

BIODEGRADAÇÃO EM SOLO SIMULADO DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) [P(3HB)] COLORIDO POR DUAS METODOLOGIAS DE INSERÇÃO DE CORANTE.

KETNEN RIEFFEL DAS CHAGAS¹; MARIA LUIZA ZANINI DE OLIVEIRA²;
MISAEEL GOMES DIAS³; ISABELA BOLDRINI DUTRA RASCH⁴; P ATRICIA
SILVA DIAZ⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – rieffelketnen@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – luizaznn@gmail.com

³Universidade federal de Pelotas - misaalgomesdias7@gmail.com

⁴ Universidade federal de Pelotas - isabelabrasch@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas- bilicadiaz@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A Conferência das Nações Unidas sobre mudanças climáticas de 2021 destacou a necessidade de reduzir o uso de combustíveis fósseis e promover práticas sustentáveis (UNITED NATIONS, 2023a). Esse compromisso está alinhado aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, que buscam atender às necessidades globais enquanto garantem um futuro sustentável (UNITED NATIONS, 2023b). Nesse contexto, cresce o interesse por materiais ecologicamente corretos, especialmente no setor de plásticos, impulsionando inovações que visam reduzir energia, custos de produção e impacto ambiental (De Sousa, 2021).

Os biopolímeros, como o poli-(3-hidroxibutirato) [P(3HB)], se destacam como alternativas viáveis por serem biodegradáveis (Do Amaral et al., 2019). A aceitação comercial desses materiais pode ser ampliada com a incorporação de cores (Pagnan et al., 2018). Trabalhos como de Pagnan et al. (2018) e Jung et al. (2020) exploram novas abordagens de coloração de P(3HB), sendo encontradas várias metodologias de obtenção dos biopolímeros coloridos. Algumas metodologias realizam a coloração a partir da inserção de corantes ao biopolímero ou através da modificação genética de microrganismos para que se tornem capazes de produzir simultaneamente PHB e corante (Latos-Brozio; Masek, 2020; Park; Ahn; Choi, 2022). Com isso, visam reduzir custos e o tempo de obtenção do biopolímero.

A partir da aplicação de corantes ao P(3HB), torna-se necessário compreender sua influência nas propriedades físico-químicas do material. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi apresentar de forma resumida os resultados obtidos por Chagas et. al (2024) no teste de biodegradação em solo filmes de PHB corados a partir de duas metodologias de inserção de corantes.

2. METODOLOGIA

2.1 Produção de P(3HB) colorido via fermentação submersa

Foi preparado o meio de cultivo *Yeast Malt (YM)* (extrato de malte: 2,7 g/L; extrato de levedura: 2,7 g/L; peptona: 4,5 g/L; sacarose: 35 g/L), com pH ajustado para 6 (Jeanes, 1974) após a adição dos corantes naturais cúrcuma, páprica e urucum (3 g/L). Em seguida, foram adicionados 5 mL de suspensão do microrganismo *Ralstonia solanacearum* cepa RS a frascos *Erlenmeyer* contendo 195 mL de YM e corantes. Os frascos foram incubados a 32 °C em um agitador orbital (Sartorius 780 BBraun-Certomat BS-1) a 150 rpm por 24 h. Após a incubação, o caldo fermentado foi centrifugado e o *pellet* celular obtido foi seco

em estufa a 48 °C. A extração do P(3HB) foi realizada com clorofórmio [40:1 (v/m)], aquecendo os tubos a 56 °C e agitando-os em vórtex. O processo seguiu o protocolo de Macagnan et al. (2017), com secagem pelo método de *casting*.

2.2 Produção de P(3HB) colorido por adição de corante após o processo fermentativo

Foram adicionados 5 mL de suspensão de *Ralstonia solanacearum* cepa RS a frascos *Erlenmeyer* contendo 195 mL de YM sem corante, com o pH ajustado para 6. O processo fermentativo e a obtenção dos *pellets* celulares seguiram os procedimentos descritos na seção 2.1. Após a obtenção dos filmes, eles foram dissolvidos em clorofórmio, adicionando-se 0,30 g de biopolímero e 0,15 g de corante. A mistura foi colocada em tubos de ensaio com tampa e submetida às mesmas condições descritas anteriormente.

