

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia



Dissertação

Caracterização durante o tempo de armazenamento da xantana sintetizada por *Xanthomonas arboricola* pv. pruni modificada quimicamente por desacetilação e reticulação

Bruna Molon

Pelotas, 2019

Bruna Molon

Caracterização durante o tempo de armazenamento da xantana sintetizada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* modificada quimicamente por desacetilação e reticulação

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do Conhecimento: Biotecnologia).

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Diaz de Oliveira

Coorientadora: Dra. Janaína Oliveira Gonçalves

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M728c Molon, Bruna de Oliveira

Caracterização durante o tempo de armazenamento da xantana sintetizada por *Xanthomonas arboricola* pv. Pruni modificada quimicamente por desacetilação e reticulação / Bruna de Oliveira Molon ; Patrícia Diaz de Oliveira, orientadora ; Janaína Oliveira Gonçalves, coorientadora. — Pelotas, 2019.

88 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Xantana. 2. Modificações químicas. 3. Temperatura. 4. Armazenamento. 5. Grau de intumescimento. I. Oliveira, Patrícia Diaz de, orient. II. Gonçalves, Janaína Oliveira, coorient. III. Título.

CDD : 576.162

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Luciana Bicca Dode (UFPel, Biotecnologia)

Dra. Janaína Oliveira Gonçalves (FURG, Escola de Química e de Alimentos)

Dra. Renata Aguires Trindade (FURG, Escola de Química e de Alimentos)

Profa. Dra. Patrícia Diaz de Oliveira (Orientadora, UFPel, Biotecnologia)

Para minha família e amigos por todo apoio e incentivo
Dedico.

Agradecimentos

A Deus, que está sempre junto comigo, me guiando e colocando pessoas e oportunidades no meu caminho.

Aos meus pais Gabriel e Marcia Molon, por toda dedicação, carinho, amor e principalmente aquele abraço que conforta e transmite ânimo para seguir em frente e nunca deixar desistir de superar as dificuldades.

A minha gêmea, Bianca Molon, que se dedicou muito e fez isso tudo acontecer, sendo meus olhos quando eu não enxergava, e é parte do meu coração.

Aos meus irmãos Fabrício e Felipe Molon, pela paciência e carinho que tiveram comigo, por todo amor e ensinamento.

A toda minha família, obrigada pelas orações e incentivos.

A minha orientadora Patrícia Diaz de Oliveira, por todo carinho e atenção, por todo ensinamento e disponibilidade. Obrigada por nunca desistir das manas.

A minha co-orientadora Janaina Gonçalves, pela amizade e parceria, pelos incentivos e conhecimentos compartilhados.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Tecnologia de Bioprocessos - TecBio e Laboratório de Biopolímeros, por toda ajuda, paciência, ensinamentos e por todos os momentos que compartilhamos um pouquinho de cada um. Obrigada a todos.

Aos meus amigos, amigos da infância, da graduação, da Igreja, aos amigos irmãos que estão sempre comigo fisicamente ou em oração, que torcem pelo meu bem e que me ajudam a superar minhas dificuldades. Obrigada por tudo.

Ao Galeto Caxias, pela oportunidade de trabalho e sustento, aos colegas e amigos que torcem por esta conquista.

A Universidade Federal de Pelotas, ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia pela oportunidade de realizar o mestrado.

A todos os laboratórios da UFPel e FURG que de alguma forma ajudaram a realização das análises deste trabalho.

Aos membros da banca, pela disponibilidade, atenção e conhecimento depositados neste trabalho.

Aos professores, técnicos e funcionários do núcleo de Biotecnologia, por toda atenção.

A todos que de alguma forma colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho.

Pessoas mais felizes não tem o melhor de tudo, elas apenas fazem o melhor com
tudo o que tem.

RESUMO

MOLON, Bruna de Oliveira. **Caracterização durante o tempo de armazenamento da xantana sintetizada por *Xanthomonas arboricola* pv. pruni modificada quimicamente por desacetilação e reticulação.** 2019. 88f. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A goma xantana é um biopolímero produzido a partir de *Xanthomonas*, por fermentação a partir de fonte natural. As propriedades da goma são afetadas por sua composição química, estrutura e massa molecular, sendo amplamente utilizada na indústria de alimentos, farmacêutica e petrolífera. Neste trabalho foram produzidas xantanas a partir do processo fermentativo de *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa 106 e xantana comercial (Jungbunzlauer®) utilizada como controle. A partir destas foram realizadas as modificações químicas pós-fermentativa, desacetilação e reticulação, e foi analisado o comportamento durante o tempo de armazenamento sob diferentes condições de temperatura (25 °C e 45 °C). As gomas foram caracterizadas em relação as análises do rendimento do processo, teor de umidade, teor de sais, a morfologia através das imagens de MEV e por fim caracterização dos grupos funcionais a partir do FTIR. Após, foram analisados ao longo do período de armazenamento o teor de acetil e piruvato, o grau de intumescimento e as propriedades reológicas das gomas. A partir dessas análises pode-se observar um rendimento médio no processo de fermentação da xantana pruni de 11,03 g L⁻¹. Em relação a modificação química, o processo de desacetilação para xantana pruni apresentou baixo rendimento (58,7%) quando comparado com o processo de desacetilação da xantana comercial (82,7%). Já o processo de reticulação com glutaraldeído apresentou altos rendimento 90,7% para xantana pruni e 81,5% para xantana comercial. As xantanas armazenadas a 45 °C apresentaram uma redução média de 60% do teor de umidade no final do armazenamento. A xantana pruni natural apresentou elevado teor de potássio (44,2 mg g⁻¹) em relação a xantana comercial natural (0,8 mg g⁻¹). Através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) do pó de xantana, observou-se diferenças na superfície entre as xantanas naturais e modificadas. A partir das análises de FTIR verificou-se alteração nos grupos funcionais presentes nas gomas, comprovando a inserção de novos grupamentos ativos, devido às modificações químicas pós-fermentativas que foram realizadas. A xantana comercial natural, em sua composição química apresentou elevado conteúdo de acetila (4,97%) em relação a xantana pruni natural (1,33%). O conteúdo de piruvato não foi alterado com a desacetilação termoquímica. O comportamento do grau de intumescimento em quase todas as xantanas, exceto para xantana pruni reticulada, apresentaram um aumento no grau de intumescimento com o decorrer do tempo de análise. Para a xantana pruni reticulada, observou-se uma redução no grau de intumescimento (inferior a 40%) e na viscosidade, afirmando que a reticulação com glutaraldeído afeta diretamente a solubilidade da xantana. Por fim, conclui-se que, a viscosidade das xantanas pruni e comercial, são influenciadas diretamente pelas modificações químicas e pela temperatura de armazenamento.

Palavras-chave: Xantana, Modificações Químicas, Temperatura, Armazenamento, Grau de Intumescimento.

ABSTRACT

MOLON, Bruna de Oliveira. **Caracterização durante o tempo de armazenamento da xantana sintetizada por *Xanthomonas arboricola* pv. pruni modificada quimicamente por desacetilação e reticulação.** 2019. 88f. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Xanthan gum is a biopolymer produced from *Xanthomonas* by fermentation from a natural source. The properties of gum are affected by their chemical composition, structure and molecular mass, being widely used in the food, pharmaceutical and oil industry. In this work were produced from the fermentation process of *Xanthomonas arboricola* pv pruni strain 106 and commercial xanthan (Jungbunzlauer®) used as control. The post-fermentation, deacetylation and cross-linking chemical modifications were carried out, and the behavior during the storage time under different temperature conditions (25 °C and 45 °C) was analyzed. The gums were characterized in relation to the analysis of the process yield, moisture content, salt content, morphology through MEV images and finally characterization of the functional groups from the FTIR. After that, the content of acetyl and pyruvate, the degree of swelling and the rheological properties of the gums were analyzed during the storage period. From these analyzes we can observe an average yield in the fermentation process of xanthan pruni of 11.03 g L⁻¹. In relation to the chemical modification the deacetylation process for xanthan pruni presented low yield (58.7%) when compared to the deacetylation process of commercial xanthan (82.7%). The crosslinking process with glutaraldehyde showed high yields of 90.7% for xanthan pruni and 81.5% for commercial xanthan. The xanthanes stored at 45 °C showed a mean reduction of 60% of moisture content at the end of storage. Natural pruni xanthan showed high potassium content (44.2 mg g⁻¹) compared to natural commercial xanthan (0.8 mg g⁻¹). With the scanning electron microscopy (SEM) of the xanthan powder, surface differences between the natural and modified xanthans were observed. From the analyzes of FTIR, it was verified a change in the functional groups present in the gums, thus proving the insertion of new active groups, due to the post-fermentative chemical modifications that were performed. The natural commercial xanthan in its chemical composition showed high acetyl content (4.97%) in relation to natural pruni xanthan (1.33%). The pyruvate content was not altered with thermochemical deacetylation. The behavior of swelling degree in almost all xanthans, except for reticulated xanthan pruni, showed an increase of swelling degree with the course of the analysis time. For the crosslinked xanthan pruni, a reduction of swelling degree (less than 40%) and viscosity was observed, stating that glutaraldehyde cross-linking directly affects the solubility of xanthan. Finally, it is concluded that the viscosity of pruni and commercial xanthan are directly influenced by the chemical modifications and the storage temperature.

Keywords: Xanthan, Chemical Modifications, Temperature, Storage, Swelling degree.

Lista de Figuras

Figura 1. Etapas do processo produtivo de xantana.....	16
Figura 2. Estrutura química da xantana.....	18
Figura 3. Representação molecular da estrutura química ordenada da xantana. a) Hélice simples, b) Dupla hélice antiparalela.....	19
Figura 4. Unidade de repetição da xantana com os diferentes substituintes.	21
Figura 5. Imagem de microscopia de força atômica de xantana. A seta evidencia um pequeno trecho de estrutura ordenada em duas vertentes e no canto superior direito é evidenciada a separação em duas cadeias desordenadas no final de uma sequência ordenada	22
Figura 6. Representação esquemática resumindo a conformação ordem-desordem de xantana em solução aquosa apresentada na literatura.....	23
Figura 7. Esquema representativo da reação de desacetilação.....	27
Figura 8. Esquema representativo da reação de reticulação com glutaraldeído.....	29
Figura 9. Esquema representativo do enxerto de xantana copolimerizado com ácido poliacrílico reticulado com glutaraldeído.	31

Lista de Tabelas

Tabela 1. Teores de acetila e piruvato de diferentes xantanas sintetizadas por diferentes gêneros da bactéria <i>Xanthomonas</i>	20
Tabela 2. Aplicações da goma xantana.....	25

Lista de Abreviaturas

CAGR - *Compound Annual Growth Rate* (Taxa de crescimento anual composta)

COMEX STAT - Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior

EPS – Exopolissacarídeo

FAO - *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (*Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura*)

FDA – *Food and Drug Administration* (Gestão de alimentos e drogas)

NRRL – *Northern Regional Research Laboratory* do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

OMS - Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	Goma Xantana	15
2.1.1	Composição química, estrutura e conformação molecular	18
2.1.2	Propriedades da Xantana.....	23
2.1.3	Aplicações da goma xantana	24
2.2	Modificação química.....	26
2.2.1	Desacetilação	26
2.2.2	Reticulação.....	28
3	HIPÓTESE E OBJETIVOS.....	32
3.1	Hipótese	32
3.2	Objetivo geral	32
3.3	Objetivos específicos.....	32
4.	CAPÍTULO	33
4.1	Artigo 1	33
	Caracterização durante o tempo de armazenamento da xantana sintetizada por <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. pruni modificada quimicamente por desacetilação e reticulação	33
1.	INTRODUÇÃO	34
2.	MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1	Xantanas	35
2.2	Modificação química por desacetilação.....	37
2.3	Modificação química por reticulação	37
2.4	Rendimento das xantanas modificadas quimicamente	37
2.5	Processo de armazenamento da xantana	38
2.6	Teor de umidade	38
2.7	Análise de sais da xantana – teores de sódio, cálcio, potássio e magnésio	38
2.8	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	39
2.9	Espectroscopia de infravermelho (FTIR)	39
2.10	Teor de acetil.....	40
2.11	Teor de piruvato	41
2.12	Grau de intumescimento (GI)	41
2.13	Análises reológicas.....	42
2.14	Análise estatística	43

3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
3.1	Produção da xantana pruni	43
3.2	Rendimento das xantanas modificadas quimicamente	44
3.3	Caracterização das amostras de xantana pruni e comercial	45
3.3.1	Teor de umidade	45
3.3.2	Análise de sais da xantana - teores de sódio, cálcio, potássio e magnésio.....	47
3.3.3	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	49
3.3.4	Espectroscopia de infravermelho (FTIR)	51
3.4	Caracterização das amostras das xantanas pruni e comercial naturais e modificadas quimicamente armazenadas nas temperaturas de 25 °C e 45 °C.....	54
3.4.1	Teor de acetil das amostras de xantanas	54
3.4.2	Teor de piruvato das amostras de xantanas	56
3.4.2	Grau de intumescimento (GI)	58
3.4.3	Análises reológicas.....	65
4.	AGRADECIMENTO.....	70
5.	CONCLUSÃO.....	71
6.	REFERÊNCIAS.....	72
5	CONCLUSÃO GERAL.....	78
6	REFERÊNCIAS.....	79

1 INTRODUÇÃO GERAL

A goma xantana é um polissacarídeo microbiano de alto peso molecular obtidas a partir de fonte natural, produzido em condições aeróbicas por fermentação e sintetizado por bactérias do gênero *Xanthomonas* (VIEBKE, 2004; KENNEDY et al., 2015; SUKRITI et al., 2017). É um biopolímero complexo formado por unidades repetitivas tendo uma cadeia principal de glicose, ligadas a cadeia lateral trissacarídica, com duas unidades de manose e uma de ácido glicurônico (GARCIA-OCHOA et al., 2000; ABBASZADEH et al., 2015).

A goma xantana é um biopolímero solúvel em água quente e fria, e exibe comportamento pseudoplástico. A presença de ácido glicurônico e ácido pirúvico, conferem caráter aniônico da goma xantana (VIEBKE, 2004; SUKRITI et al., 2017). Xantana apresenta propriedades como, biocompatibilidade e biodegradabilidade que o tornam visada pelas indústrias de alimentos, cosméticos, têxteis e petrolífera. Além disso, apresentam capacidade espessante, emulsionante e estabilizante, assim tornando-se versátil devido a possibilidade de formar géis, filmes e membranas (HAMCERENCU et al., 2007; BEJENARIU et al., 2009; SHALVIRI et al., 2010). Em alimentos, a goma xantana é amplamente utilizada, devido às suas propriedades reológicas, como a viscosidade, onde mesmo em baixas concentrações do polímero a solução é altamente viscosa, assim corroborando para a estabilidade da goma em função do pH, temperatura e força iônica (PETRI, 2015; RENAUD, 2005).

As características das xantana dependem do meio de produção, condições operacionais como a temperatura, pH, aeração, tempo de fermentação, e da escolha da cepa bacteriana (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). A obtenção da xantana com propriedades específicas e diferenciadas, pode ser realizada através de alterações no processo de produção ou após sua produção, resultando em um biopolímero com estrutura química modificada e com características desejadas (PINTO, 2005; BORN et al., 2002; KLAIC, 2016).

