

## Incorporação de óleo essencial de *Eugenia uniflora* em nanocelulose bacteriana produzida com resíduos lácteos poluentes

### Incorporation of *Eugenia uniflora* essential oil into bacterial nanocellulose produced with polluting dairy waste

Ana Gabriela Santana de Brito<sup>1</sup>, Lisa Marie Franz<sup>2</sup>, Samara Silva de Souza<sup>3</sup>, Paula Fernandes Montanher<sup>4</sup>

#### RESUMO

Este estudo teve como foco a produção de nanocelulose bacteriana (NCB) a partir de resíduos da indústria leiteira, sendo o soro de leite e a água de filagem, o que demonstrou uma abordagem inovadora para o uso desses subprodutos no comércio. Além disso, foi investigado se seria viável incorporar óleo essencial de pitanga (*Eugenia uniflora*) em membranas de NCB para potencial uso em embalagens ativas de alimentos. Os resultados das análises feitas mostraram que mesmo com a modificação do meio para produção de NCB com esses resíduos, a incorporação do óleo essencial continua expressiva, além de demonstrar que esta estratégia não só promove economias circulares ao reduzir o impacto ambiental da indústria láctea, mas também destaca o potencial dos recursos naturais brasileiros ao incentivar a produção de materiais mais sustentáveis e eficazes na indústria alimentícia. A pesquisa representa uma contribuição significativa para a gestão responsável de resíduos industriais e a busca por soluções ambientalmente corretas.

**PALAVRAS-CHAVE:** NCB; Pitanga; Resíduos.

#### ABSTRACT

This study focused on the production of bacterial nanocellulose (BNC) from dairy industry waste, whey and filament water, which presented an innovative approach to the use of these by-products in commerce. Furthermore, it was investigated whether it would be feasible to incorporate pitanga (*Eugenia uniflora*) essential oil into BNC membranes for potential use in active food packaging. The results of the analysis carried out demonstrated that even with the change in the means for producing BNC with these residues, the incorporation of essential oil remains significant, in addition to demonstrating that this strategy not only promotes circular economies by reducing the environmental impact of the dairy industry, but it also highlights the potential of Brazilian natural resources in cultivating the production of more sustainable and effective materials in the food industry. The research represents a significant contribution to the responsible management of industrial waste and the search for correct environmental solutions.

**KEYWORDS:** BNC; Pitanga; Waste.

#### INTRODUÇÃO

A celulose bacteriana (NCB) é um biopolímero biodegradável de grande interesse econômico, sendo derivada de resíduos e produzida por bactérias, principalmente do gênero *Komagataeibacter*, conhecidas por sua eficiência. A NCB tem produção ecologicamente sustentável, dispensando tratamentos químicos agressivos, consistindo principalmente em carbono, hidrogênio e oxigênio e possuindo propriedades únicas,

<sup>1</sup> Discente. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: anab.2020@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 3353694437725959.

<sup>2</sup> Mestranda Programa de Pós Graduação em Biotecnologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: lmariefranz@gmail.com. ID Lattes: 5124663696114754.

<sup>3</sup> Docente na Coordenação de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: samarasouza@utfpr.edu.br. ID Lattes: 6497095708045068.

<sup>4</sup> Docente na Coordenação de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: paulamontanher@utfpr.edu.br. ID Lattes: 7565400427188557.

como alta resistência mecânica, capacidade de retenção de água e aplicação na indústria por ser moldável em estruturas tridimensionais (GOTTSCHALK et al, 2021).

A biossíntese da NCB está diretamente relacionada à multiplicação celular das bactérias produtoras, dependendo da disponibilidade de nutrientes, especialmente fontes de carbono, como a glicose encontrado no meio de cultura mais utilizado para sua produção, o HS (HESTRIN; SCHRAMM, 1954). Entretanto, ele é considerado um meio de alto custo devido ao uso, principalmente, de peptona e extrato de levedura.

