como propósito brindar las condiciones ambientales ideales para promover el crecimiento del micelio en su respectivo sustrato.

Al igual que en el proceso anterior, este tiene como objetivo preservar el micelio, reproducirlo en el sustrato y preservar su existencia para el ciclo productivo.

Además de generar las condiciones para que el sustrato colonice completamente el sustrato de cartón para proceder al proceso de Fabricación de Planchas de MBF

Procedimiento:

A la vez de ser uno de los procesos más importantes es uno de los más complejos y que requiere de yb mayor numero implementos para llevarse a cabo, ya que no solo es necesario aclimatar un ambiente (espacio de cultivo) sino que también hay que llevar un control de los diferentes micelios en sus respectivos sustratos, así como, sus tiempos de incubación y porcentaje de incubación.

El procedimiento es el siguiente:

A4.1) Inicio de la incubación

1. Se introducen los recientes con el sustrato inoculado en sus espacios acordes su fecha, tipo de micelio y sustrato.

A4.2) Monitoreo de la incubación

2. Se realiza observaciones periódicas de los diferentes sustratos, monitoreando el crecimiento del micelio o colonización del sustrato, además de buscar posibles focos de contaminación que deban ser aislados y extirpados.
3. Una vez el micelio colonice todo el sustrato estará listo para continuar con el proceso siguiente.

Proceso B: Moldaje y prensado del MBF

Este proceso es el más importante en el proceso de fabricación del material de MBF ya que es en este

dónde se da forma, contextura y el acabado final a la bloque/plancha/probeta de MBF para ser usadas en investigación.

Este proceso se divide en 4 subprocesos:

- B1: Moldaje del MBF
- B2: Conformado del MBF
- B3: Desmoldaje del MBF
- B4: desactivación por prensado del MBF

OBJETIVO GENEAL

El objetivo de este proceso es el de fabricar MBF con todos los subprocesos que esto implica, es decir, el moldaje. Conformado, desmoldaje y desactivación por prensado.

B1 - MOLDAJE DEL DE MBF

Propósitos:

El propósito de este proceso es el de dar forma, intención y propiedades específicas del MBF, cumpliendo con los objetivos con los que fue diseñado, cultivado y conformado.

Este proceso se conforma de los siguientes actividades:

I. *Elegir y preparar molde*
II. *Rellenar y sellar molde*
III. *Registrar y etiquetar*
IV. *Comenzar colonización del molde*

Procedimiento:

El procedimiento para le moldaje es el siguiente:

B1.1) Elección del molde:

Se debe elegir el modelo de molde que tendrá las dimensiones generales que deberá tener volumen final de MBF considerando la perdida de volumen por el prensado

B1.2) Higiene del molde:

antes de introducir el sustrato con micelio en el molde es importante higienizarlo para evitar contaminaciones perjudiciales en el micelio.

B1.3) Fragmentación micelio:

Para poder acomodar el sustrato colonizado por el micelio dentro del molde es necesario fragmentar o romper en trozos pequeños el bloque de micelio generado en su reciente con la aglutinación que el micelio provoca al colonizar el sustrato.

B1.4) Moldaje:

Se comienza a colocar cuidadosamente partes del sustrato colonizado cuidado cubrir la totalidad del molde, el peso y la humedad establecidos.

B1.5) Cerrado del molde:

una vez el molde está completamente lleno se deberá colocar la tapa, aplicando presión que termine de acomodar el sustrato + micelio en su interior, dando la forma a la plancha.

Se debe asegurar que la tapa no vaya a salirse antes de tiempo por lo que se sugiere fijar con cinta (evitando tapar los orificios de respiración del molde).

B1.6) Registro y etiquetado:

Al final de este subproceso se debe etiquetar y registrar los moldes realizados, esto nos permite llevar un correcto control del tiempo de incubación de cada molde.

B1.7) Colonización del molde:

Ya etiquetados los moldes son enviados a la estación de (02) Reproducción Y Cultivo Del Micelio.

B2 - CONFORMADO DEL MBF

En esta etapa el micelio se vuelve a expandir en el sustrato al interior del molde, tarea para la cual se deben generar y perdurar las mismas condiciones ambientales que en las que se produce el micelio en un primer lugar, es decir, las descritas en el subproceso **A4 - Reproducción e Incubación del micelio.**

Propósito:

Brindar a la plancha de las principales características morfológicas que otorgaran la mayoría de las propiedades mecánicas de las Planchas finales de MBF.

Procedimiento:

Debido a la correlación y complejidad de los subprocesos de conformado y desmoldaje se decide explicarlos en conjunto

B2.1) Cultivo del Molde:

Con los moldes correctamente sellados, etiquetados y registrados, se procede a dejarlos en la sección de moldes de la estación **02: Reproducción Y Cultivo Del Micelio**.

B2.2: Control de los moldes:

Una vez ingresados al área de cultivo los moldes deberán pasar entre 2 a 3 semanas de cultivo, donde el micelio recolonizara el sustrato.

Durante este tiempo es importante llevar un control periódico de los moldes en cultivo, los que vendrán y su fecha destape, des moldaje y sus distintas fases de crecimiento de salida de incubación.

B3.1: Destape:

A mediados de la fase de conformado se debe retirar la tapa del molde, para que el micelio pueda crecer en esta cara del molde libremente, generando una capa protectora de micelio.

B2.3: 1er Crecimiento superficial:

Luego de retirar la tapa del molde, el micelio en su interior podrá poblar la capa expuesta, durante un periodo especifico de tiempo

B3.2: Desmoldaje:

Cuando el crecimiento superficial 1 este completo, se debe realizar el desmoldaje, esta acción dependerá del modelo de molde utilizado, se sugiere uno con tapa extraíble y levemente flexible para despegar el MBF de la superficie con movimientos de flexión no deformantes en el molde, y/o ayudarse de alguna herramienta tipo espátula para despegar el micelio de las paredes del molde

B2.4: 2do Crecimiento superficial:

Luego del proceso de desmoldaje, el bloque o plancha de MBF vuelve a la incubación para su crecimiento superficial final, dejando expuestas las caras que estaban cubiertas por el molde, dejando como base de apoyo únicamente la cara que previamente ya tuvo su crecimiento superficial (tapándola en el proceso).

B3 – DESMOLDAJE DE LA PLANCHA DE MBF

Propósito:

Hay 2 objetivos principales en este subproceso, el primero es el de permitir que el conformado del micelio se extienda por todas las caras de la plancha de MBF y el segundo es el de liberar la plancha del molde para poder continuar con el proceso de desactivación por prensado.

Procedimiento:

Como se muestra en la sección anterior (B2) se debe realizar el destape y el desmoldaje durante del periodo de conformado para habilitar el crecimiento superficial del micelio en la plancha de MBF.

Terminado este proceso se tendrá un bloque compacto de sustrato y micelio, donde el micelio se encuentra activo.

B4 - DESACTIVACION POR PRENSADO DEL MBF

El último proceso en la fabricación directa de los MBF es la desactivación del micelio, vital para que el organismo vivo detenga su crecimiento y por ende el material obtenido se mantenga estable en el tiempo.

Para este propósito se debe deshidratar el bloque de MBF y secar el micelio que lo conforma.

Existen 2 métodos principales para ejecutar este proceso de desactivación del micelio, el primero es la deshidratación en hornos o mediante exposición solar, y la segunda es mediante prensado y aplicación de calor.

En el caso de este proyecto se presenta el proceso para el caso de la desactivación por prensado, asumiendo el acceso a una prensa con la capacidad de ajustar su fuerza y de alcanzar un rango de temperaturas entre los 80[C°] y 200arte

además de mantener la temperatura constante en cualquier grado del rango mencionado, como la prensa multiplaca mecánica con certificación CE. (Freek V.W. Appels, 2019) o alguna forma fiable de simular estas características.

Propósito:

El próposito de este subproceso es el de desactivar el micelio, es decir cortar su crecimiento, o en otras palabras hacer que el bloque o plancha de MBF deje de estar vivo.

Además, en este proceso se termina de compactar la plancha y se elimina el excedente de agua que queda en el material.

Esto es importante ya que así se prevé la aparición de otros hongos en el material y se fijan sus propiedades mecánicas.

Procedimiento:

B4.1) Preparación del prensado

En este subproceso, se debe conectar y establecer los parámetros de prensado, disponer los bloques de micelio activados en la prensa con cuidado de no dañar su integridad y optimizar el espacio disponible de prensado.

Si se quiere asegurar un espesor especifico en las planchas o bloques de MBF se recomienda distribuir uniformemente bloques de un material resistente que haga de tope para el que el presado no se pase de la dimensión de espesor definida, sirviendo como una especie de barrera de seguridad.

B4.2) Prensado

Una vez la prensa y los MBF activos están dispuestos en sus correspondiente posiciones, se comienza el proceso de prensado, el en el cual las planas de la prensa se juntan comprimiendo los bloques de micelio, hasta el espesor establecido, simultáneamente las planchas de prensado alcanzan su temperatura optima de prensado, aplicando igual temperatura y presión a todos los MBF en la máquina, tanto en su cara superior como inferior (evitando el tener que voltear la plancha o bloque) acelerando el proceso de deshidratado, secado del MBF y desactivación del micelio.

Luego de un tiempo de exposición a prensado y temperaturas que bordean los 150 [C°] los MBF quedan completamente desactivados y listo para su uso comercial, industrial o incluso coloquial.

Este tiempo dependerá del volumen y la humedad del bloque previo a su prensado.

B4.3) Post prensado

Una vez realizado el prensado se deben separar y enfriar las bandejas de prensado.

Permitiendo manipular los bloques de MBF ya desactivados en por el subproceso anterior.

Una vez retirados y dejados en ambientes controlados se puede volver a cargar la máquina de prensado.

Por motivos de eficiencia energética, en caso de requerir realizar múltiples prensados se recomienda trabajar rápidamente, evitando que la prensa vuelva la temperatura ambiente.

Los bloques o planchas ya fabricados, es decir cultivados, moldados y desactivados, deben dirigirse a sus respectivos lugares de almacenaje o a la zona de ensayos y control de calidad si así lo quiere la producción.

Proceso C: Evaluación y compostaje

En todo proceso productivo es de vital importancia verificar periódicamente la calidad del resultado de la producción, esto para asegurar que los resultados sean los esperados por el productor y/o investigador. Esto, además, nos permite verificar de forma temprana si alguna parte del proceso productivo está presentando fallas que perjudiquen el material final, provocando en el peor de los casos perdidas del mismo o errores en la evaluación que se puedan arrastrar en futuras iteraciones.

En este proceso se verificará que las planchas, probetas o bloques cumplan con las características planteadas en su diseño, tanto a nivel dimensional, físico y técnico.

Por otro lado una de las principales características de los MBF es su capacidad de biodegradación y por ende compostaje, transformándose en materia orgánica y volviendo a la tierra en pocos meses con un impacto nulo en el medioambiente, muy al contrario de sus contrapartes petroquímicas que demoran cientos de años en descomponerse trayendo consigo múltiples problemas ambientales.

En otras palabras, los MBF al final de su vida son compostados y biodegradaos en la naturaleza o espacios preparados para realizar este proceso (composteras).

Por esta razón se decide incluir la evaluación del compostaje al proceso de Evaluación al final de la fabricación de las planchas de MBF.

OBJETIVO GENEAL

El objetivo principal de este proceso es el de verificar la calidad las planchas producidas a lo largo del proceso de producción, además de medir los resultados de las nuevas iteraciones de producción, en este sentido se identifican 3 sub objetivos:

I. *Identificar fallas en el proceso productivo*
II. *Medir la calidad del material realizado*
III. *Analizar y registrar resultados*

C1 - CONTROL DE CALIDAD

Propósito:

Este primer subproceso tiene la finalidad de evaluar en una primera instancia si las dimensiones físicas de la plancha son las que se esperan que sean según el proceso definido, es decir, que cumpla con el ancho, largo y alto esperados, el peso y por lo tanto densidad esperada, también se medirá la humedad interna de las planchas y si es que estas presentan alguna irregularidad en su acabado.

Procedimiento:

Este proceso tendrá una aplicación diferente en función del punto en que se encuentre la investigación, en una primera instancia todas las muestras producidas (probetas) deben ser evaluadas, ya que para que el o los experimentos se lleven a cabo es necesario mantener las dimensiones y acabado establecidos en los parámetros del experimento.

Sin embargo, una vez la producción se escale a cantidades mayores la evaluación no se puede realizar a todas las piezas fabricadas, por esta razón se recomienda que cada cierto tiempo se elige un 10% de un lote de producción para evaluar la calidad de la producción general las Planchas de MBF.

Adicionalmente cada vez que se cambia algún proceso se debe someter a evaluación y registro los MBF fabricados, para conocer los resultados de dicho cambio.

C1.1) Selección de muestras:

Se escogen de manera aleatoria un 10% de las muestras producidas en un lote de producción (o replica) elegido cada 3 producciones.

C1.2) Pesaje:

Se pesa y registra el peso del bloque de Micelio

C1.3) Medición longitudinal:

Se mide y registra las dimensiones del bloque de Micelio.

C1.4) Medición humedad:

Se mide y registra la humedad del bloque de Micelio.

C1.5) Búsqueda de imperfecciones:

Se revisa manualmente cada cara del bloque de MBF en búsqueda de imperfecciones en el acabado.

C1.6) Evaluación General:

Se compara los resultados obtenidos con los esperados, otorgando un aprobado o reprobado a las muestras dependiendo si estas cumplen o no con todas medidas esperadas.

Si las muestras son aprobadas se dirigen al siguiente proceso de evaluación.

Si las muestras no son aprobadas se detiene la producción y se revisa el resto del lote productivo,

además se revisa y corrigen los posibles errores en el proceso

C2 - ENSAYO MECANICO

Propósito:

Medir las propiedades físico-mecánicas de las planchas de MBF producidas.

Se medirá la resistencia a la tracción, Flexión y compresión.

Procedimiento:

C2.1) Dimensionado:

Se cortarán pequeñas probetas de las muestras seleccionadas, con las dimensiones adecuadas para realizar los diferentes ensayos de Flexión, Tracción y Compresión.

C2.2) Ensayo de Flexión:

Se someterán a ensayo de Flexión a todas las probetas creadas para esta función, registrando los resultados de cada 1 y sus posteriores replicas.

C2.3) Ensayo de Tracción:

Se someterán a ensayo de Tracción a todas las probetas creadas para esta función, registrando los resultados de cada 1 y sus posteriores replicas

C2.4) Ensayo de Compresión:

Se someterán a ensayo de Tracción a todas las probetas creadas para esta función, registrando los resultados de cada 1 y sus posteriores replicas.

C3 - CONTROL DE COMPOSTAJE

Propósito:

Medir el tiempo en que el MBF se convierte en compost y la calidad de dicho compost

Procedimiento:

C3.1) Trozado:

Se rompen en partes pequeñas de 16 $[cm^2]$ aprox los bloques de MBF.

C3.2) Compostado:

Se introduce el material trozado en una o varias composteras

C3.3) Registro:

Se registra el día en que se ingresó a compostar

C3.4) Retiro:

Se retira el compost cuando alcanza su tiempo de compostaje estimado o se observa que alcanzó su estado ideal e compostaje.

C4 - EVALUACIÓN DE RESULTADOS

Propósito:

Evaluar la calidad mecánica de las Planchas de MBF y el proceso en base a las muestras seleccionadas.

Evaluar la calidad del compost generado en base a las muestras de MBF

Procedimiento:

C4.1) Evaluación Mecánica:

Se realiza una evaluación factorial con los resultados de todas las pruebas estudiadas, donde se podrán aclarar las hipótesis sobre el efecto de las variables estudiadas en las propiedades mecánicas del material

C4.2) Evaluación Compost:

se evalúa la calidad del compost y si este cumple con los estándares internacionales de compostaje, además de evaluar su porcentaje de descomposición en relación al material original.

Una vez superadas ambas etapas se envían los derivados a bodega para su almacenaje o terceros que vayan a utilizarlas

METODOLOGÍA II: DISEÑO DE ESTACIÓN PARA EL DESARROLLO DE MBF

A continuación, se presenta las estaciones donde se podrán realizar los procesos y subprocesos descritos anteriormente, para esto se considerarán los objetivos de cada proceso, su respectiva con sus requisitos, herramientas, mobiliario e indumentaria, relativos a cada parte del proceso de fabricación de las planchas de micotectura.

Subestaciones A: preparación de materias primas

A continuación, se detallarán las subestaciones o espacios de trabajo acondicionados para la realización de los subprocesos de la Preparación de Materias Primas.

A-01. PREPARACION DE SUSTRATOS

En esta subestación de trabajo se realizarán los sub procesos de **Preparación Pasteurizado (A1)** y **Pasteurizado (A2)**.

En la siguiente sección se presentan los parámetros que deberá cumplir esta estación.

Requisitos

Esta estación deberá contar con las siguientes características:

I. Superficies, espacio y herramientas de trabajo fáciles de higienizar, idealmente de materialidad metálica y lisa.
II. Espacio para almacenamiento de Herramientas e indumentaria de trabajo.
III. Fuente de calor estable y regulable.
IV. Depósito de elementos desechables.
V. Suministro hídrico.

Herramientas

- **A1-01: PREPARACIÓN PASTEURIZADO:**
  - Indumentaria de trabajo
  - Artículos de Higiene
  - Cuchillo cartonero

- Bol o recipiente grande
- Bandeja metálica lisa
- Frascos de vidrio
- Regla
- Medidor de humedad
- Pesa de amplio rango de acción

- **A2-01: PASTEURIZADO:**
  - Olla a Presión / Auto clave
  - Frascos de vidrio
  - Fondo falso (en caso de usar olla)

Mobiliario

A continuación, se presentan el mobiliario necesarias para implementar la estación

- **A1-01: PREPARACIÓN PASTEURIZADO:**
  - Mesón/Mesa de trabajo
  - Mueble con cajones para almacenamiento de herramientas e indumentaria
- **A2-01: PASTEURIZADO:**
  - Cocina a gas/eléctrica o fogón

A-02. REPRODUCCIÓN Y CULTIVO DEL MICELIO

En esta estación de trabajo se realizarán los subprocesos de **Inoculación (A3) y Reproducción / Incubación del Micelio (A4).**

Requisitos

I. Área de trabajo completamente higienizada y fácil de higienizar
II. Humedad del 60% al interior de la incubación
III. Áreas diferenciadas entre tipos de sustratos, micelio, antigüedad, etc.
IV. Sistema adaptable para diferentes tamaños de moldes y recipientes
V. aislación entre interior y exterior del área del cultivo.
VI. Monitoreo de condiciones ambientales al interior del área de cultivo.

Herramientas

- **A3-02 INOCULACIÓN**
  - Indumentaria de trabajo
  - Artículos de Higiene
  - Cuchara / Pala pequeña / Pinza tipo ensalada
  - Pesa
- **A4-02 REPRODUCCIÓN / INCUBACIÓN DEL MICELIO (A4).**
  - Medidor de humedad ambiental
  - Humificador
  - Termostato
  - Filtros de aire
  - Ventilador
  - Recipientes o frascos de vidrio
  - **Moldes**
  - ✓ Se incluyen los moldes ya que por temas de eficiencia energética y espacial es en una sección de esta estación donde se conservan los moldes durante su conformado.

Mobiliario

- **A3-02 INOCULACIÓN**
  - Superficie de trabajo
- **A4-02 REPRODUCCIÓN / INCUBACIÓN DEL MICELIO (A4).**
  - Indoor (carpa de cultivo)

- Repisas ajustables (cantidad y distancia entre plataformas)

Subestaciones B: Moldaje y prensado del MBF

Introducción

Al igual que los subprocesos anteriores es necesario un espacio de trabajo para realizar la fabricación deL MBF, a continuación, se presentan las 2 subestaciones encargadas de facilitar los procesos de la categoría de procesos B: Moldaje y Prensado de MBF.

B-03. MOLDAJE Y DESMOLDAJE DE LAS PLANCHAS DE MBF

En esta estación se realizará el moldaje, la fragmentación del sustrato con micelio, el destape del molde y finalmente el desmolde.

Requisitos

- Superficies y espacio de trabajo fáciles de higienizar.
- Espacio para almacenamiento de Herramientas.
- Espacio para almacenamiento de vestimenta.
- Bandejas para las planchas de MBF
- Depósito de elementos desechables

Herramientas

1. Moldes
2. Bandeja metálica
3. Cuchara grande o espátula
4. Pesa de amplio rango de acción
5. Medidor de humedad
6. Indumentaria de trabajo
7. Artículos de Higiene

Mobiliario

- Mesón/Mesa de trabajo
- Mueble con cajones para almacenamiento de herramientas e indumentaria

B-04. DESACTIVACIÓN POR PRENSADO

En esta estación se realiza el último proceso directo de fabricación de las planchas de MBF, es decir al salir de esta estación las placas estarán listas para su uso en diferentes rubros.

Requisitos

Esta estación principalmente deberá ser capaz de realizar planchas de MBF que cumplan con los requisitos especificados al principio de este capítulo.

