

Utilização de extratos de *Pleurotus ostreatus* como antioxidante natural em biodiesel

Use of *Pleurotus ostreatus* extracts as a natural antioxidant in biodiesel

DOI:10.34117/bjdv8n9-213

Recebimento dos originais: 23/08/2022

Aceitação para publicação: 20/09/2022

Guilherme Pozzobom Pavanello

Mestre em Bioenergia

Instituição: Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná
(UNICENTRO) - Campus Cedeteg

Endereço: R. Simeão Varela de Sá, 03, Vila Carli, Guarapuava - PR, CEP: 85040-080

E-mail: guilhermeppavanello@gmail.com

Camilo Bastos Ribeiro

Mestre em Bioenergia

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) - Campus Trindade

Endereço: R. Eng. Agrônomo Andrei Cristian Ferreira, s/n, Trindade,
Florianópolis – SC, CEP: 88040-900

E-mail: cb_ambiental@hotmail.com

Nayara Laís Boschen

Doutora em Química

Instituição: Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná
(UNICENTRO) - Campus Cedeteg

Endereço: R. Simeão Varela de Sá, 03, Vila Carli, Guarapuava - PR, CEP: 85040-080

E-mail: boschennay@gmail.com

Marilei F. de Oliveira

Doutora em Química

Instituição: Universidade Tecnológica do Paraná (UTFPR) - Campus Guarapuava

Endereço: Av. Profª. Laura Pacheco Bastos, 800, Industrial, Guarapuava - PR,
CEP: 85053-525

E-mail: marleid@utfpr.edu.br

Paulo Rogério Pinto Rodrigues

Doutor em Química

Instituição: Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná
(UNICENTRO) - Campus Cedeteg

Endereço: R. Simeão Varela de Sá, 03, Vila Carli, Guarapuava - PR, CEP: 85040-080

E-mail: prprodrigues@unicentro.br

RESUMO

A incorporação do biodiesel na matriz energética brasileira é de extrema importância para reduzir a importação de óleo diesel e diminuir os impactos ambientais gerados pelos gases de efeito estufa. Atualmente no Brasil a adição de biodiesel no óleo diesel é de 10%. Devido à biodegradabilidade do biodiesel, antioxidantes sintéticos são adicionados para

umentar sua vida útil, porém, esses compostos são derivados do petróleo e possuem potencial toxicidade e caráter carcinogênico. O objetivo deste trabalho foi utilizar extratos do *Pleurotus ostreatus* (P.O) como antioxidantes para biodiesel. Foram utilizadas técnicas rigorosas como: teste de oxidação acelerada (Rancimat[®] 873) e delineamento experimental simplex centróide. Para uso do P.O foram executadas a extração aquosa ácida, orgânica neutra e orgânica básica para extrair os compostos com potencial antioxidante e transferir-los para o biodiesel. A metodologia de extração aquosa ácida do P.O apresentou rendimento de 31,9%. Quando o biodiesel foi purificado com a solução ácida do *Pleurotus ostreatus* 5 g/L, o período de indução do biodiesel foi de 9,28 h (aumento de 183%), apresentando conformidade com a norma EN 14214.

Palavras-chave: shimeji, biocombustível, bioenergia.

ABSTRACT

The incorporation of biodiesel in the Brazilian energy matrix is of extreme importance to reduce the importation of diesel oil and decrease the environmental impacts generated by greenhouse gases. Currently in Brazil the addition of biodiesel in diesel oil is 10 %. Due to the biodegradability of biodiesel, synthetic antioxidants are added to increase its useful life, however, these compounds are derived from petroleum and have potential toxicity and carcinogenic character. The aim of this work was to use extracts of *Pleurotus ostreatus* (P.O) as antioxidants for biodiesel. Strict techniques were used such as: test of accelerated oxidation (Rancimat[®] 873) and it was used an experimental design centroid simplex. For use of oyster mushroom, aqueous acidic, neutral organic and basic extraction was used to extract the compounds with antioxidant potential and transfer to the biodiesel. The methodology of aqueous acid extraction of P.O showed a yield of 31.9%. When biodiesel was purified with the acid solution of *Pleurotus ostreatus* 5 g/L, the induction period of biodiesel was 9.28 h (183% increase), showing compliance with the standard EN 14214.

Keywords: shimeji, oxidation, biofuel, bioenergy.

1 INTRODUÇÃO

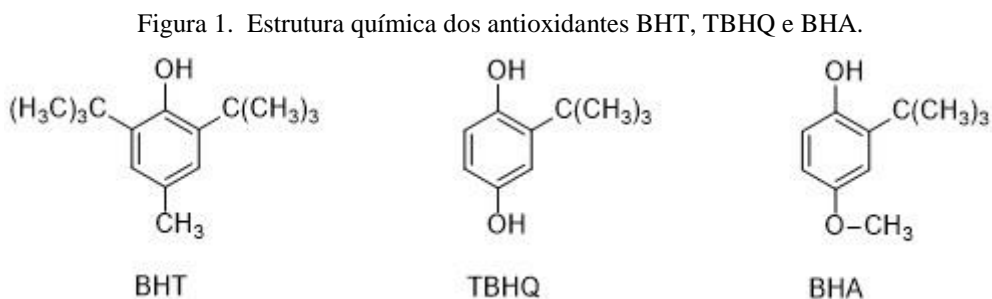
A preocupação com a redução ou mesmo esgotamento futuro de fontes de energia não-renováveis como o petróleo, associado ao prejuízo ambiental decorrente de seu uso, têm contribuído para a adoção de novas fontes de energia (Elfasakhany, 2016; Pereira *et. al.*, 2016; Ribeiro *et. al.*, 2018). Nesse contexto, tendo em vista a redução da dependência de combustíveis fósseis, desde 2004 as pressões de cunho político e ambiental no Brasil incentivam o Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel (PNPB).

O biodiesel é um combustível renovável, sendo uma alternativa ao diesel em motores de combustão interna por compressão (Fazal *et. al.*, 2018; Oliveira *et. al.* 2021; Ramos *et. al.*, 2017). Muitos estudos realizados com motores e condições operacionais variáveis apontam uma redução significativa no lançamento de poluentes na atmosfera com o acréscimo de biodiesel ao diesel (Iqbal *et. al.* 2015; Schirmer *et. al.*, 2015). No

caso do Brasil, além da questão ambiental, ressalta-se o potencial territorial e condições climáticas para o cultivo de soja e outras oleaginosas para a produção de biodiesel, facilitando a aceitação social e econômica (Pereira *et. al.* 2021; Holanda *et. al.*, 2021).