Uma alternativa para a diminuição do custo da produção de NCB é a utilização de meios alternativos de menor custo, utilizando por exemplo, resíduos da indústria. Essa possibilidade vem incentivando pesquisadores e empresas na busca por materiais de alta qualidade, preços acessíveis e agregação de valor a um produto, ao mesmo tempo que está alinhado à preocupação ambiental.

Esse interesse crescente pela valorização de resíduos industriais se estende a setores como a indústria de laticínios, com destaque para a produção de queijos, que tem sido uma fonte crescente de exportações no Brasil, resultando em vantagens econômicas substanciais (EMBRAPA, 2019). No entanto, esse aumento na produção também gera aumento de resíduos, especialmente o soro de leite, que representa cerca de 90% do volume de leite utilizado na fabricação de queijos, e a água de filagem, um efluente gerado no processo de filamento de queijos, e problemático devido à sua elevada carga orgânica, composta por gorduras e ácidos e ainda não há muitos estudos sobre a sua utilização. Ambos, apesar de sua riqueza nutricional, carecem de alternativas sustentáveis de utilização na indústria, pois, metade de sua produção ainda é inadequadamente descartada. (GONÇALVES et al, 2021; LEITE et al, 2012).

Com isso, a produção de NCB, utilizando esses resíduos como substrato, traz uma solução de transformar esses em recursos valiosos, contribuindo para a economia e mitigando os impactos ambientais da disposição inadequada desses efluentes.

Devido às suas excelentes propriedades, a NCB pode ainda ser funcionalizada com diferentes materiais para as mais variadas aplicações industriais. Portanto, esta pesquisa visa desenvolver um meio mais viável economicamente, utilizando resíduos da indústria leiteira como substrato e fonte de nutrientes, funcionalizada com óleo essencial de Pitanga (*Eugenia uniflora*).

A pitangueira é uma planta da família *Myrtaceae*, nativa do Brasil, e é encontrada em todo o país com folhas, flores e frutos que produzem óleo essencial. Além disso, plantas dessa família têm sido usadas por suas propriedades como atividade antioxidante e antimicrobiana, auxiliando na conservação de alimentos, com potencial aplicação na produção de filmes ativos (ALTOE, 2016; JALALVAND et al, 2019; TESSARO, 2020).

## MATERIAIS E METODOLOGIA

O soro de leite, bem como a água de filagem, foi doado por um laticínio na região sudoeste do Paraná. Foram coletadas aproximadamente 1L de cada amostra em diferentes épocas, novembro de 2021 e março de 2023, no qual foram nomeados de lote

1 e 2, respectivamente. As amostras foram fracionadas em pequenos frascos de aproximadamente 100 mL e armazenadas em freezer a  $-17^{\circ}\text{C}$ .

## ANÁLISE DE CARBONO TOTAL (TOC) E NITROGÊNIO TOTAL (TN)

As análises de Carbono Orgânico Total e Nitrogênio Total foram realizadas na Central de Análises da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos (LabCA), utilizando Analisador de Carbono Orgânico Total (TOC-LCSH, Shimadzu®).

## PRODUÇÃO DE NANOCELULOSE BACTERIANA

Preparou-se um pré-inóculo utilizando *Komagataeibacter xylinus* (ATCC® 53524™) em meio HS com proporção de 10 % (v/v) do cultivo de reativação já armazenado em laboratório. Para a produção das membranas, foram realizados cinco ensaios, sendo um controle, sem nenhuma modificação no meio HS, e quatro ensaios utilizando uma modificação já estabelecida em estudos anteriores, com soro de leite e água de filagem do lote 1 e 2, como pode ser visto na Tabela 1.

