

PRODUÇÃO E ANÁLISE DA VISCOSIDADE DE XANTANA OBTIDA POR DIFERENTES CEPAS DE *Xanthomonas arboricola* PV PRUNI

JACKSON GABRIEL MORAIS BECKER¹; MATHEUS ACEVEDO MONTANO²;
ADRIEL PENHA MUNHOZ³; PATRÍCIA DIAZ DE OLIVEIRA⁴

¹ Universidade Federal de Pelotas – kato_becker@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas - matheusmontano64@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – adrielmunhoz@hotmail.com;

⁴ Universidade Federal de Pelotas – bilicadiaz@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Biopolímeros microbianos sintetizados por bactérias, fungos e leveduras são usados em larga escala por conta das suas diferentes propriedades específicas. Neste sentido, a xantana apresenta-se como um exopolissacarídeo com propriedades reológicas únicas, tendo vantagens favoráveis em relação à outros hidrocolóides, como soluções com alta viscosidade em baixa concentração (MORRIS, 1976; SUTHERLAND, 1993; ROSALAM e ENGLAND, 2006).

Considerando-se que a xantana utilizada em território nacional é totalmente depende de exportação e que o Brasil possui em grandes quantidades os insumos básicos para a produção, como por exemplo sacarose como fonte de carbono para o microrganismo e o álcool para recuperação do biopolímero sintetizado (OLIVEIRA et al., 2013), se torna necessária a pesquisa de cepas de *Xanthomonas* capazes de produzir xantana com níveis de produtividade industrial. Com isso, vêm-se estudando condições de produção, recuperação e purificação deste exoheteropolissacarídeo afim de obter maior qualidade na goma, produto de processos industriais que sejam mais viáveis e vantajosos no tocante à produção em larga escala, impactando diretamente no custo do escalonamento industrial.

No âmbito do mercado mundial do biopolímero xantana, destaca-se a importância deste produto para as indústrias alimentícias e derivados, assim como para a área de exploração de petróleo e gases industriais, chegando a movimentar cerca de US\$ 722 milhões em 2016. Espera-se que a movimentação do mercado mundial de xantana cresça à 5,9% de CAGR (taxa de crescimento anual composta) entre 2017-2023, até atingir cerca de US\$ 1.076 milhões ao final do período (SAHU, 2017).

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi analisar a produção e a viscosidade da xantana sintetizada por duas cepas de *Xanthomonas arboricola* pv pruni 15 e 31 comparando-se com a xantana sintetizada por uma cepa padrão.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados 2 gêneros das bactérias *Xanthomonas*, sendo 2 da espécie *arboricola* pv pruni e *campestris* pv campestris NRRL B-1459.

O inóculo foi preparado em meio líquido YM (Yeast Malt) contendo (g.L⁻¹): 3,0 extrato de levedura; 3,0 extrato de malte; 5,0 peptona; 10,0 glicose (HAYNES et al., 1955), partindo-se de placas de Petri contendo repiques multiplicativos atingindo-se concentração celular conforme recomendado por PAN et al. (2000) de 10⁹ UFC/mL. A obtenção da suspensão bacteriana foi realizada por raspagem da cultura sólida com adição de 10 mL de meio YM. Esta foi transferida para frasco Erlenmeyer de 250 mL contendo 40 mL de meio YM, incubados em agitador orbital (New Brunswick, Scientific, Innova 4230) a 28°C, 150 rpm por 24h.

Os cultivos foram realizados em frascos Erlenmeyer de 500 mL, com 150 mL de meio de cultivo com meio de produção MP II contendo (g.L^{-1}): 50,0 sacarose; 1,5 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$; 2,5 K_2HPO_4 ; 5,0 KH_2PO_4 ; 2,0 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,3 MgSO_4 (Vendruscolo et al., 2000), e 50 mL de inóculo. Os frascos foram mantidos em incubadora agitadora orbital (New Brunswick, Scientific, modelo Innova 4230) na temperatura de 28°C e 200 rpm de agitação durante 72 h. Nesta etapa, foram retiradas amostras nos tempos de cultivo de 0, 24, 48 e 72 h.

Para realizar a recuperação da xantana, o caldo foi centrifugado (Sorvall Instruments RC-5C) a $10.000 \times g$ por 15 min, a precipitação com etanol 96% (razão etanol:caldo de 4:1 (v.v^{-1})) e a xantana recuperada foi seca a 56°C , em estufa até peso constante e trituradas à granulometria de 60 – 150 mesh.