Además, se definen los siguientes requisitos específicos

1. Fácil de usar: Su uso no debe depender de la fuerza del operador
2. Capacidad productiva: Planchas por estación de fabricación
    a. Capacidad de prensado:

        i. De 3 a 4 unidades de planchas de longitud máxima simultaneas
    b. Tiempo de prensado:
        i. 20 a 30 minutos
3. Tiempo de preparación para uso y desuso:
    a. 5 a 10 minutos

Herramientas

1. Maquinaria de prensado
2. Bandejas para Planchas pre y post prensado
3. Espátula

Mobiliario

- Mesón para colocar maquinaria
- Mueble con cajones para almacenamiento de herramientas e indumentaria

Subestaciones C: Evaluación y compostaje

A continuación, se presentan las 2 ultimas estaciones del proceso productivo, asociadas a la evaluación de los procesos anteriores y del producto de dicho proceso.

05. CONTROL DE CALIDAD Y ENSAYOS

Requisitos

I. Rubrica y protocolo de ensayos bien definida y escrita
II. Maquinaria para ensayos mecánicos
III. Implementos de medición
IV. Superficie y herramientas para dimensionar probetas
V. Ambiente seco y estéril

Herramientas

- **C1-05: CONTROL DE CALIDAD**
    - Indumentaria de trabajo
    - Lupa
    - Lampara direccional
- **C2/C4-05: ENSAYO MECANICO**
    - Indumentaria de trabajo
    - Ingletador o cierra de banda
    - Máquina de ensayos:
        - Flexión
        - Tracción
        - Compresión
    - Implementos de medición:
        - Longitud
        - Peso/Masa
        - Humedad
    - Bandejas
    - Hoja de calculo
- **C4-05: EVALUACIÓN DE RESULTADOS**
    - Indumentaria de trabajo
    - Registro de datos
        - Hoja de calculo
    - Software de análisis de varianza
        - MiniTab
        - Otros

Mobiliario

- **C1/C2/C4-05**
    - Mesón(es)
    - Cajoneras
    - Depósito de desechos

06. GESTIÓN DE COMPOSTAJE

Requisitos

- Espacio al aire libre
- Superficie y maquinaria/herramientas para trozar material de MBF.

Herramientas

- **C3-06: CONTROL DE CALIDAD**
    - Indumentaria de trabajo
    - Cierras eléctrica, trituradoras u otra herramienta para el trozado del MBF
    - Cubículos de compostaje

Mobiliario

- Composteras
- Mesón de trabajo

METODOLOGÍA III: EXPERIMENTACIÓN Y EVALUACIÓN DE MBF

Esta es la parte mas importante de la metodología propuesta, ya que es en este punto donde se definen las propiedades deseadas a lograr, objetivos, las variables productivas a estudiar y magnitud del estudio.

Objetivo

La metodología de experimentación y evaluación propuesta a continuación se desarrolló para cumplir con el objetivo secundario de:

III. Establecer un método de experimentación para el biomaterial a base de micelio, considerando las variables productivas y compositivas del biomaterial en su desempeño físico-mecánico.

Problemática

Cuando se produce un biomaterial de MBF se debe entender que las variaciones en el proceso productivo y las materias primas utilizadas tienen impacto en las propiedades físicas del material fabricado, en otras palabras, para alcanzar unas propiedades similares a las esperadas se debe encontrar el equilibrio ideal entre estas variables productivas, pero hacerlo sin tener una metodología concreta es casi imposible ya que esto requeriría de una cantidad enorme de pruebas de ensayo y error, por esta razón fue necesario encontrar una metodología que permita calibrar varias de estas

variables al mismo acelerando considerablemente el desarrollo del material.

En base a lo anterior se vuelve imprescindible encontrar una metodología que ayude a reducir la cantidad de muestras por variable, de forma óptima y ordenada.

Por otra parte, si bien lo ideal es poder ejecutar ensayos mecánicos estandarizados (norma ISO) para medir las propiedades mecánicas de cada muestra producida y evaluar su desempeño, sin embargo la elevada la cantidad de muestras, incrementa considerablemente el coste de la investigación si se efectúan ensayos estandarizados para cada muestra durante el desarrollo del material, así mismo se elevan considerablemente los tiempos de ejecución ya se genera una dependencia con 3ros especializados en ese tipo de ensayos mecánicos, es por estas razones que se propone una metodología donde durante el proceso de calibrado de las variables productivas (muestra inicial – muestra final) se recurra a un sistema de evaluación que permita comparar los resultados de desempeño con las otras muestras realizadas.

Método DOE: Design Of Experiment

El modelo de DOE (Design Of Experiment) es un método de experimentación que permite evaluar la incidencia de un grupo de factores o variables en el resultado final de un proceso o prueba, ya sea en 1 o varias de sus características.

Una de las ventajas de este método es que permite realizar una cantidad acotada de pruebas de gran valor estadístico e informativo.

El modelo DOE consiste en, definir un grupo de variables, o factores, a los cuales se les asigna un valor máximo (1) y un mínimo (-1), los que se combinan de forma única en las diferentes pruebas del experimento.

El modelo DOE se clasifica según el número de factores que se variaran en la experimento, describiéndose de la forma 2^k donde K es el número de variantes o factores estudiados, esta nomenclatura además nos permite identificar rápidamente la cantidad muestras que tendrá el experimento en base al número de combinaciones únicas posibles de sus “K” factores en sus máximos (1) y mínimos (-1), por ejemplo, un DOE de 2 factores o factorial $(2^2 = 4)$ nos indica que se realizaran un total de 4 muestras o pruebas.

Se propone de forma optativa la utilización de DOE de 3 factores o factorial $(2^3 = 8)$, como se muestra en la tabla 2.

Produciendo en total 8 probetas por réplica del experimento.

Se sugiere un diseño factorial de 3 factores, ya que de esta forma el investigador puede probar 3 de las variables de mayor interés para este tipo de material, es decir, 2 opciones de materia prima, 2 opciones para el proceso de secado del micelio como por ejemplo la temperatura o el tiempo de secado y otras 2 opciones relativas al proceso de moldaje, especialmente cuando se trata del primer experimento con el material, ya que esto facilitara identificar cuáles de estas tendrán mayor impacto en su investigación.

# PROBETA	A: Factor 1	B: Factor 2	C: Factor 3
PROBETA 1	-1	-1	-1
PROBETA 2	1	-1	-1
PROBETA 3	-1	1	-1
PROBETA 4	1	1	-1
PROBETA 5	-1	-1	1
PROBETA 6	1	-1	1
PROBETA 7	-1	1	1
PROBETA 8	1	1	1

Tabla 2 - Ejemplo de Experimento DOE factorial (2^3=8)

Aun así, se da libertad al investigador para utilizar la variante de diseño factorial que estime conveniente lograr sus objetivos.

Replicas

Es importante aclarar que para realizar una evaluación consistente y creíble que permita tomar decisiones y llegar a conclusiones de valor es necesario hacer varias réplicas de cada probeta, registrando el resultado de cada 1 de ellas en las pruebas establecidas.

Se sugiere un mínimo de 3 replicas por experimento, pero con un ideal de al menos 10 réplicas, si los recursos de tiempo o económicos son escasos se recomienda realizar el análisis con 3 réplicas e ir aumentando las réplicas de forma gradual si los experimentos demuestran no ser conclusivos, como puede ocurrir en este tipo de experimentos.

Hipótesis

Una vez definidas las variables que se utilizaran en este experimento, corresponde la asignación de hipótesis para el experimento, particularmente para cada ensayo o evaluación a la que se someterá el material MBF.

Para combinatoria de efectos causados por las variables se asignan 2 Hipótesis:

- **H_0**: Hipótesis Nula; entendiéndose como la Hipótesis inicial del experimento.
- **H_A**: Hipótesis Alternativa; entendiéndose como la Hipótesis de respaldo para el experimento.

Esto se debe a que, de comprobarse la falsedad de la **H_0**, se podrá asumir que la **H_1** es verdadera.

Por ejemplo: en el caso de un experimento factorial de $(2^3 = 8)$ con variables A(1),A(-1); B(1),B(-1) y

C(1),C(-1), sometidas un experimento cuya variable de respuesta sea R, se tendrían las siguientes Hipótesis Nulas y Alternativas:

Hipótesis Nula

- **H_0(A - R):** el efecto particular de la Variable A sobre la variable de respuesta R es = 0.
- **H_0(B - R):** el efecto particular de la Variable B sobre la variable de respuesta R es = 0.
- **H_0(C -R):** el efecto particular de la Variable C sobre la variable de respuesta R es = 0.
- **H_0(AB - R):** el efecto combinado de las Variables A y b sobre la variable de respuesta R es = 0.
- **H_0(AC - R):** el efecto combinado de las Variables A y C sobre la variable de respuesta R es = 0.
- **H_0(BC - R):** el efecto combinado de las Variables B y C sobre la variable de respuesta R es = 0.
- **H_0(ABC - R):** el efecto combinado de las Variables A, B y C sobre la variable de respuesta R es = 0.

Hipótesis Alternativa

- **H_A(A - R):** el efecto particular de la Variable A sobre la variable de respuesta R es ≠ 0.
- **H_A(B - R):** el efecto particular de la Variable B sobre la variable de respuesta R es ≠ 0.
- **H_A(C -R):** el efecto particular de la Variable C sobre la variable de respuesta R es ≠ 0.
- **H_A(AB - R):** el efecto combinado de las Variables A y b sobre la variable de respuesta R es ≠ 0.
- **H_A(AC - R):** el efecto combinado de las Variables A y C sobre la variable de respuesta R es ≠ 0.
- **H_A(BC - R):** el efecto combinado de las Variables B y C sobre la variable de respuesta R es ≠ 0.
- **H_A(ABC - R):** el efecto combinado de las Variables A, B y C sobre la variable de respuesta R es ≠ 0.

Análisis de Varianza:

Valores relevantes

Mediante análisis factoriales, se podrá determinar múltiples valores y factores estadísticos relativos a nuestros experimentos, pero para el desarrollo del material MBF, específicamente en el análisis del impacto de las variables, habrá 2 valores (por cada hipótesis) que nos serán relevantes para el análisis:

- **Valor P (*P. Value):*** *este valor nos indica la probabilidad estadística de que el resultado obtenido no sea fiable debido a valga la redundancia, un error estadístico o factores externos que alteraron el estudio*
- **Efectos Estandarizados:** Son las magnitudes de los efectos relativos a cada variable y a sus combinaciones.
    - **Efectos Principales:** Efecto individual de las variables sobre la variable de respuesta
    - **Efectos Interacciones:** Efecto combinado de las variables sobre la variable de respuesta

Rechazo de la Hipótesis Nula:

Una vez obtenido los valores relevantes lo primero que se debe hacer, antes de determinar si este efecto es un resultado, es comparar el P. Value de cada hipótesis con el valor de significación estándar; alfa(α) = 0,05 , entonces si:

- **Valor P(Variable – R) ≤ α**
    - **se rechaza H_0**(Variable – R)
    - **Se acepta H_A**(Variable – R)
- **Valor P(Variable – R) > α**
    - **Se acepta H_0**(Variable – R)

En los casos donde la Hipótesis Nula **NO** sea rechazada, se entenderá que no se puede continuar con el análisis de dicha variable en el experimento o ensayo de respuesta (R) y los valores de Efecto principal o Efecto de Interacción correspondiente no se pueden interpretar como válidos.

En tal caso se recomienda aumentar el numero de replicas para el experimento y volver a realizar el análisis factorial nuevamente.

Por otro lado, en los casos culla Hipótesis Nula **SI** sea rechazada, podemos concluir que, según este experimento o ensayo de Respuesta (R), los Factores cuya hipótesis nula fue rechazada tienen impacto significativo en el rendimiento del material (por si solos o en conjunto, dependiendo de la hipótesis rechazada).

Sofwares de análisis entregan…

Gráficas Factoriales

Una vez detectadas las variables cullos efectos tienen relevancia en la investigación se hace necesario identificar la magnitud y sentido de dichos efectos, es decir, que tan grande es el impacto e identificar si el aumento en la variable productiva genera un aumento en la variable de respuesta o viceversa, efecto positivo o negativo, respectivamente.

La mejor forma de identificar y analizar estos valores, es mediante graficas factoriales, se usaran principalmente 4 tipos de graficas factoriales, para esta labor.

Las gráficas son las siguientes:

Diagrama de Pareto – Efectos estandarizados

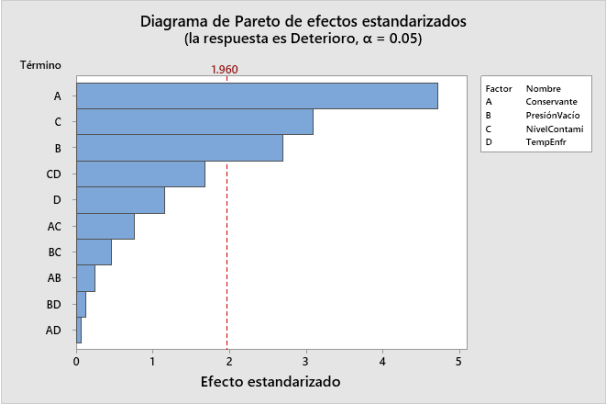


Figura 18 - Ejemplo de Diagrama de Pareto - Propiedad de MiniTab, web de ayuda

El diagrama de Pareto muestra los valores absolutos de los efectos estandarizados desde el efecto más grande hasta el efecto más pequeño. La línea de referencia para significancia estadística en el diagrama de Pareto se traza en Z, donde Z es el cuantil (1 - α / 2) de una distribución normal estándar. (web ayuda minitab, diagrama de Pareto, https://acortar.link/at9PL2)

Gracias a este grafico se identificar rápidamente las variables con mayor impacto, ya sea positivo o negativo, así mismo nos indica que las variables bajo la línea de referencia no tienen un efecto considerable para la investigación.

Con la información que se obtiene solo resta identificar la dirección de estos efectos.

Gráfico de efectos principales - Medias ajustadas

Para identificar los efectos particulares de cara variable se puede recurrir al gráficos efectos particulares, este grafico nos presenta de forma sencilla, las medias ajustadas de las variables de respuesta de cada replica en relación al valor mínimo y máximo de cada variable, de esta forma se puede aprecia como se comporta la variable de respuesta en los extremos de cada variable, así mismo se nos presenta una pendiente entre ambos puntos, de forma que si la pendiente es positiva, el efecto será positivo y de lo contrario, si la pendiente en negativa, el efecto de esa variable será negativo de sobre la variable de respuesta estudiada.

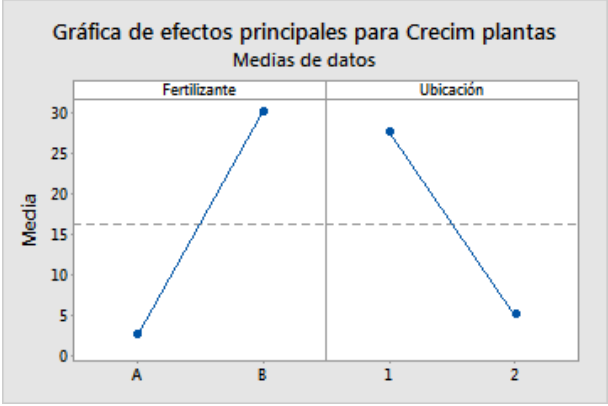


Figura 19 - Grafico de efectos principales - Propiedad de MiniTab, web de ayuda

Gráfico de efectos de Interacciones - Medias ajustadas

El caso del grafico de efectos de interacciones es muy similar al anterior, pues también busca entender el efecto de las variables, sobre la variable de respuesta, pero esta vez, de las variables interactuando entre sí (AB, AC, BC).

En este caso nos debemos fijar en las pendientes de los factores emparejados, de manera tal que, si estas son muy similares, incluso paralelas, podemos afirmar que la interacción entre ambas variables es despreciables, por el contrario si la pendiente entre ambas variables es muy diferentes sabremos que el efecto de ambas variables interactuando es muy elevado.

Todos estos efectos se pueden corroborar con el diagrama de Pareto.

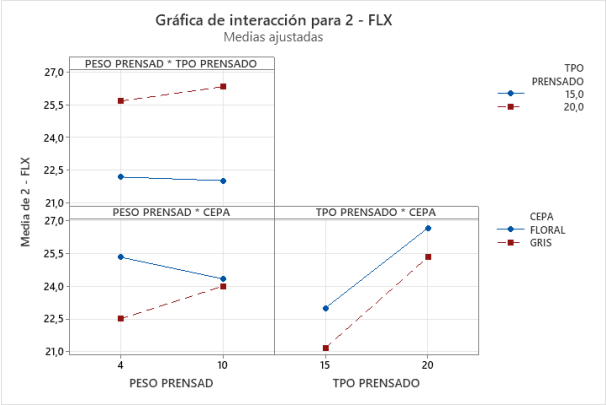


Figura 20 - Grafico de efectos de interacciones - elaboración propia con MiniTab

Gráfico de Cubo – Medias ajustadas

Este es uno de los gráficos mas importantes para continuar con el diseño del material, ya que nos permite identificar los resultados medios de cada 1 de las 8 probetas resultantes de las combinaciones de las 3 variables en sus valores máximo y mínimos, de esta forma podemos interpretar gráficamente donde se encuentra el punto óptimo para alcanzar la variable de respuesta con mejor desempeño.

Una vez identificada la media ajustada de resultados más favorable para el material, de entre los 8 vértices del cubo, solo resta identificar que variables aumentar o reducir para optimizar el material

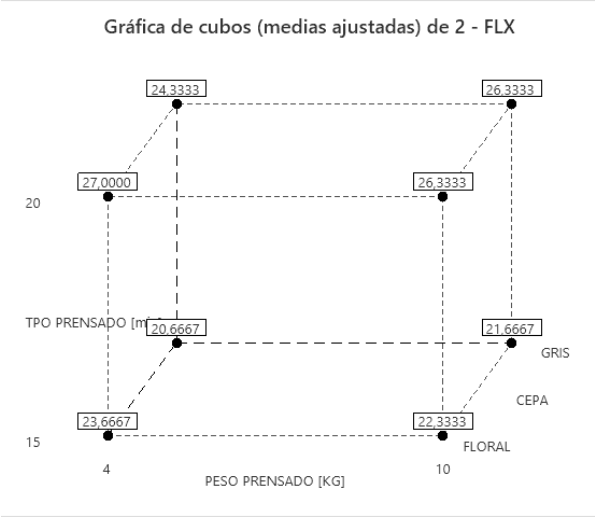


Figura 21 - Grafico de Cubo - 3 Variables - elaboración propia con MiniTab

Ensayos y sistema de medidas

Uno de los objetivos de este proyecto es el

> III. Establecer un **método de experimentación** para el biomaterial a base de micelio, considerando las **variables productivas y compositivas** del biomaterial en su **desempeño físico-mecánico.**

En un comienzo, se planteó la utilización de ensayos estándares según las normas ASTM, fabricar probetas con las medidas estándares para dicha tarea, sin embargo, con el transcurso de la investigación se comprendió que se podría ahorrar importantes cantidades de recursos si se diseñaba una forma de evaluar el desempeño de las muestras producidas en relación con sus competidores y los factores que contribuyen en el desempeño de estas propiedades mecánicas.

Sistema de medidas

Ya que este método está diseñado para biomateriales que se encuentra aún en fases tempranas de desarrollo, se comprendió que tener la posibilidad de detectar cuales son los procesos o condiciones que tienen impactos positivos o negativos en el desempeño del material es igual o incluso más relevante que saber exactamente las resistencias mecánicas (según la norma ASTM) de un material que no se encuentras en su etapa final de desarrollo, lo que implica que seguirá cambiando en composición y procesos y por consiguiente, seguirá cambiando sus propiedades físico-mecánicas en el corto y mediano plazo.

Aun así, se reconoce que sería deseable tener esa información concreta, pero, se entiende que es posible conducir la investigación y el desarrollo sin tener la certeza exacta de resistencia a la tracción/flexión/compresión exacta del material, pero si una certeza de cuanto aguanta cada 1 en relación con las demás, es decir, un sistema de evaluación comparada.

Si se ejecuta correctamente, esto podría permitir al investigador generar los datos necesarios para

ejecutar un análisis factorial e identificar los patrones que afectan el desempeño del material.

Es por esta razón que se opta por diseñar 2 sistemas de medición y maquinas simples con el material disponible en el taller de IDP y fácil de replicar, que permite realizar los 3 ensayos mecánicos más relevantes en el estudio de materiales del tipo espuma de base biológica (MBF).

Los ensayos que se buscar replicar son:

I. Flexión
II. Tracción
III. Compresión

Al no contar con la maquinaria estándar de ensayo ni sensores especializados que midan las magnitudes físicas ejercidas durante los ensayos, se requiere establecer parámetros de medición que permitan comparar el desempeño de cada probeta con las demás probetas, en los ensayos de prueba.

Flexión & Tracción: Adición modular de peso

Para las pruebas de Flexión y Tracción se decidió optar por sistemas de adición de pesos en cantidades establecidas (modulares), es decir, se someterá a un esfuerzo flector y tractor (como corresponda respectivamente en cada ensayo) el cual será dado a partir de un peso inicial determinado por los materiales de la maquinaria y de los complementos que esta requiera para funcionar (mínimo posible); luego si la probeta superaba la prueba inicial, se agrega un peso modular (200 [gr] por ejemplo) a la vez, hasta el punto en que la probeta ceda al peso aplicado sobre ella en forma de tracción o flexión, una vez esto ocurre se registra el número de veces que se agregó un nuevo peso modular hasta que la probeta no resistió la fuerza, siendo este número su clasificación en el ensayo de tracción o flexión.