O biodiesel de soja apresenta teor de ésteres graxos insaturados superior a 60%, o que lhe confere baixa estabilidade oxidativa. Isso está entre os principais problemas para implementação desse biocombustível em maiores proporções na matriz energética brasileira (Romagnoli *et. al.*, 2018). De um modo geral, a suscetibilidade à oxidação do biodiesel compromete a sua qualidade e características físico-químicas (principalmente durante longo tempo de estocagem), implicando em falhas na qualidade de combustão, perda de aproveitamento termodinâmico de combustível e eficiência do motor (Kleinberg *et. al.*, 2019). A luz, oxigênio e a presença de metais de transição são os principais fatores para intensificar a reação de oxidação desse biocombustível (Fazal *et. al.*, 2017; Pölczmann *et. al.*, 2016).

Deste modo, é necessário o emprego de antioxidantes (naturais ou sintéticos) para inibir ou retardar a oxidação do biodiesel. Dentro da categoria dos antioxidantes sintéticos, destacam-se o butil-hidroxitolueno (BHT), butil-hidroxianisol (BHA) terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e propil galato (PG) (Borsato *et. al.*, 2014; Westhuizen *et. al.*, 2018). A Figura 1 apresenta a estrutura química do BHT, TBHQ e BHA.

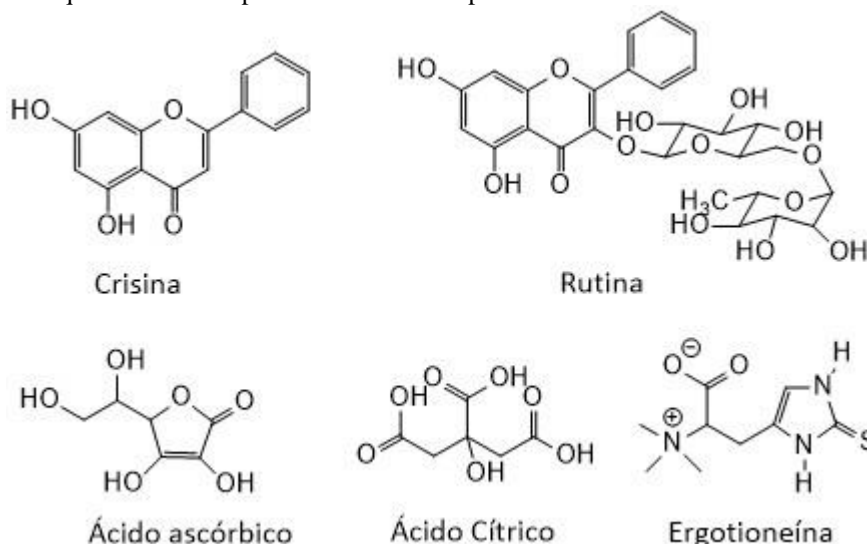


Entre os naturais destacam-se as vitaminas A, C, E e outras substâncias contidas em vegetais como o alecrim, manjeriço, hortelã, erva mate, pistachio, resíduos industriais, entre outros (Ahachi *et. al.*, 2018; Boschen *et. al.*, 2019; Spacino *et. al.*, 2016; Valenga *et. al.*, 2019). Os cogumelos são outra fonte natural de compostos antioxidantes, muito utilizados pelos povos orientais desde os tempos ancestrais como alimento e uso medicinal (Pazza *et. al.*, 2019; Silva & Jorge, 2011).

A literatura reporta diversos estudos sobre o cogumelo ostra (*Pleurotus ostreatus*), tal qual possui alto poder antioxidante (González-Palma *et. al.*, 2016; Jayakumar *et. al.*,

2009). Estudos apresentam uma vasta gama de compostos antioxidantes presentes no P.O: rutina, crisina, ácidos fenólicos, antocianinas, ergosterol, vitaminas B1, B2, B3, B4, C e E, entre outros (Bekiaris *et. al.*, 2020; Koutrotsios *et. al.*, 2017; Torres-Martínez *et. al.*, 2021). As estruturas químicas dos compostos normalmente encontrados nesta espécie de cogumelo são apresentadas na Figura 2.

Figura 2. Estrutura química dos compostos comumente presentes em extratos de *Pleurotus ostreatus*.



A literatura reporta que o uso de diferentes solventes em extrações de cogumelos altera a composição química dos extratos. Torres-Martinez *et al.*, (2021) concluíram que a composição química, teor de fenóis totais e poder de redução do ferro dos extratos de cogumelos variaram de acordo com o solvente utilizado. Esse fato foi atribuído a polaridade do solvente e o extrato aquoso foi o que resultou no maior potencial antioxidante (Han *et. al.*, 2015; Martínez-Flores *et. al.*, 2020; Torres-Martínez *et. al.*, 2021; Vamanu, 2013).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho é avaliar o desempenho antioxidante dos extratos do *Pleurotus ostreatus* em biodiesel de soja. Para tal avaliação foram utilizadas técnicas como extração ácida aquosa, orgânica neutra e orgânica básica, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), oxidação acelerada e delineamento simplex centróide.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Para a produção do biodiesel foi utilizado metanol P.A (40 °C) (99,9%, Synth[®]-BR), óleo de soja refinado comercial (80 °C) e hidróxido de potássio P.A (mín 85%, Synth[®]- BR). Para tal processo foi empregada a reação de transesterificação por via básica, utilizando as proporções de 100 mL de óleo de soja vegetal, 1,5 g de hidróxido de potássio e 30 mL de metanol (Boschen *et. al.*, 2019; Valenga *et. al.*, 2019). A síntese foi conduzida a 65 °C sob agitação magnética por um período de 60 minutos. Depois de finalizada a reação, realizou-se a separação de fases, em que a fase superior consiste no biodiesel e a inferior na glicerina, por um período de 24 h. Após a remoção da glicerina, foi iniciado o processo de purificação utilizando a metodologia reportada por Geris *et. al.*, (2007).

Como amostra controle foi utilizado o biodiesel comercial fornecido por uma empresa local no Brasil. Esse biocombustível estava dentro das especificações estabelecidas pela legislação internacional da European Committee for Standardization EN 14214/2020 e conforme a Resolução n.º 798, de 1 de agosto de 2019 (EN, 2020).

Posteriormente, foi realizada cromatografia gasosa com espectrômetro de massas acoplado (CG-EM) para quantificar o teor de ésteres contidos no biodiesel de soja. O equipamento utilizado foi o CG-Shimadzu-GC2010-plus acoplado a um espectrômetro de massa MS-QP2010-Ultra (Shimadzu). A coluna empregada foi a RT-2560 (100 m de comprimento, diâmetro de 0,25 mm e 0,25 µm de espessura de filme). A injeção da amostra foi realizada manualmente. O ensaio foi iniciado à temperatura de 190 °C com aumento de 1,5 °C min⁻¹. O gás utilizado foi o Hélio 5.0, com fluxo total de 18,7 mL min⁻¹ e fluxo de coluna de 0,31 mL min⁻¹. A amostra foi preparada com 50 mg de biodiesel, 500 µL de padrão interno C23 (mín 99%, Sigma-Aldrich-EUA) e 500 µL de n-heptano (mín 99,5%, Vetec-BR) (Romagnoli *et. al.*, 2018).