Diversas modificações pós-fermentativas podem ser realizadas na goma xantana, entre elas, a desacetilação termoquímica, que consiste na remoção dos grupos acetil, normalmente por processo térmico em base diluída, causando mudança na viscosidade das soluções aquosas de xantana e aumentando as forças de interações da goma xantana com outras gomas, tornando a molécula mais flexível

(JEANES; SLONEKER, 1961; JIN et al., 2015; KOOL et al., 2014; PINTO et al., 2011; TAKO; NAKAMURA, 1985; TAKO; NAKAMURA, 1986)

Outra modificação química possível de ser realizada é a reticulação ou *crosslinking*, que é a interligação ou entrecruzamento de cadeias poliméricas, o qual proporciona alterações na capacidade de intumescimento do polissacarídeo e possibilita a formação de hidrogéis químicos, que podem alterar a solubilidade da goma (BUENO et al., 2013; CURY et al., 2009; HAMCERENCU et al., 2007; JEONG et al., 2018; LINDBLAND & ALBERTSSON, 2004; RUVALCABA et al., 2007).

. A importância de estudar o desempenho das modificações químicas, de desacetilação e de reticulação, assim como o comportamento do armazenamento da xantana a diferentes temperaturas ao longo dos meses são fatores relevantes. Estes podem influenciar alterações na estrutura do polímero, composição química, propriedades reológicas, bem como alterações na capacidade de dissolução do polímero, que serão abordados neste estudo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Goma Xantana

A goma xantana foi o primeiro biopolímero a ser produzido em escala industrial (ROSALAM; ENGLAND, 2006) sintetizado pela bactéria *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459, e assim, o produto tornou-se comercialmente disponível em 1964 (BORN et al., 2002; GARCÍA-OCHOA et al., 2000; SUTHERLAND, 2001). A aprovação para uso alimentar foi dada nos Estados Unidos em 1969 pelo FDA (Food and Drug Administration), em 1974 pela FAO/OMS (Food and Agriculture Organization of the United Nations/Organização Mundial da Saúde (BORN et al., 2002; ROSALAM e ENGLAND, 2006; BORN et al., 2002; GARCÍA-OCHOA et al., 2000; ROCKS, 1971)

Xantana é um polissacarídeo natural e um importante biopolímero industrial, obtido a partir de bactérias do gênero *Xanthomonas* através de processo fermentativo, sendo considerado um exopolissacarídeo (EPS). A goma xantana foi descoberta na década de 1950 pelo *Northern Regional Research Laboratory* (NRRL) do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (JANSSON et al., 1975; GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

O polissacarídeo é produzido em meio contendo fontes de carbono, como a glicose e a sacarose, fontes de nitrogênio, sais de potássio, ferro e cálcio (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). A goma é recuperada por precipitação com álcool isopropílico, seca e moída. As características, como a massa molar, viscosidade e teores de acetil e piruvato, podem variar dependendo da fonte de nitrogênio e carbono, temperatura e pH (VIEBKE, 2004; MILLAS e RINAUDO, 1984). A produção da goma envolve diversas etapas, entre elas o cultivo do microrganismo, a formação do inóculo e a recuperação do biopolímero conforme pode ser observado na Figura 1.

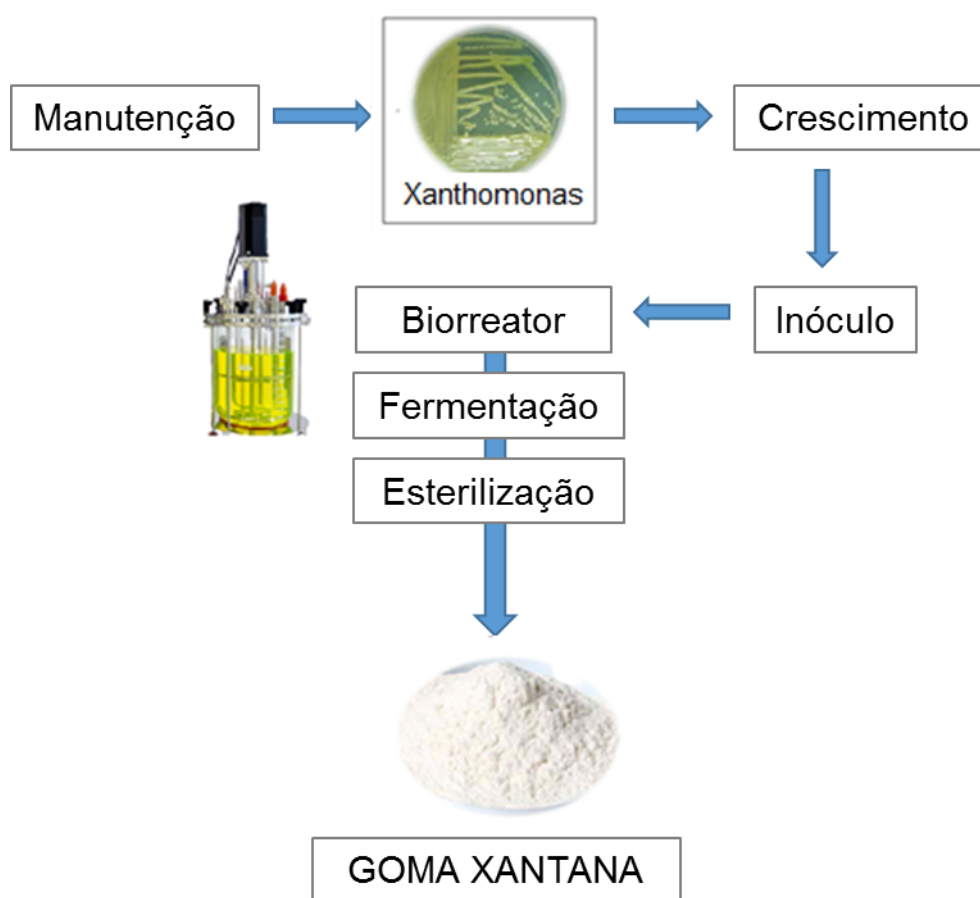


Figura 1. Etapas do processo produtivo de xantana. Fonte: A autora

O controle de todas as etapas do processo é essencial para garantir a qualidade do biopolímero sintetizado, tais como o meio de cultura, as condições de operação como temperatura (25 a 34°C), pH (neutro), velocidade de agitação, tempo de fermentação, modo de operação, aeração, as quais influenciam no crescimento do microrganismo e por consequência na produção e nas propriedades da xantana obtida (BORGES et al., 2009; GARCÍA-OCHOA et al., 2000; PREICHARDT e KLAIC, 2016)

No processo de recuperação da xantana, é necessário a inativação e remoção das células microbianas do caldo fermentativo, a precipitação do biopolímero, desidratação, secagem e moagem do pó como produto final. Onde, o processo deve ser feito sem degradar o biopolímero (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Dentre as diversas espécies e patovares do gênero *Xanthomonas*, a *Xanthomonas campestris* é o microrganismo mais comumente empregado na produção industrial de xantana (BECKER et al., 1998; GARCÍA-OCHOA et al., 2000; ROSELAM e ENGLAND, 2006; SUTHERLAND, 2001). Todos os organismos deste gênero são patógenos de plantas. Os patovares de *Xanthomonas* infectam uma grande seleção de plantas causando uma variedade de sintomas, como necrose, gomose e doenças parenquimatosas vasculares nas folhas, caules ou frutos. Um exemplo disso é a podridão negra (*black rot*) em crucíferas como couve-flor, repolho e brócolis (BORN et al., 2002; GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Além da *Xanthomonas campestris*, a mais numerosa e abundante do gênero, vários patovares de *Xanthomonas campestris*, particularmente, e outras espécies *Xanthomonas* produzem eficientemente exopolissacarídeos, dentre estes os patovares phaseoli, malvacearum, carotae, citrumelo e jugladis (BECKER et al., 1998).

Desde o início do ano 1999, estudos da produção da xantana pela espécie *arboricola* pv *pruni*, anteriormente classificada como *X. campestris* pv *pruni* vem sendo realizados por pesquisadores do Núcleo de Biotecnologia do Centro de Desenvolvimento Tecnológico da Universidade Federal de Pelotas (Pelotas/RS – Brasil) (SOUZA; VENDRUSCOLO, 1999; ANTUNES, 2000; ANTUNES, 2003; BORGES et al. 2009; DIAZ, 2002; MOREIRA et al., 2001; MOREIRA, 2002; BORGES; VENDRUSCULO, 2007; PINTO, 2005; VENDRUSCOLO et al., 2000; BOROWSKI, 2011; KLAIC, 2010; KLAIC, 2016; PREICHARDT, 2009; RODRIGUES, 2010). Esses autores estudaram a seleção de cepas das bactérias de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*, a produtividade, bem como a otimização dos parâmetros de fermentação em escala de bancada, caracterizando a estrutura química e a reologia das soluções aquosas dos biopolímeros sintetizados e suas possíveis aplicações.

Klaic, 2016, estudou a influência das modificações químicas na xantana produzida por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em um único período. Entretanto, não há relatos na literatura sobre o estudo dessas modificações químicas durante o armazenamento.

2.1.1 Composição química, estrutura e conformação molecular

A goma xantana é um heteropolissacarídeo composto por uma estrutura primária de unidades pentassacarídicas repetidas formadas por duas unidades de glicose, duas unidades de manose e uma unidade de ácido glicurônico (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; SANDFORD et al., 1977, MELTON et al., 1976, ROCHEFORT e MIDDLEMAN, 1987) (Figura 2).

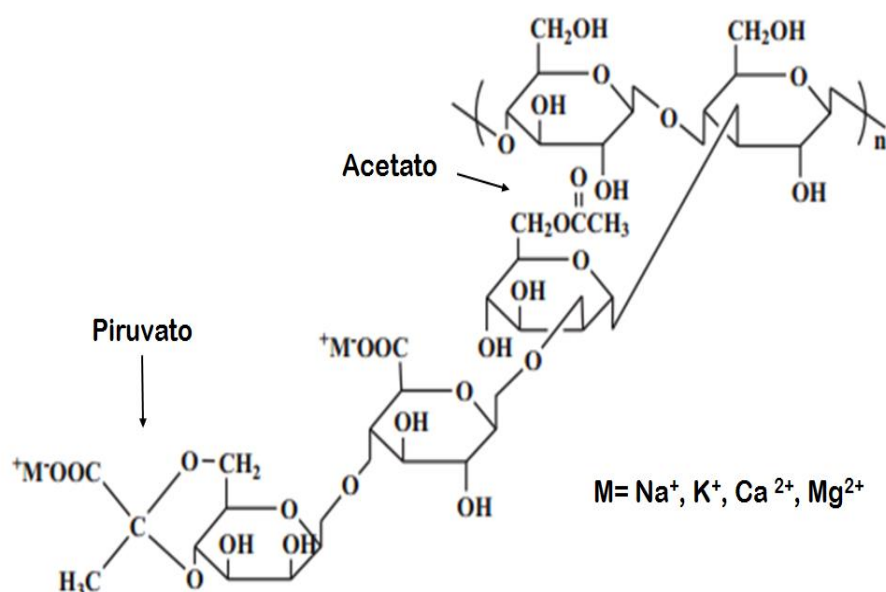


Figura 2. Estrutura química da xantana. Fonte: Adaptado de Xu et al., (2015).

A cadeia principal da xantana é semelhante a uma cadeia celulósica, formada por duas unidades de glicose unidas por ligações do tipo β ($1 \rightarrow 4$). A cadeia lateral trissacarídea é composta por uma unidade de ácido glicurônico entre duas unidades de manose ligadas na posição do carbono terciário de resíduos da segunda unidade de glicose na cadeia principal (MORRIS, 2006, RENOU et. al., 2013). A Figura 3 apresenta a estrutura de única hélice e dupla hélice antiparalela da xantana.

É verificado na unidade da manose interna ligada à cadeia principal a ligação de um grupo acetil na posição C (6) e aproximadamente metade da manose terminal contém resíduo de ácido pirúvico ligado nas posições 4 e 6 (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; JANSSEN et al., 1975).

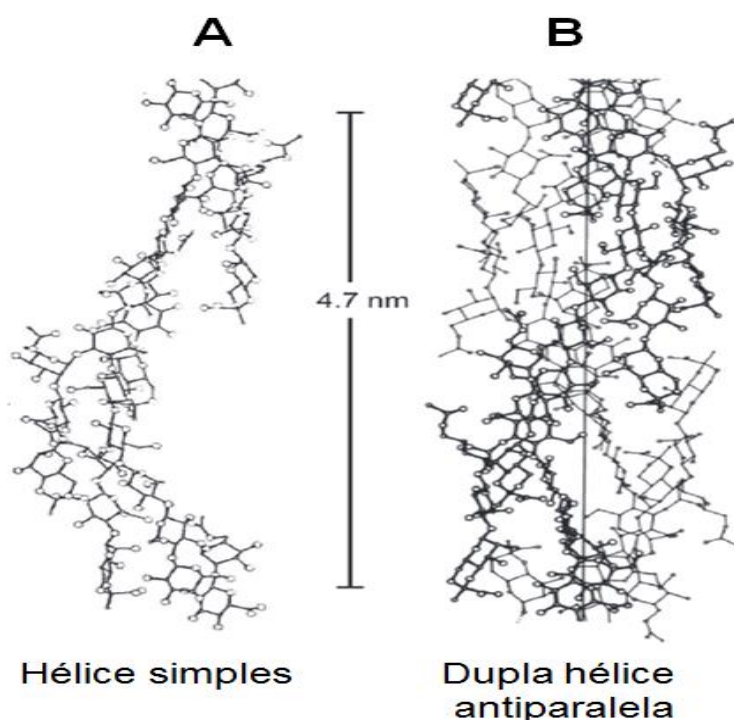


Figura 3. Representação molecular da estrutura química ordenada da xantana. a) Hélice simples, b) Dupla hélice antiparalela. Fonte: Morris, (2019)

Estudos realizados por Orentas, Sloneker & Jeanes (1963) e Cadmus et al., (1976) afirmaram que aproximadamente 85% de todas as unidades internas de manose são acetiladas na posição C (6) e 30-50% de todas as unidades externas de manose transportam um grupo piruvato ligado na posição 4,6. Coviello et al., (2007), relataram que o grau de substituição do piruvato geralmente varia entre 30-40%, enquanto é de 60-70% para o acetil.

Hassler e Doherty (1990) estudaram a produção de variantes da goma xantana em *Xanthomonas campestris*, e relataram a presença de acetil na manose interna e externa. Além disso, os autores afirmaram que a remoção do substituinte acetil na manose influencia as propriedades da xantana, alterando assim a viscosidade do polímero.

O teor de substituintes de acetila e piruvato do polissacarídeo são fatores influenciados pela cepa bacteriana e pelas mudanças nas condições de fermentação (BRADSHAW et.al., 1983; ROCHEFORT e MIDDLEMAN, 1987; SMITH et al., 1981; FLORES CANDIA e DECKWER, 1999; HASSLER e DOHERTY, 1990), como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Teores de acetila e piruvato de diferentes xantanas sintetizadas por diferentes gêneros da bactéria *Xanthomonas*

Bactéria	Teor de acetil (%)	Teor de piruvato (%)	Referência
<i>Xanthomonas campestris</i>	0,41	0,38	Bueno e Petri, 2014
<i>Xanthomonas campestris</i>	5,1 - 6,2	2,2 – 6,5	Erten et al., 2014
<i>Xanthomonas campestris</i>	5,79	3,70	Kool et at., 2013
<i>Xanthomonas campestris</i>	1,9 – 6,0	1,0 – 5,7	Garcia-Ochoa et al., 2000
<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>campestris</i> 646 (ATCC 13951)	4,5	4,4	Shatwell et al.,1990
<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>campestris</i> 646 (ATCC 13951), desacetilada	1,3	3,6	Shatwell et al.,1990
<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>phaseoli</i> 1128	7,7	1,7	Shatwell et al.,1990
<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>phaseoli</i> 556	1,6	6,0	Shatwell et al.,1990
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i> cepa 101	2,39	1,52	Klaic et al., 2016
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i> cepa 106	1,81 – 3,78	0,86	Borges et al., 2009
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i> cepa 06	2,76	2,48	Oliveira et al., 2013
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i> cepa 82	3,29	3,34	Oliveira et al., 2013

A presença de substituintes acetil confere estabilidade para a conformação

helicoidal (RENOU et. al., 2013), enquanto os grupos piruvato desestabilizam a conformação helicoidal (SANDFORD et al., 1977; SHATWELL et al., 1990). A característica polieletrólítica aniônica do polissacarídeo é devida a presença de grupos acetil e piruvato (RICHARDSON e ROSS-MURPHY, 1987, RENOU et. al, 2013).

