

ANÁLISE DE FOTODEGRADAÇÃO DE FILMES DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) CORADOS DURANTE O PROCESSO FERMENTATIVO DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* CEPA RS

MARIA LUIZA DE OLIVEIRA ZANINI¹; KETNEN RIEFFEL DAS CHAGAS²;
PATRÍCIA SILVA DIAZ³

¹Universidade Federal de Pelotas – luizaznn@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – riefelketnen@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – bilicadiaz@yahoo.com

1. INTRODUÇÃO

Quando os consumidores compreendem seu papel na mudança dos padrões de consumo, tendem a consumir materiais “verdes” (AMATULLI et al., 2019), que são produzidos buscando diminuir a exploração de recursos naturais e a emissão de resíduos tóxicos e poluentes (YAN; KEH; WANG, 2021). Dentre as alternativas, os biopolímeros se mostram promissores por apresentarem algumas propriedades similares aos plásticos petroquímicos (AALIYA; SUNOOJ; LACKNER, 2021). Dentre eles, destaca-se o poli(3-hidroxitirato) [P(3HB) ou PHB]. O P(3HB) é extremamente útil para diversas aplicações, apresentando alta biocompatibilidade, o que o permite ser usado desde a área médica (GEORGE et al., 2020) até para a produção de embalagens no geral, mas principalmente as voltadas para alimentos (BRIASSOULIS; TSEROTAS; ATHANASOULIA, 2021).

Para gerar maior apelo comercial para o P(3HB) deve-se pensar em estratégias que o tornem visualmente mais apelativo ao consumidor. O *design* de embalagens, por exemplo, está associado ao aumento da aceitabilidade de um produto, além de ser capaz de gerar identificação de marcas ou sugerir possíveis propriedades de um produto (KUMAR, 2017). O desenvolvimento de estudos de coloração de PHBs e seus copolímeros ainda é recente. Alguns se utilizam do PHB na produção de filmes coloridos a partir da adição de corantes orgânicos naturais ao PHB comercial (PAGNAN et al., 2018). Entretanto, a maioria utiliza técnicas de modificação genética para a produção de microrganismos capazes de sintetizar PHB e corante simultaneamente, principalmente buscando a diminuição de custos e de tempo de produção (JUNG et al., 2020).

Assim, sugere-se que produzir PHB com cores é uma iniciativa capaz de gerar maior aceitação e aumentar a gama de produtos que podem surgir a partir dele. O uso de corantes naturais mostra-se como uma alternativa promissora e ambientalmente segura (LATOS-BROZIO; MASEK, 2020). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi produzir filmes de P(3HB) coloridos a partir da adição de corantes carotenóides ao processo fermentativo de *Ralstonia solanacearum* cepa RS e avaliar a estabilidade dos filmes corados frente a exposição à luz UVA.

2. METODOLOGIA

2.1. Obtenção de P(3HB) por fermentação submersa e extração química

O processo fermentativo foi realizado em fase de multiplicação celular, em que foi produzida suspensão bacteriana a partir de repiques multiplicativos de *Ralstonia solanacearum* cepa RS. Foram transferidos 5 mL da suspensão bacteriana a frascos *Erlenmeyer* aletados com 195 mL de *Yeast Malt* estéril. A adição dos corantes urucum e cúrcuma foi prévia à esterilização, sendo adicionados 3 g/L ao meio de cultivo, que teve o pH ajustado para 6. Como controle, foi realizado o processo sem adição de corante. Cada *Erlenmeyer* foi mantido em incubador agitador orbital por 24 h, a 32 °C e 150 rpm.

O caldo foi centrifugado (10.000x *g*, 20 min) e os *pellets* obtidos foram secos em estufa a 56 °C e então triturados. A extração foi feita a partir da massa celular seca com clorofórmio [40:1 (v/m)]. As amostras foram mantidas em tubos de ensaio com tampa de rosca em banho-maria (58 °C, 30 min), sendo submetidas à agitação em vórtex a cada 10 min. As amostras foram transferidas para funil de decantação com água destilada [40:1 (v/m)], sendo o funil agitado para a separação de fases. A fase orgânica foi transferida para placas de Petri, que foram mantidas semiabertas sob agitação em agitador horizontal orbital de placas em capela de exaustão de gases a temperatura ambiente.

2.3. Teste de fotodegradação simulada

Foi realizado teste de fotodegradação em estufa de fotoperíodo seguindo as normas da Sociedade Americana de Testes e Materiais para Operação de Aparelhos de Lâmpadas Ultravioleta Fluorescente Para Exposição de Materiais Não Metálicos. A câmara possui 4 lâmpadas UVA de 9 W, com temperatura constante de 28 °C. O teste foi feito com exposição dos filmes a períodos alternados de presença (8 h) e ausência (16 h) de luz. As amostras foram avaliadas antes (0 h) da exposição e nos intervalos de exposição de 64, 128 e 192 h. O registro das análises foi feito em fotodocumentador para gel de eletroforese L-PIX.