2.2 EXTRATOS DO PLEUROTUS OSTREATUS

A moagem do *Pleurotus ostreatus* foi realizada em um moinho de microfacas (Marconi[®] MA-048) e posteriormente foi peneirado de modo a atingir a conformidade no tamanho das partículas para 120 mesh (0,125 mm).

Para realizar as extrações do *Pleurotus ostreatus* foi empregado o processo descrito por Boschen e colaboradores (Boschen *et. al.*, 2019; Valenga *et. al.*, 2019). Foram realizadas três extrações: ácida aquosa, orgânica neutra e orgânica básica.

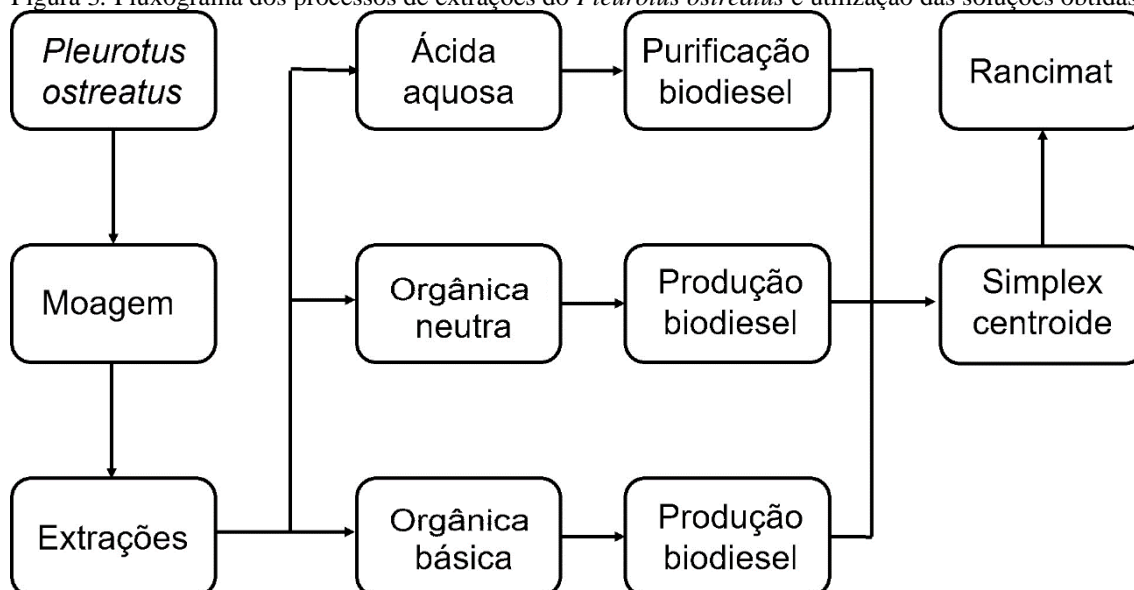
Para a extração ácida foi empregado ácido clorídrico P.A (37%, Hexis-BR), em contato por 30 minutos com o cogumelo moído e peneirado. Em seguida, purificou-se o filtrado com água destilada para arrastar os compostos e o ácido clorídrico residual. Feito isso, obteve-se uma solução de ácido clorídrico 0,5 % (V/V) fortificada com compostos extraídos para ser utilizada na etapa de purificação do biodiesel (Boschen *et. al.*, 2019; Valenga *et. al.*, 2019). Portanto, de maneira semelhante a purificação do biodiesel controle (na qual foi utilizada uma solução de HCl 0,5% (V/V)), a solução resultante da extração aquosa ácida foi utilizada na purificação do biodiesel do experimento 1. Para os experimentos 4 e 5 a solução resultante foi diluída em 50% e para os experimentos 7, 8 e 9 em 33%.

De maneira semelhante realizou-se a extração orgânica neutra, na qual foi utilizado metanol P.A (99,9%, Synth[®] - BR) como solvente. O metanol foi adicionado ao *Pleurotus ostreatus* e a mistura ficou sob agitação magnética por 24 horas (Boschen *et. al.*, 2019; Valenga *et. al.*, 2019). Posteriormente, foi realizada a filtragem e a solução resultante foi utilizada na etapa de produção da amostra do ensaio 2 (delineamento experimental). Para os experimentos 4 e 6 a solução resultante foi diluída em 50% e para os experimentos 7, 8 e 9 em 33%.

Já para a extração orgânica básica foi empregado metóxido de potássio como solvente, em contato por 30 minutos com o *Pleurotus ostreatus* sob agitação magnética (Boschen *et. al.*, 2019; Valenga *et. al.*, 2019). Em seguida, foi realizada a filtragem e a solução resultante foi utilizada na etapa de produção da amostra do ensaio 3. Para os experimentos 5 e 6 a solução resultante foi diluída em 50% e para os experimentos 7, 8 e 9 em 33%.

As soluções contendo os extratos obtidos pelos três meios descritos anteriormente, foram utilizadas separadas e também associadas, conforme previsto no delineamento experimental. A Figura 3 demonstra o fluxograma dos processos de extração e utilização das soluções que contém antioxidante nas etapas de obtenção do biodiesel.

Figura 3. Fluxograma dos processos de extrações do *Pleurotus ostreatus* e utilização das soluções obtidas.



Ademais, foi realizada a determinação do teor de fenóis totais dos extratos do *Pleurotus ostreatus* pelo método Folin-Ciocalteu. Foi utilizada a metodologia de Kumazawa *et. al.* (2004) com algumas modificações (leitura em 765nm, solução Folin-Ciocalteu 0,6 N e solução Na₂CO₃ 10%). Foi empregado o ácido gálico P.A (mín 98%, Dinâmica-BR) como reagente padrão para construção da curva de calibração nas concentrações de 2, 5, 10, 20 e 30 ppm. A leitura da absorbância das amostras foi realizada no espectrofotômetro Gehaka VIS-340G. Os resultados foram obtidos pela equação da reta da curva de calibração e foram expressos em equivalente de ácido gálico (mg EAG/g amostra seca).

A composição química do extrato orgânico neutro do *Pleurotus ostreatus* foi caracterizada por um cromatógrafo a gás acoplado à espectrometria de massas (marca Shimadzu, modelo GCMS-QP2010S), equipado com uma coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Uma alíquota de cerca de 5 mL do extrato foi evaporada até seca sob fluxo de nitrogênio, sendo o resíduo derivatizado com reagente de silanização (N, Obistrifluoroacetamida e BSTFA). O volume de injeção foi de 1µL. Foi usado gás hélio como carreador a fluxo constante de 1 mL/min, a temperatura do injetor de 270 °C (modo Split 1:20), temperatura inicial em 40 °C crescente a cada minuto em 5 °C até 150 °C, mantendo-se nessa temperatura por 55 minutos. No detector de massas a temperatura da câmara de ionização foi de 230 °C, foi utilizado o sistema de detecção EM no modo “scan” operando na faixa de razão massa/carga (m/z) de 30 - 600.