Estudos realizados por Kool et al., (2013 e 2014) mostraram que a unidade da manose externa também pode ser acetilada (Figura 4), através do estudo sobre a influência das seis diferentes unidades repetitivas da molécula de xantana que demonstrou cerca de 5-20% de todas as cadeias laterais de xantana são acetiladas nas unidades externas de manose e 66 - 88% das unidades de manose externa possuem grupo piruvato e relataram que o grau de substituição da manose externa e a relação do acetil e piruvato são influenciados pelas condições de produção. O estudo realizado por Kool et al., (2013) afirmaram que amostras de xantanas com similares composições moleculares podem apresentar diferenças nas proporções de unidades de repetição de xantana que afetam a composição de sua estrutura.

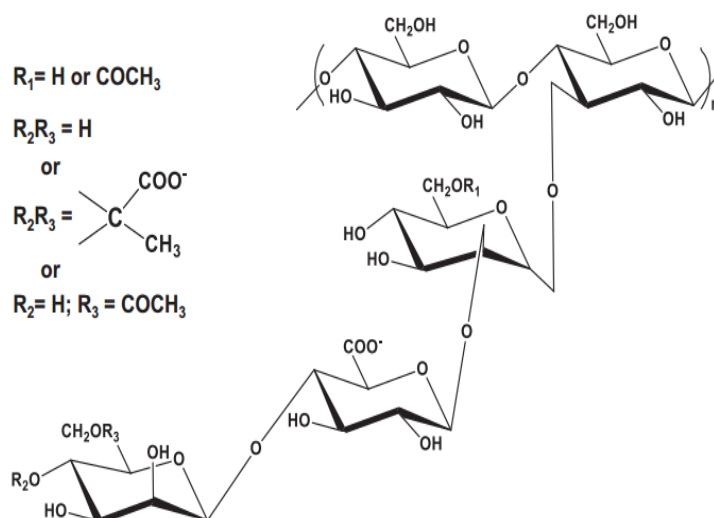


Figura 4. Unidade de repetição da xantana com os diferentes substituintes. Fonte: Adaptado de Kool et al., (2014)

A xantana comercial em solução aquosa apresenta uma conformação helicoidal de dupla fita com uma transição de ordem (hélice) e desordem (espiral) em mudanças de temperatura, força iônica, pH (LIU e NORISUYE 1988; MATSUDA et al., 2009; CAPRON et al., 1997; MILAS et al., 1996), adição de sal e concentração da goma (GARCÍA-OCHOA e CASAS, 1994) e também no conteúdo de acetila e piruvato (SMITH et al., 1981, HOLZWARTH GEORGE, 1981).

Os estudos recentes desenvolvidos por Moffat et al., (2016) utilizando microscopia de força atômica mostraram as estruturas longas e estendidas da xantana em dupla hélice, isto é, diméricas, onde observa-se na figura indicada com a seta a presença um pequeno trecho de estrutura ordenada em duas vertentes, e no canto superior direito a separação em duas cadeias desordenadas no final de uma sequência ordenada, conforme ilustrado na Figura 5.

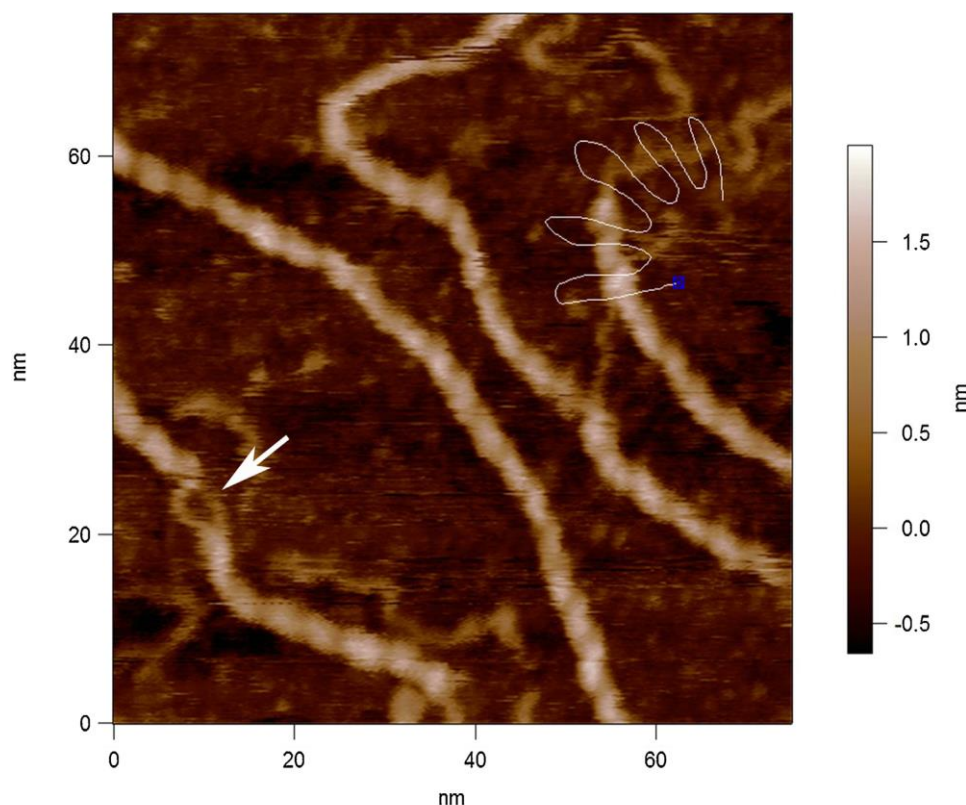


Figura 5. Imagem de microscopia de força atômica de xantana. A seta evidencia um pequeno trecho de estrutura ordenada em duas vertentes e no canto superior direito é evidenciada a separação em duas cadeias desordenadas no final de uma sequência ordenada. Fonte: Moffat et al., (2016).

A molécula de xantana pode sofrer uma transição conformacional de dupla hélice para um espiral flexível desordenada, seja aumentando a temperatura acima da temperatura de transição conformacional ($T_m \sim 50\text{ }^{\circ}\text{C}$) ou diminuindo a salinidade da solução (CALLET et al., 1989; CAPRON et al., 1997; MILAS et al., 1996; GULREZ et al., 2012).

E quando a estrutura desordenada sofre um aquecimento prolongado, acima de 2 horas a temperatura elevadas, ocorre a degradação da xantana, ocasionando a diminuição no tamanho molecular e perda na viscosidade da solução, evidenciando

que a mudança na conformação da xantana altera a massa molar (CAPRON et al., 1997). Existem dois tipos diferentes de conformação da estrutura ordenada da xantana, a forma nativa e renaturada (Figura 6) (GULREZ et al., 2012).

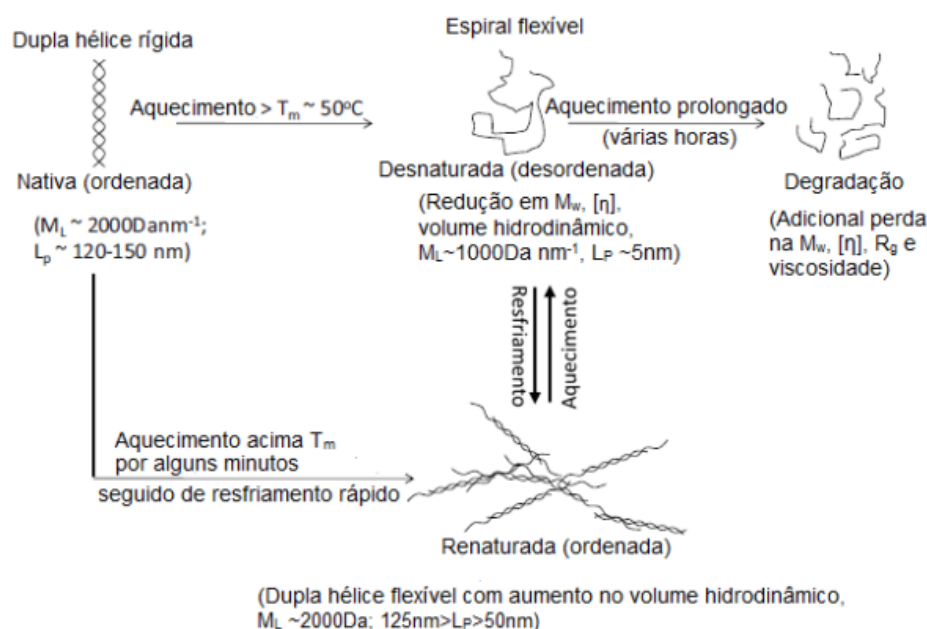


Figura 6. Representação esquemática resumindo a conformação ordem-desordem de xantana em solução aquosa apresentada na literatura. Adaptado de Klaic, (2011)

Para obtenção da xantana renaturada é necessário um aquecimento por alguns instantes seguido de um resfriamento rápido. Acredita-se que a conformação renaturada tem mais flexibilidade em sua dupla hélice do que a conformação nativa (CALLET et al., 1987; CAPRON et al., 1998; MILAS et al., 1996; GULREZ et al., 2012). A renaturação é um processo reversível, enquanto a desnaturação da xantana nativa é irreversível (CAPRON et al., 1997).

2.1.2 Propriedades da Xantana

A goma xantana é solúvel em água fria e quente, e esse comportamento está relacionado com a natureza polieletrólítica da molécula de xantana. As soluções de xantana são altamente viscosas mesmo em baixas concentrações de polímero, devido ao elevado peso molecular, estrutura ramificada e interações intramoleculares. As soluções de xantana apresentam comportamento pseudoplástico, isto é, a viscosidade diminui com o aumento das tensões de cisalhamento, sendo esse

processo reversível (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; KATZBAUER, 1998). Essas propriedades são úteis em muitas aplicações industriais, como na indústria de alimentos, onde a xantana é usada como espessante e estabilizantes de suspensões e emulsões (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Os polissacarídeos apresentam propriedades de modificar a reologia do meio aquoso no qual estão inseridos, com isso, a caracterização reológica é essencial para avaliar as diferentes aplicações de um polissacarídeo em sua forma natural ou modificado (LEFEBVRE e DOUBLIER, 2004; KLAIC, 2011; GARCÍA-OCHOA et al., 2000). A viscosidade da solução de xantana é influenciada pela temperatura de medição e dissolução. De acordo com Diaz, (2002), viscosidades mais altas podem ser alcançadas usando aquecimento de 60°C para solubilização de amostras de xantana durante a preparação das soluções (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

O aumento na concentração do polímero interfere na viscosidade, pois ocorrem interações intermoleculares que afetam a dimensão da macromolécula. O meio de produção, as condições operacionais, o microrganismo e as modificações químicas, desacetilação e reticulação, afetam diretamente as propriedades reológicas (BORGES et al., 2008; CASAS et al., 2000; KLAIC, 2016; MOREIRA, 2002).

2.1.3 Aplicações da goma xantana

A goma xantana tem sido largamente aplicada industrialmente, pois é um espessante eficiente, apresentando altas taxas de viscosidade em concentrações muito baixas, em solução aquosa apresenta comportamento pseudoplástico que auxilia na mistura, bombeamento, enchimento e vazão; possui alta estabilidade em uma ampla faixa de pH, temperatura e força iônica; é estável sob cisalhamento durante o processamento e embalagem (PETRI, 2015).

No âmbito do mercado mundial, a goma xantana, destaca-se pela relevância na aplicação em 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 bilhões ao final do período (SAHU, 2017).

O Brasil, segundo dados do Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior (COMEX STAT, 2018), importou 2.200 toneladas de goma xantana em 2017,

cerca de US\$ 13 milhões, atingindo US\$ 14 milhões até o mês agosto de 2018. Atualmente, quase toda a xantana consumida no país, é produzida pela China, França, Áustria e Estados Unidos.

A sacarose e o etanol são os principais reagentes para produção e recuperação do biopolímero respectivamente. No Brasil sua produção é favorável, por ser um dos países com maior produção de cana-de-açúcar e sua matéria prima ser transformada em açúcar e álcool. Entretanto, no Brasil não há produção de xantana em escala industrial (PREICHARDT e KLAIC, 2016). Algumas das aplicações encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Aplicações da goma xantana.

APLICAÇÃO EM ALIMENTOS	USO EM %	FUNÇÃO
Molhos de Salada	0,1-0,5	proporciona fácil fluidez e boa aderência; suspende especiarias
Bebidas	0,05-0,2	suspende a polpa da fruta
Laticínios	0,05-0,2	inibe sinérese; estabiliza emulsões
Coberturas	0,05-0,3	estabiliza espumas e emulsões
APLICAÇÕES DE CUIDADOS PESSOAIS	USO EM %	FUNÇÃO
Pasta de dentes	0,7-1,0	proporciona fácil bombeamento
Cremes e loções	0,2-0,5	estabiliza emulsões; dá consistência cremosa
Shampoo	0,2-0,5	controla reologia; suspende insolúveis
APLICAÇÕES INDUSTRIAIS	USO EM %	FUNÇÃO
Produtos de limpeza	0,2-0,7	proporciona boa estabilidade de pH; estende o tempo de contato
Tintas à base de água	0,1-0,3	controle reológico; estabiliza pigmentos
Indústria de papel	0,1-0,2	atua como auxiliar de suspensão e controle reológico,
Exploração de petróleo	0,1-0,4	ontrole reológico; fornece boa estabilidade contra sal
FARMACÊUTICA	USO EM %	FUNÇÃO
Suspensões e Emulsões	0,1-0,5	proporciona excelente estabilidade e bom fluxo
Comprimidos	1,0-3,0	retarda liberação de drogas
Pastilhas	0,3-1,0	prolonga o tempo de contato de ingredientes ativos

Fonte: JUNGBUNZLAUER (2019)

2.2 Modificação química

A produção de xantanas com propriedades específicas e diversificadas pode ser realizada através de modificações no processo de obtenção do polímero, como na utilização de diversos meios, condições operacionais, seleções de cepas, modificações na estrutura da molécula, modificação genética e na composição química, podendo ser realizado no produto depois de elaborado ou durante o processo de fermentação do polímero (BORN et al., 2002; PINTO, 2005; KLAIC, 2016). A utilização de diferentes nutrientes limitantes no crescimento bacteriano, produz xantana com teores de acetil e piruvato diversificados (DAVIDSON, 1978).

A instabilidade das linhagens de *Xanthomonas* podem resultar em uma variação de massa molar do polímero, e do grau de piruvatação e acetilação, que dificultam o processo de produção de xantana (PRADELLA, 2006). O controle do conteúdo de acetil e piruvato da xantana, por métodos químicos, como a hidrólise ácida e alcalina são métodos eficazes na preparação de polímeros com diferentes composições desses substituintes (BRADSHAW et al., 1983).