**Tabela 1 – Siglas das condições das membranas produzidas**

Condições	Sigla	Condições	Sigla
Membranas com soro de leite - Lote 1	S1	Membranas com água de filagem - Lote 2	A2
Membranas com água de filagem - Lote 1	A1	Membranas controle (meio HS, sem modificação)	C
Membranas com soro de leite - Lote 2	S2		

Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

Para cada ensaio, foi utilizada uma placa de 24 poços e armazenada em BOD durante 7 dias a  $28^{\circ}\text{C}$ , produzindo membranas que foram purificadas em solução 0,1 mol/L de hidróxido de sódio e em estufa a  $50^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, para que todas as bactérias sejam removidas, ficando apenas as membranas.

Posteriormente, lavou-se as membranas por sete vezes em água destilada a cada 15 minutos, para que atingisse um pH neutro.

## INCORPORAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PITANGA À NCB

Foi preparada 100 mL de solução de 2% (v/v) de óleo essencial (OE) de *Eugenia uniflora* e adicionados 10 mL em cada 5 tubos falcons. Em cada tubo foram adicionadas 3 membranas de cada condição e armazenados por 36 horas envolvidos em papel alumínio.



Para analisar se houve incorporação, foram realizados os métodos de atividade antioxidante por DPPH descrito por BRAND-WILLIAMS et al (1995) e determinação de compostos fenólicos utilizando reagente Folin-Ciocalteu descrito por SINGLETON e ROSSI (1965).

Para o método de DPPH, utilizou-se o ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox) como padrão na concentração 0-2000  $\mu\text{mol/L}$  resultando em curva de calibração com equação da reta, Eq. 1, e  $R^2 = 0,9883$ .

Para a determinação de compostos fenólicos utilizou-se o ácido gálico 0-260 mg/L como padrão obtendo uma curva de calibração Eq. 2, com  $R^2 = 0,9908$ . Os resultados foram expressos em mg EAG/ mL, todas as leituras foram realizadas em quadruplicata em espectrofotômetro (LOCUS, LMR-961).

Sendo y: absorvância; x: atividade antioxidante/compostos fenólicos, seguem as equações:

$$y = - 0,0000004x + 1,1675 \quad (1)$$

$$y = 0,0026x + 0,0311 \quad (2)$$

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A quantidade de Carbono Total e Nitrogênio Total de ambos os resíduos foi consideravelmente grande, indicando que podem ser uma fonte promissora desses elementos para a produção de NCB. Os lotes 1 e 2 apresentaram quantidades próximas de carbono e de nitrogênio, o que indica que é possível manter a homogeneidade dessas fontes nesses resíduos.

**Tabela 2 – Resultados de TOC e TN dos resíduos recebidos**

Resíduo	TOC (mg/L)	TN (mg/L)	Resíduo	TOC (mg/L)	TN (mg/L)
Soro de leite - Lote 1	42550	1050	Soro de leite - Lote 2	42500	1050
Água de filagem - Lote 1	3920	74	Água de filagem - Lote 2	4010	75

Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

**Tabela 3 – Medidas das membranas produzidas**

Condições	Peso úmido (g)	Espessura (mm)	Condições	Peso úmido (g)	Espessura (mm)
S1	0,5357	1,1	A2	0,4837	1
A1	0,3894	0,7	C	0,6420	2
S2	0,5470	1,5			

Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

## COMPARAÇÃO DAS MEMBRANAS PRODUZIDAS

Analisou-se seu peso úmido, em gramas, em balança analítica, e espessura, em milímetro, com auxílio de paquímetro analógico, podendo comparar na Tabela 3.

#### AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PITANGA A NCB

Não houve inibição do radical DPPH, pois o óleo essencial de *Eugenia uniflora* não é um composto hidrofílico em que esse radical reage com maior facilidade. Isso pode ser constatado, pois as leituras realizadas, em 515 nm, resultaram em absorbâncias altas (entre 1.206 e 1.304).

Já para compostos fenólicos, como pode ser observado na Tabela 4, as concentrações analisadas são semelhantes nas condições A1, S2, A2 e C, diferenciando-se apenas da S1, ou seja, há incorporação do OE de forma similar entre membranas produzidas com soro de leite e aquelas com água de filagem como substrato.