2.3 OXIDAÇÃO ACELERADA

A técnica de oxidação acelerada avalia a estabilidade oxidativa do combustível, através da indução da oxidação do por meio do aumento da temperatura, aonde são mensurados de maneira indireta os produtos desta oxidação acelerada, os ácidos voláteis. Conforme ocorre o aumento da oxidação, são gerados mais produtos de oxidação, direcionados a um compartimento do aparelho contendo água destilada e, através de dois eletrodos de aço inoxidável, a condutividade elétrica é medida. O ponto de inflexão característico do aumento instantâneo da condutividade elétrica é denominado período de indução.

Os ensaios de estabilidade oxidativa realizado em triplicata foram avaliados para o biodiesel controle e para as amostras de biodiesel tratadas com os extratos, de acordo com a norma EN 14112, exigido pela resolução nº. 45 de 2014 da ANP, utilizando o equipamento de oxidação acelerada 873 Biodiesel Rancimat – Metrohm®. Os ensaios foram realizados com taxa de insuflação constante de oxigênio (10 L/h) com amostras de 3 g de biodiesel, na temperatura de 110 °C.

2.4 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

Para estudo da aplicação dos extratos do *Pleurotus ostreatus* foi empregado um delineamento experimental, o simplex centroide. As variáveis independentes foram a extração aquosa ácida (x_1), extração orgânica neutra (x_2) e a extração orgânica básica (x_3), com três níveis de variação [n], [n/2] e [n/3], onde a soma dos componentes da mistura sempre é igual a 1. Como variável resposta (Y) foi selecionado o período de indução (h).

As concentrações utilizadas nas variáveis independentes foram selecionadas baseadas em estudos preliminares. A Tabela 1 apresenta as misturas e os experimentos realizados em triplicata. Os coeficientes de regressão do modelo bem como as figuras de mérito (diagrama de Pareto, superfície de contorno e ponto ótimo) foram estimados no *software* Statistica® v13.3.

Tabela 1 - Experimentos do delineamento simplex centroide para os diferentes processos de extração do *Pleurotus ostreatus* e a mistura dos mesmos.

Experimentos	Variáveis codificadas			
	x ₁	x ₂	x ₃	
1	1	0	0	
2	0	1	0	
3	0	0	1	
4	½	½	0	
5	½	0	½	
6	0	½	½	
7	⅓	⅓	⅓	
8	⅓	⅓	⅓	
9	⅓	⅓	⅓	
Variáveis Independentes	Níveis Codificados			
	0	1	½	⅓
x ₁ = Extrato aquoso ácido 5,0 g/L	0	5	2,5	1,67
x ₂ = Extrato orgânico neutro 5,0 g/L	0	5	2,5	1,67
x ₃ = Extrato orgânico básico 5,0 g/L	0	5	2,5	1,67

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PLEUROTUS OSTREATUS

Os rendimentos das extrações foram calculados utilizando a massa antes e depois do processo. A extração aquosa ácida apresentou rendimento de 31,9%, seguido da extração orgânica básica de 17,7% e orgânica neutra 9,9%. O maior rendimento da extração aquosa ácida sugere que os compostos presentes no *Pleurotus ostreatus* possuem maior solubilidade em água. Adicionalmente, em meio ácido ocorre a protonação dos compostos hidrofóbicos, dessa forma aumentando a solubilidade e arrastando-os na extração. Vargas-Sánchez *et. al.*, (2018) encontraram rendimento de extração semelhante para *Pleurotus ostreatus*, de 34,2% para extrato aquoso. Entretanto, Torres-Martinez *et al.*, (2021) encontraram rendimento de 47% para extração aquosa e 34% para extração etanólica. Assim sendo, os pesquisadores constataram que com o aumento da polaridade do solvente há elevação no rendimento da extração. Portanto, as extrações orgânicas (neutra e básica) apresentaram menor rendimento devido a polaridade do metanol ser inferior à da água.

De maneira semelhante Sudha *et. al.*, (2012) verificaram que a polaridade do solvente influenciou os valores de teor de fenóis totais em extratos, onde em extração aquosa encontraram valores mais elevados do que em extração orgânica (metanol). O teor de fenóis totais para os três extratos do *Pleurotus ostreatus* foi calculado a partir da equação da reta da curva de calibração ($R^2=0,9997$). O extrato aquoso ácido apresentou teor de fenóis totais de $14,021 \pm 0,69$ mg EAG/g, orgânico básico de $6,042 \pm 0,24$ mg EAG/g, e orgânico neutro de $1,811 \pm 0,18$ mg EAG/g. Os resultados encontrados para o

extrato aquoso ácido são inferiores aos de Torres-Martinez *et al.*, (2021) 31,7 mg EAG/g e superiores aos de González-Palma *et. al.*, (2016) 11,36 mg EAG/g. Koutrotsios *et. al.*, (2017) encontraram 0,07 mg EAG/g_(massa úmida) em extração metanólica.

A diferença entre os dados desta pesquisa e os resultados encontrados na literatura ocorre por vários fatores, tais como: substrato utilizado na produção, tempo de maturação, condições de extração (solvente, temperatura e tempo).

A CG-EM do extrato orgânico neutro identificou diversos compostos com potencial antioxidante, tais como: ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido benzoico), ácido succínico, ácido fumárico, ácido cítrico, ácido aspártico, ácido málico, aminoácidos (valina, serina, treonina, alanina, leucina, isoleucina) e polióis (ribitol, eritritol e glucitol), ergosterol e trealose. Esses compostos possuem hidroxilas com capacidade de doar um próton estabilizando radicais livres.

3.2 OXIDAÇÃO ACELERADA

A amostra de biodiesel sem adição de antioxidante apresentou período de indução de $3,19 \pm 0,08$ h, logo, não está em conformidade com as especificações da RANP N° 45 (mín. 12 h) e da EN 14214 (mín. 8,5 h). Esses resultados indicam que o biodiesel não pode ser armazenamento durante um longo prazo, sendo que, este fato já era esperado devido à ausência de antioxidante. Boschen *et. al.*, (2019) encontraram um resultado semelhante para a amostra de biodiesel sem antioxidantes, com período de indução (P.I) de $2,87 \pm 0,20$ h. Já o teor de ésteres do biodiesel de soja foi de 99,88 %. Esse resultado está conforme com o limite mínimo de 96% da RANP n° 45.