A eliminação dos grupos acetil e piruvato pode ser realizada através de reações químicas (PINTO, 2005). O grupo acetil é retirado da molécula de xantana através de diferentes métodos com a utilização de meio básico (JEANES e SLONEKER, 1961). O grupo piruvato pode ser removido submetendo o biopolímero a um meio ácido, podendo utilizar o ácido oxálico (CALLET et al., 1987) ou ácido trifluoroacético (BRADSHAW et al., 1983), em temperaturas elevadas (100 °C).

Outra modificação eficaz na molécula de xantana é a reticulação, capaz de formar géis físicos e químicos da goma xantana e interações com outras gomas (TAKO e NAKAMURA, 1985). A reticulação em polissacarídeos promove alterações nas propriedades de intumescimento para preparar hidrogéis (LINDBLAND e ALBERTSSON, 2004; CURY et al., 2009). Diversos agentes reticulantes são utilizados para formar hidrogéis e tornar o polímero com diferentes propriedades de absorção de água influenciando a solubilidade (HAMCERENCU et al., 2007; RUVALCABA et al., 2007).

2.2.1 Desacetilação

A reação de desacetilação consiste na modificação química da molécula de

xantana na qual os ligantes acetilas são quantitativamente substituídos da cadeia lateral com base diluída (JEANES e SLONEKER, 1961). Através da hidrólise alcalina, onde o grupo éster que está ligado à α -D-manose da cadeia lateral da xantana é deslocado pelo álcali havendo formação de sal e álcool (MORRISON, 1996), conforme mostra a Figura 7.

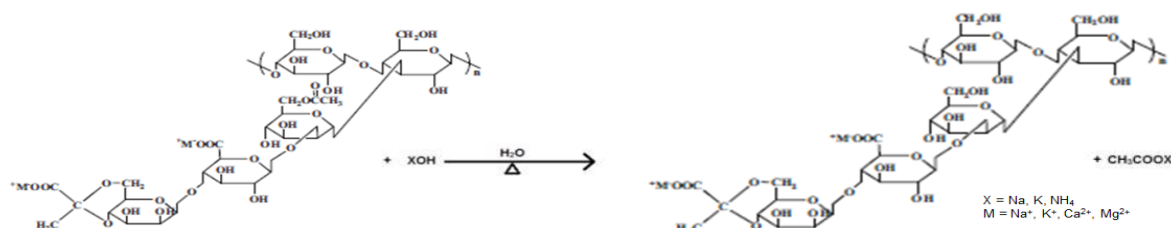


Figura 7. Esquema representativo da reação de desacetilação, adaptado de Klaic (2016).

Jeanes e Sloneker (1961), relataram o processo de desacetilação para obtenção de uma nova substância desacetilada derivada do polissacarídeo microbiano nativo produzido por fermentação aeróbica pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv *campestris* NRRL B-1459, resultando em uma redução do teor de acetila de 4,7 para 0,3%, obtendo cerca de 93,6% de remoção dos grupos acetil.

Diversos trabalhos são reportados na literatura, com diferentes métodos e bases utilizadas. Jeanes e Sloneker (1961) utilizaram uma concentração de 0,5% de polímero, 1% de KCl e 0,05 mol L⁻¹ de KOH a 25 °C durante 2h. Tako e Nakamura (1984) prepararam uma solução aquosa a 0,2% de xantana purificada, 0,01 mol L⁻¹ KOH, 1 % KCl à temperatura ambiente. Callet et al., (1987) prepararam uma solução aquosa de xantana nativa (1 g L⁻¹), 0,06 mol L⁻¹ de NaOH a 56 °C durante 24h sob agitação. Shatwell e Sutherland (1991) preparam uma solução a 0,25% do polímero purificado com 0,1 mol L⁻¹ de NH₄OH a 60 °C durante 1h. obtiveram uma remoção de 70% dos grupos acetil. Pinto (2005), trabalhou com duas concentrações de xantana (0,5 e 1%), três concentrações de álcali (0,0025; 0,005 e 0,01 mol L⁻¹), sendo utilizados hidróxido de amônio, hidróxido de sódio e hidróxido de potássio, a 45 °C por 3h sob agitação. O emprego de hidróxido de amônio na reação de desacetilação proporcionou uma melhoria de 24% na viscosidade da xantana, no entanto, a remoção de grupos acetil é mais eficiente com a utilização de hidróxido de sódio obtendo-se uma redução de 81% destes grupos (PINTO, 2005).

Klaic, (2016) avaliou a influência do tipo de base, da temperatura e do tempo,

utilizando uma concentração de base fixada em $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, bases utilizadas NaOH e NH_4OH , temperaturas de 45°C e 65°C e tempos 3 e 6 horas para proceder as reações de hidrólise alcalina no polímero. Afirmou que a condição de 3h de reação com NaOH a 45°C foi selecionada como a condição ótima de desacetilação. Esta condição emprega o menor tempo e a menor temperatura em estudo, gerando maior economia de energia e proporcionando maior rapidez ao processo (Klaic, 2016). Pinto et al., (2011) afirmam que a utilização do hidróxido de sódio na retirada de acetil da cadeia da xantana é vantajoso pois proporciona um baixo custo para ser aplicado na indústria, e quando comparado com outras bases, apresenta uma capacidade maior de remoção dos grupos acetil.

A desacetilação influencia as propriedades reológicas da xantana e possibilita modificações posteriores e interações com outras gomas (KLAIC, 2016; SHATWELL e SUTHERLAND, 1991). Segundo Tako e Nakamura (1984) a xantana desacetilada possui uma maior associação intermolecular do que a xantana nativa em altas concentrações, além disso as cadeias laterais da xantana tornam-se mais flexíveis após a desacetilação, devido ao conteúdo de acetila contribuir para a associação intramolecular com a cadeia principal da molécula de xantana. Por outro lado, o aumento da concentração aumenta a associação intermolecular das cadeias laterais, possibilitando a associação com outras gomas, como a galactomananas (TAKO e NAKAMURA, 1985).

Segundo Renou et al., (2013), o impacto do conteúdo de acetil e piruvato na interação com outras gomas está relacionado à sua respectiva influência na estabilidade da xantana, ou seja, a redução do conteúdo de acetil promove a redução da estabilidade da hélice e, assim, uma quantidade maior de segmentos desordenados se tornam disponíveis a interagir com outras gomas.

2.2.2 Reticulação

A reticulação de polímeros é um processo que ocorre quando cadeias poliméricas lineares ou ramificadas são interligadas. Esse processo também é conhecido como *crosslinking* ou ligação cruzada, ou seja, ligações entre moléculas lineares produzindo polímeros tridimensionais com alta massa molar. A utilidade dos polímeros de carboidratos solúveis em água, depende das suas propriedades funcionais: capacidade de modificar as propriedades dos ambientes aquosos que é a

possibilidade de espessar, emulsionar, estabilizar, flocular, inchar e suspender ou formar géis, filmes e membranas (HAMCERENCU et al., 2007). Um possível mecanismo de reticulação utilizando o agente glutaraldeído que está representado na Figura 8.

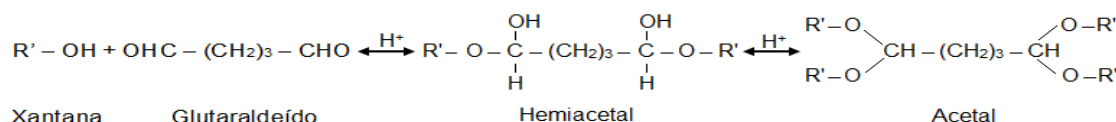


Figura 8. Esquema representativo da reação de reticulação com glutaraldeído (KLAIC, 2016).

A goma xantana é capaz de formar géis físicos e químicos. Géis físicos são formados por soluções concentradas de polissacarídeos, por aquecimento ou diluição, são facilmente solubilizados em solução aquosa, são instáveis e reversíveis (HAMCERENCU et al., 2007). Segundo Ruvalcaba et al., (2007) a goma xantana não forma um gel rígido por si só, mas produz um gel físico termorreversível quando misturado com goma de alfarroba, goma de tara e quitosana.

Géis químicos são formados através da utilização de agentes reticulantes para formar uma rede tridimensional de material capaz de absorver água, mas ainda assim permanecer insolúvel (HAMCERENCU et al., 2007; RUVALCABA et al., 2007).

Xantana e quitosana são polímeros com grupos potencialmente ionizáveis. Ruvalcaba et al., (2007), estudaram a preparação de géis de quitosana reticulada não covalente e xantana, e afirmaram que quando dois polieletrólitos de carga oposta são misturados em uma solução aquosa, um complexo polieletrólítico é formado por atração eletrostática, e são altamente hidrofílicos e formam sistemas altamente inchados na água.

Diversos agentes reticulantes de polissacarídeos são reportados na literatura. Reticulação de xantana com a di-hidrazida de ácido adípico (ADH), solúvel em água e substância não tóxica (BEJENARIU et al., 2008), trimetafosfato de sódio (TMFS) (BEJENARIU et al., 2009). Alupeu et al., (2002), utilizaram epicloridrina, como agente de reticulação, em condições alcalinas, em uma mistura de xantana e poli (álcool vinílico), produzindo hidrogéis superabsorventes, com alto grau de intumescimento em meio aquoso. Kang et al., (2019), realizou a caracterização de hidrogel à base de goma xantana com coordenação de íons de ferro trivalente e sua conversão reversível de sol-gel.

Hamcerencu et al., (2007), apresentaram a caracterização e a preparação de novos macromônmeros reativos à base de xantana através da esterificação com um ácido orgânico insaturado (ácido acrílico) ou com derivados ácidos insaturados (cloreto de acrilóila, anidrido maleico) sob condições homogêneas e heterogêneas. Estudou a influência dos parâmetros de reação como temperatura, duração, razão molar e natureza química do agente de esterificação, no grau de substituição. Concluindo que o aumento da temperatura e duração da reação leva a um aumento do grau de substituição (HAMCERENCU et al., 2007). Ruvalcaba et al., (2007), estudou as propriedades viscoelásticas de hidrogéis formados pela complexação de dois polieletrólitos naturais, quitosana e xantana, utilizando glutaraldeído e glicolal como agentes reticulantes de quitosana.

Tako e Nakamura (1985) estudaram a interação sinérgica entre a goma xantana e a goma guar, observaram uma interação mais forte quando utilizaram a xantana desacetilada do que xantana nativa, indicando que as moléculas de xantana se tornaram mais flexíveis e poderiam se associar com as moléculas de goma guar mais facilmente, provavelmente porque estavam livres da associação intramolecular à qual os resíduos acetilados contribuem.

Gliko-Kabir et al., (1999), realizaram a reticulação da goma guar com diferentes quantidades de glutaraldeído, e analisou-se as propriedades térmicas do produto reticulado. Novas ligações covalentes são introduzidas no polissacarídeo ao reticular, e o glutaraldeído parte dos grupos hidroxila da goma. Os autores afirmaram que a reticulação alterou a estrutura da goma guar, e a quantidade de glutaraldeído utilizado no processo de reticulação influencia a estabilidade térmica da goma guar e o local de reação (inter ou intra-reticulação). Concluíram também que a reticulação resultou na formação de novas regiões no polissacarídeo caracterizadas por estruturas modificadas, cuja abundância e densidade foram dependentes da concentração do reticulante. (GLIKO-KABIR et al., 1999; LINDBLAND e ALBERTSSON, 2004). Zhou et al., (2014), prepararam nanopartículas magnéticas de quitosana reticuladas com glutaraldeído que apresentaram baixa citotoxicidade e um favorável desempenho na adsorção de corantes.

A reticulação com glutaraldeído tem provado diminuir as propriedades de intumescimento do polímero. Gliko-Kabir et al., (1998) produziram reticulação com glutaraldeído e a goma guar, e reduziram as propriedades de intumescimento a fim de evitar o vazamento de fármaco aprisionado após a ingestão oral. Poon et al., (2014)

realizaram a reticulação da quitosana com glutaraldeído e relacionaram o aumento na taxa de reticulação com o aumento na capacidade de sorção até uma proporção ótima de glutaraldeído com o polímero. Entretanto, valores acima da condição ótima de glutaraldeído resultará em uma atenuação na capacidade de sorção, devido a mudanças na superfície química e na acessibilidade dos locais de sorção.

Sukriti et al., (2017) estudaram hidrogel biodegradável à base de enxerto de goma xantana co-polimerizada com ácido poliacrílico foi fabricado por polimerização via radical livre na presença de radiações de microondas e sua potencial utilidade como agente bactericida juntamente com o dispositivo de liberação agroquímica controlada. A Figura 9 representa a interação da goma xantana enxertada com cadeias poliméricas de ácido poliacrílico transformada em redes reticuladas pelo agente reticulante glutaraldeído, conferindo estabilidade estrutural para a molécula.

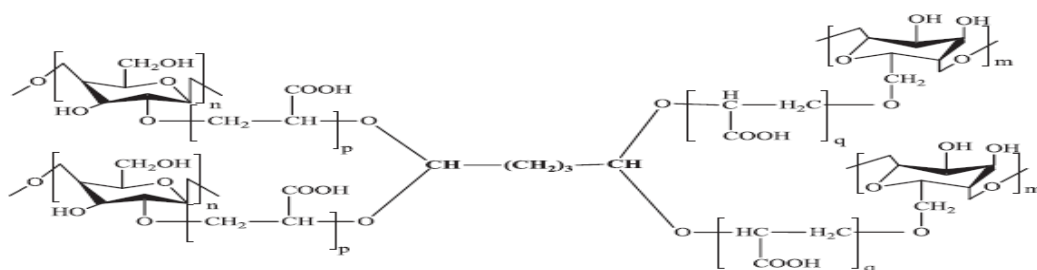


Figura 9. Esquema representativo do enxerto de xantana copolimerizado com ácido poliacrílico reticulado com glutaraldeído. Adaptado Sukriti et al., (2017).

Foi estudado a influência da reticulação, no grau de inchamento da matriz polimérica, para alguns parâmetros como temperatura, tempo, pH das análises e diferentes concentrações de sais e força iônica. Afirmando que o inchamento do hidrogel de xantana copolimerizada com ácido poliacrílico e reticulada com glutaraldeído aumenta com o decorrer do tempo, temperatura e pH (SUKRITI et al., 2017).

Zhão et al., (2016), estudaram o efeito de cátions Na^+ , K^+ , Ca^{+2} e Mg^{+2} em concentrações variadas, nas propriedades reológicas de solução de xantana reticulada com poliacrilamida. Relatam a interação da poliacrilamida com goma xantana, podendo existir ligações de hidrogênio e grupos hidrofóbicos no polieletrólito, essa reação dipolo-dipolo induzirá associação de cadeias moleculares. Quando a goma xantana interage com outros polímeros, as ligações de hidrogênio podem interagir com a eletricidade estática.

3 HIPÓTESE E OBJETIVOS

3.1 Hipótese

As modificações químicas por desacetilação e reticulação alteram as propriedades da xantana durante o período de armazenamento de 9 meses nas temperaturas de 25 °C e 45 °C.

3.2 Objetivo geral

Analisar as propriedades da xantana sintetizada por *Xanthomonas arborícola* pv pruni cepa 106 modificada por desacetilação e reticulação durante um período de 9 meses armazenamento nas temperaturas de 25 °C e 45 °C.

3.3 Objetivos específicos

- Produzir a xantana sintetizada por *Xanthomonas arborícola* pv pruni cepa 106 em biorreator de bancada;
- Realizar a modificação química das xantanas pruni cepa 106 e comercial por desacetilação;
- Realizar a modificação química das xantanas pruni cepa 106 e comercial por reticulação;
- Analisar as propriedades das xantanas modificadas quimicamente em comparação a xantana não modificada, utilizando a xantana sintetizada por *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa 106 e a xantana comercial, durante o armazenamento nas temperaturas de 25 °C e 45 °C.