Para as análises reológicas foram preparadas soluções a 1 % (m.v^{-1}). As análises foram conduzidas em reômetro Rheostress (HAAKE RS 150) com controlador de temperatura (HAAKE DC 50) sendo a análise de viscosidade realizada variando-se a taxa de deformação entre 0,1 e 1000 s^{-1} , por 300 s, a 25°C , utilizando sensor C60 2º com gap de 104 mm.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Os valores médios e desvios-padrão foram calculados através do software *Statistica* 12.0 (StatSoft Inc., EUA), sendo que para a construção dos gráficos foi utilizado o software *OriginPro* 8 (OriginLab, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto à produção de goma xantana, pode ser observado na Figura 1 que no tempo de 72 h, a concentração de xantana obtida pelas cepas 15 e 31 foram superiores àquela produzida pela cepa padrão utilizada industrialmente para produção de goma xantana.

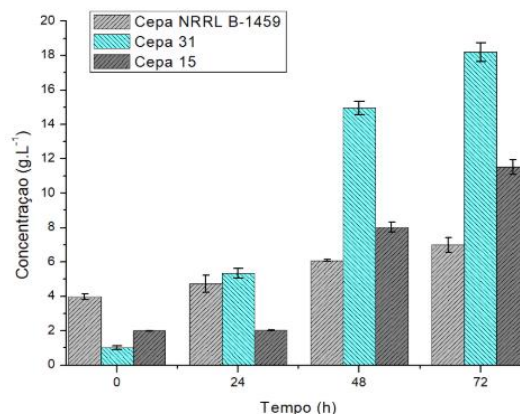


Figura 1. Produção das xantanas sintetizadas pelas bactérias *X. arboricola* pv pruni cepas 15 e 31 e *X. campestris* pv campestris cepa NRRL B-1459 em agitador incubador orbital nos tempos de 0, 24, 48 e 72 h de produção.

As concentrações de xantana sintetizadas pelas cepas 31, 15 e pela cepa padrão foram de $18,20 \text{ g.L}^{-1}$, $11,53 \text{ g.L}^{-1}$ e $6,98 \text{ g.L}^{-1}$, respectivamente, em 72 h. Com isso, evidenciou-se a grande diferença de produção de goma xantana produzida pela cepa 31, nas condições referidas, evidenciando resultados promissores para possível escalonamento industrial. TORRESTIANA et al. (1990) estudaram a produção de xantana com seis isolados de *X. campestris* pv campestris e os rendimentos obtidos variaram de 0,0 a $8,0 \text{ g.L}^{-1}$. MOREIRA et al. (2001) conduziram um estudo com 18 cepas de *X. campestris* pv pruni no qual

verificaram valores de produção variando entre 2,3 g.L⁻¹ para cepa 44 e 8,4 g.L⁻¹ para a cepa 73. Borges et al. (2007) obtiveram rendimento de xantana pela cepa padrão NRRL B-1459 de 6,4 g.L⁻¹, concordando com o resultado obtido no presente estudo.

As curvas de viscosidade dos biopolímeros apresentaram comportamento pseudoplástico característico para xantana, conforme apresentado na Figura 2.

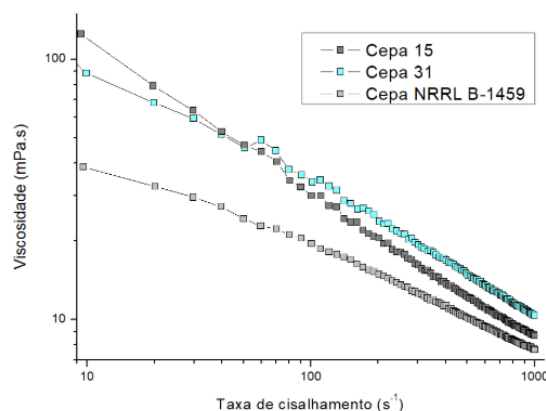


Figura 2. Viscosidade das soluções aquosas das xantanas sintetizadas pelas bactérias *X. arboricola* pv pruni cepas 15 e 31 e pela *X. campestris* pv campestris cepa NRRL B-1459

Os resultados obtidos mostraram que a viscosidade da cepa padrão quando empregadas taxas de cisalhamento de 25, 75 e 100 s⁻¹ em solução de 1%, foram em torno de 30 mPa.s, 20 mPa.s, e 19 mPa.s, respectivamente. Para a cepa 15, nas mesmas taxas de cisalhamento, encontrou-se valores por volta de 71 mPa.s em 25 s⁻¹, 37 mPa.s em 75 s⁻¹ e 29 mPa.s em 100 s⁻¹. Ainda, para a cepa 31 foram achados valores, em torno de 63 mPa.s, 40 mPa.s e 33 mPa.s nas taxas de 25, 75 e 100 s⁻¹, respectivamente. Entre as cepas estudadas no presente trabalho, destaca-se a cepa 31 por apresentar maior viscosidade em comparação com cepa 15 e a cepa NRRL B-1459.