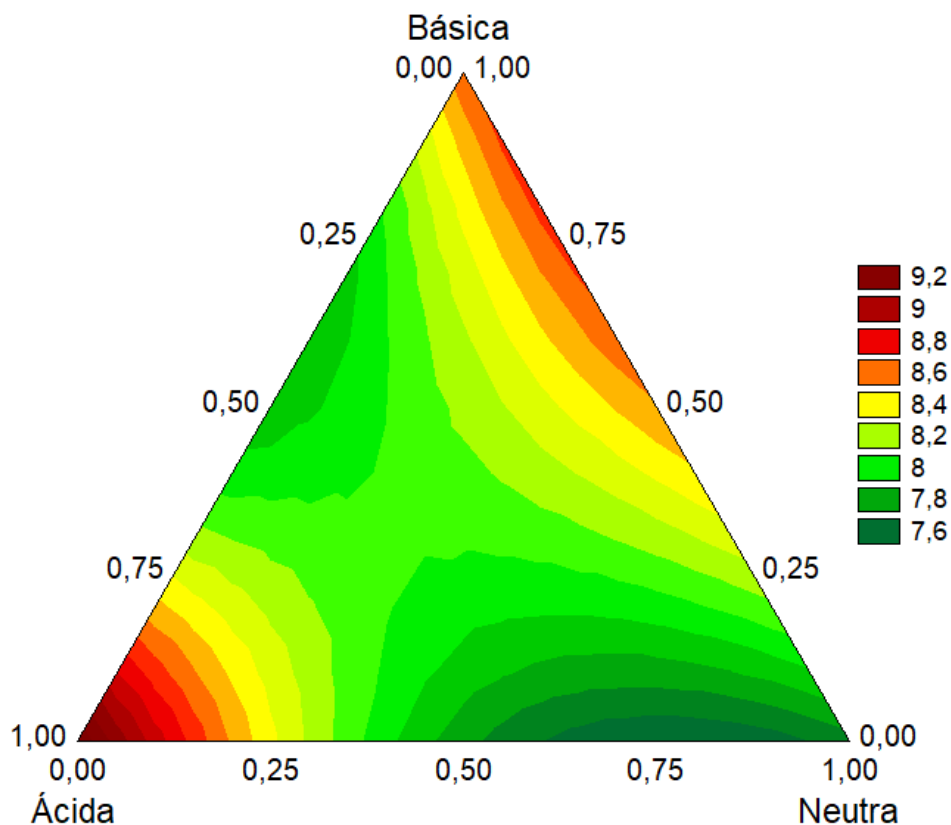
Os resultados dos ensaios (triplicata) fornecidos pelo simplex centroide são apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Resultados do período de indução do biodiesel obtidos com o delineamento de misturas simplex centroide.

Experimentos	Variáveis codificadas			Y (horas)
	x ₁	x ₂	x ₃	110 °C
1	1	0	0	9,28 ± 0,06
2	0	1	0	7,65 ± 0,43
3	0	0	1	8,58 ± 0,59
4	½	½	0	7,74 ± 0,45
5	½	0	½	7,83 ± 0,23
6	0	½	½	8,49 ± 0,39
7	⅓	⅓	⅓	8,32 ± 0,35
8	⅓	⅓	⅓	8,00 ± 0,28
9	⅓	⅓	⅓	7,78 ± 0,34

A Figura 4 apresenta a superfície de contorno, na qual cada vértice do triângulo representa um extrato de cogumelo *Pleurotus ostreatus* empregado, onde, x₁ representa a extração aquosa ácida, x₂ a extração orgânica neutra e x₃ a extração orgânica básica.

Figura 4. Superfície de contorno do período de indução.



O extrato ácido (1:0:0) apresentou maior potencial antioxidante, o qual resultou em um período de indução (P.I) de 9,28 ± 0,06 h, representando um aumento de aproximadamente 183% quando comparado ao B100. Com efeito de proteção intermediário, a extração orgânica básica resultou em P.I de 8,58 ± 0,59 (aumento de

162%). A extração orgânica neutra (0:1:0) apresentou menor desempenho de proteção, com aumento de 133%. Já a mistura (½:0:½) com P.I de $7,83 \pm 0,23$ h exibiu um efeito antagônico, uma vez que, esse resultado é menor que os experimentos 1 e 3. Portanto, a interação do extrato aquoso ácido com o extrato orgânico básico desfavoreceu o potencial inibidor contra a oxidação do biodiesel.

O melhor desempenho da extração aquosa ácida em inibir a oxidação do biodiesel foi atribuído ao solvente utilizado ser a água e apresentar maior TFT. Já o extrato orgânico neutro com menor valor de TFT apresentou proteção inferior.

O aumento de P.I do biodiesel foi atribuído aos compostos caracterizados pela CG-EM: tais como: ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido benzoico), aminoácidos (valina, serina, treonina, alanina, leucina, isoleucina) e polióis (ribitol, eritritol e glucitol), ergosterol e trealose.

A Tabela 3 apresenta resultados de P.I provenientes do uso de antioxidantes naturais encontrados na literatura. O resultado do presente trabalho apresentou um desempenho intermediário.

Tabela 3. Resultados de período de indução da utilização de antioxidantes naturais encontrados na literatura.

Fonte natural	P.I (controle) (h)	P.I (amostra) (h)	Aumento (%)	Referência
Hortelã	2,56	3,90	52	18
Resíduo Cevada	2,87	5,8	102	21
<i>Moranga oleifera</i>	4,04	8,18	102	23
<i>Pleurotus ostreatus</i>	3,19	9,28	183	Este trabalho
Manjeriçã	2,73	9,40	244	20
Polén de Sábura	2,56	13,87	442	18

O modelo fornecido pelo software Statistica[®] foi significativo em nível 5 %. com valor de p igual a 0,092. O valor do coeficiente de correlação (R²) observado foi de 82,94, o qual pode ser considerado satisfatório por ser maior que 80 % (Bisht *et. al.*, 2013; Kumar *et. al.*, 2015; Maia *et. al.*, 2016; Novaes *et. al.*, 2018; dos Santos *et. al.*, 2022).