4. CAPÍTULO

4.1 Artigo 1

Caracterização durante o tempo de armazenamento da xantana sintetizada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* modificada quimicamente por desacetilação e reticulação

[Será submetido à revista Polímeros]

Bruna de Oliveira Molon¹, Bianca de Oliveira Molon², Janaina Oliveira Gonçalves³,
Patrícia Diaz de Oliveira^{1,2}

¹ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

³ Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil.

* Corresponding author: **Patrícia Diaz de Oliveira** - Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/n, Pelotas, RS, Brazil, Cep: 96010-900. RS, Brazil; Phone number: +555332757350; E-mail: bilicadiaz@yahoo.com.br

RESUMO

A goma xantana é um exopolissacarídeo microbiano produzido por bactérias do gênero *Xanthomonas*. A xantana é amplamente utilizada na indústria de alimentos, farmacêutica e petrolífera. Suas propriedades são afetadas por sua composição química, estrutura e massa molecular. Neste trabalho foram produzidas xantanas a partir do processo fermentativo de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* cepa 106 e xantana comercial Jungbunzlauer® foi utilizada como controle. A partir destas foram realizadas as modificações químicas pós-fermentativa, desacetilação e reticulação, e foi avaliado o comportamento durante o armazenamento sob diferentes condições de temperatura (25 °C e 45 °C). As gomas foram caracterizadas em relação ao rendimento do processo, teor de umidade, teor de sais, morfologia (imagens de MEV) e por fim, caracterização dos grupos funcionais a partir do FTIR. Após, foram avaliados ao longo do armazenamento o teor de acetil e piruvato, o grau de intumescimento e as propriedades reológicas das gomas. Através dessas análises pode-se afirmar que as modificações químicas de desacetilação e reticulação promoveram mudanças nas propriedades da goma, alterando a composição química da xantana, comprovada pela análise de FTIR e pelo grau de desacetilação determinados neste estudo. Além disso, a reticulação promoveu características diferentes em relação as xantanas estudadas, sendo relatadas nas análises reológicas e no grau de intumescimento do polímero.

PALAVRAS-CHAVE: Xantana, Desacetilação, Reticulação, Reologia, Temperatura.

1. INTRODUÇÃO

A goma xantana é um polissacarídeo extracelular microbiano que é secretado pela bactéria *Xanthomonas*, durante o processo fermentativo. A goma é amplamente utilizada em diferentes áreas pois apresenta inúmeras vantagens sobre outros polissacarídeos, um polímero biodegradável e solúvel em água, possui alto peso molecular, sendo composto por propriedades reológicas peculiares, ao exibir alto fluxo pseudoplástico mesmo em baixas concentrações (GARCIA-OCHOA et al., 2000; JAMPALA et al., 2005; KENNEDY et al., 2015).

A xantana é um polímero complexo que consiste em unidades pentassacarídicas repetitivas formadas por uma cadeia principal de glicose, cada unidade alternativa da glicose tem uma cadeia lateral, constituída de uma unidade de ácido glicurônico ligado a duas unidades de manose (GARCIA-OCHOA et al., 2000; ABBASZADEH et al., 2015).

A cadeia lateral apresenta variação na quantidade e na posição dos seus substituintes, conferindo certa irregularidade a estrutura da molécula da xantana. A manose interna ligada a cadeia principal da xantana é substituída estequiometricamente por um grupo acetila, enquanto a manose terminal contém resíduos de piruvato (GARCIA-OCHOA et al., 2000; MORRIS, 2019). Kool et al., (2013) verificaram a presença de substituintes acetato na manose externa. O grau de substituição de acetila e piruvato depende das condições de fermentação e da espécie da bactéria, patovar ou cepa (BORN et al., 2002; KOOL et al., 2013; SHATWELL et al., 1990).

A alta aplicabilidade da goma xantana está relacionada com capacidade de promover alta viscosidade em baixa concentração de polímero em um ambiente aquoso (KOOL et al., 2013; VIEBKE, 2004). As propriedades das xantanas são determinadas por sua composição química, tipo de ligação, massa molecular, meio de produção, cepa bacteriana, condições operacionais como a temperatura, pH e tempo de fermentação (CASAS et al., 2000; GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Além de modificações no processo fermentativo, para produzir polímeros com propriedades específicas e desejáveis, um mecanismo bastante utilizado é a modificação química pós-fermentativa, quantitativa ou qualitativa, realizada durante o processo de recuperação ou no produto depois de elaborado. Com finalidade de formar gomas com características diferenciadas, alterando a composição química e

parâmetros reológicos (PINTO, 2005; BORN et al., 2002; KLAIC, 2016).

Dentre as diversas modificações químicas pós-fermentativas que podem ser realizadas na goma xantana, a desacetilação termoquímica e a reticulação ou *crosslinking*, vem sendo bastante estudada. A desacetilação, consiste na remoção dos grupos acetil, normalmente por processo térmico em base diluída, podendo modificar a viscosidade das soluções aquosas de xantana e incrementar as forças de interações da goma xantana com outras gomas, tornando a molécula mais flexíveis (JEANES; SLONEKER, 1961; JIN et al., 2015; KOOL et al., 2014; PINTO et al., 2011 TAKO e NAKAMURA, 1985; TAKO e NAKAMURA, 1986).

A reticulação ou *crosslinking*, que é a interligação ou entrecruzamento de cadeias poliméricas, o qual proporciona alterações na capacidade de intumescimento do polissacarídeo e possibilita a formação de hidrogéis químicos, que podem alterar a solubilidade da goma (BUENO et al., 2013; CURY et al., 2009; HAMCERENCU et al., 2007; JEONG et al., 2018; LINDBLAND & ALBERTSSON, 2004; RUVALCABA et al., 2007)

Este trabalho tem como objetivo estudar o comportamento das xantanas naturais e modificadas quimicamente por desacetilação e reticulação, além de verificar o comportamento de armazenamento da goma xantana em duas condições de temperatura, ao longo dos meses de estocagem. Além disso, avaliar suas características quanto a composição química referente aos seus substituintes acetil e piruvato, propriedades reológicas, grau de intumescimento, com o intuito de verificar fatores que possam afetar diretamente a solubilidade do biopolímero.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Xantanas

Foi utilizada neste estudo a xantana sintetizada pela cepa 106 da bactéria *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*, isolada pelo Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado (CPACT- Embrapa, Pelotas - Brasil) e mantida por liofilização no Laboratório de Tecnologia de Bioprocessos, do Núcleo de Biotecnologia, do Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec), da Universidade Federal de Pelotas (UFPeI).

A xantana pruni cepa 106 foi produzida em biorreator de bancada (BioStat, B Braun Biotech International®) utilizando jarro de 14 L com 7 L de meio de cultura. O preparo do inóculo foi realizado em meio 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). Para a produção da xantana foi utilizado meio de cultura composto por (g L^{-1}): 50,0 sacarose; 1,5 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; 2,5 K_2HPO_4 ; 5,0 KH_2PO_4 ; 2,0 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,3 MgSO_4 ; 2,0 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$; 0,006 H_3BO_3 ; 0,0024 FeCl_3 ; 0,002 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,012 ZnSO_4 (SOUW & DEMAIN, 1979; CADMUS et al., 1978 modificado por VENDRUSCOLO et al., 2000). O pH inicial foi ajustado para 7 e controlado pela adição de NaOH 2 mol L^{-1} . A fermentação foi realizada a 28 °C, agitação de 500 rpm, aeração de 1 vvm por 66h.

A recuperação da xantana foi realizada por precipitação em etanol 96% (razão etanol:caldo de 4:1 (v v^{-1})), após a esterilização do caldo fermentado a 121 °C por 15min. A xantana recuperada foi seca em estufa (FANEM LTDA) a 56 °C, após foi triturada em moinho de bolas com câmara fechada (Marconi MA350) e peneirada a granulometria abaixo de 106 μm . A Figura 1 apresenta o esquema da produção da xantana pruni.

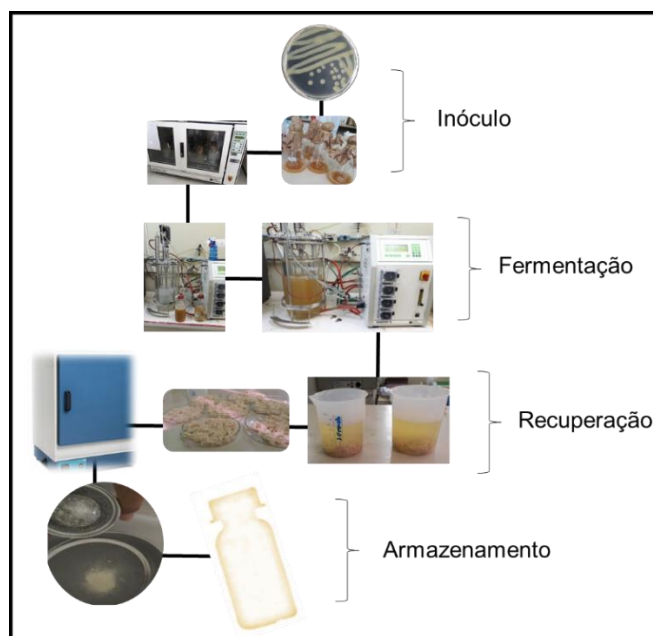


Figura 1. Esquema da produção da xantana pruni. Fonte: A autora.

Para a obtenção da totalidade da quantidade de xantana necessária para o experimento foram realizadas 4 fermentações. Para verificar a reprodutibilidade do processo, foram avaliadas as produtividades através de método gravimétrico, obtendo

os resultados em grama de xantana por litro de caldo fermentado (g L^{-1}).

Para comparação dos resultados, foi utilizada a xantana comercial Jungbunzlauer® (Suíça) cedida pela empresa Biopolix Materiais Tecnológicos Ltda. (Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil).

2.2 Modificação química por desacetilação

A desacetilação das xantanas pruni e comercial foi realizada de acordo com Klaic et al., (2016). As amostras das xantanas foram hidratadas em solução de água ultra pura na concentração de 0,5% (p v^{-1}) e submetidas a agitação em incubador orbital a 25 °C, 250 rpm por 24 horas. Após, foi adicionado 150 mL de NaOH (0,02 M), e novamente incubados a temperatura de 45 °C, a 250 rpm por 3 horas. Transcorrido o período de reação, neutralizou-se as soluções com HCl 2 mol L^{-1} . Logo após, as xantanas desacetiladas foram recuperadas de acordo com a metodologia descrita no item 2.1.

2.3 Modificação química por reticulação

A reticulação das xantanas foi realizada partindo das amostras desacetiladas, seguindo a metodologia descrita por Klaic et al. (2016). As amostras das xantanas foram hidratadas em solução de água ultra pura na concentração de 0,5% (p v^{-1}) e submetidas a agitação em incubador orbital a 25 °C, 250 rpm por 24 horas. Após, foi adicionado o agente reticulante glutaraldeído 50% (Vetec®) o qual foi solubilizado em água ultra pura na concentração de 1% da solução preparada (v/v). As reações foram conduzidas em agitador incubador orbital a 45 °C, 200 rpm, por 2 horas. Logo após, as xantanas reticuladas foram recuperadas de acordo com a metodologia descrita no item 2.1.

2.4 Rendimento das xantanas modificadas quimicamente

O rendimento da produção das xantanas no processo fermentativo e após as modificações químicas por desacetilação e reticulação foi calculado de acordo com a equação 1, descrita por Bejenariu et al., (2009),

$$R(\%) = \left(\frac{m_f}{m_i}\right) \times 100 \quad (1)$$

onde R(%) é o rendimento da reação, m_f é a quantidade de xantana seca após a precipitação da xantana modificada e m_i a quantidade de xantana introduzida inicialmente.

2.5 Processo de armazenamento da xantana

As amostras das xantanas pruni e comercial (naturais, desacetiladas e reticuladas) foram armazenadas nas temperaturas de 25 °C e 45 °C em estufa (Fanem Modelo 002 CB), simulando locais com diferentes temperaturas de estocagem, colocando-se 10 g de cada amostra em tubos cônicos fechados, as quais permaneceram por 9 meses, sendo amostras retiradas para análise a cada 3 meses, as quais serão denominadas de: T0 - tempo inicial de armazenamento; T1 - após 3 meses de armazenamento; T2 - após 6 meses de armazenamento e T3 - após 9 meses de armazenamento.

2.6 Teor de umidade

A análise do teor de umidade das xantanas naturais e modificadas quimicamente foi realizada por gravimetria. Foram pesadas 0,5 g das amostras das xantanas, adicionadas em cápsulas de metal, previamente taradas. Foram secas em estufa (Nova Instruments NI 1514-DCR) a 105 °C até peso constante. Transcorrido o tempo, as cápsulas foram levadas ao dessecador contendo sílica gel por 15min, em seguida as amostras foram pesadas em balança analítica (Marte AY220), segundo o método Instituto Adolfo Lutz (2004).

2.7 Análise de sais da xantana – teores de sódio, cálcio, potássio e magnésio

As amostras de xantana foram preparadas em triplicata através da dissolução de 50 mg de pó em 20 mL de água ultrapura, utilizando agitador magnético. As amostras dissolvidas foram colocadas em tubos cônicos e encaminhadas para a

análise.

A determinação dos teores de sais das amostras de xantana naturais, desacetiladas e reticuladas, foram realizadas em Espectrômetro de Absorção Atômica de Fonte Contínua com Alta Resolução (ContrAA 700, Analytik Jena, Alemanha) no Laboratório de Química Analítica III – Laboratório de Eletro Espectro Analítica (LEEA), da Escola de Química e Alimentos, da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

Foram realizadas curvas de calibração do equipamento utilizando diluições adequadas para cada mineral em estudo, e seu comprimento de onda varia para cada sal, Na 590 nm, K é 766 nm, Ca 422 nm e Mg 285 nm.

2.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As características superficiais do pó das gomas foram verificadas a partir da análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando um microscópio eletrônico de varredura (Jeol, JSM 6610LV, Japão). A superfície da amostra foi recoberta com ouro, a aceleração de voltagem utilizada foi de 15,0 kV, com faixa de magnificação das imagens variando entre 2000 e 3000 vezes. As análises foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica do Sul (CEME-SUL) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

2.9 Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

A determinação dos grupos funcionais das moléculas de xantana natural e modificadas quimicamente foi avaliada a partir da determinação de espectroscopia na região do infravermelho ($500\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) usando a técnica de refletância atenuada total. A espectroscopia de infravermelho é baseada em uma radiação infravermelha que incide através da amostra, onde uma parte é absorvida pela amostra e a outra é transmitida. O espectro resultante representa a absorção e transmissão molecular, criando uma simulação das digitais do polímero.

Para a realização da análise foi adicionado aproximadamente 2 mg de amostra em um cadinho e adicionado 200 mg de brometo de potássio de grau espectroscópico, foram triturados e conduziu-se as análises em espectrômetro (Modelo IR Prestige 21, 210045, Japão).

2.10 Teor de acetil

O teor de acetila das xantanas naturais, modificadas quimicamente por desacetilação, armazenadas a temperatura 25 °C e 45 °C, foram determinadas usando o método colorimétrico do ácido hidroxâmico segundo McComb e McCready (1957). Inicialmente preparou-se a curva padrão de calibração a partir de uma solução padrão a 0,1089 g de β -D-glicose pentacetato, dissolveu-se o padrão em 5 mL de álcool etílico P.A., em seguida realizou-se aquecimento brando da solução em banho-maria a 30 °C. Logo após a dissolução completa da solução, transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL completando o volume com água ultrapura.