Compresión: Estado inicial vs final

Por otro lado, para el caso del ensayo de compresión se propone establecer un peso y tiempo de compresión fijos, para luego medir la diferencia entre el espesor inicial y el final de cada probeta en la sección comprimida, obteniendo de esta forma un porcentaje de deformación para evaluar.

Maquinas del ensayo

Como se mencionó anteriormente se desarrollarán 2 máquinas o implementos para realizar 3 ensayos mecánicos, de esta forma, 1 de ellas servirá para realizar 2 ensayos y la última para un único tipo de ensayo.

Maquina de Flexión y Compresión

La primera de estas maquinarias es la que se utilizará para realizar los ensayos de flexión y compresión.

Esto se debe a que durante el proceso de diseño se detectó que se podrían utilizar el mismo sistema de riel para ejercer una fuerza perpendicular al plano de la superficie, la cual, dependiendo de los apoyos de la probeta, causara una respuesta de flexión o compresión.

A continuación, se presentan de forma gráfica como el funcionamiento conceptual de los ensayos de Flexión y Compresión, el cual fue usado para diseñar la máquina que permite realizar ambos ensayos:

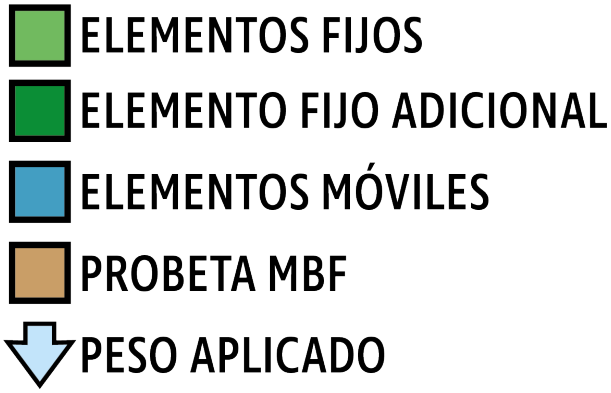


Figura 22 - Glosario: síntesis de funcionamiento ensayos caseros

Funcionamiento ensayo de Flexión

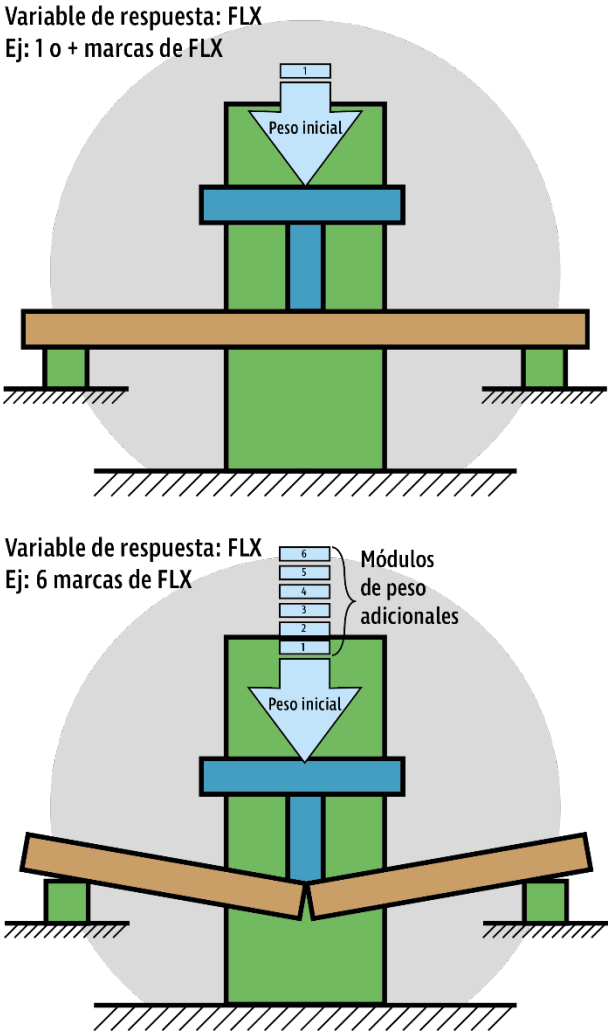


Figura 23- Síntesis de funcionamiento ensayo de flexión - elaboración propia

Se observa en la figura 23 como se genera un esfuerzo flector en la probeta mediante la técnica de 3 puntos, donde los 2 de los extremos se

mantienen completamente fijos, mientras que el de en medio avanza perpendicularmente contra la probeta, de esta forma, se seguirá aumentando el peso en dosis modulares, hasta una vez que la probeta supere su umbral de resistencia cadera y se registrara la marca alcanzada, en la figura se pone de ejemplo que la probeta cede luego de agregar 6 módulos de peso, es decir, la variable de respuesta para el ensayo de flexión en ese caso es de 6 [FLX].

Funcionamiento ensayo de Flexión

Como se mencionó anteriormente, el funcionamiento de la maquinaria de flexión es compatible con la de compresión, como se observa en la síntesis de funcionamiento (figura por definir). Como se observa en la figura 24 solo vasta agregar un elemento fijo adiciona (extraíble) para remplazar los 3 puntos de apoyo por una superficie plana y liza donde colocar la probeta, de esta forma se genera una fuerza puntual sobre la probeta, la que con el suficiente peso y tiempo provoca una deformación medible en la zona de presión.

De este ensayo se obtendrá la variable de respuesta Dc el cual se calcula mediante la siguiente fórmula:

$Dc = (L0 - L1)/L0)$

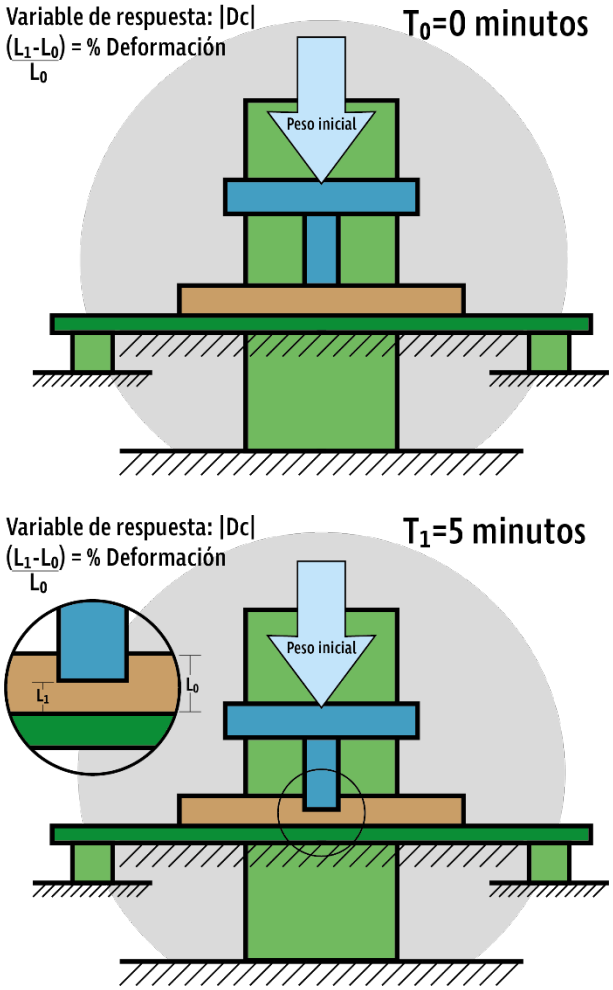
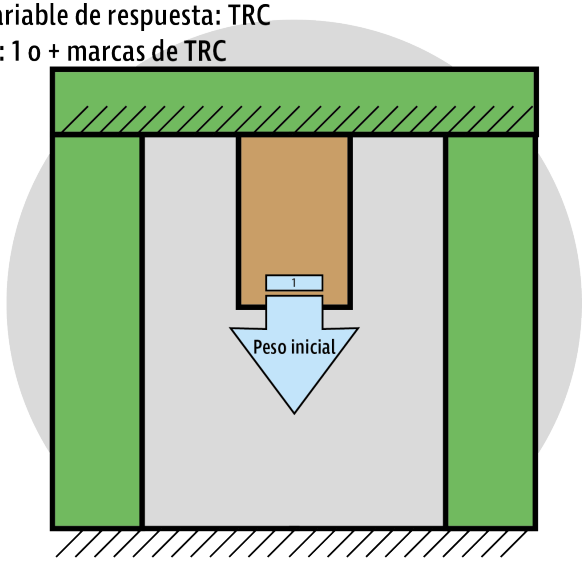


Figura 24 - Síntesis de funcionamiento ensayo de Compresión - Elavoración propia

El valor resultante de esta ecuación siempre es un valor negativo, por esta razón para facilitar el uso de las herramientas de análisis se aplicará un valor absoluto al Dc resultante (|Dc|).

Funcionamiento ensayo de tracción:

Variable de respuesta: TRC
Ej: 1 o + marcas de TRC



Variable de respuesta: TRC
Ej: 6 marcas de TRC

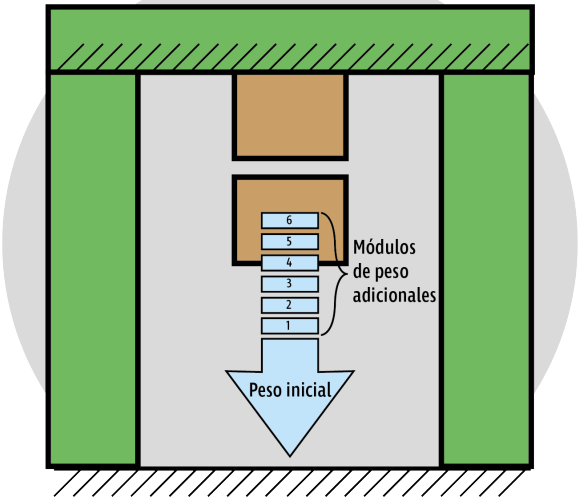


Figura 25 - Sintesis ensayo de tracción

Al igual que en el ensayo de flexión para el este ensayo se utilizará el método de la adición de peso modular, hasta que la probeta se corte por tracción definitivamente.

Con eso en consideración se diceno un mecanismo para fijar un extremo de la probeta a un arco solido, mientras que el otro extremo de la probeta se le agregaba peso de forma gradual como se describió anteriormente, de esta forma alcanzando el punto de fractura por tracción y registrándolo

Diseño de las maquinas

A continuación, se describe el diseño manufacturado de los mecanismos para los 3 tipos de ensayos.

Diseño en base a recursos mínimos

El diseño de ambos mecanismos fue pensado en base a lo retazos de acero presentes en las instalaciones del edificio de IDP, por esta razón se procuró utilizar los menos recursos posibles, lo que afecto en el tamaño y comodidad de las maquinas, dificultado su uso en la experiencia práctica.

Flexión y Compresión

La primera de estas maquinarias es la que se utilizará para realizar los ensayos de flexión y compresión.

Figura 26 - Detalle ruedas para el riel

Esta conciste en un pilar central que sirve de riel para un mecanismo de 3 ruedas (figura 26) que se aprobecha de la geometria para aferrarse al riel cuando se coloca peso en uno de los extremos especialmente diseñado para ese propocito.

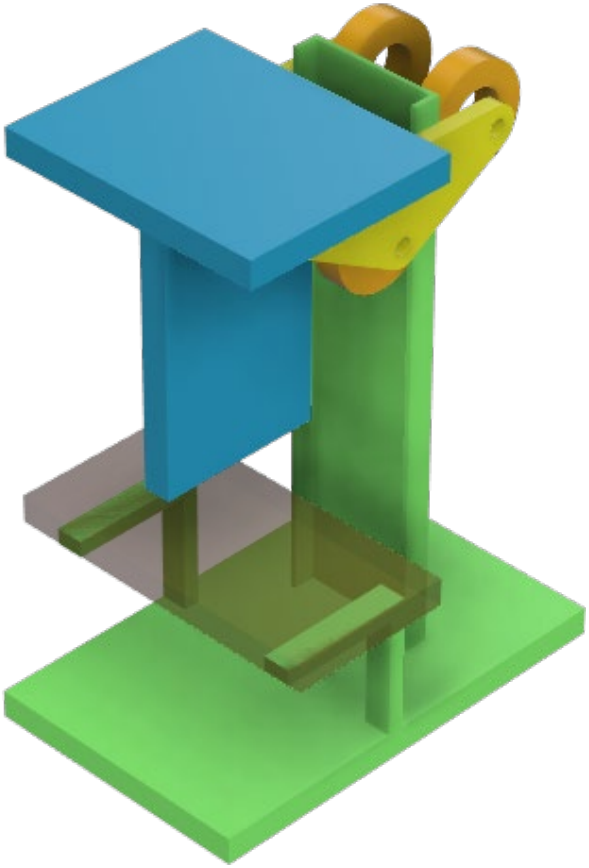


Figura 27 - diseño 3d de máquina de Flexión y compresión

En dicho extremo tiene una plataforma con forma de T para colocar el peso al que quieres someter la muestra , dicha plataforma T al avanzar por el riel ejercer una fuerza sectorizada sobre la probeta deformandola, dependidno de la prueba que se

esté realziando, es decir flectandola o compactando una zona de la probleta, para realizar el ensayo de flexión la probeta se suspende sobre 2 barras paralelas que detienen su movimiento en sus 2 extremos (Figuras 28, 29 y 30), probocando la flexión cuando el peso sobre la superficie T es superior a la resistecia de la probeta.

Para el esnayo de compresión se coloca una cama de un material rigido entre la probeta y las barras paralelas para evitar la deformación, generando una compresión en el medio del probeta (figura 31).

Figura 28- Ensayo de Flexión vista frontal

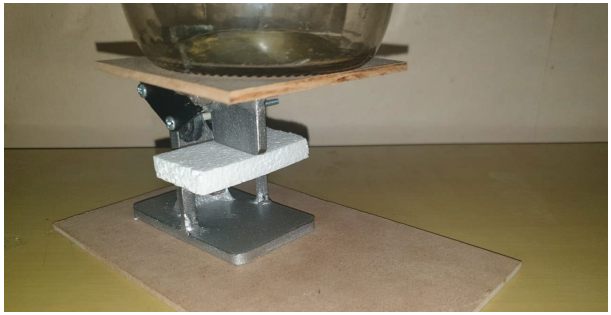


Figura 29 - ensayo flexión, muestra de control

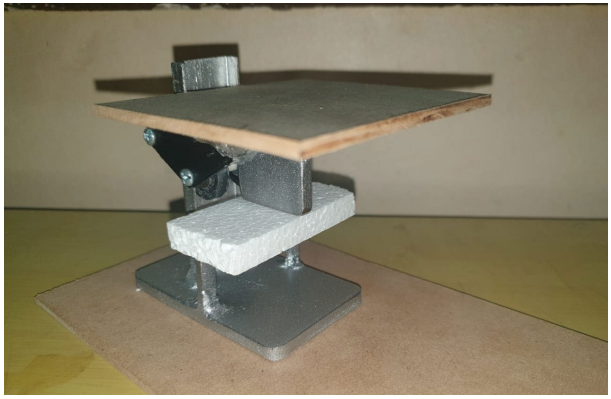


Figura 30 - Ensayo Flexión - vista diagonal

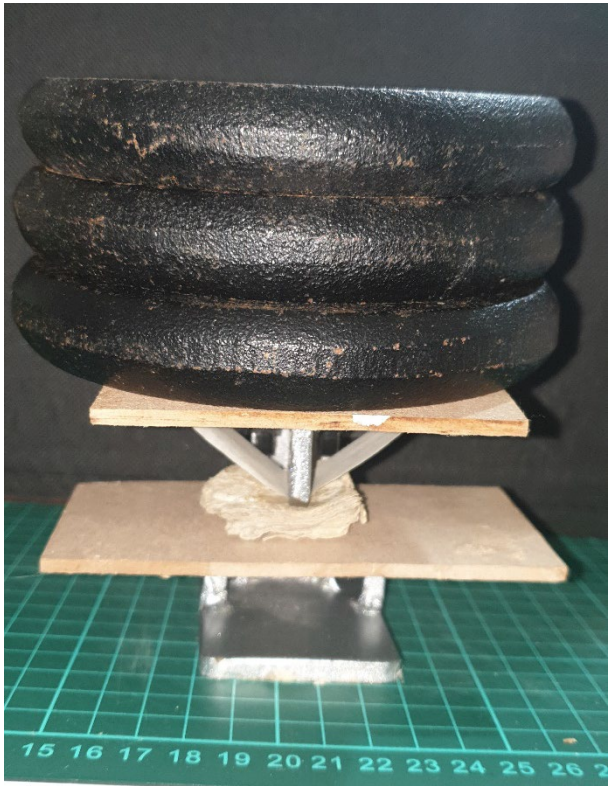


Figura 31 - Ensayo Compresión - Vista frontalTracción

Tracción

La segunda de las Maquinas para ensayos es la de tracción, la cual consiste en 2 pretinas ajustables que sujetan la probeta de ensayo, una de estas pretinas está sujeta a un arco de metal, de esta forma la probeta queda suspendida en el centro del arco, mientras que del otro extremo de la pretina se colocan cargas puntuales hasta generar la fractura de la probeta.

En la figura 32 podemos apreciar la pretina y el arco donde se ancla la probeta para la tracción.

Figura 32 - Maquina tracción, luego del primer ensayo

Diseño del Experimento

Para diseñar un experimento acorde a las necesidades del caso se recomienda el siguiente proceso

- **Identificar industria de interés o problemática a resolver**
    - **Detectar materiales que compitan con el Biomaterial en desarrollo**
- **Identificar necesidades funcionales del material**
- **Identificar propiedades físico-mecánicas claves**

Una vez clara la industria o la necesidad que se desea abarcar con las correspondientes propiedades físico-mecánicas que se busca alcanzar o superar se debe proponer en base al proceso productivo y los materiales a disposición un DOE de 3 o más factores, como se describe en el capítulo anterior.

Ruta de investigación

Entre los objetivos de esta investigación se encuentran:

I. Identificar y clasificar los procesos y condiciones de **fabricación de un biomaterial a base de micelio**.

II. Diseñar una **estación de fabricación de biomateriales** a base de micelio que cumplan con las **condiciones de fabricación/producción.**

III. Establecer un **método de experimentación** para el biomaterial a base de micelio, considerando las **variables productivas y compositivas** del biomaterial en su **desempeño físico-mecánico.**

Por este motivo, se creó una sugerencia de hoja de ruta, para quienes quieran usar esta memoria como punto de inicio en su investigación sobre el desarrollo de biomaterial de micelio.

En esta ruta se encuentra los principales ejes a investigar, si se busca encontrar el camino para perfeccionar y entender las propiedades el material sus diferentes composiciones y procesos.

Como sabemos el proceso de micotectura tiene varios factores que modifican el resultado final del MBF, estos son:

A. Tipo de Cepa
    a. Tipo de Pudrición (alimento del hongo)

B. Tipo de Sustrato
    a. Material

C. Formato Sustrato
    a. Orden/Estructura de los fragmentos
    b.

D. Tiempo de cultivo

E. Tiempo de Moldaje
F. Proceso de desactivación:
    a. Prensado en caliente
    b. Secado Solar o Aire

A continuación, se propondrá una ruta para la investigación del material, es decir las diferentes combinaciones de los factores mencionados y el orden en que se avaluaran, es decir, se describirán los distintos tipos de sustratos a utilizar, las cepas de micelio entre otros factores que el autor espera investigar y testear en esta y futuras investigaciones (esta investigación tendrá como foco solo 2 experimentos principales).

Objetivos de ruta

El primer objetivo y el más importante en el corto plazo es el de identificar como se logra el mejor desempeño de las cepas de Pleurotus Ostreatus Floral y Gris, en el proceso de micotectura, para esto se deberá evaluar su desempeño con diferentes sustratos, procesos y metodologías de producción.

En una primera instancia para el marco de esta investigación se buscó estudiar dichas cepas de micelio sobre sustrato de cartón de Huevo, planteando las bases para futuras investigaciones de la misma cepa en diferentes sustratos, al mismo tiempo también se pretende estudiar el impacto que tiene el ordenamiento interno de los trozos de sustrato, buscando generar diferentes estructuras isotrópicas y anisotrópicas.

Otro punto crucial en la investigación del material está en sus tiempos de producción, que incluyen el tiempo de conformado al interior del molde y el de crecimiento superficial, sin contar el tiempo de cultivo del micelio en el sustrato antes del moldaje

Finalmente se propuso un método de desactivación mediante prensado caliente, el cual también debe ser evaluado en este proyecto.

Una vez evaluadas todos estos aspectos con las 2 Cepas de micelio a trabajar se puede dar un siguiente paso a probar otras cepas de micelio repitiendo el proceso con las variantes más competitivas.