A equação do modelo cúbico especial é demonstrada pela equação 1, onde, são apresentados somente os termos significativos em nível de 5 % de confiança.

$$Y = 9,28x_1 + 7,65x_2 + 8,58x_3 - 3,93x_1x_3 \quad \text{Equação 1}$$

Onde,

Y= tempo de indução (h);

x₁= concentração do extrato ácido de cogumelo shimeji;

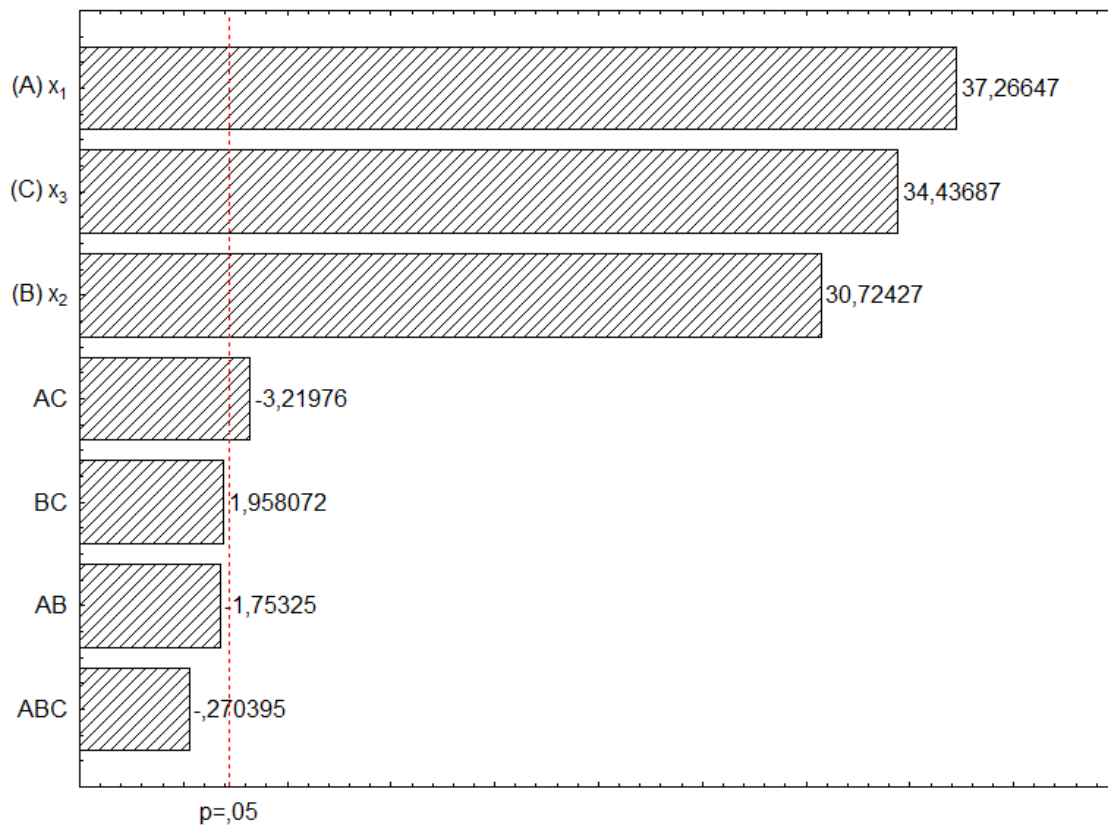
x₂= concentração do extrato orgânico de cogumelo shimeji;

x₃= concentração do extrato básico de cogumelo shimeji;

x_1x_3, x_2x_3 = interação para misturas binárias.
 $x_1x_2x_3$ = interação para mistura ternária.

A Figura 5 apresenta o diagrama de Pareto, o qual mostra a interações entre as variáveis.

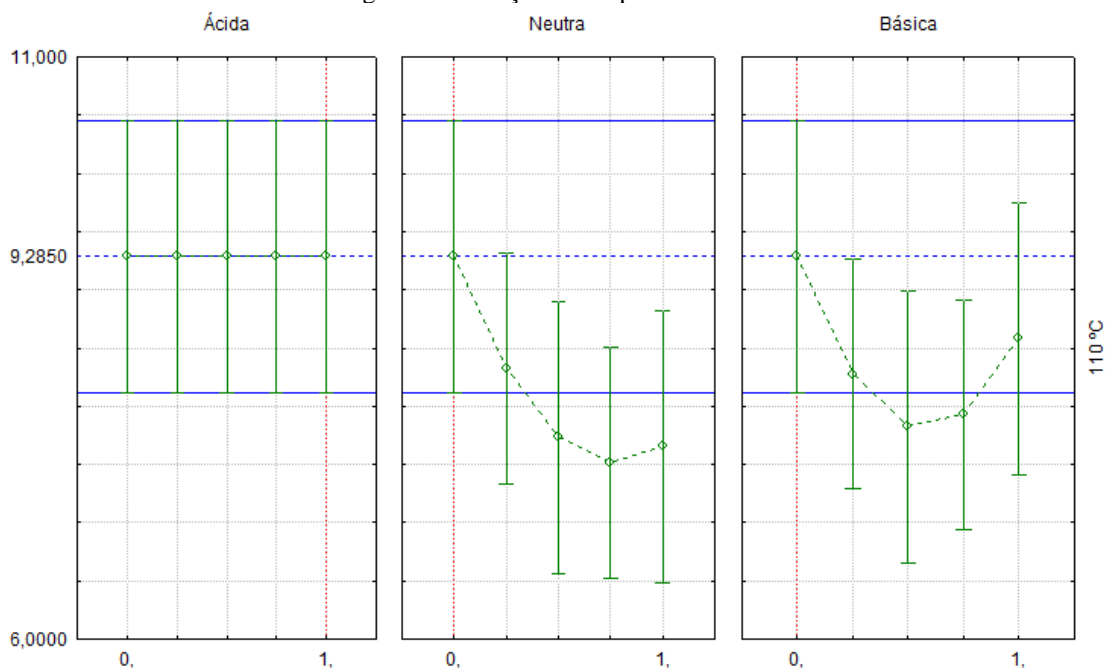
Figura 5. Diagrama de Pareto do modelo.



Na figura 5 é possível observar que as variáveis empregadas de forma individual apresentaram desempenho mais elevado, com destaque para a extração aquosa ácida (x_1). As interações binárias AB (x_1 com x_2), BC (x_2 com x_3) e a interação ternária ABC não foram significativas em intervalo de 95 % de confiança. As variáveis x_1 , x_2 e x_3 (analisadas de maneiras individual) foram significativas em nível de 5 % de confiança. A mistura binária x_1x_3 também foi significativa, porém, com ação antagonista desfavorecendo a ação de proteção contra a oxidação.

Para avaliar a condição ótima, ou seja, aquele em resulta em um valor superior do que já encontrado no delineamento experimental simplex centroide, foi aplicada a otimização do modelo. A Figura 6 apresenta o gráfico de condição ótima fornecida pelo modelo.

Figura 6. Condição ótima para o modelo.



Como pode ser observado na Figura 6 o valor de condição ótima proposto pelo modelo é o resultado do experimento 1 (x_1). Dessa forma, a aplicação do extrato aquoso ácido é a condição ótima.