A partir da solução padrão foram preparadas soluções com concentrações de acetil variando-se de 0 a 420 μ g, em balão volumétrico de 50 mL. Retirou-se 5 mL de cada solução e transferiu-se para balão volumétrico de 25 mL, adicionou-se 1 mL de cloridrato de hidroxilamina 3,75% (p v⁻¹), 1 mL de hidróxido de sódio 9,4% (p v⁻¹) e 5 mL de solução metanólica ácida, preparada com ácido perclórico 70% em metanol P.A., finalmente completou-se o volume com solução de perclorato férrico.

Para construção da curva de calibração realizou-se a leitura da absorbância das soluções em espectrofotômetro (Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech®), no comprimento de onda de 520 nm, realizado em triplicatas.

Para o preparo das amostras de xantana pesou-se 0,1 g de biopolímero, dissolveu-se em 25 mL de cloridrato de hidroxilamina 3,75% (p v⁻¹), agitou-se por 15min até dissolução completa da amostra; em seguida adicionou-se 25 mL de hidróxido de sódio 9,4% (p v⁻¹), mantendo-se a agitação por mais 2h para que ocorresse a transformação completa do acetil em ácido hidroxâmico.

Dessa solução retirou-se 2 mL e transferiu-se para balão volumétrico de 25 mL, ao qual adicionou-se 5 mL de solução metanólica ácida e 5 mL de água destilada e completou-se o volume com solução de perclorato férrico. Logo após, as amostras foram filtradas para retirar algum polímero que tenha precipitado.

Nessa etapa ocorreu a transformação do ácido hidroxâmico em ácido acetohidroxâmico férrico, cuja intensidade da cor é proporcional ao teor de acetila na amostra. Em seguida realizou-se a leitura em triplicata da absorbância em espectrofotômetro nas mesmas condições da curva de calibração. As reações colorimétricas, bem como as leituras das absorbâncias, foram realizadas em triplicata.

2.11 Teor de piruvato

O teor de piruvato das xantanas naturais e modificadas quimicamente por desacetilação, armazenadas a temperatura 25 °C e 45 °C, foram determinados pelo método colorimétrico da 2,4-dinitrofenilhidrazina, segundo Sloneker & Orentas (1962). Preparou-se uma curva de calibração com soluções de concentrações variando de zero a 0,22 mg de piruvato a partir de uma solução padrão de piruvato de sódio 1% (p/v). De cada solução retirou-se alíquotas de 2 mL e foi transferida para um funil de decantação, ao qual acrescentou-se 1 mL de solução de dinitrofenilhidrazina 0,5% (p/v), preparada em HCl 2 mol L⁻¹. Transcorridos 5 minutos, adicionou-se 5 mL de acetato de etila, a mistura foi agitada e desprezou-se a fase aquosa inferior. Em seguida, foi adicionado 10 mL de solução de carbonato de sódio 10% (p/v), agitou-se e recolheu a fase inferior num béquer identificado, posteriormente, duas alíquotas de 5 mL de solução de carbonato de sódio 10% (p/v) foi adicionada, coletando-se o extrato da fase inferior para cada alíquota adicionada. Em seguida, a fase recolhida foi transferida para balões volumétricos de 25 mL e o volume completado com solução de carbonato de sódio 10% (p/v). Para construção da curva de calibração realizou-se a leitura da absorbância das soluções em espectrofotômetro (Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech®), no comprimento de onda de 375 nm.

Para determinação do teor de piruvato das xantanas pruni e comercial preparou-se uma solução a 0,4% e 0,1% (p v⁻¹) de polímero em HCl 2 mol L⁻¹ respectivamente, e submeteu-se as soluções à hidrólise em banho-maria por 16h a 80 °C. Após esse período realizou-se a filtração das amostras, e retirou-se alíquotas de 2 mL de cada solução e procedeu-se a reação com dinitrofenilhidrazina, conforme descrito anteriormente para curva de calibração. As reações colorimétricas, bem como as leituras das absorbâncias, foram realizadas em triplicata.

2.12 Grau de intumescimento (GI)

A determinação do grau de intumescimento foi realizada para avaliar a capacidade de hidratação dos polímeros naturais, desacetilados, reticulados e armazenados nas diferentes temperaturas e tempos.

Foram preparadas pequenas esferas de xantana, com 0,1 g de pó umedecidas com gotículas de água destilada para moldar as esferas. Em seguida, as esferas foram

secas em estufa a 56 °C até peso constante, logo após foi utilizado uma balança analítica (Denver Instrument APX-200) para verificar o peso inicial das esferas. Para a montagem experimental foram separados béqueres contendo 40 mL de água ultrapura a temperatura ambiente e as esferas foram imersas na água, conforme ilustra a Figura 2.



Figura 2. Fotografia do modelo experimental realizado para analisar o teor de intumescimento das amostras de xantana. Fonte: A autora.

As esferas permanecem na água durante o período de intumescimento (inchamento), até o peso constante. Amostras foram retiradas a cada 30min para as xantanas naturais e desacetiladas e a cada 15min para as xantanas reticuladas, as quais foram secas em estufa a 56 °C até peso constante. As modificações na morfologia das esferas foram analisadas através de fotografias (Galaxy J7 Pro). A capacidade de absorção de água ou grau de intumescimento (GI) das amostras de xantana foi calculado através da equação 2,

$$GI (\%) = \left(\frac{mXi - mXs}{mXi} \right) * 100\% \quad (2)$$

onde mXi é a massa do polímero intumescido e mXs é a massa do polímero intumescido seco (GUO et al., 2014; SUKRITI et al., 2017).

2.13 Análises reológicas

Preparou-se soluções de xantana pruni e comercial, naturais e modificadas quimicamente na concentração de 1% (p v⁻¹), através da hidratação do biopolímero em água ultrapura e agitação em agitador magnético em temperatura de 60 °C por 2h. Após, as amostras permaneceram em repouso a 4 °C, overnight. A viscosidade das

soluções aquosas foi medida com a taxa de deformação variando de $0,01 \text{ s}^{-1}$ a 1000 s^{-1} , por 300 s^{-1} a $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Foi utilizado o reômetro (Rheostress, modelo RS150, Haake®, Alemanha) acoplado a um controlador de temperatura (Haake DC 50, Alemanha). A geometria utilizada foi cone e placa (diâmetro 60,0 mm; distância 0,104 mm; ângulo 2°).

2.14 Análise estatística

Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados foram submetidos à análise de variância e comparados através do Teste de Tukey ($p < 0,05$) utilizando o software Statistica 7.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Produção da xantana pruni

A produtividade e as propriedades da produção de goma xantana são influenciadas pela cepa microbiana, pH, temperatura, agitação e aeração (HABIBI e KHOSRAVI-DARANI, 2017). A produtividade de cada batelada do processo fermentativo para obtenção da xantana sintetizada pela bactéria *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa 106 estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Produção da xantana (g L^{-1}) das quatro bateladas do processo fermentativo para obtenção da xantana pruni cepa 106.

Fermentação	Produção (g L^{-1})
1	$11,56^a \pm 0,78$
2	$10,78^a \pm 0,27$
3	$11,22^a \pm 1,73$
4	$10,56^a \pm 0,70$

Valores = médias $\pm$ SD; $n = 3$. Letras diferentes são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Foram realizadas quatro fermentações com as mesmas condições

operacionais, resultando em fermentações com produção média de $11,03 \text{ g L}^{-1}$, não havendo diferença significativa ($p < 0,05$) entre elas. Resultados superiores foram encontrados por Borges et al., (2009) nas mesmas condições operacionais. E por Klaic, (2010), cultivando outra linhagem, cepa 101, encontrou um rendimento de $19,16 \text{ g L}^{-1}$ em pH 7, e valores semelhantes encontrados em pH não controlado $10,39 \text{ g L}^{-1}$ afirmando que o pH neutro melhorou a produção de xantana por *X. arboricola* pv pruni.

As xantanas pruni cepa 106 produzidas nas quatro bateladas apresentaram também viscosidades semelhantes, afirmando a reprodutibilidade do processo de produção. A Figura 3 mostra a viscosidade das soluções aquosas das diferentes bateladas das fermentações das xantanas pruni.

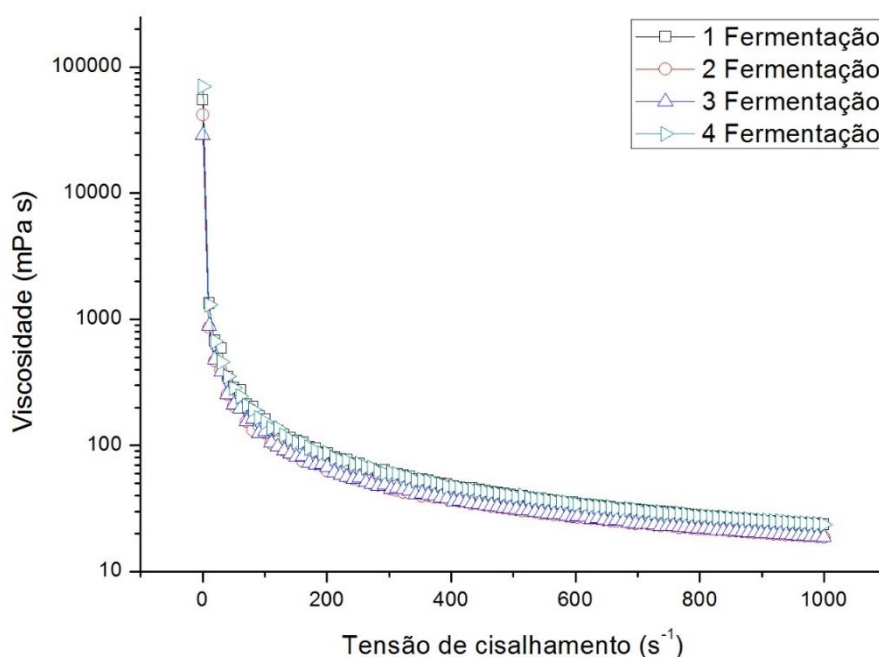


Figura 3. Viscosidade das soluções aquosas a 1% das xantanas obtidas nas diferentes bateladas dos processos de fermentação.

A partir dos resultados semelhantes de rendimento e viscosidade obtidos das quatro bateladas de fermentações realizadas, foi possível fazer a mistura dos pós das xantanas e compor uma única amostra inicial de xantana pruni.

3.2 Rendimento das xantanas modificadas quimicamente

O rendimento global dos processos de modificação química realizados pela xantana pruni e xantana comercial estão demonstrados na Tabela 2.

A partir da Tabela 2, foi possível verificar que o maior rendimento global das modificações químicas foi para a xantana comercial. A desacetilação termoquímica pós-fermentativa realizada na xantana pruni apresentou baixo rendimento (58,7%) quando comparada com Klaic, (2016) que encontrou rendimento de 80,23% para as mesmas condições de modificação e cepa bacteriana utilizada.

Tabela 2. Rendimento (%) global do processo de modificação química por desacetilação e reticulação das xantanas pruni e xantana comercial.

Amostra	Rendimento (%)
Xp desa	58,7 ^c ± 1,82
Xp ret	53,15 ^d ± 1,76
Xc desa	82,73 ^a ± 0,47
Xc ret	67,38 ^b ± 0,39

Valores = médias ± SD; $n = 3$. Letras diferentes são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

*Xp desa - xantana pruni desacetilada, Xp ret - xantana pruni reticulada com glutaraldeído, Xc desa - xantana comercial desacetilada, Xc ret - xantana comercial reticulada com glutaraldeído.

O processo de reticulação realizado nas xantana pruni e comercial, resultaram rendimentos totais de 90,7% e 81,5%, respectivamente, partindo do total de amostra desacetilada. O alto rendimento da síntese de um novo biopolímero é importante, tendo em vista a questão econômica relacionada às perdas que ocorrem durante o processo e futuras aplicações.

3.3 Caracterização das amostras de xantana pruni e comercial

3.3.1 Teor de umidade

O teor de umidade das amostras de xantanas pruni e comercial, naturais e modificadas quimicamente por desacetilação e reticulação foram analisadas no início do armazenamento (T0) para as amostras armazenadas a 25 °C e no final do armazenamento (T3) para as amostras armazenadas a 25 °C e 45 °C, as quais estão descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Umidade relativa das amostras de xantanas.

Xantana	Umidade (%)	
	(T0)	(T3)
Xp nat 25 °C	14,76 ^{A,a} ± 0,16	14,45 ^{A,b} ± 0,18
Xp desa 25 °C	13,23 ^{A,b} ± 0,72	12,21 ^{A,d} ± 0,02
Xp ret 25 °C	11,22 ^{A,c} ± 0,40	11,09 ^{A,e} ± 0,26
Xc nat 25 °C	8,74 ^{B,d} ± 0,63	13,62 ^{A,c} ± 0,21
Xc desa 25 °C	13,50 ^{B,a,b} ± 0,42	16,04 ^{A,a} ± 0,17
Xc ret 25 °C	11,25 ^{B,c} ± 0,26	14,11 ^{A,b} ± 0,09
Xp nat 45 °C	-	4,55 ^h ± 0,07
Xp desa 45 °C	-	3,95 ⁱ ± 0,09
Xp ret 45 °C	-	4,10 ^{h,i} ± 0,12
Xc nat 45 °C	-	6,35 ^f ± 0,05
Xc desa 45 °C	-	6,81 ^f ± 0,25
Xc ret 45 °C	-	5,58 ^g ± 0,07

Valores = médias ± SD; $n = 3$. Coluna com letras minúsculas diferentes apresentam diferença significativa a partir do teste de Tukey ($p < 0,05$). Linha com letras maiúsculas diferentes apresentam diferença significativa a partir do teste de Tukey ($p < 0,05$).

* Xp nat 25 °C - xantana pruni natural armazenada a 25 °C, Xp desa 25 °C - xantana pruni desacetilada armazenada a 25 °C, Xp ret 25 °C - xantana pruni reticulada armazenada a 25 °C, Xc nat 25 °C - xantana comercial natural armazenada a 25 °C, Xc desa 25 °C - xantana comercial desacetilada armazenada a 25 °C, Xc ret 25 °C - xantana comercial reticulada armazenada a 25 °C, Xp nat 45 °C - xantana pruni natural armazenada a 45 °C, Xp desa 45 °C - xantana pruni desacetilada armazenada a 45 °C, Xp ret 45 °C - xantana pruni reticulada armazenada a 45 °C, Xc nat 45 °C - xantana comercial natural armazenada a 45 °C, Xc desa 45 °C - xantana comercial desacetilada armazenada a 45 °C, Xc ret 45 °C - xantana comercial reticulada armazenada a 45 °C. T0 - tempo inicial de armazenamento e T3 - após 9 meses de armazenamento.

O teor de umidade das xantanas comercial (Xc nat 25 °C), (Xc desa 25 °C) e (Xc ret 25 °C) no início do armazenamento (T0) mostraram valores inferiores ao encontrado no final do armazenamento (T3), diferindo significativamente ao nível de

95% de confiança. As xantanas pruni (Xp nat 25 °C), (Xp desa 25 °C) e (Xp ret 25 °C), não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) de teores de umidade no período de armazenamento correspondente ao (T0) e (T3).

O teor de umidade presente nas amostras armazenadas a 45 °C reduziram cerca de 60% de água em relação às amostras armazenadas em temperatura a 25 °C, mostrando uma perda significativa de água nas amostra devido ao aquecimento prolongado na estufa, simulando lugares com temperaturas elevadas de armazenamento de alimentos, polímeros.