Diseño de ruta

Primeras iteraciones corto plazo

- Tipo de Cepa
    - Hongo Ostra Gris
    - Hongo Ostra Floral
    - Trametes Versicolor
- Tipo de Sustrato
    - Cartón de Huevo
    - Trigo de agro-residuos
    - Aserrín
    - Mix sustratos

- Formato Sustrato (siempre manteniendo un tamaño similar entre los trozos del sustrato en cada prueba)
    - Sin orden
    - Laminar / capas superpuestas
    - Fibras paralelas
    - Fibras cruzadas
    - Fibras irregulares
    - Estructuras complejas
- Tiempo de cultivo
    - 6 a 8 días
    - 1 a 2 semanas
    - 2 a 4 semanas
- Tiempo de Moldaje
    - 6 a 8 días
    - 1 a 2 semanas
    - 2 a 4 semanas
- Proceso de desactivación:
    - Prensado en caliente
    - Secado Solar o Aire

Ruta:

1er Hito de ruta

En primeras instancias se experimentará con las cepas Floral y Gris de la variedad de micelio Pleorotus Ostreatus (o Hongo Ostra), en esta investigación se espera comparar el desempeño de ambas cepas, el proceso de cultivo de 6 y 8 días y la diferencia entre un formato laminas y otro sin orden en el sustrato.

Al final de este Hito se podrá definir un método estándar de formato de sustrato y cultivo para hitos posteriores

2do Hito de ruta

En este segundo hito de la investigación se explorará el proceso de prensado en caliente como método de secado y desactivación de los bloques de micelio (MBF).

Partiendo del hito anterior se establece un proceso estándar para el proceso estándar para las probetas de ambas variedades de cepas, las cuales serán sometidas a diferentes tiempos y fuerzas de prensado, este proceso permitirá observar una tendencia que en la calidad del prensado a medida que aumenta o disminuye la fuerza y el tiempo de prensado.

Este hito permitirá al autor diseñar otros experimentos de prensado con variantes de fuerza y tiempo que se ajusten mejor a las Óptimas para un mejor desempeño del biomaterial.

3er Hito de ruta

Este experimento tendrá como objetivo probar una cantidad acotada pero eficiente de tiempos, fuerzas y temperaturas de prensado, con el objetivo de poder definir un proceso de prensado caliente

estándar para el resto de las investigaciones relacionadas a estas 2 cepas

4to Hito de ruta

Luego se realizarán otras pruebas para ajustar con mayor exactitud los tiempos de cultivo y moldaje hasta obtener un bloque completamente estándar y funcional, manteniendo el mismo tipo de sustrato.

5to Hito de ruta

En este punto se plantean nuevos experimentos, pero con el proceso de prensado y cultivo completamente estandarizado, permitiendo probar con más exactitud los efectos del tipo de sustrato y diferentes formatos de ordenamiento.

Al final de este proceso se debería tener claridad de las propiedades de ambas cepas de micelio en el sustrato de cartón de huevo en sus distintos formatos de aplicación

6to Hito de ruta

Una vez estudiadas ambas cepas de micelio se podrán categorizar según sus propiedades definiendo en que situaciones es recomendable realizar cada combinación de:

cepa / sustrato / formato.

7mo Hito de ruta

Volver a realizar el proceso de prueba, con prensado y cultivo estándar, pero con nuevos sustratos, evaluando los sustratos de:

- Cartón
- trigo de agro-residuos
- aserrín
- Mix de sustratos

Con los distintos formatos propuestos,

Al final de este experimento se podrán clasificar los diferentes sustratos y formatos según sus desempeños y posibles aplicaciones.

8vo Hito de ruta

Repetir proceso desde el 5to hito, pero con nuevas cepas de micelio como el Trametes versicolor.

Primeros Experimentos

Para este proyecto se definieron 2 experimentos iniciales, que nos ayudaran a encaminar el resto de la investigación, para esto el autor definió un punto de partida acorde con el contexto en el que se desarrolla el proyecto, es decir como parte de un futuro emprendimiento e iniciativa estudiantil, para la cual se obtuvieron fondos con los cuales se pudo adquirir 2 cepas de micelio Pleurotos Ostreatus, de variantes Gris y Floral, por esta razón el primer objetivo de la ruta de investigación es validar cual es el desempeño de estas 2 cepas de micelio en la fabricación de MBF con sustrato de cartón de huevo, el cual fue seleccionado por ser una fuente reciclable de celulosa, bajo coste y suficientemente abundante para realizar la investigación.

Junto con probar el desempeño de las cepas de micelio es de alta prioridad probar el proceso de

fabricación de las planchas de MBF, entre los que encontramos, el tiempo que estas deben estar dentro y fuera del molde y más importante aún, si el sustrato utilizado es compatible con la técnica de producción y el tipo de hongo utilizado.

Otro punto fundamental se encuentra en el proceso de desactivación del micelio, el cual para esta investigación será mediante prensado en caliente, razón por la que el segundo experimento se enfocará en evaluar 2 de las variantes de este proceso, así como el primer experimento evaluará las variantes del formato del sustrato y los tiempos de cultivo y moldaje.

CAPÍTULO 2: VALIDACIÓN DEL MÉTODO

INTRODUCCIÓN

Este capítulo tiene como objetivo cumplir con el último de los objetivos secundarios propuestos en esta investigación.

IV. **Evaluar el método de experimentación** del biomaterial por medio de una **experiencia práctica.**

Por esta razón se diseñaron 2 experimentos de validación, el primero de ellos no se pudo completar por motivos de fuerza mayor, mientras que el segundo permitió comprobar y validar el método

RECURSOS PARA LA VALIDACIÓN

Parte clave de esta investigación consistió en adaptar los recursos con los que se contaba para replicar de la mejor forma posible las condiciones ideales propuestas en el método, misma razón por la que se diseñaron maquinarias caceras para realizar los ensayos.

Parte del valor de esta memoria reside en que cualquiera con la dedicación necesaria y unos pocos recursos pueda realizar el desarrollo de su propio material.

DISEÑO DE LOS EXPERIMENTOS

EXP 1

El experimento 1 se centró en el proceso de cultivo y moldaje de las planchas de MBF, siendo un DOE de 3 factores o factorial $(2^3 = 8)$ con las siguientes características:

Variables:

- Factor A = Área Aproximada de los trozos de cartón:
  - Mínimo (-1) = 1 [cm2]
  - Máximo (1) = 9 [cm2]
- Factor B = Tiempo en molde:
  - Mínimo (-1) =6 [días]
  - Máximo (1) = 8 [días]
- Factor C = Cepas de Micelio Pleurotus Ostreatus:
  - C(-1) = Floral
  - C(1) = Gris

Se debe aclarar que el factor C tiene variables <u>no Numéricas</u> a diferencia de A y B donde se podría inferir y/o proyectar el rendimiento de sus factores intermedios.

En otras palabras, en el caso se este factor, solo se puede apreciar cual obtiene un mejor resultado que el otro.

Para el experimento también se definen las siguientes constantes comunes en el proceso de fabricación de cada probeta:

Constantes

IV. Sustrato: Cartón de caja de huevo

V. 40 [gr] de sustrato inoculado con micelio por probeta.

VI. Tiempo de crecimiento sin tapa: 4 [días]

VII. Tiempo de crecimiento superficial (fuera del molde): 4 [días]

VIII. Proceso de prensado:

- Temperatura decreciente:
  - 110 a 60 [C°]
- Fuerza del prensado:
  - 4,6 [kg]
- Tiempo de prensado:
  - 20 [minutos]
  - 10 [minutos] por lado

Para definir estas magnitudes y variables se estudió la literatura, y se defino un margen de variación en torno a lo descrito en dicha literatura.

Los días de moldaje se definieron en base al proceso descrito en (Kshitij Joshi, 2020) donde se aplica un tiempo de moldaje de 7 días, dándole al experimento una variabilidad de (+-) 1 día en relación con la referencia.

La temperatura de prensado se definió en un margen decreciente de 110 a 60 [C°] ante la imposibilidad de mantener una temperatura constante se optó por establecer de calentado sobre los 110 [C°] desconectado de la fuente de calor, monitoreo hasta los 110 [C°], punto en el que se comienza el prensado durante los 10 primero minutos con la fuente de calor apagada, tiempo en que la temperatura decrece hasta los 60 [C°] aproximadamente.

Si bien alguna literatura sugiere prensado entre 200 [C°] y 160 [C°] (Liu, 2019) manejar estas temperaturas complejizaba el desarrollo del experimento, generando además mayores diferencias entre la temperatura final de los diferentes prensados, sin embargo, otros autores sugieren una temperatura de 90 [C°] para el secado de los bloques de micelio (Kshitij Joshi, 2020), por esta razón se buscó que la temperatura durante el prensado este cerca de los 90 [C°] gran parte del proceso, siendo la prueba de 110 [C°] hasta 60 [C°] la que mejor logro ese objetivo. Este mismo criterio se escogió para el prensado de la 2da experimento, pero con algunas modificaciones.

Probetas Experimento 1

Las probetas se fabricaron mediante un proceso de pasteurización e inoculación estándar, con sustrato de cartón de huevo en 4 frascos distintos, 2 con **cepa C(1) = Gris** y 2 con cepa **C(-1) = Floral**, además 2 de los frascos tenían sustrato en trozos de un área mínima **A(-1) = 1 [cm2]** y los otros 2 de

área máxima **A(1) = 9 [cm2]** repartidos de forma que haya un tipo de sustrato por cada cepa de micelio como se observa en la figura 33.

Luego estos sustratos con sus respectivos micelios fueron repartidos en 4 moldes de doble cavidades que a su vez estaban repartidas en 2 grupos de 2 moldes agrupados por el factor C, es decir en cada molde doble se moldearán 2 probetas de la misma cepa (Floral o Gris) pero con un sustrato distinto A (-1) y A(1).

Es importante aclarar que en una primera instancia se esperaba que el relleno de los moldes fuera para todas las probetas completamente desordenada, sin un orden en particular de los trozos se sustrato, es decir que la cavidad del molde se llenara con el sustrato sin un orden o distribución especifico en su interior.

Sin embargo para mantener iguales la cantidad de sustrato colonizado en cada probeta, es decir 40 [gr], se tuvo que optar por generar un orden en la colocación de los trozos de sustrato en forma laminar en el interior del molde en el caso de las probetas con factor A(1), ya que de lo contrario, el volumen de los 40 [gr] del sustrato A(1) era mucho mayor al del sustrato A(-1) excediendo la capacidad del molde, este ordenamiento implica que las probetas del tipo A(1) y A(-1) no solo presentan un tamaño diferente de sustrato, también presentan un ordenamiento interno diferente como se observa en figura 27 otorgándoles muy probablemente un comportamiento mayormente Anisotrópico a diferencias de las probetas del factor A(-1) que tendrían propiedades Isotrópicas.

Las combinaciones de las variables con las que se fabricaron las 8 probetas probeta se organizaron según la metodología como lo muestra la tabla 3:

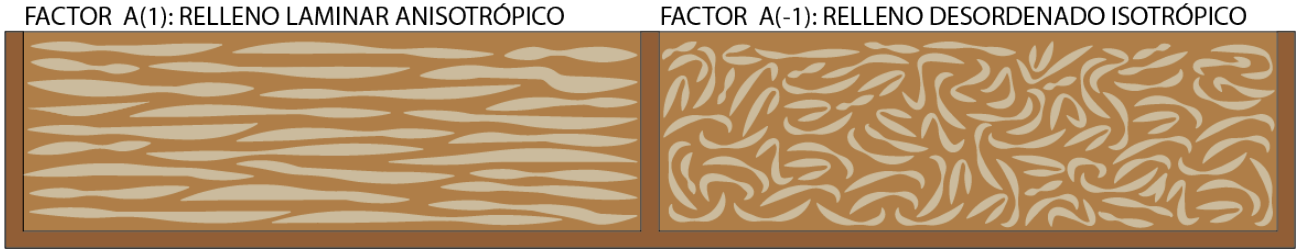


Figura 33 - Comparación de rellenos Factor A - Vista en corte de un molde de doble cavidad

EXP 1	PROBETAS DE ENSAYO FLORAL Y GRIS			
MOLDE	FACTORES			REP = 1
	A: Área Aprox	B: Tpo. en molde	C: Cepas Micelio	TAG
1	1 [cm2]	6 [días]	FLORAL	F1-1
2	9 [cm2]	6 [días]	FLORAL	F2-2
3	1 [cm2]	8 [días]	FLORAL	F1-3
4	9 [cm2]	8 [días]	FLORAL	F2-4
5	1 [cm2]	6 [días]	GRIS	G1-5
6	9 [cm2]	6 [días]	GRIS	G2-6
7	1 [cm2]	8 [días]	GRIS	G1-7
8	9 [cm2]	8 [días]	GRIS	G2-8

Tabla 3 - Experiencia 1: Probetas de Ensayo Floral y Gris

Las etiquetas fueron designadas en la siguiente forma:

(Tipo de cepa) (tipo trozo) – (# de molde)

Donde la cepa Gris se representa con una “G” y la cepa Floral con una “F”; El Tipo de trozo pequeño se representa con el “1” y “2" al trozo grande, los moldes esta enumerados del 1 al 8.

Para realizar el proceso de fabricación de las probetas se diseñó un cronograma de fabricación para cada molde y sus respectivas probetas.

Cronograma de fabricación

Se organizo el cronograma como se muestra en la tabla 4

	TIEMPO [días]						
TAG	0	2	4	6	8	10	12
F1-1	IN-F	A.MLD	[...]	C.SUP	[...]	D.P.P	
F2-2	IN-F	A.MLD	[...]	C.SUP	[...]	D.P.P	
F1-3	IN-F	[...]	A.MLD	[...]	C.SUP	[...]	D.P.P
F2-4	IN-F	[...]	A.MLD	[...]	C.SUP	[...]	D.P.P
G1-5	IN-G	A.MLD	[...]	C.SUP	[...]	D.P.P	
G2-6	IN-G	A.MLD	[...]	C.SUP	[...]	D.P.P	
G1-7	IN-G	[...]	A.MLD	[...]	C.SUP	[...]	D.P.P
G2-8	IN-G	[...]	A.MLD	[...]	C.SUP	[...]	D.P.P

Tabla 4 - Cronograma experiencia 1

La tabla 4, cronograma experiencia 1 tiene el siguiente glosario:

- **IN-F:** Inicio moldaje Floral
- **IN-G:** Inicio moldaje Gris
- **A.MLD:** Apertura Molde
- **C.SUP:** Crecimiento Superficial
- **D.P.P:** Desactivación por Prensado
- **[...]:** No realizar Acciones

EXP 2

El experimento 2 se centró en el proceso de desactivación por prensado de las planchas de MBF, siendo un DOE de 3 factores o factorial ($2^3 = 8$) con las siguientes características:

Variables:

- Factor A = Peso prensado:
  - Mínimo (-1) = 4 [kg]
  - Máximo (1) = 10 [kg]
- Factor B = Tiempo de presado por cara:
  - Mínimo (-1) = 15[min]
  - Máximo (1) = 20 [min]
- Factor C = Cepas de Micelio Pleurotus Ostreatus:
  - C(-1) = Floral
  - C(1) = Gris

Al igual que el experimento anterior, las variables C son <u>No Numéricas</u>, con todo lo que esto implica.

Para el experimento también se definen las siguientes constantes comunes en el proceso de fabricación de cada probeta:

Constantes

I. Sustrato: Cartón de caja de huevo
   - Trozos de un área aproximada de 9 [cm2]

II. 40 [gr] de sustrato y micelio por probeta.

III. Tiempo de crecimiento con tapa:
   - 6 [días]

IV. Tiempo de crecimiento sin tapa:
   - 3 [días]

V. Tiempo de crecimiento superficial (fuera del molde):
   - 6 [días]

VI. Proceso de prensado:
   - Protocolo de control de temperatura: [C°]
     - 15min: 110 - 70 - 123 - 93
     - 20 min: 110 - 70 - 123 - 78

Al igual que en el experimento 1 se definieron las constantes para el protocolo de prensado en base a los procesos descritos por Kshitij Joshi y compañía, en conjunto con los de Freek V.W. Appels y compañía.

Se utilizo el proceso usado en Exp 1 pero adaptado a los nuevos tiempos de prensado, es decir, para mantener una temperatura relativamente estable alrededor de los 90 [C°].

Protocolo de prensado casero - Exp 2

Para el experimento 2 se definió el siguiente protocolo de prensado:

1. Prender el sistema de calentado de la plancha.
2. Una vez superados los 110 [C°] de temperatura, se desconectado de la fuente de calor.
3. Se monitorea el descenso de la temperatura constantemente hasta los 110 [C°].

4. Alcanzado los 110 [C°] en enfriamiento constante, se comienza el prensado durante 10 minutos (hasta los 70,4 [C°] aproximadamente).
5. Se vuelve a encender la fuente de calor durante 1 minuto, (se alcanza una temperatura aproximada de 123,4 [C°]).
6. Se vuelve a apagar la fuente de calor hasta el final del prensado:
    a. 15 [min]: alcanzado los 93,5 [C°].
    b. 20[min]: alcanzando los 77,5 [C°].

Dimensiones del sustrato

Se estableció en 9 [cm2] el área de los trozos de cartón debido a que este factor tuvo mejor desempeño en el experimento anterior, así mismo se estableció un tiempo de moldaje de 9 días, 1 más sobre el de mejor desempeño tuvo en el experimento 1, se decide agregar un día más al cultivo debido a que se observó en dicha experticia falta de crecimiento de micelio superficial en algunas de las probetas, finalmente se determinan 6 días de crecimiento superficial ya al igual que en el caso anterior se observó que el tiempo de 4 días de la exp 1 no fue suficiente para que el micelio cubriera completamente el exterior de las probetas, como seria el ideal en el proceso de producción de bloques MBF.

Probetas Experimento 2

Al igual que en el primer experimento las probetas se fabricaron mediante un proceso de pasteurización e inoculación estándar, con sustrato a base de cartón de huevo en 4 frascos distintos con 1 tipo de tamaño de sustrato (área aprox = 9 [cm2]), 2 con cepa **C(1) = Gris** y los 2 restantes con cepa **C(-1) = Floral**,

Luego estos sustratos con sus respectivos micelios fueron repartidos en 4 moldes de doble cavidades repartidas en 2 grupos agrupados por el factor C, es decir en cada molde doble se moldearán 2 probetas de la misma cepa (Floral o Gris) con el mismo tipo de sustrato, ya que lo que se espera evaluar es el proceso de prensado.

En otras palabras, exceptuando por el tipo de cepa (factor C) todas las probetas recibieron el mismo tratamiento hasta antes del prensado; por esta razón, en esta ocasión se simplificaron las etiquetas de las probetas, razón por la cual su manipulación durante el proceso de moldaje se realizaba en conjunto para las 8 muestras.

Entonces las probetas terminadas en un numero par serán sometidas a un peso aproximado de 4 [kg], mientras que sus contrapartes impares que se someterán a peso aproximado 8 [kg], por otro lado, las con numeración 1 y 2 a un proceso de prensado de 20 minutos por cara (40 total) a diferencia de las terminadas en 3 y 4 que lo serán solo 15 minutos

(30 en total) finalmente la letra al comienzo corresponde a la cepa F: Floral y G: Gris.

A continuación, se presenta la tabla de combinaciones de las variables con las que se fabricaron las 8 probetas probeta:

EXP 2	PROBETAS DE ENSAYO FLORAL Y GRIS			
MOLDE	FACTORES			REP=1
	A: Peso prensado	B: Tpo de presado	C: Cepas Micelio	TAG
1	4 [kg]	15[min]	FLORAL	F1
2	10 [kg]	15[min]	FLORAL	F2
3	4 [kg]	20[min]	FLORAL	F3
4	10 [kg]	20[min]	FLORAL	F4
5	4 [kg]	15[min]	GRIS	G1
6	10 [kg]	15[min]	GRIS	G2
7	4 [kg]	20[min]	GRIS	G3
8	10 [kg]	20[min]	GRIS	G4

Tabla 5 - Experimento 2: Probetas de Ensayo Floral y Gris

Cronograma de fabricación

En esta ocasión el cronograma (tabla 6) es más simple que en el experimento anterior, ya que, como se menciona anteriormente las variantes más importantes se realizaron en el proceso de presado. Todo este proceso se repitió para cada 1 de las 3 réplicas del Experimento.

	DIAS			
TAG	0	6	9	15
F1	IN. FLORAL	A.MLD	DESMOLDE	PRENSADO
F2	IN. FLORAL	A.MLD	DESMOLDE	PRENSADO
F3	IN. FLORAL	A.MLD	DESMOLDE	PRENSADO
F4	IN. FLORAL	A.MLD	DESMOLDE	PRENSADO
G1	IN.GRIS	A.MLD	DESMOLDE	PRENSADO
G2	IN.GRIS	A.MLD	DESMOLDE	PRENSADO
G3	IN.GRIS	A.MLD	DESMOLDE	PRENSADO
G4	IN.GRIS	A.MLD	DESMOLDE	PRENSADO

Tabla 6 - Cronograma Exp 2

Definiciones numéricas para el ensayo

Para el ensayo de flexión el peso mínimo (inicial) de funcionamiento fue de 330 [gr], con una adición de peso establecida en 200 [gr], es decir, las probetas fueron sometidas a los 330 [gr] en una primera instancia, luego si la probeta superaba la marca se agregan 200 [gr] y así paulatinamente hasta que la probeta cede al peso aplicado sobre ella, una vez esto ocurre se registra el número de marcas que supero la probeta, siendo este número su clasificación en el ensayo de tracción.