4 CONCLUSÃO

As três extrações empregadas apresentaram efeito inibidor da oxidação do biodiesel de soja. A extração aquosa ácida aplicada no *Pleurotus ostreatus* apresentou a maior eficiência em termos de período de indução com resultado de $9,28 \pm 0,06$ h (aumento percentual de 183%) e o mesmo está de acordo com o limite mínimo de 8,5 h da norma europeia EN 14214. Portanto, conclui-se que o *Pleurotus ostreatus* pode utilizado como antioxidante natural para biodiesel.

Os três extratos apresentaram compostos fenólicos, com destaque para o extrato aquoso ácido com TFT de $14,021 \pm 0,69$ mg EAG/g, orgânico básico de $6,042 \pm 0,24$ mg EAG/g, e orgânico neutro de $1,811 \pm 0,18$ mg EAG/g. O maior valor de TFT da rota aquosa ácida corrobora a melhor proteção contra a oxidação do biodiesel.

O coeficiente de correlação (82,9%), p (0,092) diagrama de Pareto, superfície demonstraram que o modelo proposto pode ser usado para fins preditivos em intervalo de confiança de 95%.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná (UNICENTRO), ao CNPQ, FINEP e a Fundação Araucária. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

Ahachi, M.; Tabatabaei, M.; Aghbashlo, M.; Rezaei, K.; Talebi, A. F.; Ghaffari, A.; Khoshnevisan, B.; Khounani, Z.; Pistachio (*Pistachia vera*) wastes valorization: Enhancement of biodiesel oxidation stability using hull extracts of different varieties. *Journal of Cleaner Production* **2018**, *185*, 1. [[CrossRef](#)]

Bekiaris, G.; Tagkouli, D.; Koutrotsios, G.; Kalogeropoulos, N.; Zervakis, G. I.; *Pleurotus* Mushrooms Content in Glucans and Ergosterol Assessed by ATR-FTIR Spectroscopy and Multivariate Analysis. *Foods* **2020**, *9*, 535. [[CrossRef](#)]

Bisht, D.; Yadav, S. K.; Darmwal, N. S.; Computation of interactive effects and optimization of process parameters for alkaline lipase production by mutant strain of *Pseudomonas aeruginosa* using response surface methodology. *Brazilian Journal of Microbiology* **2013**, *44*, 1. [[CrossRef](#)]

Borsato, D.; Cini, J. R. D. M.; Da Silva, H. C.; Coppo, R. L.; Angilelli, K. G.; Moreira, I.; Maia, E. C. R.; Oxidation kinetics of biodiesel from soybean mixed with synthetic antioxidants BHA, BHT and TBHQ: determination of activation energy. *Fuel Processing Technology* **2014**, *127*, 111. [[CrossRef](#)]

Boschen, N. L.; Valenga, M. G. P.; Maia, G. A. R.; Gallina, A. L.; Rodrigues, P. R. P.; Synergistic study of the antioxidant potential of barley waste for biodiesel. *Industrial Crops and Products*, **2019**, *140*, 15. [[CrossRef](#)]

de Oliveira, E. P.; Lasmar, D. J.; Chaar, J. S.; da Silva, E. L.; Lima, E. Q.; Souza, M. S.; de Macedo, F. P.; do Carmo, G. B.; Santos, E. P.; Perfil da qualidade do Biodiesel, Diesel B S10 e B S500 em uma distribuidora na Região Norte do Brasil. **Brazilian Journal of Development** 2021, *7*, 110135–110152. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n12-008>.

Diane Pereira, E.; Marciniuk, L. L.; Pricinotto, G.; Crespan, E. dos R.; Soares, S. S.; Biodiesel: uma proposta reflexiva no Ensino de Química sob a perspectiva CTSA. **Brazilian Journal of Development** 2021, *7*(4), 34113–34128. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n4-051>

dos Santos, D. F., de Araújo, T. P., Ostroski, I. C., & de Barros, M. A. S. D. (2022). Otimização da produção de biochar a partir de casca de tingui. **Brazilian Journal of Development** 2022, *8*(2), 9602–9615. <https://doi.org/10.34117/bjdv8n2-078>

Elfasakhany, A.; Experimental study of dual n-butanol and iso-butanol additives on spark-ignition engine performance and emissions. *Fuel* **2016**, *163*, 1. [[CrossRef](#)]

En 14112, Fat and Oil Derivatives Fatty Acid Methyl Esters (FAME): Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test). (2020). [[Link](#)]

Fazal, M. A.; Jakeria, M. R.; Haseeb, A. S. M. A.; Rubaiee, S.; Effect of antioxidants on the stability and corrosiveness of palm biodiesel upon exposure of different metals. *Energy* **2017**, *135*. [[CrossRef](#)]

Fazal, M. A.; Suhaila, N. R.; Haseeb, A. S. M. A.; Rubaiee, S.; Al-Zahrani A.; Influence of copper on the instability and corrosiveness of palm biodiesel and its blends: An

assessment on biodiesel sustainability. *Journal of Clean Production* **2018**, *171*, 1407. [CrossRef]

Geris, R.; Santos, N. A. C.; Amaral, B. A.; Maia, I. S.; Castro, V. D.; Carvalho, J. R. M.; Biodiesel de soja – reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica. *Química Nova* 2007, *30*, 5. [CrossRef]

González-Palma, I.; Escalona-Buendía, H. B.; Ponce-Alquicira, E.; Téllez-Téllez, M.; Gupta, V. K.; Díaz-Godínez, G.; Soriano-Santos, J.; Evaluation of the Antioxidant Activity of Aqueous and Methanol Extracts of *Pleurotus ostreatus* in Different Growth Stages. *Frontiers in Microbiology* **2016**, *7*, 1099. [CrossRef]

Han, S.; Kim, K.; Lim, K.; Oh, T.; Biological Activity Analysis of Different Solvent Extracts from *Pleurotus Ostreatus*. *Indian Journal of Science and Technology* **2015**, *8*, 1. [CrossRef]

Holanda, S. H. de B.; Medeiros, R. de M.; Júnior, M. J. da S.; Rocha, J. de O.; da Silva, R. P.; de Brito, A. R.; da Silva, L. A. de O.; Jucá, J. F. T.; Avaliação da influência do glicerol sobre a geração de biogás de resíduos sólidos urbanos através do teste bmp. **Brazilian Journal of Development** 2021, *7*(5), 44257–44267. <https://doi.org/10.34117/bjdv.v7i5.29216>

Iqbal, M. A.; Varman, M.; Hj, M.; Kalam, H. M. A.; Hossain, S.; Sayeed, I.; Tailoring fuel properties using jatropha, palm and coconut biodiesel to improve CI engine performance and emission characteristics. *Journal of Clean Production* **2015**, *101*. [CrossRef]

Jayakumar, T.; Thomas, P. A.; Geraldine, P.; In-vitro antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **2009**, *10*, 228. [CrossRef]