O teor de água para as amostras mantidas em temperatura de 25 °C está em conformidade com a literatura, que apresenta em torno de 8 a 15% de água para xantana comercial (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). Capron et al., (1997) encontraram 10% de teor de água em sua amostra de xantana. Jeanes et al., (1961) relataram a umidade da xantana produzida pela *Xanthomonas campestris* de 14%.

3.3.2 Análise de sais da xantana - teores de sódio, cálcio, potássio e magnésio

Na Tabela 4 estão dispostos os resultados da análise de sais presentes nas xantanas naturais e modificadas quimicamente no início do armazenamento (T0).

Tabela 4. Teores de sódio, potássio, cálcio e magnésio (mg g^{-1}) das amostras das xantanas pruni e comercial.

Xantana (T0) 25 °C	Teores (mg g^{-1})			
	Sódio	Potássio	Cálcio	Magnésio
Xp nat	20,2 ^a $\pm$ 1,5	44,2 ^a $\pm$ 1,6	< LD	6,5 ^b $\pm$ 0,3
Xp desa	14,87 ^b $\pm$ 1,8	15,9 ^b $\pm$ 1,0	< LD	12,6 ^a $\pm$ 2,2
Xp ret	11,9 ^b $\pm$ 0,1	8,6 ^{b,c} $\pm$ 0,4	< LD	12,0 ^a $\pm$ 0,7
Xc nat	13,6 ^b $\pm$ 1,0	0,8 ^c $\pm$ 0,1	< LD	2,4 ^d $\pm$ 0,2
Xc desa	14,8 ^b $\pm$ 0,6	3,7 ^c $\pm$ 0,2	< LD	3,0 ^{c,d} $\pm$ 1,3
Xc ret	13,7 ^b $\pm$ 0,1	6,7 ^c $\pm$ 0,1	< LD	5,7 ^{b,c} $\pm$ 0,8

Valores = médias $\pm$ SD; $n = 3$. < LD = abaixo do limite de detecção ($0,25 \text{ mg.g}^{-1}$). Colunas com letras diferentes apresentam diferença significativa a partir do teste de Tukey ($p < 0,05$)

* Xp nat - xantana pruni natural, Xp desa - xantana pruni desacetilada, Xp ret - xantana pruni reticulada com glutaraldeído, Xc nat - xantana comercial natural, Xc desa - xantana comercial desacetilada, Xc ret - xantana comercial reticulada com glutaraldeído. T0 - tempo inicial de análise em 25 °C

A presença de sais na composição da xantana são característica do processo fermentativo, como do meio de produção, estabilidade do pH, do processo de recuperação e tratamento pós fermentativos (GARCIA-OCHOA et al., 2000; BORGES et al., 2009; KLAIC et al., 2016).

A presença dos íons sódio, potássio, cálcio e magnésio na molécula da xantana são oriundos do processo de síntese do biopolímero produzido pelas *Xanthomonas campestris* pv *campestris* e *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* cepa 106. O íon sódio é proveniente da água utilizada na produção da goma, e da base hidróxido de sódio que é utilizada para o controle do pH durante o processo fermentativo. Os íons potássio, cálcio e magnésio são provenientes do fosfato de potássio, sulfato de magnésio e cloreto de cálcio, respectivamente, utilizados como componentes do meio de cultura na produção do polissacarídeo. Os tratamentos pós fermentativos também podem influenciar a presença de sais na goma xantana.

Comparando a xantana comercial (Xc nat) e a xantana pruni (Xp nat) foi possível verificar que o teor de sódio, potássio e magnésio foram 30%, 98% e 71% superiores na xantana pruni natural, devido às diferenças nas condições operacionais de fermentação. O íon cálcio apresentou-se concentrações inferiores ao nível de detecção do equipamento utilizado na análise para todas as amostras.

A xantana comercial (Xc nat) apresentou teores de sódio e potássio, 1,4% e 0,08% respectivamente, abaixo dos valores reportados na literatura. De acordo com García-Ochoa et al., (2000), a xantana comercial apresenta valores entre 3,6 a 14,6% de sais monovalentes. Nos estudos realizados por Klaic et al., (2011) também foram observados teores de sódio e potássio na xantana comercial (Farmaquímica Ltda. e Asky Ltda) abaixo dos reportados por García-Ochoa et al. (2000). Pinto et al. (2011) que estudaram o processo de modificação química através da desacetilação pós-fermentativa da xantana comercial Jungbunzlauer®, encontraram teores de sódio e potássio de 2,82% e 1,98% respectivamente, sendo superiores a xantana comercial em estudo, entretanto inferiores ao reportado na literatura.

O conteúdo total de íons divalentes para xantana comercial foi estimado na faixa de 0,085% a 0,17% por García-Ochoa et al. (2000). O teor de magnésio (0,24%) encontrado na xantana comercial (Xc nat) é superior ao encontrado na literatura. Klaic et al., (2011) encontrou teores de magnésio de 0,02% a 0,089% nas xantanas comerciais, estando em conformidade com a literatura.

As xantanas pruni (Xp desa) e (Xp ret) não apresentaram diferença significativa entre os teores de sais. O alto teor de sódio presente na xantana pruni (Xp nat) está relacionado com o álcali utilizado no controle de pH durante o processo fermentativo. Na desacetilação química foi utilizado NaOH, base forte para remover parcialmente os ligantes acetilas, onde ocorre a liberação de íons em solução através da reação, onde os íons em excesso podem estar no meio reacional e não ligados à molécula. Em relação a xantana pruni (Xp nat), o teor de sódio foi reduzido de 25% e 40% na xantana pruni (Xp desa) e (Xp ret), respectivamente. O teor elevado de potássio (4,4%) na xantana pruni cepa 106 (Xp nat), com pH 7 também foi relatado por Klaic, (2016). Contudo, houve uma maior redução no teor de potássio de 64% e 80,5% após as modificações de destilação (Xp desa) e reticulação (Xp ret), respectivamente.

3.3.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As Figuras 4 e 5 apresentam as imagens de microscopia eletrônica (MEV) das xantanas pruni e comercial, nas formas natural, desacetilada e reticulada, no início do armazenamento (T0) a 25 °C, em diferentes amplitudes.

A partir das imagens de MEV (Figura 4 e 5) pode ser observado que o pó de xantana apresentou uma superfície irregular, na forma de aglomerados pequenos e de bastonetes. A produção de goma quando combinada com o estresse mecânico, as altas pressões e temperaturas, isto acarreta em uma mudança da estrutura helicoidal original das suas moléculas, induzindo ao ajuntamento das cadeias laterais e cadeia principal. Assim, ocasionando uma alteração na sua estrutura transformando-as em bastões rígidos e causando a quebra das ligações intermoleculares originais (SERENO et al., 2007). Jeong et al., (2018) descreveram imagens de MEV semelhantes ao obtido neste trabalho, onde relataram que o pó de goma xantana apresentou uma superfície de partícula pequena e compacta.

Na Figura 4 e 5 (C, D, E e F) pode-se observar que as modificações químicas causaram uma mudança na superfície do pó de goma xantana. Na qual, as gomas apresentaram uma superfície mais lisa e homogênea, podendo ser justificada devido à substituição e a inserção de grupamentos ativos. Assim, ocasionando uma alteração morfológica e característica nas diferentes gomas. Melo et al., (2009) obtiveram imagens de MEV semelhantes ao relatado neste estudo, assim corroborando com os resultados obtidos. Onde, os autores verificaram que os filmes que continham goma

xantana exibiram uma superfície bastante irregular e, à medida que a concentração de goma xantana aumentava, esta característica se tornava ainda mais pronunciada

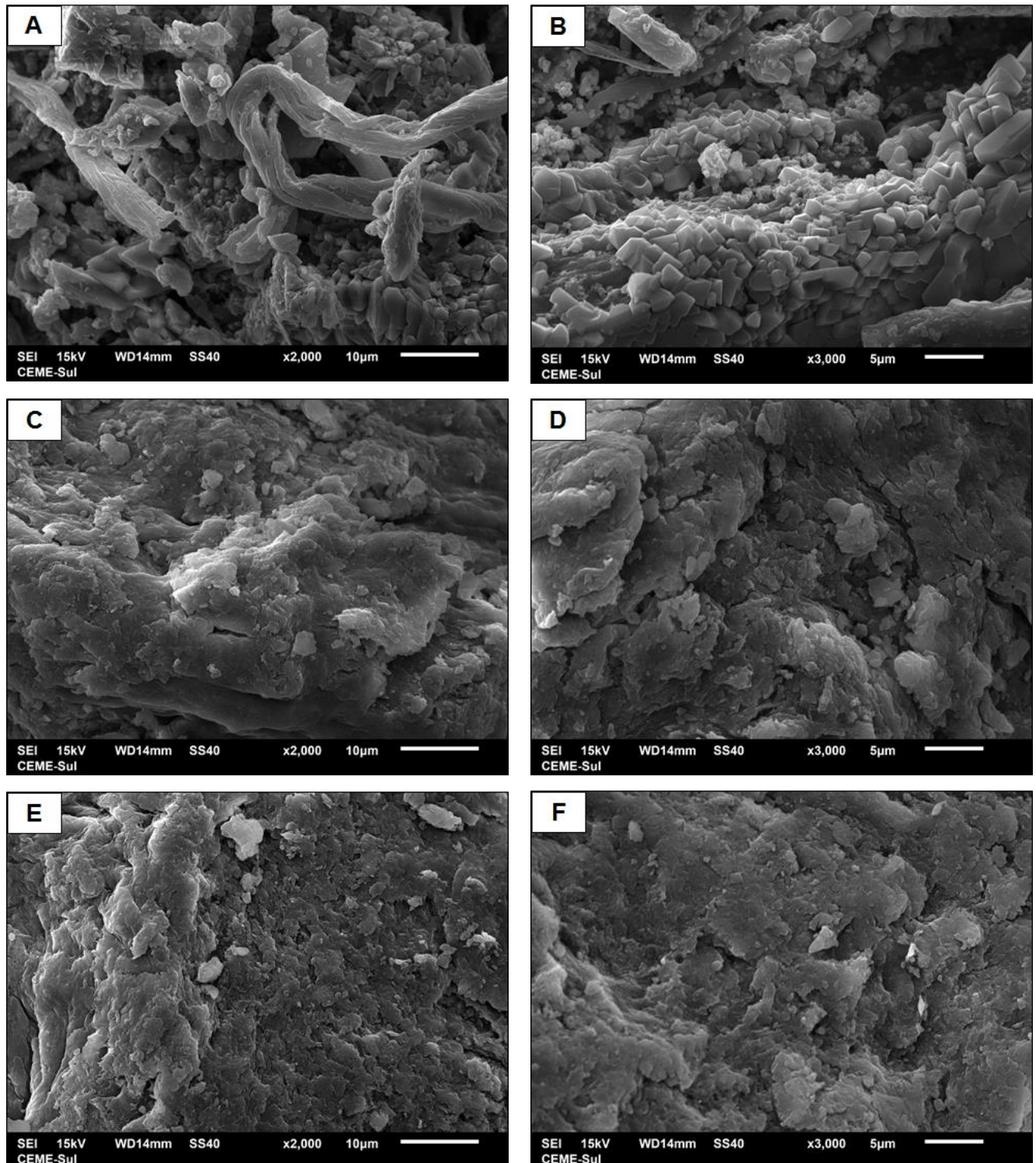


Figura 4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das xantanas naturais e modificadas por desacetilação e reticulação. Xantana pruni natural (A) (x2000) e (B) (x3000); Xantana pruni desacetilada (C) (x2000) e (D) (x3000); xantana pruni reticulada (E) (x2000) e (F) (x3000)

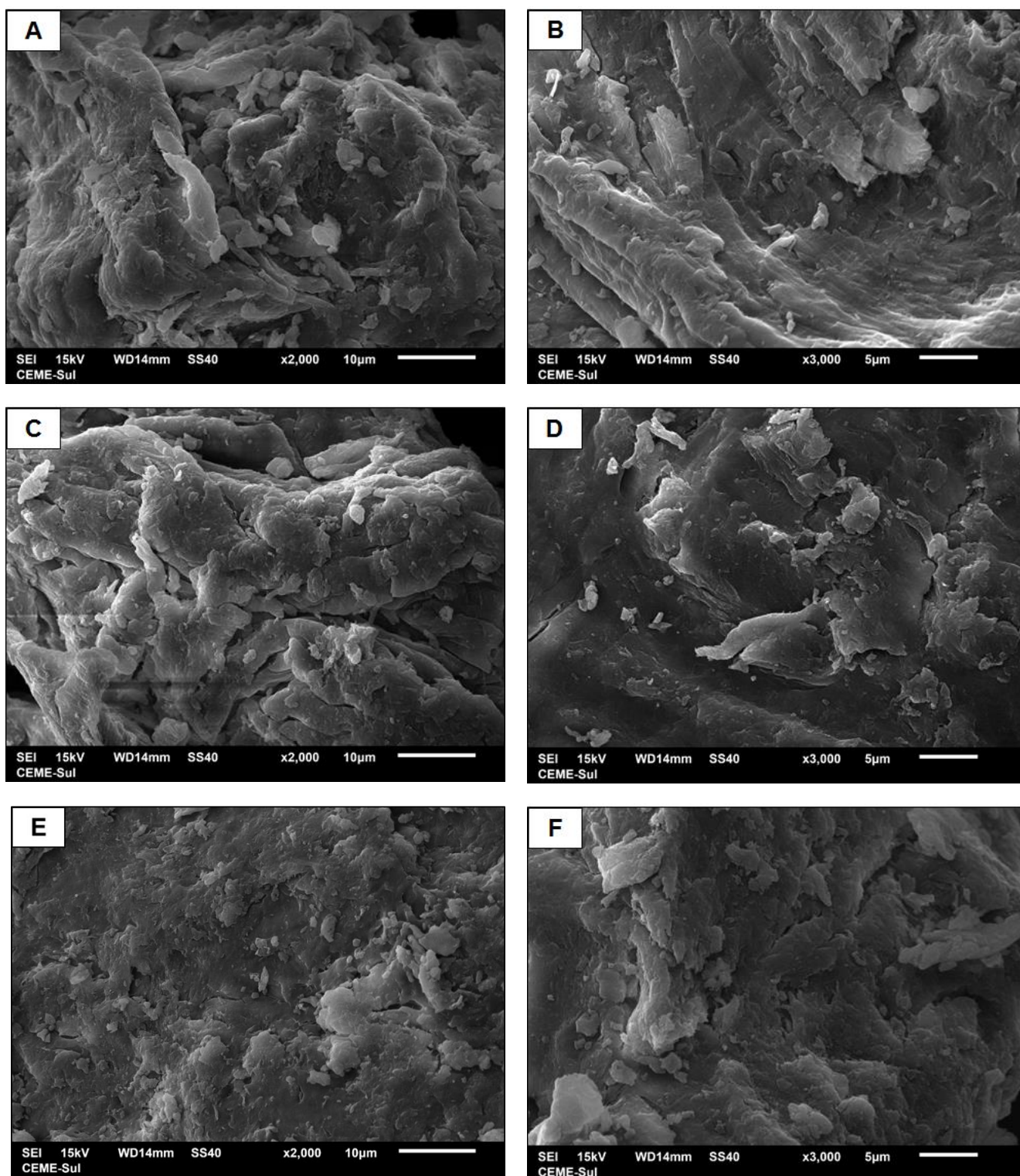


Figura 5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das xantanas naturais e modificadas por desacetilação e reticulação. Xantana comercial natural (A) (x2000) e (B) (x3000); Xantana comercial desacetilada (C) (x2000) e (D) (x3000); xantana comercial reticulada (E) (x2000) e (F) (x3000)

3.3.4 Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

As análises de espectroscopia de infravermelho permitiram caracterizar os

grupos funcionais das moléculas das xantanas estudadas e analisar diferenças entre bandas e intensidades relacionadas às modificações químicas realizadas neste trabalho. Os espectros FTIR das xantanas pruni e comercial, armazenadas a 25 °C e no início do armazenamento (T0), são apresentados na Figura 6 (A e B), respectivamente.