Este proceso se realizó en una primera instancia con probetas de PES para probar si el sistema funciona y registrar la marca ideal a superar, luego se repitió con todas las probetas de los experimentos 1 y 2.

Al igual que en el ensayo de flexión, para el de tracción se aplicó cargas de 200 gr con un peso inicial de 200 [gr] siguiendo el mismo criterio que en flexión se registró la marca donde se provocó la fractura de cada probeta.

En el caso de la Compresión se determinó un peso único de 10 [kg] por 5 minutos al cual se someterán las muestras, para luego medir el efecto en milímetros de profundidad que causo esta acción.

En un comienzo se propuso un peso de 5 [kg] pero este tuvo resultados casi imperceptibles en la probeta, razón por la que se duplico el peso aplicado.

Replicas experimento

Para la fiabilidad de este método es necesario realizar más de 1 replica, con el objetivo de eliminar posibles resultados anómalos que puedan alterar la percepción de los resultados, sin embargo, solo se realizaron replicas para el 2do Experimento, ya que debido a la imposibilidad de crear probetas con igual con la distribución (isotrópica o anisotrópica) pero distinto tamaño de trozo (factor A, Exp 1) género que no se pueda identificar qué porcentaje del efecto del factor A era relativo a ordenamiento o al tamaño de los trozos.

Por otro lado, el Experimento 2 demostró ser un experimento más conciso y por ende más replicable, por esta razón se realizaron 3 réplicas de este.

RESULTADOS DE LOS EXPERIMENTOS:

A continuación, se presentan los resultados de ambos experimentos y las conclusiones de los mismos.

EXPERIMENTO 1 – 1 Replica

De las 8 probetas para el Exp 1, las cuales se sometieron a los ensayos de Flexión y Compresión diseñados por el autor se desprende la siguiente información:

Datos Obtenidos de los ensayos:

Los resultados obtenidos en los 3 ensayos diseñados son los siguientes:

EXP1	TIPO DE ENSAYO		
TAG	FLX	TRC	|Dc|
F1-1	22	16	4,62%
F2-2	24	23	3,00%
F1-3	23	18	5,38%
F2-4	28	27	4,00%
G1-5	21	15	7,69%
G2-6	25	24	6,67%
G1-7	24	18	8,46%
G2--8	27	24	6,92%
PROM	24,25	20,62	5,84%

Tabla 7 - Resumen de resultados Exp 1

Resultados Comparados con probeta de control (PES):

Para tener una mejor referencia del desempeño del material se realizó una probeta idéntica, pero con materia PES el cual se proyecta como el principal competidor de este material, además de ser un material altamente contaminante y con un gran impacto ambiental, el cual se busca remplazar por el MBF.

Los resultados de la probeta de PES son los siguientes:

EXP 1	FLX	TRC	|Dc|
PES	10	17	18%

Tabla 8 - Resultados de PES, frente ensayos caceros

Comprando el desempeño de las probetas de ensayo con la probeta de control podemos observar que:

Análisis comparativo Flexión: Exp 1

Probeta de control PES: 10 FLX

- Las probetas de los experimentos 1
- Se destacan las siguientes probetas por tener los resultados más elevados:
    - F2-4: 28 FLX
    - G2-8: 27 FLX
- Se destacan las siguientes probetas por tener los peores resultados (superiores a PES)
    - G1-5: 21 FLX
    - F1-1: 22 FLX
    - F1-3: 23 FLX
- también se destaca que el Promedio de todas las probetas también supera ampliamente al PES en esta medición

A pesar de no ser un material perfeccionado ha demostrado ser completamente competitivo contra el PES en cuanto a la resistencia a fractura por Flexión.

Análisis comparativo Tracción: Exp 1 v/s PES

Probeta de control PES: 17 TRC

- Las probetas de los experimentos 1 superaron la marca de 17 TRC
- Se destacan las siguientes probetas por tener los resultados más elevados:
    - F2-4: 27 TRC
    - G2-6 / G2-8 : 24 TRC
- Se destacan las siguientes probetas por tener los peores resultados (superiores a PES) perteneciendo todas al factor A(-1) de la Exp 1:
    - G1-5: 15 TRC
    - F1-1: 16 TRC
    - F1-3 / G1-7: 18 TRC

A pesar de no ser un material perfeccionado ha demostrado ser completamente competitivo contra el PES en cuanto a la resistencia a fractura por Tracción, sin embargo, se aprecia una clara tendencia que indica que las probetas realizadas

con trozos de cartón de un Área aproximada de 1 [cm2] tuvo los peores resultados.

Análisis comparativo Compresión: Exp 1 v/s PES

En el caso particular de este ensayo se evaluará mejor a las probetas con un |Dc| menor, ya que esto evidencia que se deformaron menos frente al estrés al cual fue sometida.

Probeta de control PES: 18% |Dc|

- Las probetas del experimentos 1 tuvieron un |Dc| menor a la del PES de 18% |Dc|
- Se destacan las siguientes probetas por tener los mejores (menores) resultados:
    - F2-2 / F2: 3,00% |Dc|
    - F2-4: 4,00 % |Dc|
    - F1-1 : 4,62% |Dc|
- Se destacan las siguientes probetas por tener los peores resultados (los más altos, pero Inferiores a PES), Ambas de la cepa Gris y con trozos del menor tamaño.
    - G1-7: 8,46% |Dc|
    - G1-5: 7,69% |Dc|
- Se observa una tendencia donde la cepa floral destaca por ser la de mejor desempeño si se busca que el material resista la deformación por compresión, todo lo contrario, con la cepa gris que destaca como la que más deformación alcanza en ambos experimentos.
- Esto se tendrá que considerar en futuras implementación ya que la capacidad de deformación por compresión puede ser deseable en algunos contextos específicos.

Análisis Isotrópico vs Anisotrópico

A pesar de no poder realizar el analisis factorial, con solo 1 replica y con una variable extra que no se condidero al momento de diseñar el experiemento, se pudo observar una tendencia en las probetas anisotropicas a tener mejores resultados que su contrapartes isortropicas; por esta razón se agruparon los datos y se compararon, demostrando que dicha tendencia se cumplia en cada 1 de los casos.

Para este caso se comparo cada par de probetas con mismo procesos productivo pero con diferente estructura interna (Anisotropia o Isotropica) como se muestra en el grafico de la figura 33.

A partir de esta información se concluye que una estructura laminar tendrá considerablemente mejor resultados que una desordenada, por esta razón se usará este tipo de estructura como constante en las siguientes probetas (Exp 2).

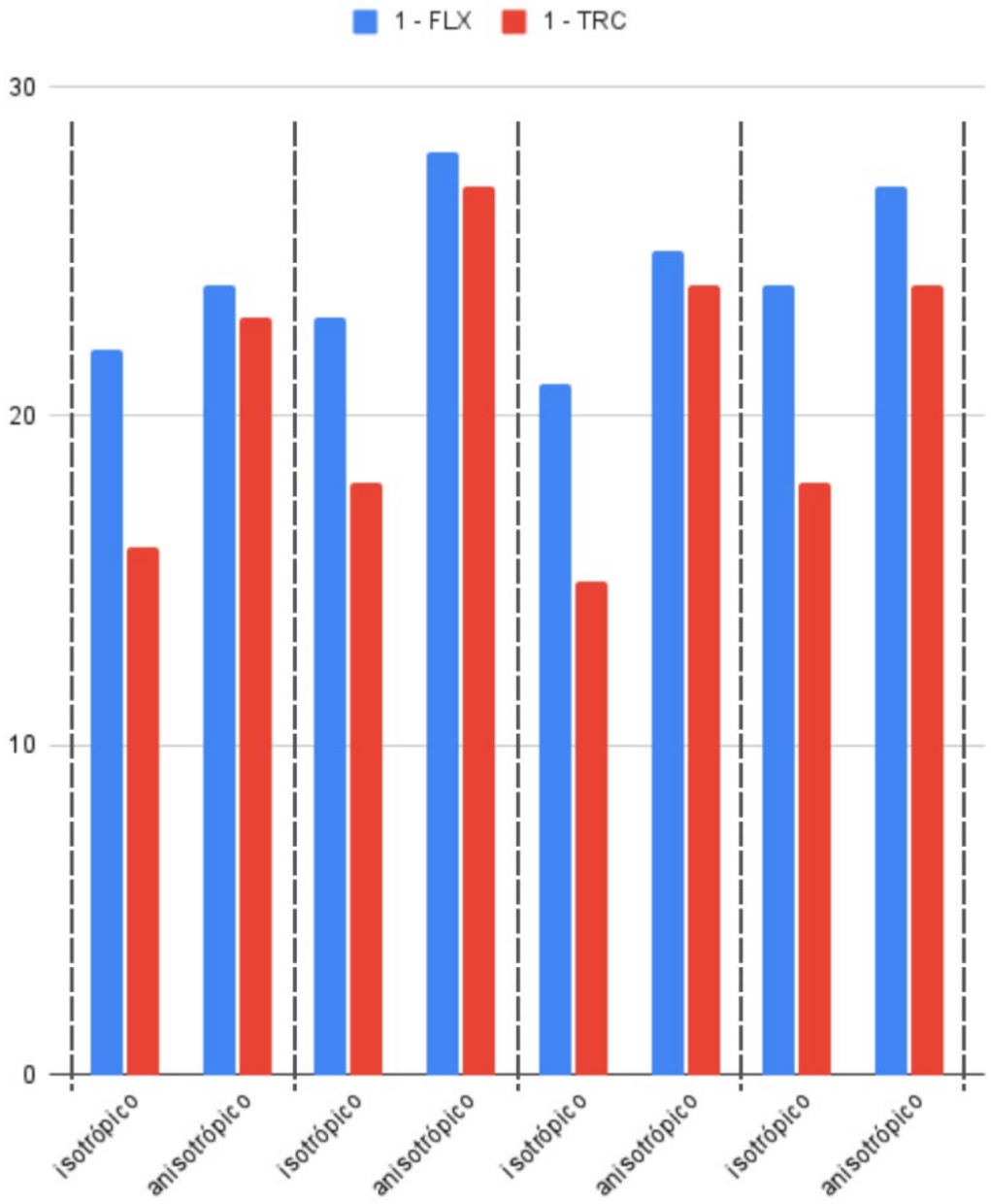


Figura 34 - Comparativa pares Isotrópicos y Anisotrópicos

EXPERIMENTO 2 – 3 Replicas

A continuación, se detallan los resultados del 2do Experimento realizado, con el fin de evaluar como impactan los factores de Peso y Tiempo en el proceso de secado por prensado.

Variables	FACTOR	Min(-1)	Max(1)	[u]
Peso Prensado	A	4	10	[kg]
Tiempo de Prensado	B	15	20	[Min]
Variante de Cepa	C	**FLORAL**	**GRIS**	N/A

Tabla 9 - Resumen del diseño factorial Exp 2

En concordancia con el diseño factorial utilizado $(2^3 = 8)$, se plantean 7 Hipótesis Nulas (H_0) por cada Variable de respuesta, es decir:

- **FLEX:** Flexión
- **TRC:** Tracción
- **|Dc|:** Compresibilidad

Lo que, en conjunto, nos entrega un total de 21 Hipótesis nulas que se pondrán a prueba mediante el análisis factorial, con ayuda del Minitab.

EXP 2: FLEXIÓN VS PESO PRENSADO; TIEMPO DE PRENSADO; CEPA

A continuación, se presentan los resultados obtenidos para el análisis de varianza del Experimento 2 en relación de la variable de respuesta FLEX.

Regresión factorial: 2 - FLX vs. PESO PRENSADO [KG]; TPO PRENSADO [min]; CEPA

Análisis de Varianza

Del análisis de la varianza podemos observar los valores obtenidos de *P. Value*, para la variable y sus combinaciones.

En relación con el ensayo de Flexión podemos hacer la siguiente división, en base al valor del *P. Value* en orden de mayor a menos efecto estandarizado en su puntaje de Flexión (marcador de resistencia alcanzado antes de la fractura):

- *P Value* bajo a 0,05
    - B: tiempo de prensado
    - C: Tipo de Cepa
    - AC:
- *P Value* sobre a 0,05
    - AB
    - BC
    - A
    - ABC

Se rechazan las siguientes Hipótesis Nulas:

- H_0(B – FLEX)
- H_0(C – FLEX)
- H_0(AC – FLEX)

Entonces podemos concluir, que, según esta experiencia de Flexión, solo los Factores B y C

tienen impacto significativo por si solos en el rendimiento del material ante una fuerza fletante.

Además de forma conjunta podemos observar que A y C también tienen un impacto observable en este rendimiento

Estas conclusiones se confirman cuando se observa el Diagrama de Pareto, donde solo B, C y AC superan la línea de corte para los efectos estandarizados.

Graficas factoriales para FLX

análisis de efectos estandarizados - Gráfico de Pareto

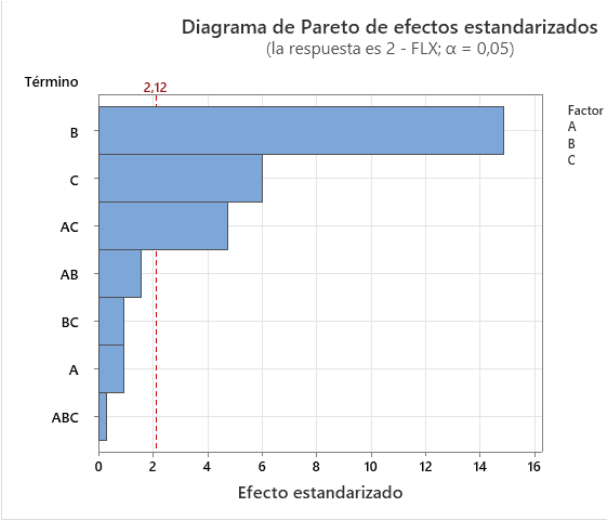


Figura 35 - Grafico de Pareto - Experimento 2 FLX - efectos estandarizados - 3 Rep.

Una vez determinadas las variables que tienen un efecto en la respuesta de flexión es necesario identificar en qué sentido estas tienen un efecto sobre dicha variable de respuesta, es decir identificar si la relación es directa o inversa y la magnitud de esta.

Para esto son de gran ayuda los gráficos de efectos principales y grafica de interacciones.

Análisis grafico de efectos principales

Lo primero que podemos apreciar en el primer grafico es que el factor B presenta un efecto muy marcado con relación al resto de factores, el cual crece de forma directa con el factor de respuesta, es decir a medida que aumenta B aumenta el Factor de respuesta.

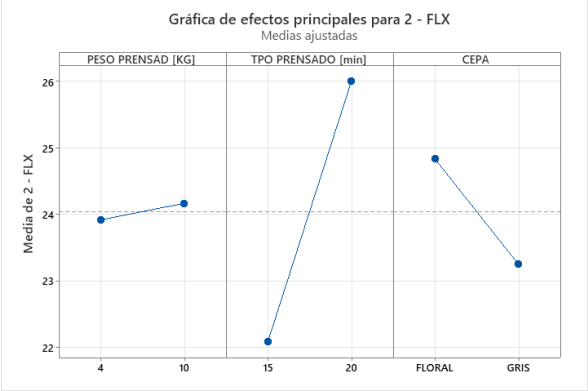


Figura 36 - Grafico de efectos principales - Experimento 2 FLX - efectos estandarizados - 3 Rep.

Por otro lado, tenemos al Factor C que al NO ser un factor número, no se puede crear una relación directa o indirecta en relación con la variable de respuesta. Solo podemos afirmar que las medias de las probetas realizadas con la Cepa Florar presentaron mejor marcador de resistencia a la flexión que las elaboradas con la Cepa Gris

En palabras simples, si se desea que el material tenga mayor resistencia a la Flexión se deberá trabajar con un mayor tiempo de prensado y la Cepa Floral, mientras que si se decía que el material presente una menor resistencia la flexión se deberá utilizar la Cepa Gris y un menor tiempo de prensado.

En este grafico también podemos observar que el factor A tiene una relación directa con la variable de respuesta FLX, pero al no poder rechazarse su Hipótesis Nula, no se puede determinar si este efecto es correcto o se debe a un factor aleatorio que altero el resultado obtenido.

Análisis grafico de Cubo

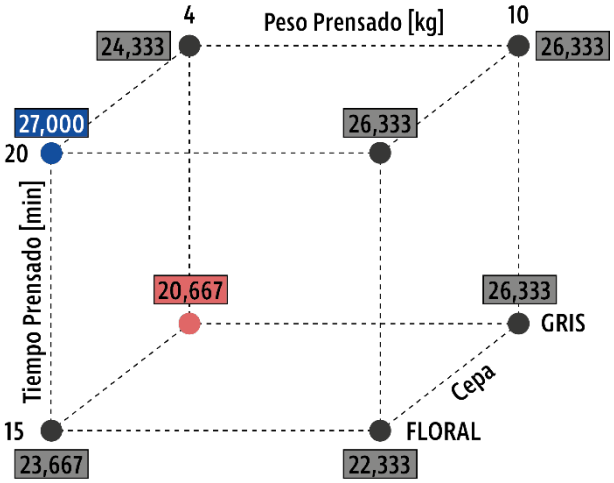


Figura 37 - Gráfico de Cubo (medias ajustadas) - EXP 2 - FLX

Gracias a este grafico podemos apreciar de forma clara cuales son las combinaciones que mejores (azul) y peores (rojo) resultados obtuvieron en su respectiva prueba de ensayo.

En este casi se evidencia que para un mejor rendimiento contra esfuerzos de flexión la combinación idea se obtiene maximizando la variable de tiempo de prensado, utilizando la Cepa Floral y minimizando la variable de Peso de prensado, sin embargo esta ultima aparentemente tiene un impacto casi despreciable y su hipótesis nula no puede ser rechazada, por esta razón, en futuros experimentos se debe considerar establecer nuevos máximos y mínimos en la variable de tiempo de prensado, que superen el máximo de este experimento, para determinar hasta que punto es optimo aumentar el tiempo de prensado para mejorar el rendimiento en flexión.

Por otra parte, en el caso del peso del prensado se recomienda realizar al menos 2 réplicas extras en búsqueda del realizar obtener un grado de significancia que permita tomar conclusiones validas.

EXP 2: TRACCIÓN VS PESO PRENSADO; TIEMPO DE PRENSADO; CEPA

Regresión factorial: 2 - TRC vs. PESO PRENSADO [KG]; TPO PRENSADO [min]; CEPA

análisis de varianza

En relación con el ensayo de Tracción podemos hacer la siguiente división, en base al valor del *P. Value* en orden de mayor a menos efecto estandarizado en su puntaje de Flexión (marcador de resistencia alcanzado antes de la fractura):

- *P Value* bajo a 0,05
    - B: tiempo de prensado
    - C: Tipo de Cepa
- *P Value* sobre a 0,05
    - AB
    - ABC
    - A
    - AC:
    - BC:

Se rechazan las siguientes Hipótesis Nulas:

- H_0(B – FLEX)
- H_0(C – FLEX)

Entonces podemos concluir, que, según esta experiencia de Flexión, solo los Factores B y C tienen impacto significativo por si solos en el rendimiento del material ante una fuerza fletante.

Estas conclusiones se confirman cuando se observa el Diagrama de Pareto (figura 37), donde solo B, C superan la línea de corte para los efectos estandarizados.