Kleinberg, M. N.; Rios, M. A. S.; Buarque, H. L. B.; Parente, M. M. V.; Cavalcante, J. R., C. L.; Luna, F. M. T. Influence of Synthetic and Natural Antioxidants on the Oxidation Stability of Beef Tallow Before Biodiesel Production. *Waste and Biomass Valorization* **2019**, *10*, 797. [CrossRef]

Koutrotsios, G.; Kalogeropoulos, N.; Stathopoulos, P.; Kaliora, A. C.; Zervakis, G. I.; Bioactive compounds and antioxidants activity exhibit high intraspecific variability in *Pleurotus ostreatus* mushrooms and correlate well with cultivation performance parameters. *World Journal Microbiology Biotechnology* **2017**, *33*, 98. [CrossRef]

Kumar, K. A.; Sharma, G. K.; Khan, M. A.; Semwal, A. D.; Optimization of multigrain premix for high protein and dietary fibre biscuits using response surface methodology (RSM). *Food and Nutrition Sciences*, **2015**, *6*, 9. [CrossRef] [Link]

Kumazawa, S.; Hamasaka, T.; Nakayama, T.; Antioxidant activity of propolis of various geographic origins *Food Chemistry* **2004**, *84*, 329. [CrossRef]

Maia, G. A. R.; Viomar, A.; Larsson, L. F.; De Santana, H.; Maia, E. C. R.; Antunes, A. C., Rodrigues, P. R. P.; Aperfeiçoamento da produção de partículas de óxido de zinco para aplicação em células solares. *Cerâmica* **2016**, 62. [[CrossRef](#)]

Martínez-Flores, H. E.; Contreras-Chávez, R.; Garnica-Romo, G.; Effect of Extraction Processes on Bioactive Compounds from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus djamor*: Their Applications in the Synthesis of Silver Nanoparticles. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials* **2020**, 31, 1406. [[CrossRef](#)]

Novaes, C. G.; Yamaki, R. T.; de Paula, V. F.; do Nascimento Junior, B. B.; Barreto, J. A.; Valasques, G. S.; Bezerra, M. A.; Otimização de Métodos Analíticos Usando Metodologia de Superfícies de Resposta - Parte II: Variáveis de Mistura. *Revista Virtual de Química* **2018**, 10, 5. [[CrossRef](#)]

Pazza, A. C. V.; Zardo, C.; Klein, R. C. M.; Da Cas, M. S.; Bernardi, D. M.; Composição nutricional e propriedades funcionais fisiológicas de cogumelos comestíveis: *Agaricus brasiliensis* e *Pleurotus ostreatus*. *FAG Journal of Health* **2019**, 1, 240. [[Crossref](#)]

Pereira, S. C. L.; Gallina, A. L.; Banczek, E. P.; Maia, G. A. R.; Rodrigues, P. R. P.; Estudo da Produção de Álcool Utilizando como Matéria-Prima a *Cyperus esculentus* (Tiririca). *Revista Virtual de Química* **2016**, 8, 1510. [[CrossRef](#)]

Pölczmán, G.; Tóth, O.; Beck, A.; Hancsók, J.; Investigation of storage stability of diesel fuels containing biodiesel produced from waste cooking oil. *Journal of Clean Production* **2016**, 111. [[CrossRef](#)]

Ramos, L. P.; Kothe, V.; César-Oliveira, M. A. F.; Muniz-Wypich, A. S.; Nakagaki, S.; Krieger, N.; Wypich, F.; Cordeiro, C. S.; Biodiesel: Matérias-primas, tecnologias de produção e propriedades combustíveis. *Revista Virtual de Química* **2017**, 9, 317. [[CrossRef](#)]

Ribeiro, C. B.; Martins, K. G.; Gueri, M. V. D.; Pavanello, G. P.; Schirmer, W. N. Effect of anhydrous ethanol/gasoline blends on performance and exhaust emissions of spark-ignited non-road engines. *Environmental Science and Pollution Research* **2018**, 25, 24192. [[CrossRef](#)]

Romagnoli, E. s.; Borsato, d.; Silva, L. R. C.; Chendynski, L. T.; Angilelli, K. G.; Canesin, E. A. Kinetic parameters of the oxidation reaction of commercial biodiesel with natural antioxidante aditives. *Industrial Crops & Products* **2018**, 125, 59. [[CrossRef](#)]

Schirmer, W. N.; Gauer, M. A.; Tomaz, E.; Rodrigues, P. R. P.; Souza, S. N. M.; Villetti, L. I. C.; Olanyk, L. Z.; Cabral, A. R.; Power generation and gaseous emissions performance of an internal combustion engine fed with blends of soybean and beef tallow biodiesel. *Env Technology* **2015**, 37, 12. [[CrossRef](#)]

Silva, A. C.; Jorge, N.; Cogumelos: compostos bioativos e propriedades antioxidantes. *Journal of Health Sciences*, **2011**, 13. [[CrossRef](#)]

Spacino, K. R.; Silva, E. T.; Angilelli, K. G.; Moreira, I., Galão, O. F.; Borsato, D.; Relative protection factor optimisation of natural antioxidants in biodiesel B100. *Industrial Crops and Products*, **2016**, *80*. [CrossRef]

Sudha, G.; Vadivukkarasi, S.; Shree, R. B. I.; Laksmanan, P.; Antioxidant activity of various extracts from an edible mushroom *Pleurotus eous*. *Food Science and Biotechnology* **2012** *21*, 661. [CrossRef]

Torres-Martínez, B.; Vargas-Sánchez, R. D.; Ibarra-Arias, F. J.; Ibarra-Torres, E. V.; Torrescano-Urrutia, G. R.; Sánchez-Escalante, A.; Effect of extraction solvent on chemical composition, physicochemical and biological properties of edible mushrooms extracts. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* **2021**, *24*, 1. [CrossRef]

Valenga, M. G. P.; Boschen, N. L.; Rodrigues, P. R. P.; Maia, G. A. R.; Agro-industrial waste and *Moringa oleifera* leaves as antioxidants for biodiesel. *Industrial Crops and Products*, **2019**, *128*, 331. [CrossRef]

Vamanu, E.; Antioxidant Properties and Chemical Compositions of Various Extracts of the Edible Commercial Mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Revista de Chimie* **2013** *64*, 49. [CrossRef]

Vargas-Sánchez, R. D.; Torrescano-Urrutia, G. R.; Ibarra-Arias, F. J.; Portillo-Loera, J. J.; Ríos-Rincón, F. G.; Sánchez-Escalante, A.; Effect of dietary supplementation with *Pleurotus ostreatus* on growth performance and meat quality of Japanese quail. *Livestock Science* 2018, **207**, 117-125.

Westhuizen, I.; Focke, W. W.; Stabilizing sunflower biodiesel with synthetic antioxidant blends. *Fuel* **2018**, *219*, 126. [CrossRef]