2.3 Teste de biodegradação no solo

Os filmes de P(3HB) coloridos durante a fermentação foram cortados em triângulos e pesados em balança de precisão em triplicata. Em sementeiras (6,5 x 6,5 x 6,0 cm) foram colocados 130 g de terra, umedecida com 1 L de água. Os corpos de prova foram mantidos em solo contendo matéria-prima de *pinus* bioestabilizada, a 20 °C, por 90 dias. Amostras foram coletadas a cada 30 dias. Durante o período, o solo foi umedecido conforme necessário. A taxa de biodegradação foi avaliada por cálculo gravimétrico e porcentagem de perda de massa a cada 30 dias.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se variabilidade significativa no percentual de biodegradação em relação ao tipo de corante e à metodologia empregada. Para os filmes corados com cúrcuma, a metodologia 2 resultou em maior biodegradação, atingindo resultados semelhantes ao controle em 90 dias. Essa diferença pode ser atribuída à influência das flutuações de pH durante o processo fermentativo, que afeta a estabilidade da curcumina (Ngamwonglumlert et al., 2015).

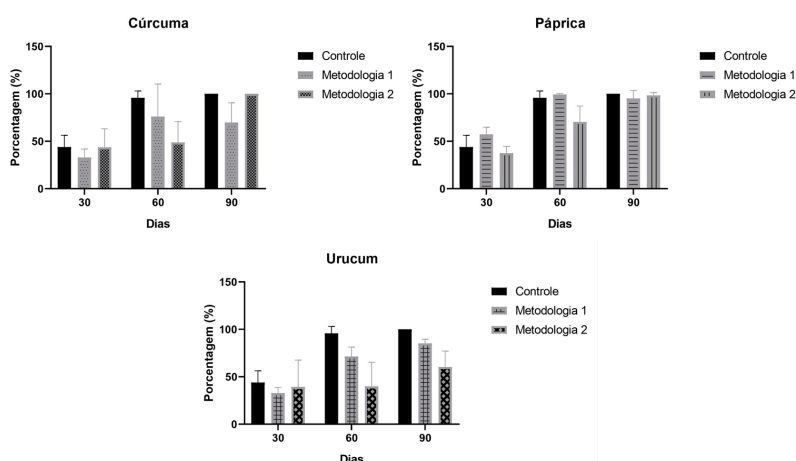


Figura 1 - Percentual de biodegradação dos filmes de P(3HB) retirados a cada 30 dias, corados a partir de duas metodologias diferentes de inserção de corantes naturais.

Nos filmes corados com urucum, a metodologia 2 apresentou maior biodegradação nos primeiros 30 dias, mas esse padrão se inverteu aos 60 e 90 dias, com a metodologia 1 assemelhando-se ao controle. A atividade

antibacteriana do urucum, relatada por Carvalho et al. (2022), pode ter retardado a degradação dos filmes corados com esse pigmento.

Os filmes corados com páprica mostraram diferenças significativas entre as metodologias, com ambas resultando em completa biodegradação ao final de 90 dias, assemelhando-se ao controle. A capsaicina, presente na páprica, é um composto com caráter ácido, o que pode ter acelerado o processo de biodegradação devido às flutuações de pH (Rezazadeh et al., 2021).

Comparando os filmes corados com o controle, o estudo concluiu que os corantes podem influenciar na taxa de biodegradação, com os filmes corados com cúrcuma e páprica apresentando maior fragmentação e perda de cor ao longo do tempo. Estes resultados corroboram com estudos anteriores, como os de Torres et al. (2020) e Bucci et al. (2007), que reportaram completa biodegradação de PHB em 90 a 100 dias em condições naturais.

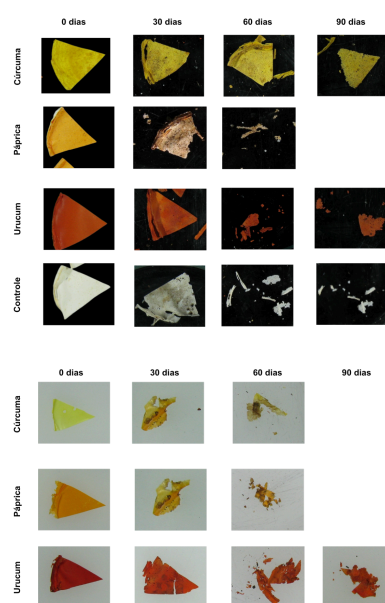


Figura 2 - Foto dos filmes de P(3HB) retirados a cada 30 dias, na parte superior metodologia 1 e parte inferior a metodologia 2.

A figura 2 mostra os filmes após cada período de análise. Em relação  fragmentação, os filmes corados apresentaram comportamentos distintos dependendo do corante e da metodologia de inserção. Os filmes corados com cúrcuma pela metodologia 2 mostraram maior fragmentação ao longo do tempo, especialmente em comparação com a metodologia 1, que apresentou menor fragmentação. A maior fragmentação na metodologia 2 pode ser atribuída à instabilidade da curcumina, que  sensível às variações de pH durante o processo fermentativo (Ferreira et al., 2019; Ngamwonglumlert et al., 2015).