Graficas factoriales para TRC

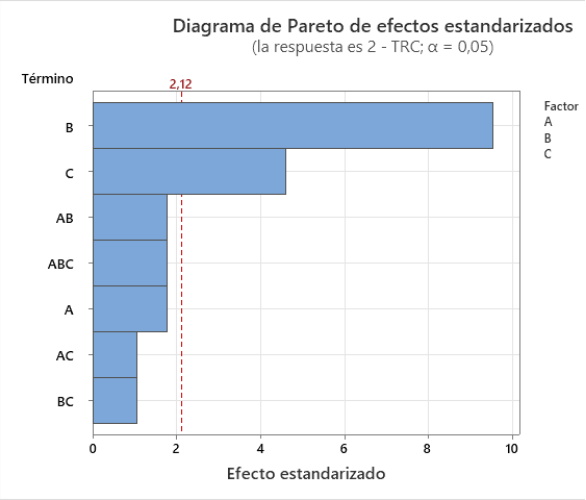


Figura 38 - Grafico de pareto - Experimento 2 TRC - efectos estandarizados - 3 rep

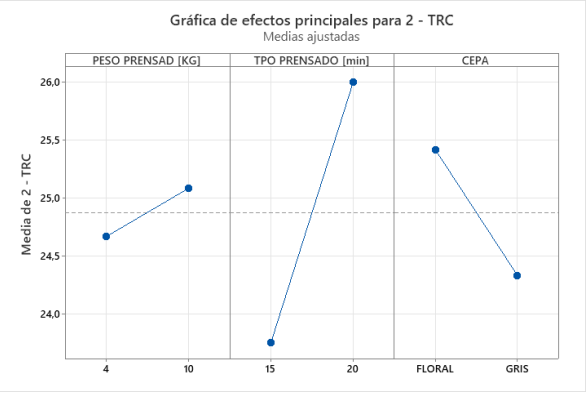


Figura 39 - Grafico de efectos principales - Experimento 2 TRC - efectos estandarizados - 3 rep

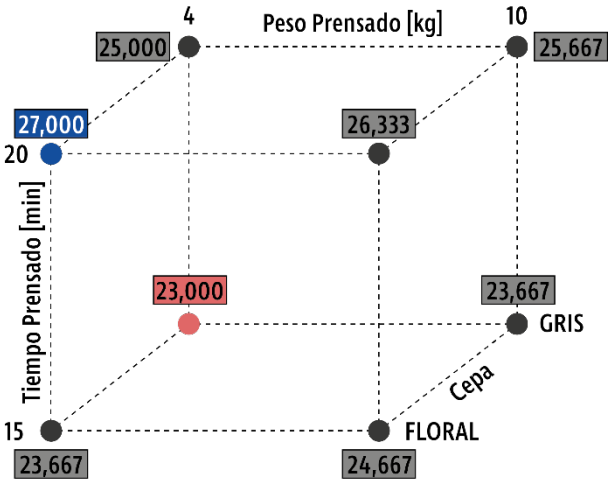


Figura 40 -Gráfico de Cubo (medias ajustadas) - EXP 2 - TRC

Los resultados del ensayo de tracción tienen mucha semejanza con los obtenidos en el ensayo de Flexión, esto se puede notar fácilmente al comparar los gráficos de cubo, para ambos ensayos; se evidencia que para un mejor rendimiento contra esfuerzos de Tracción, al igual como en el caso de Flexión, la combinación idea se obtiene maximizando la variable de tiempo de prensado, utilizando la Cepa Floral y minimizando la variable de Peso de prensado, sin embargo esta última aparentemente tiene un impacto casi despreciable y su hipótesis nula no puede ser rechazada, por esta razón, en futuros experimentos se debe considerar establecer nuevos máximos y mínimos en la variable de tiempo de prensado, que superen el máximo de este experimento, para determinar hasta que punto es optimo aumentar el tiempo de prensado para mejorar el rendimiento en flexión.

Por otra parte, en el caso del peso del prensado se recomienda realizar al menos 2 réplicas extras en búsqueda del realizar obtener un grado de significancia que permita tomar conclusiones validas.

Que las conclusiones de ambos ensayos sean similar resulta beneficioso al momento de crear un segundo ensayo o mas replicas del mismo, ya que se puede llevar el desarrollo de ambas cualidades en el mismo experimento

EXP 2: DEFORMACIÓN VS PESO PRENSADO; TIEMPO DE PRENSADO; CEPA

Regresión factorial: 2 - |Dc| vs. PESO PRENSADO [KG]; TPO PRENSADO [min]; CEPA

Lamentablemente en este caso ninguna de las variables estudiadas supero el P Value mínimo para hacer el análisis factorial, por lo que el valor de los gráficos es escaso para el análisis, ya que no se puede asegurar su veracidad.

Aun así, se pueden hacer algunas hipótesis en base a los resultados obtenidos, que podrán comprobadas mediante la realización de nuevas réplicas de este experimento.

Graficas factoriales para |Dc|

A continuación, se presentan las graficas obtenidas mediante el análisis factorial:

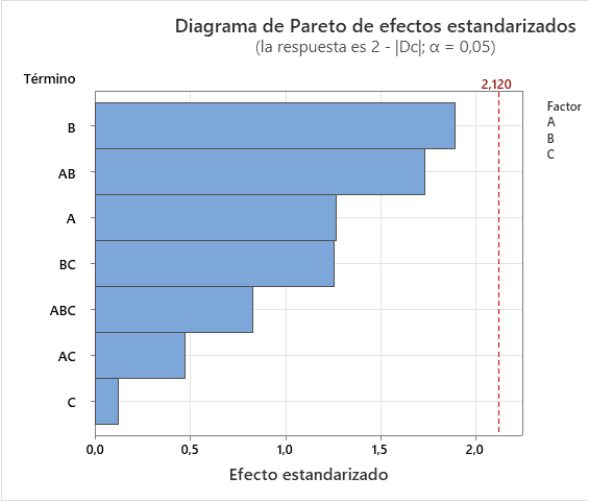


Figura 41 - Grafico de Pareto - Experimento 2 |Dc| - efectos estandarizados - 3 rep

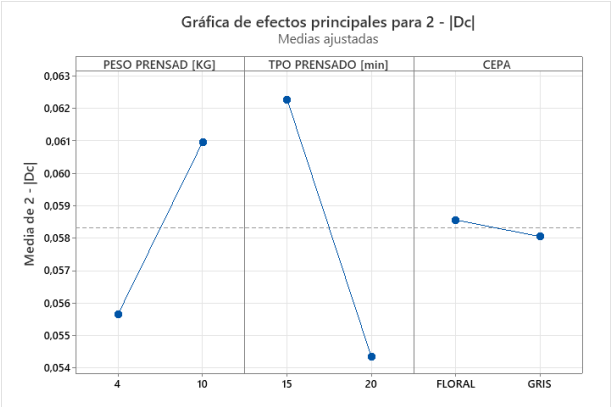


Figura 42 - Grafico de efectos principales - Experimento 2 |Dc| - efectos estandarizados - 3 rep

Mediante las grafica de Pareto y efectos principales se aprecia que los factores de Tiempo y Peso de prensado parecen tener un efecto, pero en direcciones opuestas, ya que el peso del prensado parece tener un efecto positivo, mientras el tiempo del prensado tendría un efecto negativo.

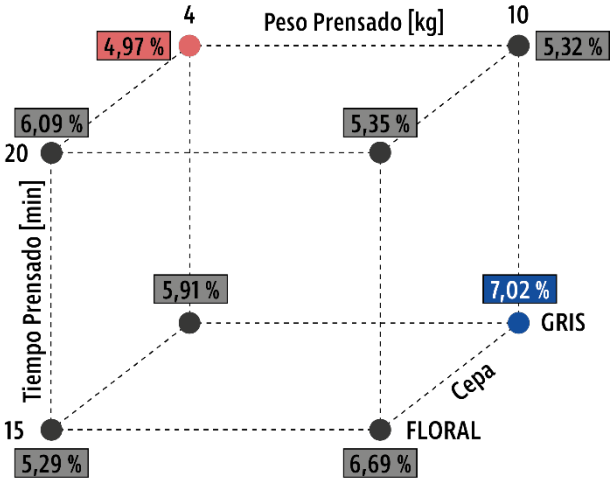


Figura 43 - Gráfico de Cubo (medias ajustadas) - EXP 2 - |Dc|

Lo mismo se puede ver en el su respectivo grafico de cubo, donde el mejor redimeinto se obtuvo en la cepa gris, con 10 kg de prensado y 15 minutos de prensado.

Sin embargo, ante este escenario solo queda realizar más replicas y/o ajustar el sistema de medición por uno con números esteros y más siempre.

CONCLUSIONES

El principal conocimiento que deja esta memoria esta en la creación de un metodo para el desarrollo de materiales, con toda la información necesaria que podría necesitar una persona que jamás a trabajado en la creación de materiales o trabajdo con material MBF o similares,

Esta memoria es una contribución para futuras investigaciones, ya sea propias o de terceros en el campo del desarrollo de materiales de origen biológico y ecológico.

Gracias al trabajo realizado tanto teórico como practico, se pudo comprender mejor la producción de biomateriales a base de hongos y residuos orgánicos, contribuyendo con el desarrollo de nuevos materiales que sean amigables con el medio ambiente, hasta favorecedores para el mismo.

Esta memoria no solo me entrego la oportunidad de contribuir con el medio ambiente y sociedad, también sienta las bases para establecer una cadena de investigación y desarrollo para este tipo de materiales con los cuales se puede impactar en múltiples industrias e incluso emprender a partir de el desarrollo de este material.

En cuanto a los resultados académicos, se pudo plantear y validar un completo y detallado método de investigación para el desarrollo de biomateriales de micelio y sustratos reciclados, sentando las bases para cualquier investigación futura.

Gracias a esta metodología se pueden encontrar las mejores propiedades físico-mecánicas que este tipo de material puede lograr, dependiendo de la industria que se quiera trabajar.

Además se estableció un método económico de comparar los resultados del material sin necesidad de costear estudios de resistencia de materiales, que si bien son útiles para conocer en detalle las propiedades del material, se vuelven poco eficaces e incluso un cuello de botella durante el proceso de diseño del material, ya que no es de gran ayuda tener tanta información técnica del material cuando aun no se termina de pulir su proceso de fabricación, en otras palabras, mediante el método comparativo propuesto en esta memoria se pueden logran avances rápidos en este campo y con recursos limitados.

Una vez se tenga un desarrollo consistente y prometedor en el material creado, se recomienda realizar los estudios normados de resistencia de material.

En cuanto a la experimentación realizada, Gracias al primer experimento se pudo comprobar que el MBF de base de cartón de caja de huevo y Pleurotus Ostreatus puedan competir con la Plumavit (PES) no solo en áreas industriales o comerciales, también en espacios de nuestra comunidad universitaria como lo son el taller de productos IDP y otras asignaturas de Arquitectura de la Universidad.

Por otro lado, gracias al 2do experimento se sabe que la variante Floral es la mejor para este tipo de materiales, además de que, en cuanto a variables relevantes para su producción, el tiempo es el factor más relevante para mejorar sus propiedades físico-mecánicas, mientras que el valor de la fuerza del prensado parece ser casi irrelevante, por esta razón, en futuros experimentos se debe considerar establecer nuevos máximos y mínimos en la variable de tiempo de prensado, que superen el máximo de este experimento, para determinar hasta qué punto es óptimo aumentar el tiempo de prensado para mejorar el rendimiento en flexión.

También se pudo observar como la tendencias del experimento 2 en FLX y TRC son casi iguales, lo cual resulta beneficioso al momento de crear un segundo ensayo o más réplicas del mismo, ya que se puede llevar el desarrollo de ambas cualidades en el mismo experimento.

Finalmente, los malos resultados en los ensayos de deformación invitan a generar un mínimo de 2 replicas extras del exp 2, para alcanzar niveles de significancia importantes, así como mejorar la información de los otros 2 ensayos relativos a flexión y tracción, que también tuvieron algunos resultados no significantes.

También existen varios elementos mejorables, principalmente en el diseño de las máquinas de ensayos, si bien conceptualmente su diseño fue acertado, se cometieron errores de tamaño en su deseño que hacían complejo si manejo y entorpecieron varios de las mediciones, esta es una de las posibles razones por la que varios de los valores no lograron ese valor de significancia esperados para el análisis.

También se teoriza que, al tener unidades de medida tan pequeñas, la varianza entre los resultados es menor a la que se tendría si se contara cara gramo de variación, ya que el cambio es poco significativo y por lo tanto el efecto registrado no se aprecia completamente, se propone usar una medida de peso modular más pequeña para que se exista un margen de mayor entre las medidas de cada probeta, es decir, sea más notorio los cambios físicos entre cada 1.

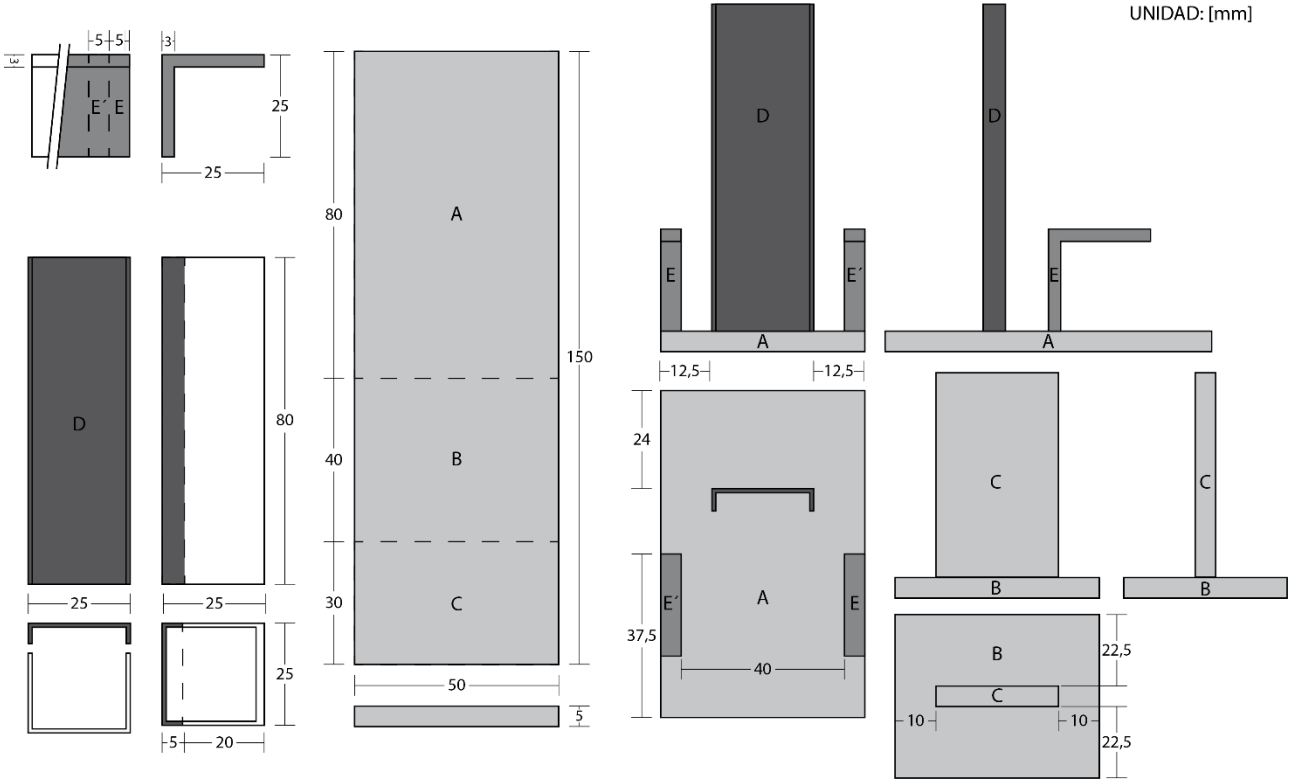
Entre otros errores que se pudo detectar en la medición de ambos experimentos está el control de la temperatura, este se hizo de forma cacera, mediante monitorización manual (pistola termómetro) por lo que las variaciones imprecisas en la temperatura también pudieron modificar los resultados de la medición.

Por último, me gustaría mencionar el diseño complementario que queda pendiente para este trabajo; se planteó en un comienzo, el diseño de una prensa especializada que permita realizar múltiples prensados simultáneos, gracias a una serie de niveles verticales de prensado simultaneo, lo que podría aumentar considerablemente la velocidad de producción en un caso de producción en masa.

También, queda pendiente el diseño de una modalidad de estudio para el compostaje del material MBF, ya que al ser la biodegradabilidad de este material una de sus principales características y virtudes, se vuelve de interés general conocer la velocidad en que se composta el material y la calidad de este.