**Tabela 4 – Análise nas membranas produzidas e no óleo essencial**

Condições	Concentração (mg EAG/mL)	Condições	Concentração (mg EAG/mL)	Condições	Concentração (mg EAG/mL)
S1	166,00 ± 0,27	C	253,12 ± 15,23	A2	244,78 ± 5,67
A1	234,65 ± 5,74	OE	324,46 ± 31,82		
S2	281,77 ± 15,50	CSO	14,46 ± 1,84		

Fonte: Elaborado pelos autores (2021).

#### CONCLUSÃO

Portanto, o estudo alcançou sucesso na produção de NCB a partir do soro de leite e da água de filagem, demonstrando a viabilidade de transformar esses resíduos em recursos valiosos, sendo importante destacar que as membranas foram produzidas com boa repetibilidade nos lotes 1 e 2, garantindo a consistência do processo. Além disso, a pesquisa teve êxito no potencial do óleo essencial de pitanga e sua incorporação nas membranas, observando uma incorporação de forma semelhante nas condições A1, S2, A2 e C, com variação em relação à condição S1.

Esses resultados representam não apenas um avanço na economia circular, ao reduzir o impacto ambiental da indústria de laticínios, mas também ressaltam o valor da biodiversidade brasileira como fonte de compostos naturais com potenciais benefícios na conservação de alimentos, para possíveis aplicações em embalagens alimentícias ativas.

#### Agradecimentos

Agradeço a UTFPR Campus Dois Vizinhos pela oportunidade de realização da iniciação científica, ao Grupo de pesquisa NanoBioCell e ao Laboratório Multiusuário Central de Análise da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Dois Vizinhos, (LabCa) pelo suporte analítico durante a realização deste trabalho.

#### Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

## REFERÊNCIAS

ALTOE, M. D. Atividade do óleo essencial de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). 2016. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Bacharelado em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2016.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

EMBRAPA GADO DE LEITE. (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Anuário do Leite 2019: novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais. **Anuário Leite**, n. 35 art, p. 104, 2019.

GONÇALVES, M. C.; CARDARELLI, H. R. Mozzarella cheese stretching: A minireview. **Food Technology and Biotechnology**, v. 59, n. 1, p. 82–91, 2021.

GOTTSCHALK, LMF; PIRES, M. C. S.; FREITAS-SILVA, O. Produção de Celulose Bacteriana e suas Aplicações. Rio de Janeiro: **Embrapa Agroindústria de Alimentos**. 2021.

JALALVAND, A. R.; ZALEH, M.; GOORANI, S.; ZANGENEH, M. M.; SEYDI, N.; ZANGENEH, A.; MORADI, R.; Chemical characterization and antioxidant, cytotoxic, antibacterial, and antifungal properties of ethanolic extract of *Allium Saralicum* R.M. Fritsch leaves rich in linolenic acid, methyl ester, **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 192, p. 103-112, ISSN 1011-1344, 2019.

LEITE, M.T.; BARROZO, M.A.D.S.; RIBEIRO, E.J. Canonical analysis technique as an approach to determine optimal conditions for lactic acid production by *Lactobacillus helveticus* ATCC 15009. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2012, p. 1-9.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

STASIAK, L. G. ; GODOI, JOÃO PEDRO MAXIMINO GONGORA ; SPEROTTO, G. ; GABIATTI, N. C. ; MONTANHER, P. F. ; SOUZA, SAMARA SILVA . Embalagem ativa de celulose bacteriana incorporada com extrato fluido de orégano. In: **SEI-SICITE XXVI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR**, 2021, Guarapuava. Anais, 2021.

TESSARO, L. Produção de emulsão dupla A/O/A rica em extrato de folha de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) para aplicação em filmes ativos de gelatina e/ou quitosana. **Tese de Doutorado**, Universidade de São Paulo, 2020.