Os filmes corados com urucum tmbm exibiram fragmentação significativa ao longo do tempo. No entanto, em ambas as metodologias, os filmes apresentaram menor perda de coloração em comparação com outros corantes, sugerindo uma maior estabilidade da bixina (seu pigmento predominante) frente  oxidação, embora a fragmentação fosse perceptível (Benucci et al., 2022). Por outro lado, os filmes corados com páprica se destacaram por apresentar fragmentação considerável em ambas as metodologias, acompanhada de perda de tonalidade da cor nos primeiros 30 dias. A sensibilidade da capsantina, principal carotenoide da páprica,  oxidação pode ter acelerado tanto a

fragmentação quanto a perda de cor (Benucci et al., 2022). Em 90 dias, esses filmes estavam completamente degradados, assemelhando-se ao controle.

4. CONCLUSÕES

A metodologia de inserção de corantes naturais em filmes de P(3HB) influencia significativamente o processo de biodegradação, com padrões distintos de degradação. A estabilidade dos pigmentos também desempenhou papel importante, afetando a taxa de degradação e a manutenção da cor ao longo dos 90 dias. Em suma, a inserção de corantes naturais pode impactar tanto a biodegradabilidade quanto nas propriedades visuais dos filmes de P(3HB).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benucci et al. (2022) - Benucci, I., Lombardelli, C., Mazzocchi, C., & Esti, M. (2022). Natural colorants from vegetable food waste: Recovery, regulatory aspects, and stability—A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(3), 2715-2737.
- Bucci et al. (2007) - Bucci, D. Z., Tavares, L. B. B., & Sell, I. (2007). Biodegradation and physical evaluation of PHB packaging. *Polymer Testing*, 26(7), 908-915.
- Ferreira et al. (2019) - Ferreira, E. M. M., Sottoriva, H. M., Melo, D. R., Rocha, M. S., Pereira, N. S. dos S., Ribeiro, M. M., & Alves, G. (2019). Propriedades e usos da cúrcuma. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, 22(3).
- de Sousa (2021) - de Sousa, F. D. B. (2021). The role of plastic concerning the sustainable development goals: The literature point of view. *Cleaner and Responsible Consumption*, 3.
- do Amaral et al. (2019) - do Amaral, M. A., Borschiver, S., & Morgado, C. R. V. (2019). Análise do segmento de bioplásticos: Prospecção tecnológica em “plásticos verdes”, PHA e PLA. *Engevista*, 21(2), 228-241.
- Jung et al. (2020) - Jung, H. I., Choi, T. R., Han, Y. H., Park, Y. L., Park, J. U., Song, H. S., Yang, S. Y., Bhatia, S. K., Gurav, R., Park, H., Namgung, S., & Yang, Y. (2020). Production of blue-colored polyhydroxybutyrate (PHB) by one-pot production and coextraction of indigo and PHB from recombinant *Escherichia coli*. *Dyes and Pigments*, 173, 107889.
- Latos-Brozio & Masek (2020) - Latos-Brozio, M., & Masek, A. (2020). The application of natural food colorants as indicator substances in intelligent biodegradable packaging materials. *Food and Chemical Toxicology*, 135.
- Macagnan et al. (2017) - Macagnan, K., Rodrigues, A., Alves, M., Furlan, L., Kesserlingh, S., & Moura, A. et al. (2017). Simplified recovery process of *Ralstonia Solanacearum*-synthesized polyhydroxyalkanoates via chemical extraction complemented by liquid-liquid phase separation. *Química Nova*, 40(2), 125-130.
- Ngamwonglumlert et al. (2015) - Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2015). Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(15), 3243-3259.
- Park et al. (2022) - Park, S. A., Ahn, S. Y., & Choi, K. Y. (2022). Incorporation of Deoxyviolacein Functional Dye into PHB and Cellulose Double Layered-Biodegradable Polymer. *Journal of Polymers and the Environment*.
- Pagnan et al. (2018) - Pagnan, C. S., Mottin, A. C., Oréfice, R. L., Ayres, E., & Câmara, J. J. D. (2018). Annatto-colored poly(3-hydroxybutyrate): A comprehensive study on photodegradation. *Journal of Polymers and the Environment*, 26, 1169-1178.
- Torres et al. (2020) - Torres, M. M., Piecha, C. R., Macagnan, K. L., Alves, M. I., & Moreira, A. da S. (2020). Biodegradative capacity of *Bacillus megaterium* and *Ralstonia solanacearum* on biodegradation of P(3HB) films in simulated soil. *Brazilian Journal of Development*, 6(5), 27034-27050.
- United Nations (2023a) - United Nations. (2023a). COP26: Together for our planet.
- United Nations (2023b) - United Nations. (2023b). The 17 goals. Sustainable Development Goals.