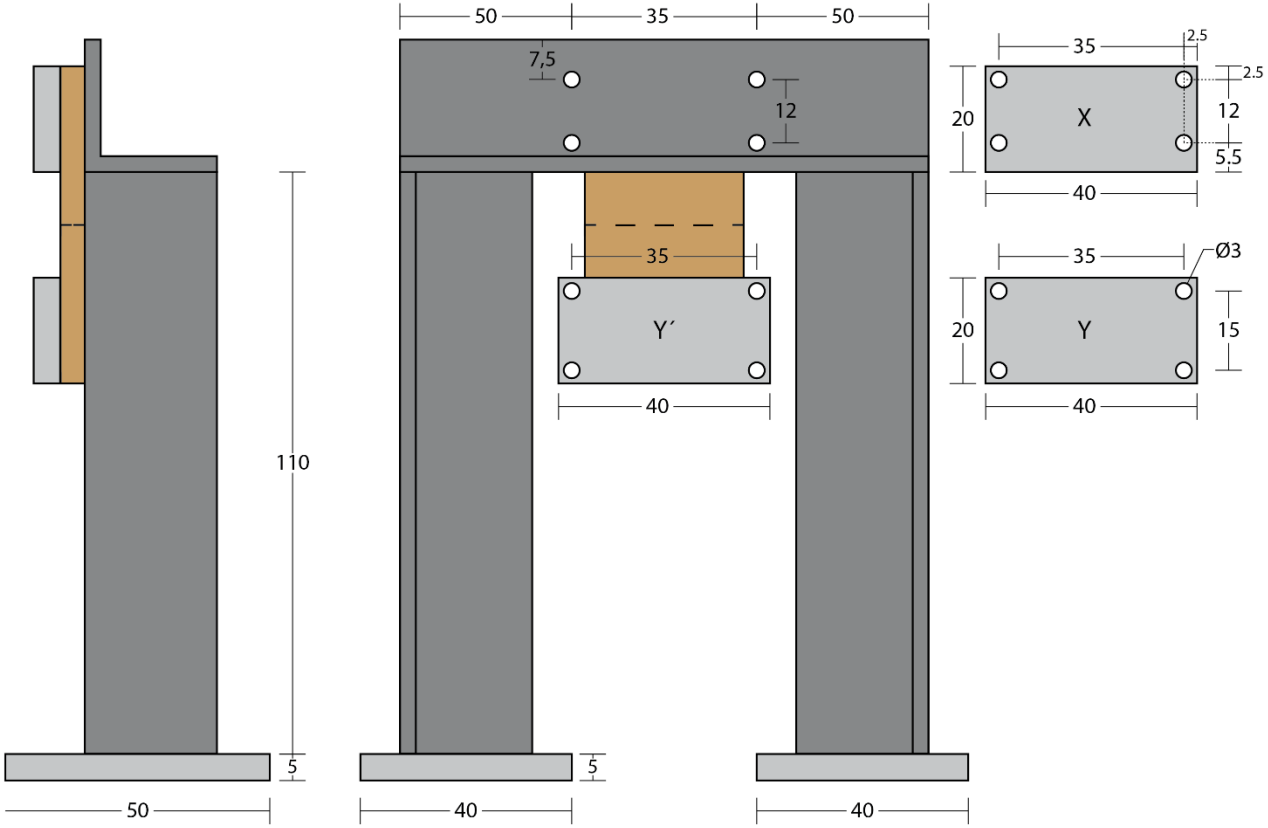
Anexos

Planimetría maquinarias caceras – Flexión y Compresión

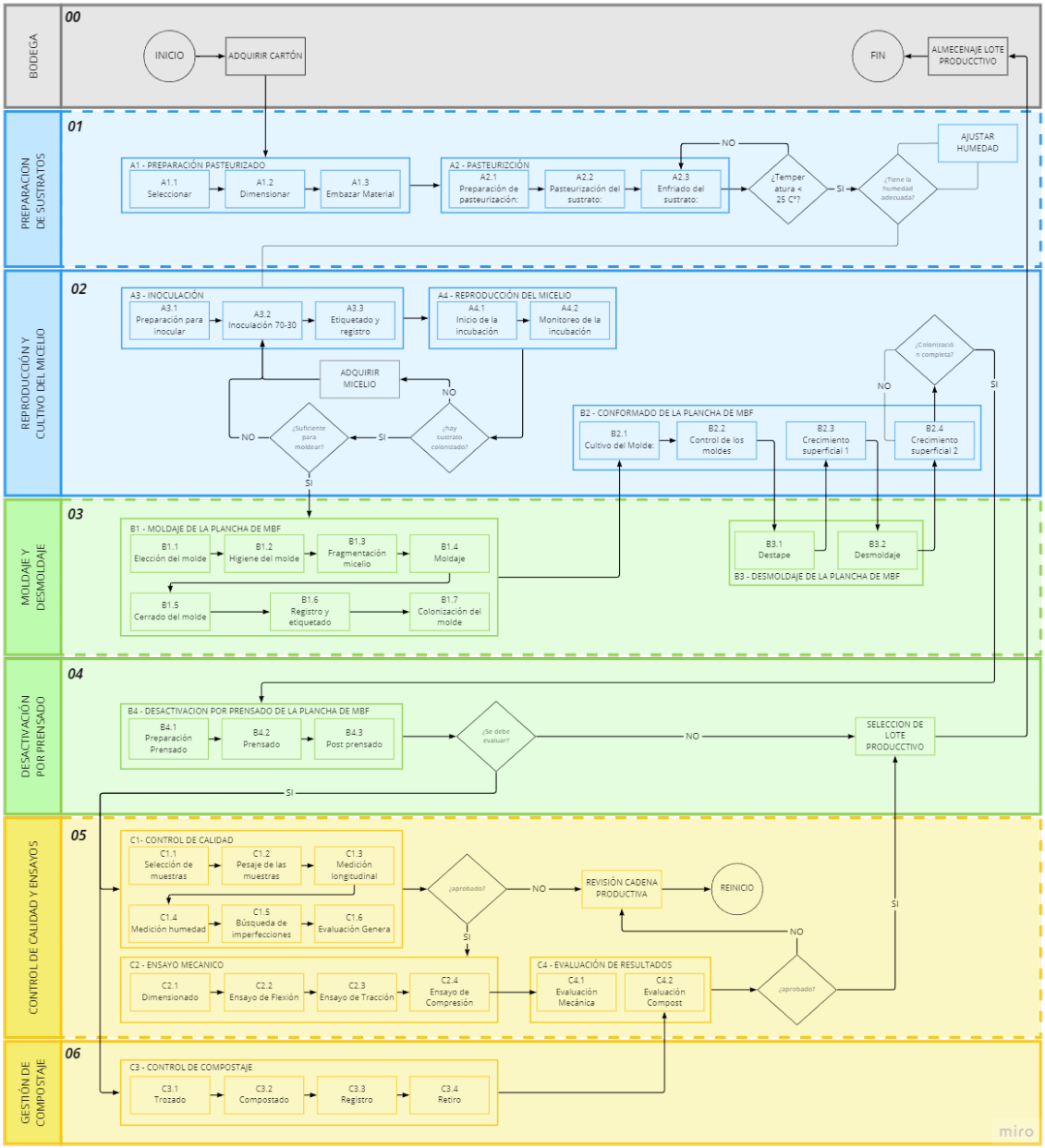


Planimetría maquinarias caceras – Tracción

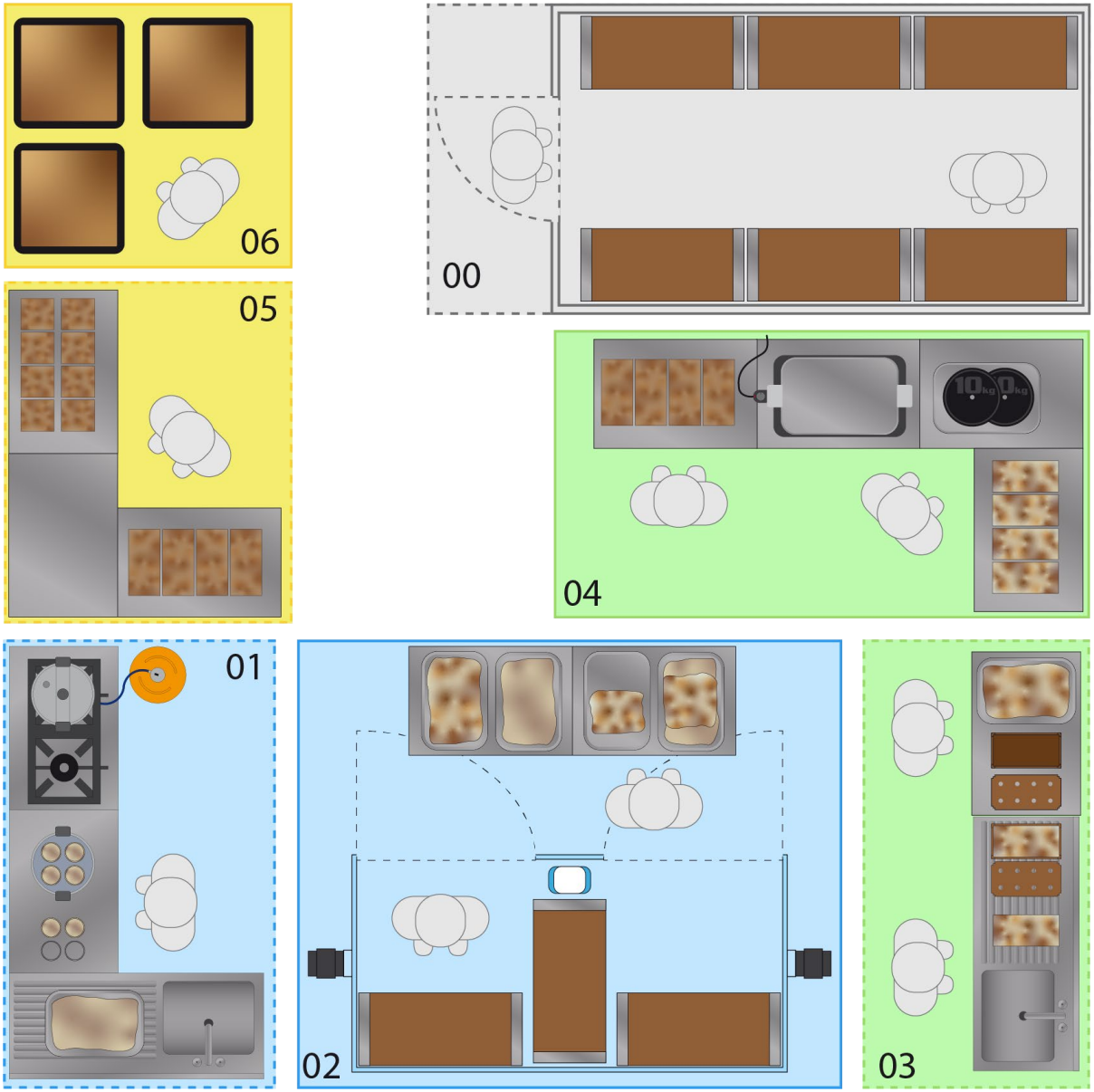
UNIDAD: [mm]



Diseño proceso productivo



Diseño del Lay uot estaciones de producción



ESTANTERIA 5 repisas ajustables 180X90X40 cm

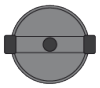
ESTANTERIA 5 repisas ajustables 180X90X40 cm

compostera 61X61X83 cm

Sistema Humificador flotante en caja con agua

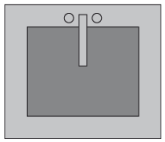
Humificador 8L

Ex(in)tractor aire para regular temp

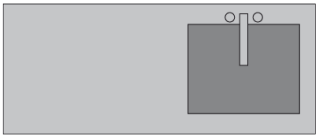


Olla a presión 8 Litros 35 diametro

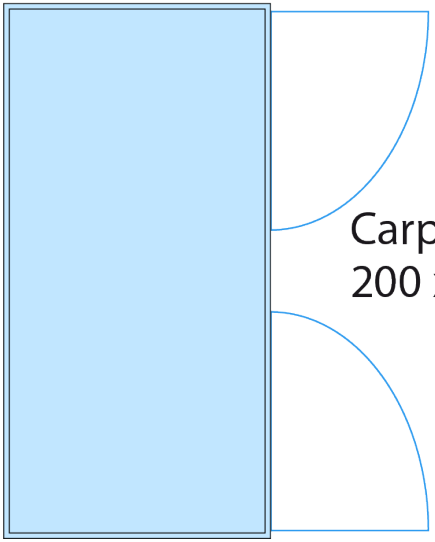
meson metalica 90x60 cm



lavadero inox modular 70x60 cm

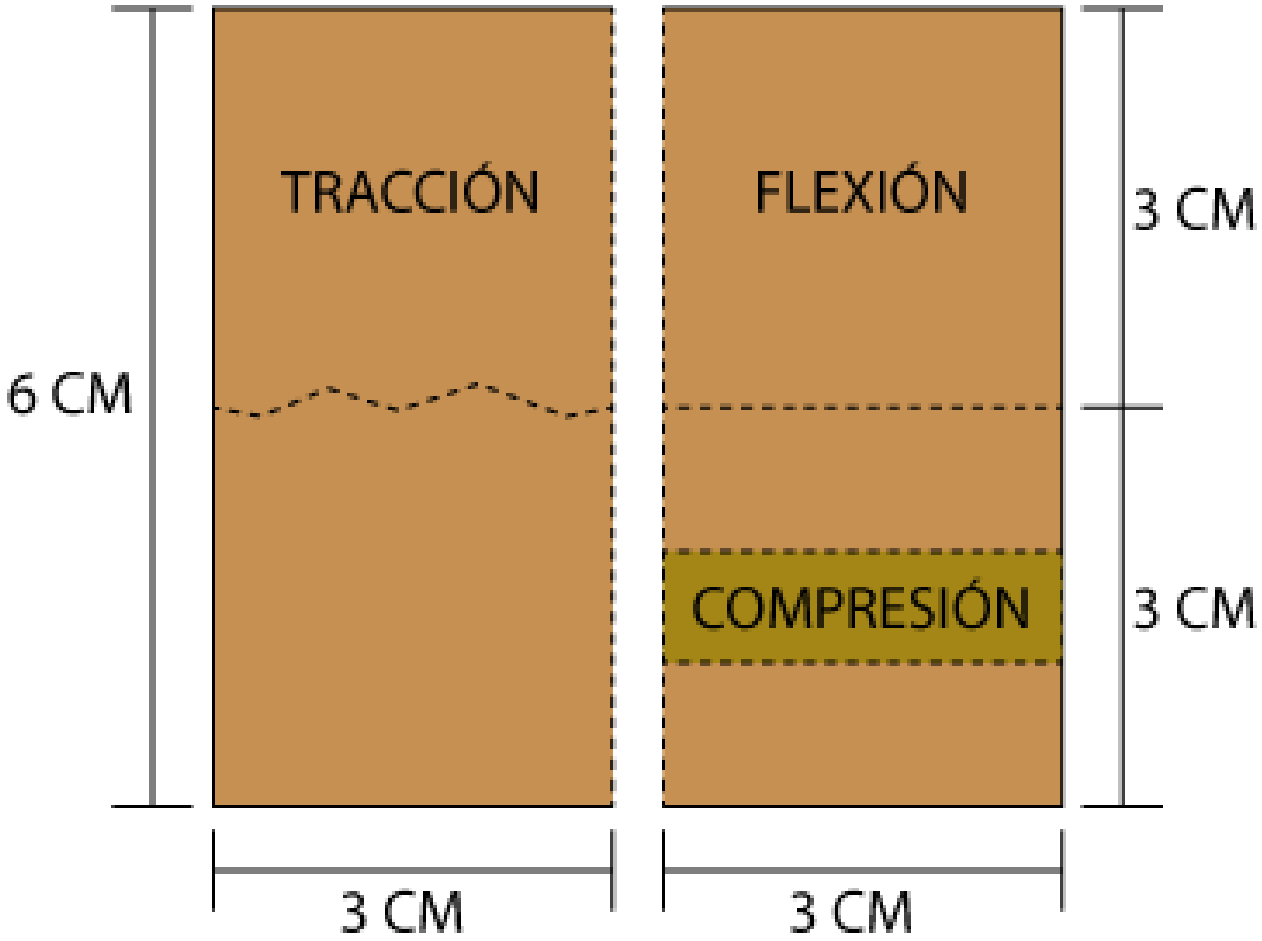


lavadero inox 140x60 cm

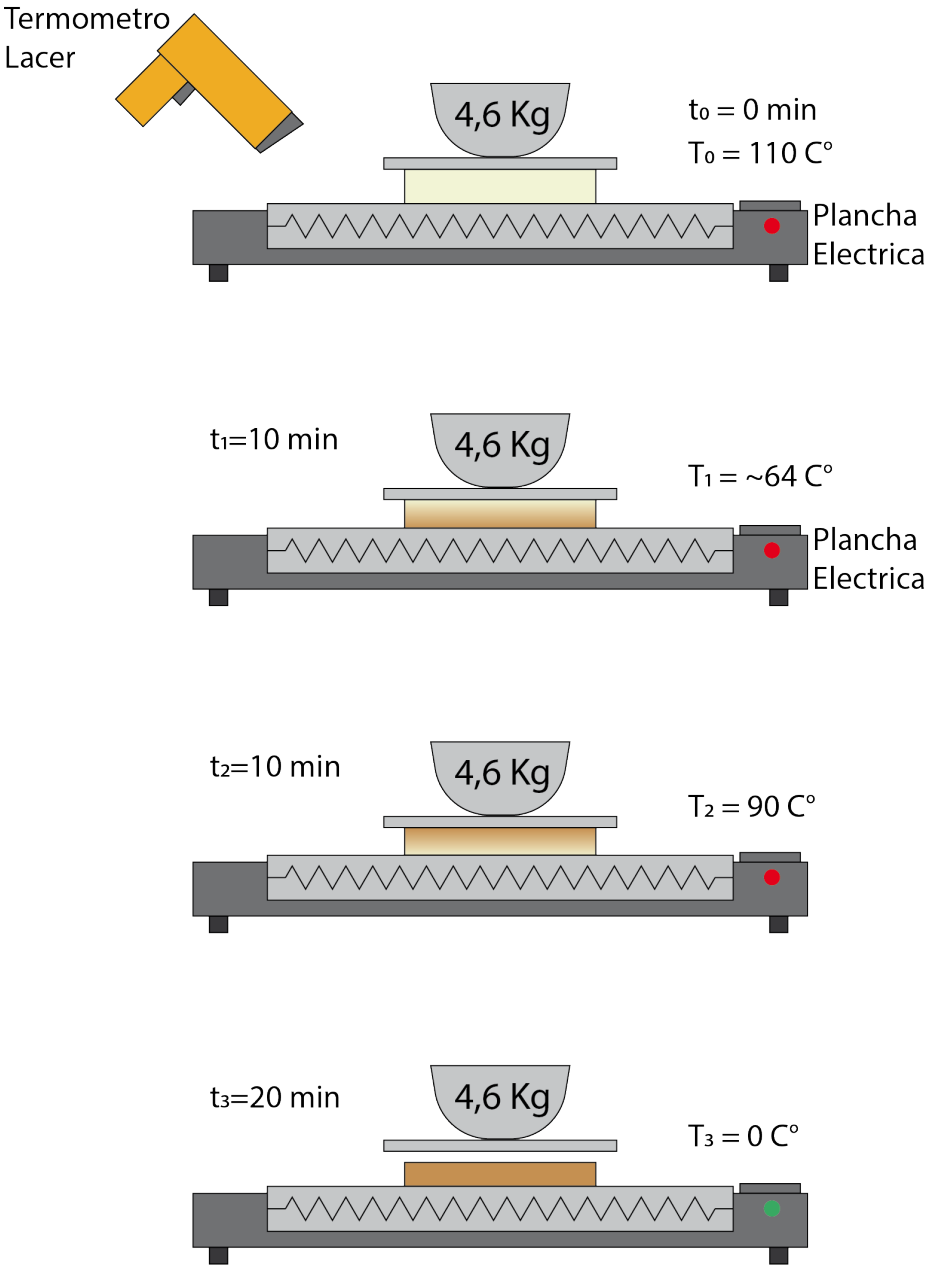


Carpa indoor 200 x 120 cm

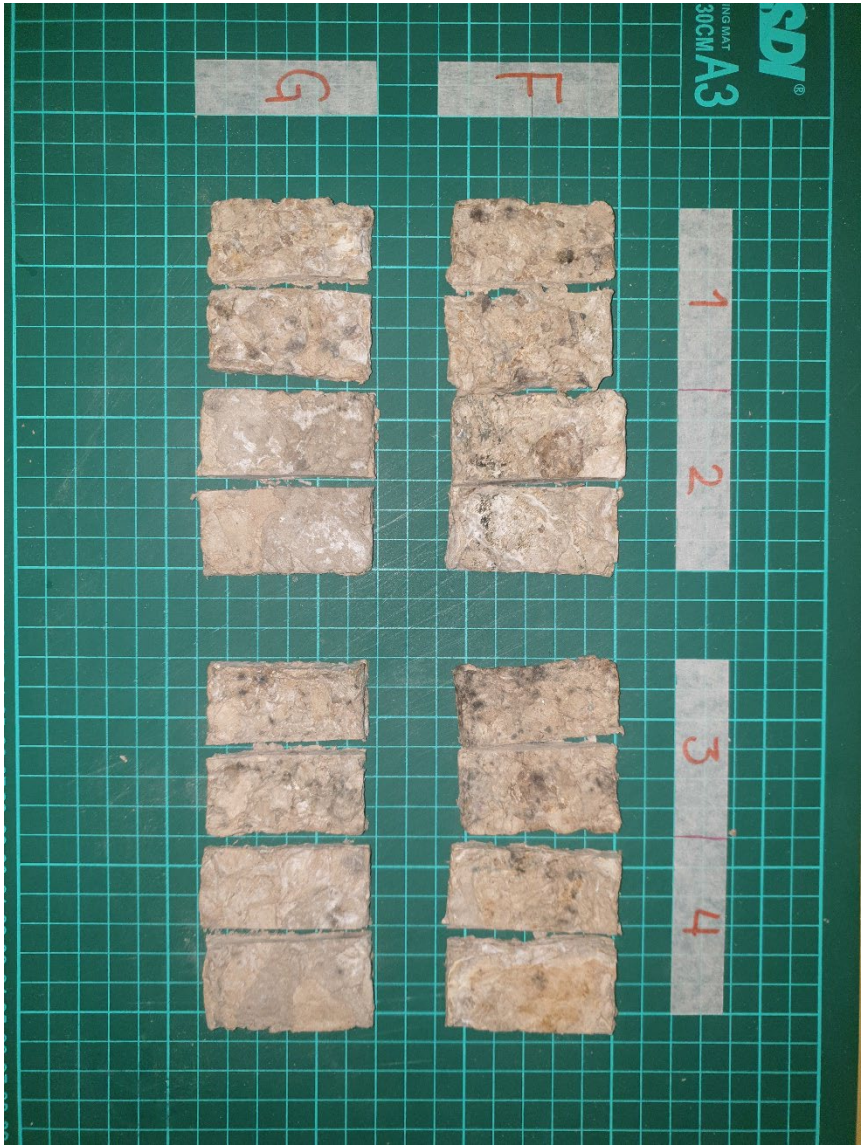
Procesado de las probetas para el ensayo



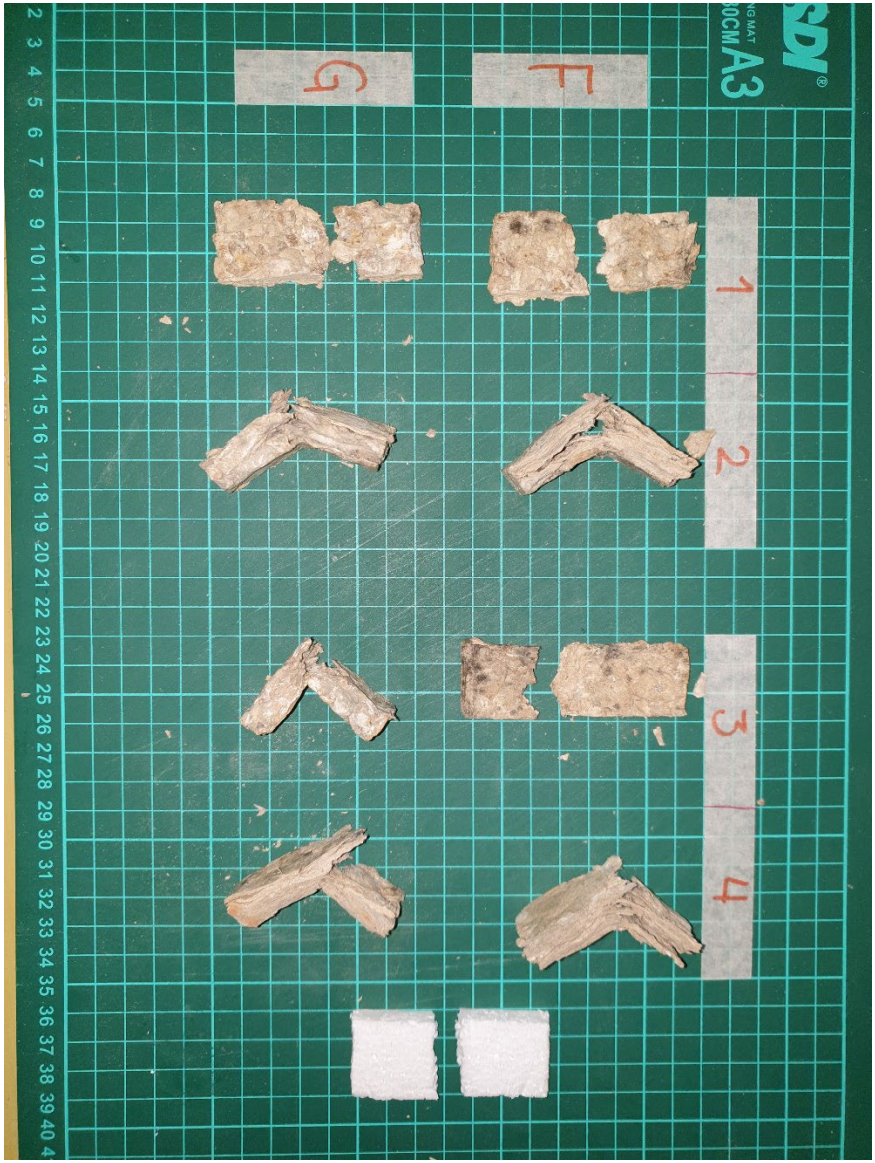
Proceso de prensado en caliente experimento 2