2.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise microestrutural da superfície dos filmes de P(3HB) foi feita através de micrografias no início (0 h) e ao final (192 h) do teste de fotodegradação. A análise foi realizada em Microscópio Eletrônico de Varredura equipado com microsonda de Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X. A preparação das amostras ocorreu por cobertura com uma camada de ouro em metalizador com voltagem de 20 mA por 300 s e aplicada uma aceleração potencial de 15 kV.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os filmes de P(3HB) corados com cúrcuma demonstraram degradação intensa da cor já no primeiro intervalo de análise (64 h) (Figura 1). Isso pode ter ocorrido devido a oxidação do pigmento curcumina presente no corante quando exposto à luz UVA, já que ela é instável na luz. A identificação da degradação de carotenoides ocorre principalmente através do branqueamento do corante, com perda da cor devido à quebra do cromóforo (BRITTON, 1995). Esses resultados vão ao encontro com os de López-Rubio e Lagaron (2010), em que foi observada a despigmentação de filmes corados com β -caroteno.

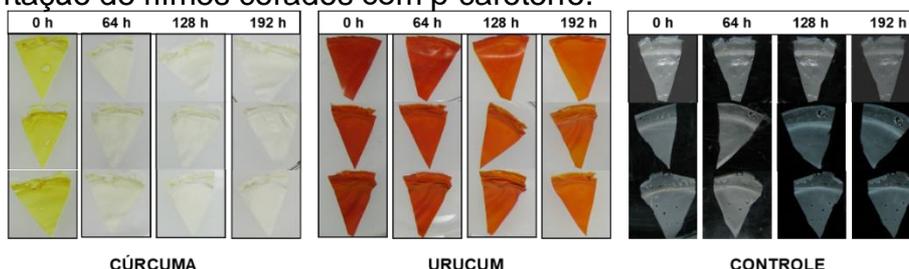


Figura 1: Filmes de P(3HB) coloridos submetidos ao teste de fotodegradação e analisados quanto à perda de cor nos intervalos de 0, 64, 128 e 192 h de exposição à luz UVA, comparados ao controle.

Os filmes corados com urucum apresentaram despigmentação gradual (Figura 1), que pode ser explicada pela grande presença do pigmento bixina, que apresenta maior estabilidade frente à exposição à luz do que outros carotenoides (HIRKO; GETU, 2022). Já os filmes do grupo controle não apresentaram mudança.

Nas análises de MEV é possível notar que antes da exposição à luz UVA, o filme corado com urucum apresentou menor formação de poros. Em contrapartida, o filme corado com cúrcuma apresentou poros mais visíveis, entretanto, menores que os do controle. Segundo resultados obtidos por Jung et al. (2020), os corantes podem preencher os poros do P(3HB) durante o processo de extração, tornando os filmes menos porosos do que o controle.

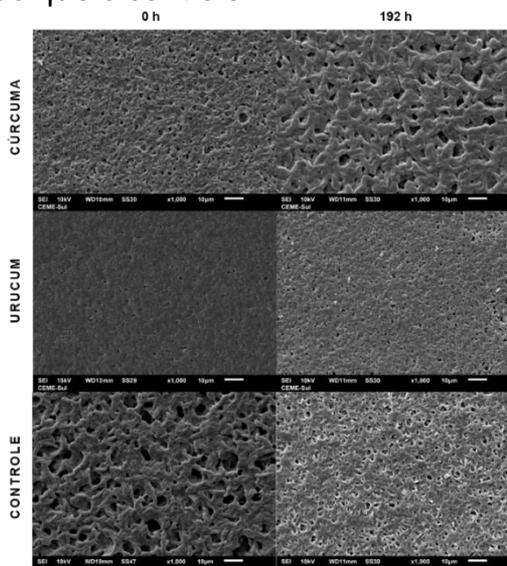


Figura 2: Microscopia Eletrônica de Varredura dos filmes de P(3HB) coloridos antes (0 h) e após (192 h) a exposição à fotodegradação simulada em luz UVA, em comparação ao controle.

A exposição à radiação UV é uma das principais causas de degradação dos polímeros, devido a absorção de energia dos fótons UV que causa fragmentação, alterações na cor ou descoloração de corantes, desgaste e perda de brilho (PAGNAN et al., 2018). Dessa forma, gera alterações no peso molecular, nas estruturas química e cristalina, além de modificações nas propriedades ópticas, morfológicas e mecânicas dos materiais (SADI; FECHINE; DEMARQUETTE, 2010).