OLIVEIRA et al. (2013) relatam valores em torno de 70 mPa.s para cepa 06, 50 mPa.s para cepa 82 e 50 mPa.s para cepa 106, em taxa de cisalhamento de 100 s⁻¹, no entanto, o estudo foi realizado em biorreator e bancada com condições de fermentação controladas, como aeração e pH.

Borges et al., (2007) avaliou a viscosidade da cepa NRRL B-1459, em solução de 3% e encontrou viscosidade de 0,440 mPa.s quando empregado uma taxa de cisalhamento de 100 s⁻¹.

4. CONCLUSÕES

Em suma, as cepas de *X. arboricola* pv pruni cepa 31 e cepa 15 obtiveram maior rendimento e viscosidade que a cepa de *X. campestris* pv campestris, evidenciando a importância do meio de cultivo para a produção e qualidade da goma, assim como a bioprospecção para possíveis escalonamentos industriais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORGES, C. D.; VENDRUSCOLO, C. T. XANTHAN SYNTHESIZED BY STRAINS OF *Xanthomonas campestris* pv *pruni*: PRODUCTION, VISCOSITY

- AND CHEMICAL COMPOSITION, **Bioscience Journal**, v. 23, n. 4, p. 67-73, 2007.
- HAYNES, W. C.; WICKERHAM, L. J.; HESSELTINE, C. W. Maintenance of cultures of industrially important microorganisms. **Applied Microbiology**, v. 3, p.361-368. 1955.
- MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; GIL-TUNES, C.; VENDRUSCOLO, C. T. Screening among 18 novel strains of *Xanthomonas campestris* pv *pruni*. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 4-6, p. 469-474, 2001.
- MORRIS, E. R. Molecular origin of xanthan solution properties. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v.172, p.19, 1976.
- OLIVEIRA, P. D.; BORGES, C. D.; MICHEL, R. C.; LOMBA, R. F. T.; VENDRUSCOLO, C. T. Avaliação Comparativa das Propriedades de Xantanas Produzidas pelo patovar pruni e Clairana com Xantana Comercial para predição de uso. **Polímeros**, v. 27, p. 1-20, 2013.
- PAN, A., MOREIRA, A. S., VENDRUSCOLO, C.T. Efeito da concentração inicial do inóculo no crescimento celular e qualidade de biopolímeros de *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 06. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 6, n. 3, p. 273 -277. 2000.
- ROSALAM, S.; ENGLAND, R. Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas campestris* sp. **Enzyme and Microbial Technology**, v.39, p. 197-207, 2006.
- SUTHERLAND, I. W. Xanthan. In: SWINGS, J. G.; CIVEROLO, E. L. **Xanthomonas**. London: Chapman & Hall. p.363-388. 1993.
- TORRESTIANA, B.; FUCIKOVSKY, L.; GALINDO, E. Xanthan production by some *Xanthomonas* isolates. **Letters in Applied Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 81-83, 1990.
- VENDRUSCOLO, C. T.; MOREIRA, A. S.; SOUZA, A. S.; ZAMBAZI, R.; SCAMPARINI, A. R. P. Heteropolysaccharide produced by *Xanthomonas campestris* pv pruni C24. In: NISHINARI, K. **Hydrocolloids**. Amsterdam: Elsevier, v.1, p.187-191, 2000.
- DAVIDSON, I. W. Production of polysaccharide by *Xanthomonas campestris* in continuous culture. **FEMS Microbiol Lett.** 3:347-349. 1978.
- TAIT, M. I.; SUTHERLAND, I. W.; CLARKE-STURMAN, A. J. Effect of growth conditions on the production composition and viscosity of *Xanthomonas campestris* exopolysaccharide. **J Gen Microbiol.** 132: 1483-1492. 1986.
- SAHU, Y. Allied Market Research. **Xanthan Gum Market by Application (Food & Beverages, Medical, Personal Care & Cosmetics, Oil & Gas, and Others) and Function (Thickening Agent, Stabilizing Agent, Suspending Agent, Fat Replacer, and Others): Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2017-2023**. Mai. 2017. Acessado em 8 mai. 2018. Online. Disponível em: <https://www.alliedmarketresearch.com/xanthan-gum-market>