Fotos probetas Experiencia 1 - Dimensionado pre ensayos

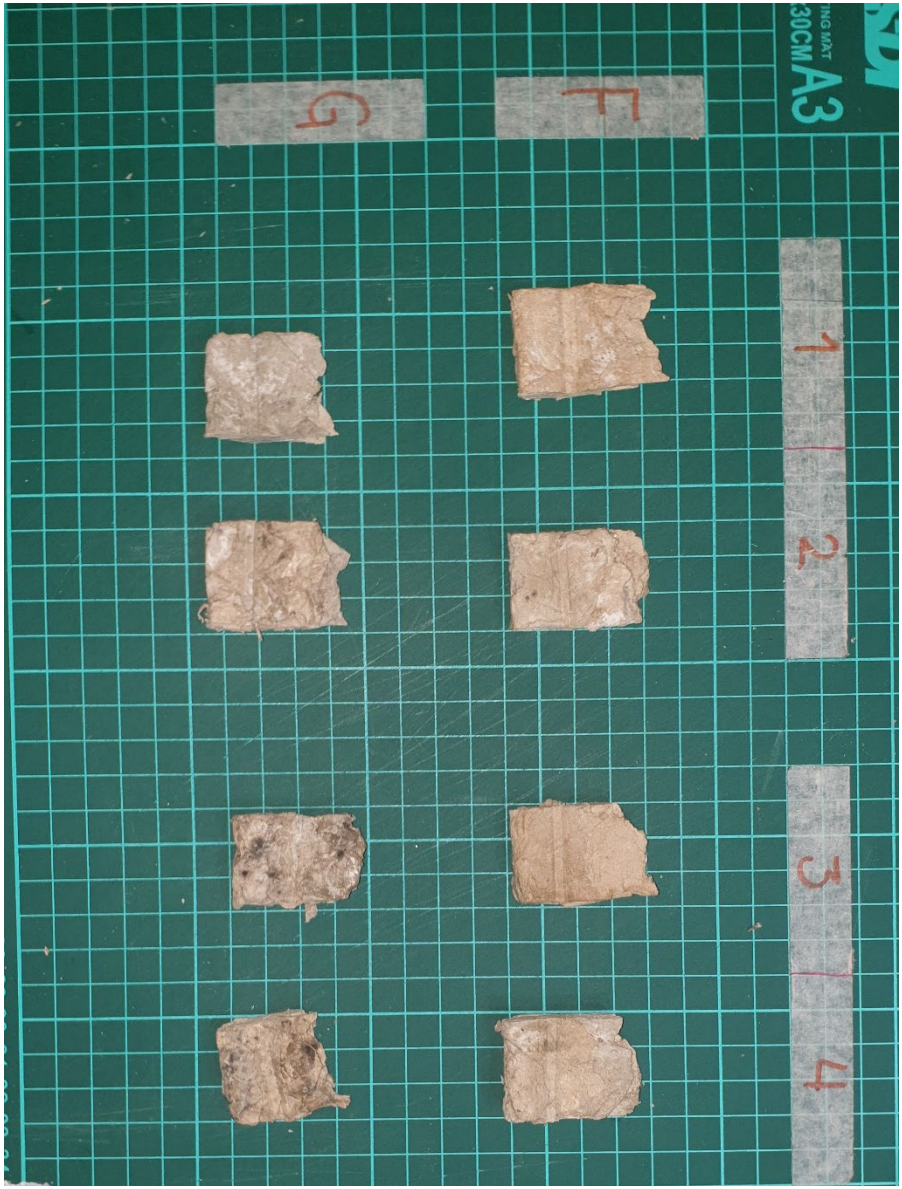


Fotos probetas Experiencia 1 - Post ensayo de Flexión



Fotos probetas Experiencia 1 - Post ensayo de Tracción

Fotos probetas Experiencia 1 - Post ensayo de Deformación por compresión



Fotos probetas Experiencia 2 - Rep 1 - Post ensayo de Flexión

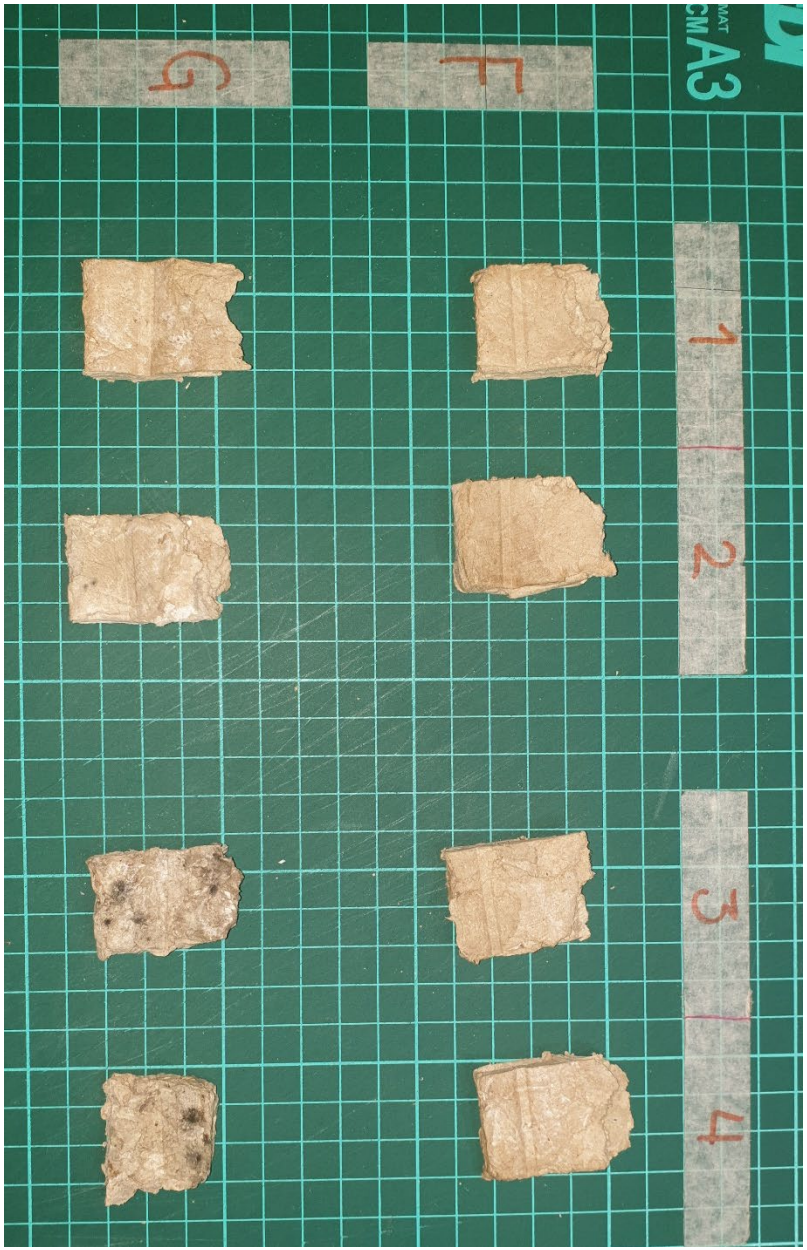
Fotos probetas Experiencia 2 - Rep 1 - Post ensayo de Tracción

Fotos probetas Experiencia 2 - Rep 1 - Post ensayo de Deformación por compresión

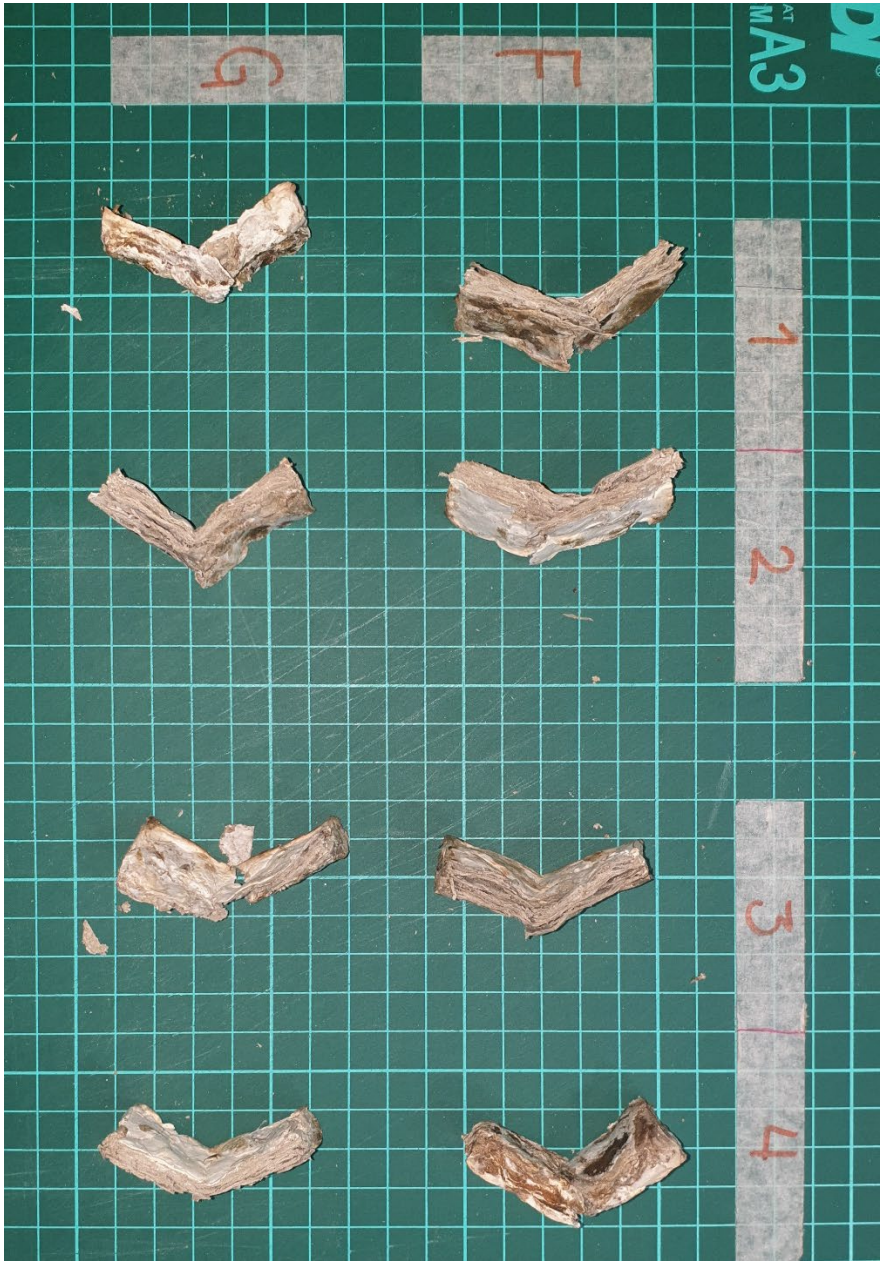
Fotos probetas Experiencia 2 - Rep 2 - Post ensayo de Flexión

Fotos probetas Experiencia 2 - Rep 2 - Post ensayo de Tracción

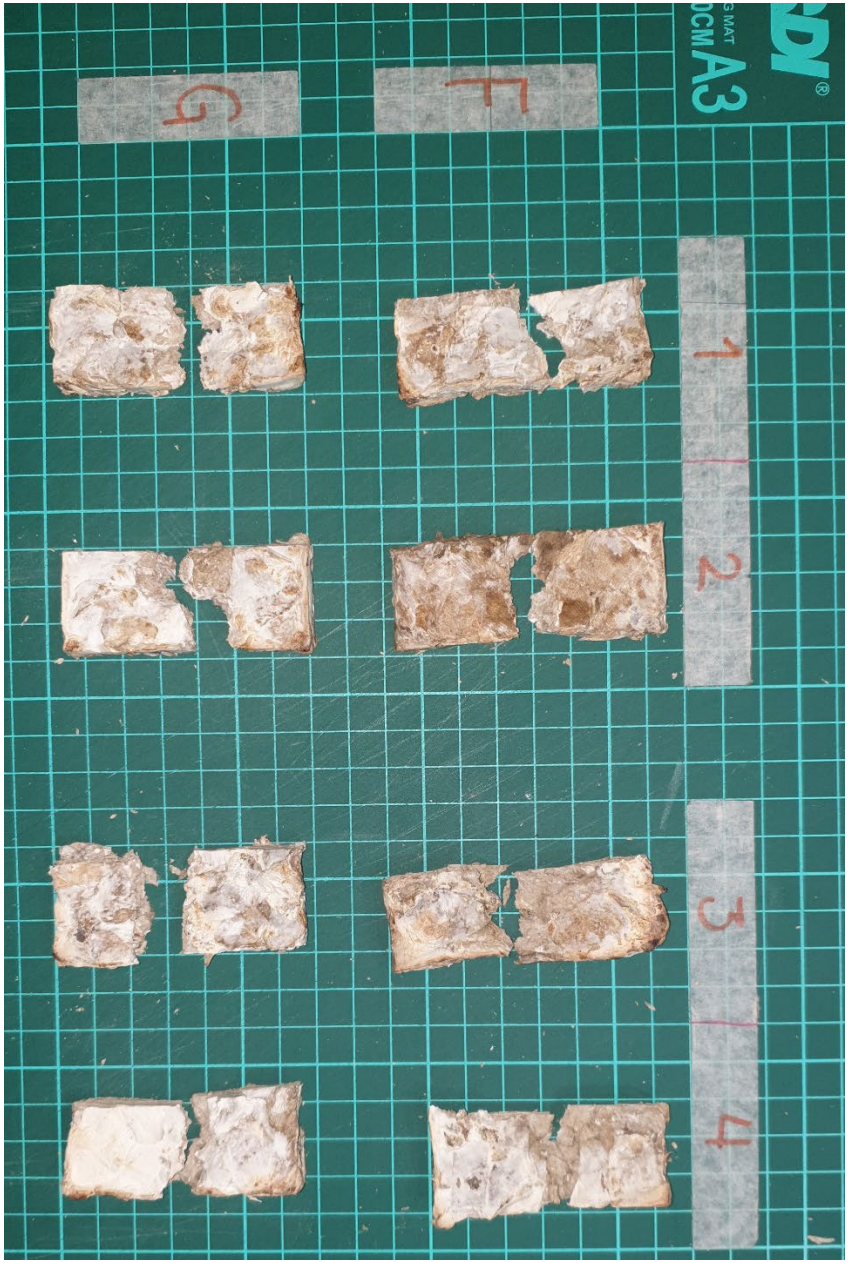
Fotos probetas Experiencia 2 - Rep 2 - Post ensayo de Deformación por compresión



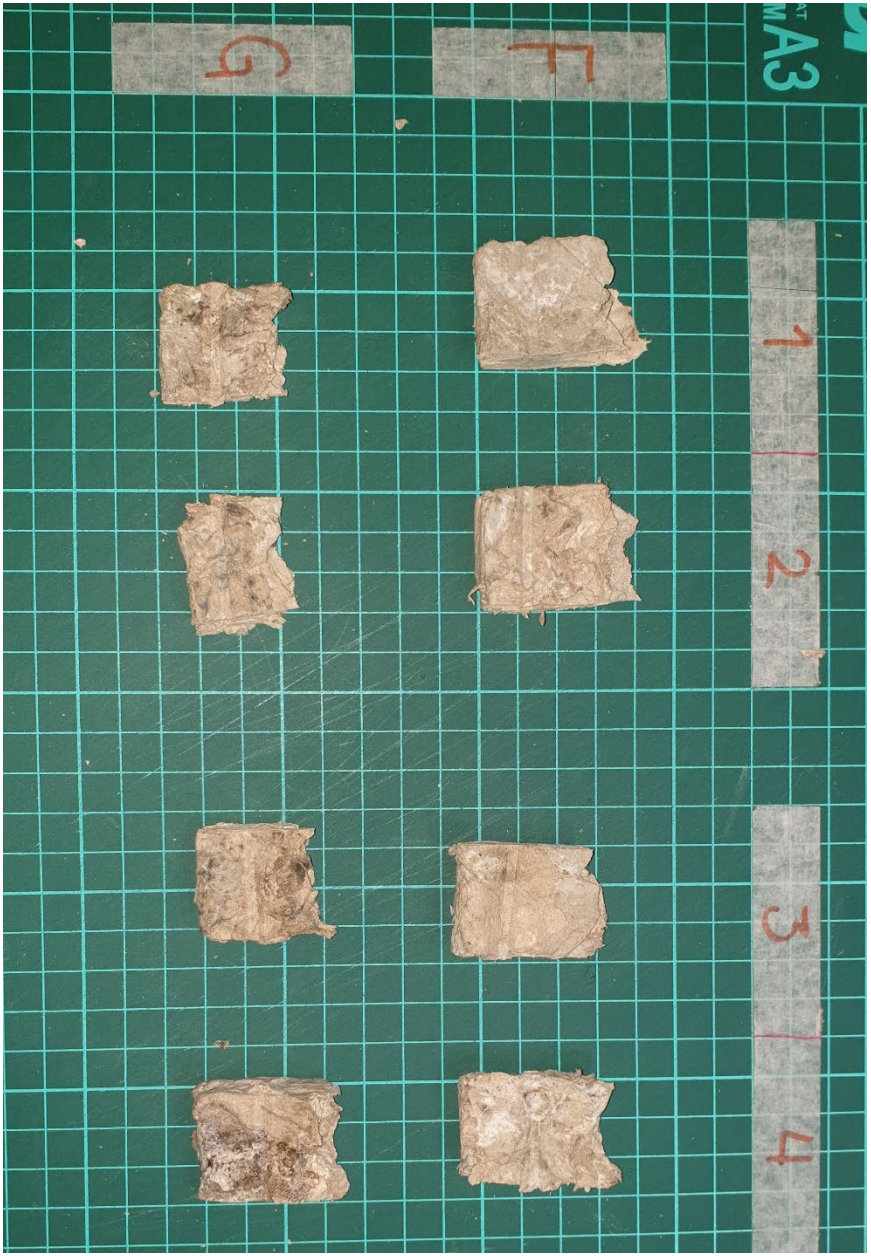
Fotos probetas Experiencia 2 - Rep 3 - Post ensayo de Flexión



Fotos probetas Experiencia 2 - Rep 3 - Post ensayo de Tracción



Fotos probetas Experiencia 2 - Rep 3 - Post ensayo de Deformación por compresión



Regresión factorial: 2 - FLX vs. PESO PRENSADO [KG]; TPO PRENSADO [min]; CEPA

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	118,292	16,8988	40,56	0,000
Lineal	3	107,458	35,8194	85,97	0,000
PESO PRENSAD [KG]	1	0,375	0,3750	0,90	0,357
TPO PRENSADO [min]	1	92,042	92,0417	220,90	0,000
CEPA	1	15,042	15,0417	36,10	0,000
Interacciones de 2 términos	3	10,792	3,5972	8,63	0,001
PESO PRENSAD [KG]*TPO PRENSADO [min]	1	1,042	1,0417	2,50	0,133
PESO PRENSAD [KG]*CEPA	1	9,375	9,3750	22,50	0,000
TPO PRENSADO [min]*CEPA	1	0,375	0,3750	0,90	0,357
Interacciones de 3 términos	1	0,042	0,0417	0,10	0,756
PESO PRENSAD [KG]*TPO PRENSADO [min]*CEPA	1	0,042	0,0417	0,10	0,756
Error	16	6,667	0,4167		
Total	23	124,958			

Regresión factorial: 2 - |Dc| vs. PESO PRENSADO [KG]; TPO PRENSADO [min]; CEPA

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	0,001128	0,000161	1,53	0,228
Lineal	3	0,000549	0,000183	1,73	0,200
PESO PRENSAD [KG]	1	0,000170	0,000170	1,61	0,223
TPO PRENSADO [min]	1	0,000378	0,000378	3,58	0,077
CEPA	1	0,000002	0,000002	0,02	0,903
Interacciones de 2 términos	3	0,000507	0,000169	1,60	0,228
PESO PRENSAD [KG]*TPO PRENSADO [min]	1	0,000317	0,000317	3,00	0,102
PESO PRENSAD [KG]*CEPA	1	0,000024	0,000024	0,22	0,643
TPO PRENSADO [min]*CEPA	1	0,000166	0,000166	1,58	0,227
Interacciones de 3 términos	1	0,000072	0,000072	0,68	0,421
PESO PRENSAD [KG]*TPO PRENSADO [min]*CEPA	1	0,000072	0,000072	0,68	0,421
Error	16	0,001689	0,000106		
Total	23	0,002816			

Regresión factorial: 2 - TRC vs. PESO PRENSADO [KG]; TPO PRENSADO [min]; CEPA

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	41,2917	5,8988	17,70	0,000
Lineal	3	38,4583	12,8194	38,46	0,000
PESO PRENSAD [KG]	1	1,0417	1,0417	3,12	0,096
TPO PRENSADO [min]	1	30,3750	30,3750	91,12	0,000
CEPA	1	7,0417	7,0417	21,13	0,000
Interacciones de 2 términos	3	1,7917	0,5972	1,79	0,189
PESO PRENSAD [KG]*TPO PRENSADO [min]	1	1,0417	1,0417	3,12	0,096
PESO PRENSAD [KG]*CEPA	1	0,3750	0,3750	1,12	0,305
TPO PRENSADO [min]*CEPA	1	0,3750	0,3750	1,12	0,305
Interacciones de 3 términos	1	1,0417	1,0417	3,12	0,096
PESO PRENSAD [KG]*TPO PRENSADO [min]*CEPA	1	1,0417	1,0417	3,12	0,096
Error	16	5,3333	0,3333		
Total	23	46,6250			