Assim, observa-se que para os filmes corados com cúrcuma após 192 h de exposição à luz UVA, ocorreu mudança da aparência, o que sugere que pode ter ocorrido fotodegradação dos corantes e/ou do P(3HB), que passou a apresentar aparência de fios emaranhados (Figura 2), como descrito por Park, Ahn e Choi (2022). Paralelamente, o filme corado com urucum apresentou aparência mais estável, o que sugere que este demonstrou maior estabilidade à exposição ao UVA quando comparado aos filmes controle e corado com cúrcuma.

Entretanto, a alteração da cor não representa um problema na coloração do P(3HB). Essa característica apresenta grande potencial na produção de embalagens inteligentes, que podem ser usadas nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica e monitoram a qualidade dos produtos a partir de (bio)sensores capazes de sofrer alterações de acordo com fatores internos, como mudança no frescor e temperatura (SCHAEFER; CHEUNG, 2018).

4. CONCLUSÕES

A obtenção de filmes de P(3HB) coloridos a partir de corantes orgânicos naturais, como cúrcuma e urucum, está de acordo com resultados obtidos por López-Rubio e Lagaron (2010), Pagnan et al. (2020) e Latos-Brozio e Masek

(2020). Contudo, o presente trabalho demonstra inovação ao inserir os corantes, particularmente carotenóides, durante o processo fermentativo de *Ralstonia solanacearum* cepa RS. Esta metodologia é promissora, contribuindo para a produção de materiais alternativos ao plástico petroquímico. Os resultados da análise de fotodegradação destes materiais auxiliam na compreensão de propriedades do material produzido, bem como de possíveis aplicações para estes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AALIYA, B.; SUNOOJ, K. V.; LACKNER, M. Biopolymer composites: a review. **International Journal of Biobased Plastics**, v.3, n. 1, p. 40–84, 2021.
- AMATULLI, C.; DE ANGELIS, M.; PELUSO, A. M.; SOSCIA, I.; GUIDO, G. The effect of negative message framing on green consumption: An investigation of the role of shame. **Journal of Business Ethics**, v.157, n.4, p. 1111–1132, 2019.
- BRIASSOULIS, D.; TSEROTAS, P.; ATHANASOULIA, I. G. Alternative optimization routes for improving the performance of poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) based plastics. **Journal of Cleaner Production**, v. 318, 2021.
- BRITTON, G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. **The FASEB Journal**, v. 9, n. 15, p. 1551–1558, 1995.
- GEORGE, A.; SANJAY, M. R.; SRISUK, R.; PARAMESWARANPILLAI, J.; SIENGCHIN, S. A comprehensive review on chemical properties and applications of biopolymers and their composites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 154, p. 329–338, 2020.
- HIRKO, B.; GETU, A. *Bixa Orellana* (Annatto Bixa): A Review on Use, Structure, Extraction Methods and Analysis. **Journal of Agronomy Technology Engineering Management**, v. 5, n. 1, p. 687–696, 2022.
- 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.; KWON-YOUNG, C.; YANG, Y. Production of blue-colored polyhydroxybutyrate (PHB) by one-pot production and coextraction of indigo and PHB from recombinant *Escherichia coli*. **Dyes and Pigments**, v. 173, 107889, 2020.
- KUMAR, J. S.. The Psychology of Colour Influences Consumers' Buying Behaviour – A Diagnostic Study. **Ushus - Journal of Business Management**, v. 16, n. 4, p. 1–13, 2017.
- LATOS-BROZIO, M.; MASEK, A. The application of natural food colorants as indicator substances in intelligent biodegradable packaging materials. **Food and Chemical Toxicology**, v. 135, 2020.
- LÓPEZ-RUBIO, A.; LAGARON, J. M. Improvement of UV stability and mechanical properties of biopolyesters through the addition of β -carotene. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, n. 11, p. 2162–2168, 2010.
- PAGNAN, C. S.; MOTTIN, A. C.; ORÉFICE, R. L.; AYRES, E.; CÂMARA, J. J. D.. Annatto-colored poly (3-hydroxybutyrate): a comprehensive study on photodegradation. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 26, p. 1169–1178, 2018.
- PARK, S. A.; AHN, S. Y.; CHOI, K. Y. Incorporation of Deoxyviolacein Functional Dye into PHB and Cellulose Double Layered-Biodegradable Polymer. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 31, p. 1525–1535, 2022.
- SADI, R. K.; FECHINE, G. J. M.; DEMARQUETTE, N. R. Photodegradation of poly(3-hydroxybutyrate). **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, n. 12, p. 2318–2327, 2010.
- YAN, L.; KEH, H. T.; WANG, X. Powering Sustainable Consumption: The Roles of Green Consumption Values and Power Distance Belief. **Journal of Business Ethics**, v. 169, n. 3, p. 499–516, 2021.