Os espectros característicos da goma xantana apresentaram picos na faixa de 3200 a 3500 cm^{-1} onde observa-se vibrações de estiramento atribuído ao grupo hidroxila (OH) associados a ligações de hidrogênio do polissacarídeo (ZHENG et al., 2018, KLAIC, 2016). Em 2900 cm^{-1} apresenta vibração de estiramento simétrico acoplados referentes aos grupos metileno (CH_2) (YE et al., 2006). Foi característico também no espectro uma banda larga de intensidade fraca da hidroxila (OH) referente a ligação de hidrogênio intramolecular com $\text{C}=\text{O}$, na faixa de 2500 cm^{-1} a 3200 cm^{-1} .

Além disso, os espectros revelaram picos na faixa de 1720 cm^{-1} a 1740 cm^{-1} referente a deformação axial da carbonila ($\text{C}=\text{O}$) de ésteres do grupamento acetila (JIN et al., 2015; COPINET et al., 2000). Na faixa de 1540 cm^{-1} a 1660 cm^{-1} encontra-se vibrações de estiramento assimétrico da carbonila ($\text{C}=\text{O}$), dos grupos piruvato. Enquanto a banda de absorção em 1360 cm^{-1} apresenta deformação angular simétrica das ligações de $\text{C}-\text{H}$ do grupo metila (CH_3). É observado também estiramentos simétrico e assimétricos típicos dos anéis glicosídeos ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$) do grupamento éter em 1050 cm^{-1} e 1160 cm^{-1} , respectivamente.

Foi possível verificar no espectro de FTIR da xantana pruni (Figura 6 - A), uma alteração no espectro da xantana pruni (Xp desa), a qual apresentou uma diminuição de intensidade na banda 1660 cm^{-1} correspondente ao grupo carbonila ($\text{C}=\text{O}$) presente com maior intensidade na xantana pruni (Xp nat), devido ao grupamento acetil. Verificou-se também, que a xantana pruni (Xp desa) apresentou maior intensidade na banda 2900 cm^{-1} , referente ao grupo hidroxila, devido à reação com NaOH, comprovando o processo de desacetilação parcial do biopolímero.

A xantana pruni (Xp ret) apresentou uma diminuição de intensidade nas bandas em aproximadamente 1050 cm^{-1} , 1150 cm^{-1} , referentes a deformação axial da ligação $\text{C}-\text{O}$, dos ésteres metílicos das xantanas reticuladas. Comprovando assim o processo de modificação com glutaraldeído realizado na xantana pruni reticulada.

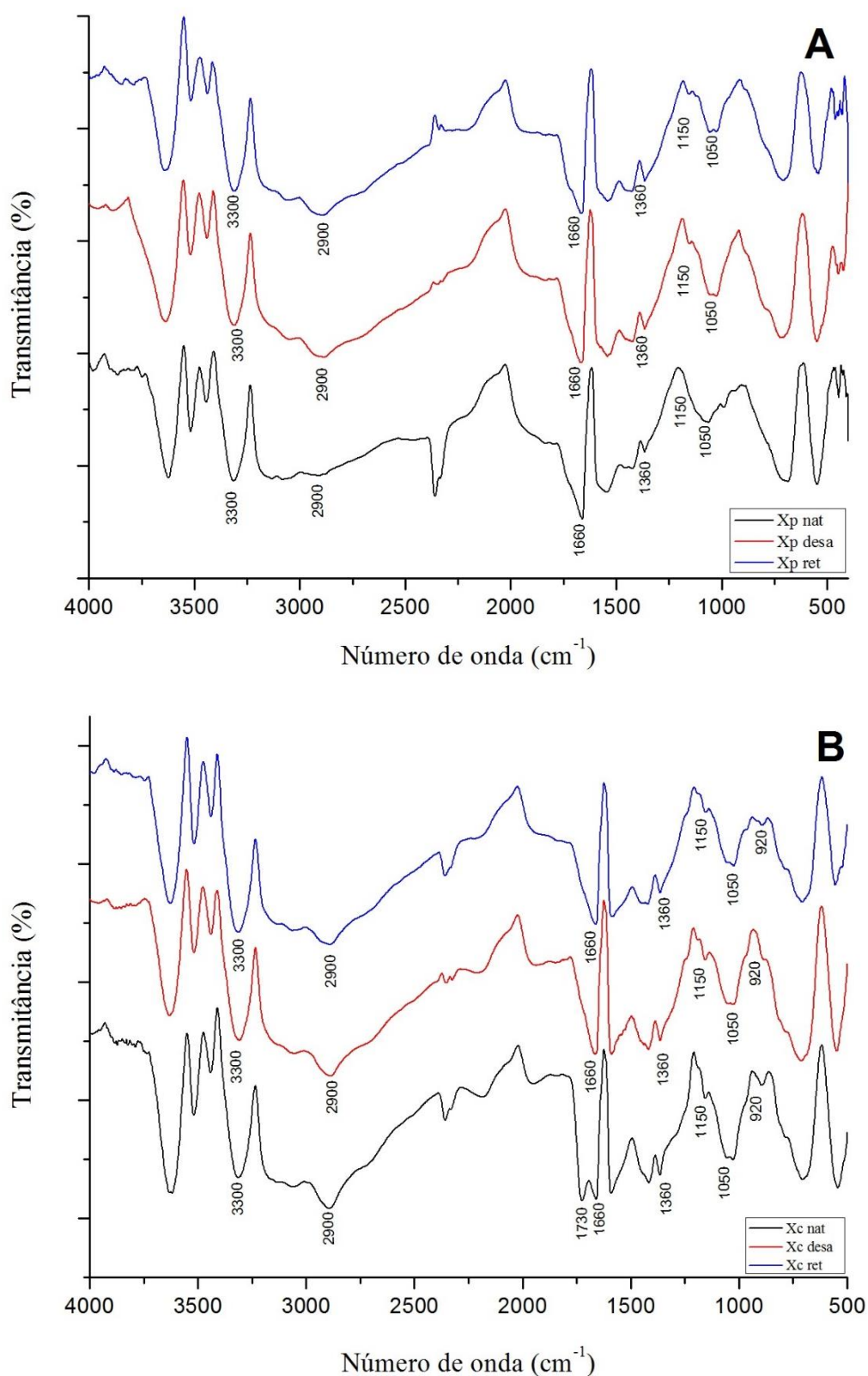


Figura 6. Espectros de infravermelho das xantanas naturais e modificadas por desacetilação e reticulação. (A) Xantana pruni e (B) Xantana comercial.

* Xp nat - xantana pruni natural, Xp desa - xantana pruni desacetilada, Xp ret - xantana pruni reticulada com glutaraldeído, Xc nat - xantana comercial natural, Xc desa - xantana comercial desacetilada, Xc ret - xantana comercial reticulada com glutaraldeído.

Observou-se no espectro de FTIR da xantana comercial (Figura 6 - B), além das bandas características mencionadas pela xantana pruni, uma banda característica na xantana comercial (Xc nat) em 1730 cm^{-1} referente a ligação dos ésteres dos grupos acetil na cadeia lateral do polímero. Essa banda, porém, está ausente na xantana comercial (Xc desa), em conformidade com a literatura (JIN et al., 2015; COPINET et al., 2000). Esse resultado comprova a desacetilação termoquímica realizada com NaOH na xantana (Xc desa).

A xantana comercial (Xc ret) apresentou as mesmas alterações nas bandas características da reação com glutaraldeído na reticulação observadas para a xantana pruni. Além disso, foi observado o aparecimento de uma banda na faixa de aproximadamente 920 cm^{-1} referente à ligação O-H, devido à deformação angular na carboxila (C=O), de ácidos carboxílicos. Foi possível afirmar através da análise de espectroscopia de infravermelho que ocorreu a reação de reticulação.

3.4 Caracterização das amostras das xantanas pruni e comercial naturais e modificadas quimicamente armazenadas nas temperaturas de 25 °C e 45 °C

3.4.1 Teor de acetil das amostras de xantanas

A determinação dos conteúdos de acetil das xantanas pruni e comerciais, naturais e desacetiladas, armazenadas a 25 °C e 45 °C, estão apresentados na Tabela 5.

Observou-se que as amostras de xantana pruni (Xp nat) e (Xp desa) armazenadas a 25 °C não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) ao longo dos meses de armazenamento. Entretanto, as amostras de xantana comercial (Xc nat) e (Xc desa) armazenadas a 25 °C diferiram significativamente ao nível de 95% de significância, em relação aos meses de armazenamento.

As amostras armazenadas a 45 °C apresentaram diferenças estatística entre os primeiros meses de armazenamento (T1) e os demais meses (T2 e T3), exceto a xantana pruni (Xp desa) que não apresentou diferença significativa ao longo dos meses de análise.

A desacetilação termoquímica parcial pós-fermentativa pode ser comprovada através do grau de acetilação realizado nesta análise. A xantana pruni (Xp nat 25 °C)

apresentou baixo teor de acetil em sua composição ao longo do armazenamento, 1,33% (T0), 0,92% (T1), 1,04% (T2) e 1,05% (T3). Esses resultados estão em conformidade com as análises de FTIR, onde não apresentou uma banda característica de éster presente na molécula de acetil, na faixa de 1730 cm^{-1} . Estudos realizados anteriormente com a mesma cepa bacteriana, relataram conteúdos de acetil superiores; 4,09% (KLAIC, 2016); 2,45% (RODRIGUES, 2010); 4,47% (PREICHARDT, 2009) e 2,9% (BORGES et al. 2009). Estudos realizados por Oliveira et al., (2013) encontraram teores de acetil para *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepas 06 e 82 de 2,76% e 3,29%, respectivamente.

Tabela 5: Teor de acetil (% p p⁻¹) das amostras das xantanas pruni e comercial, naturais e desacetiladas, ao longo do período de armazenamento nas temperaturas de 25 °C e 45 °C.

Xantana	Teor de Acetil (%)			
	T0	T1	T2	T3
Xp nat 25 °C	1,33 ^{A,b} ± 0,32	0,92 ^{A,b,c} ± 0,24	1,04 ^{A,c} ± 0,03	1,05 ^{A,c} ± 0,05
Xp desa 25 °C	0,80 ^{A,c} ± 0,20	0,57 ^{A,c} ± 0,02	0,57 ^{A,d} ± 0,02	0,64 ^{A,d} ± 0,03
Xc nat 25 °C	4,97 ^{A,B,a} ± 0,13	5,34 ^{A,a} ± 0,29	4,03 ^{C,a} ± 0,07	4,80 ^{B,a} ± 0,03
Xc desa 25 °C	0,56 ^{A,c} ± 0,05	0,55 ^{A,c} ± 0,01	0,36 ^{B,e} ± 0,09	0,49 ^{A,B,d} ± 0,06
Xp nat 45 °C	-	1,45 ^{A,b} ± 0,04	1,15 ^{B,c} ± 0,06	1,20 ^{B,c} ± 0,06
Xp desa 45 °C	-	0,66 ^{A,c} ± 0,02	0,51 ^{A,d,e} ± 0,11	0,56 ^{A,d} ± 0,02
Xc nat 45 °C	-	5,93 ^{A,a} ± 0,55	3,47 ^{B,b} ± 0,03	4,02 ^{B,b} ± 0,22
Xc desa 45 °C	-	1,04 ^{A,b,c} ± 0,13	0,38 ^{B,e} ± 0,02	0,49 ^{B,d} ± 0,05

Valores = médias ± SD; $n = 3$ Colunas com letras minúsculas diferentes apresentam diferença significativa a partir do teste de Tukey ($p < 0,05$). Linhas com letras maiúsculas diferentes apresentam diferença significativa a partir do teste de Tukey ($p < 0,05$).

* Xp nat 25 °C - xantana pruni natural armazenada a 25 °C, Xp desa 25 °C - xantana pruni desacetilada armazenada a 25 °C, Xc nat 25 °C - xantana comercial natural armazenada a 25 °C, Xc desa 25 °C - xantana comercial desacetilada armazenada a 25 °C, Xp nat 45 °C - xantana pruni natural armazenada a 45 °C, Xp desa 45 °C - xantana pruni desacetilada armazenada a 45 °C, Xc nat 45 °C - xantana comercial natural armazenada a 45 °C, Xc desa 45 °C - xantana comercial desacetilada armazenada a 45 °C. T0 - tempo inicial de armazenamento; T1 - após 3 meses de armazenamento; T2 - após 6 meses de armazenamento e T3 - após 9 meses de armazenamento

A xantana pruni (Xp desa 25 °C) e (Xp desa 45 °C) apresentaram redução nos grupos acetil de 40% (T0), 38% (T1), 45% (T2), 39% (T3) e 54% (T1), 55% (T2) e 53% (T3), respectivamente, em relação a xantana pruni (Xp nat 25 °C e Xp nat 45 °C). Entretanto, Klaic (2016) encontrou 93% de remoção dos grupos acetil para xantana pruni cepa 106 nas mesmas condições da reação de desacetilação, evidenciando que no presente estudo o processo de desacetilação termoquímica foi parcial.

A xantana comercial (Xc nat 25 °C) apresenta teores elevados de acetil, corroborando com os resultados obtidos na análise de FTIR, onde há presença de uma banda acentuada característica da deformação axial da carbonila presente na molécula de acetil na faixa de 1730 cm^{-1} (JIN et al., 2015; KANG et al., 2019). A literatura reporta valores de acetil para *Xanthomonas campestris* muito variados, entre 1,9% e 6,0% (GARCIA-OCHOA et al., 2000); 5,79% (KOOL et al., 2013); 1,3% a 7,7% (SHATWELL et al., 1990); 0,41% (BUENO e PETRI, 2014); 0,51% a 6,19% (ABBASZADEH et al., 2015).

As xantanas comercial (Xc desa 25 °C) e (Xc desa 45 °C) apresentaram alto grau de desacetilação: 88% (T0), 90% (T1), 91% (T2), 90% (T3) e 82% (T1), 89% (T2) e 88% (T3), respectivamente, em relação a xantana comercial (Xc nat 25 °C) e (Xc nat 45 °C). Estudos realizados por Pinto et al., (2011) encontraram 68% de remoção do grupo acetil para a mesma xantana comercial e condição de reação de desacetilação estudada. Através desses resultados pode-se afirmar que desacetilação termoquímica pós-fermentativa com hidróxido de sódio proporciona alto grau de desacetilação.

Comparando as xantanas armazenadas a 25 °C e 45 °C foi possível afirmar que o armazenamento em temperatura 45 °C não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) nos teores de acetil das amostras ao longo do período de análise. Exceto a xantana comercial (Xc nat 25 °C) que mostrou teor de acetil 0,56% (T2) e 0,78% (T3) superior a xantana comercial (Xc nat 45 °C). Com isso, podemos relatar que o armazenamento em diferentes temperaturas, não influencia no teor de acetil.

3.4.2 Teor de piruvato das amostras de xantanas

A determinação dos conteúdos de piruvato das xantanas pruni e comercial, naturais e desacetiladas, armazenadas a 25 °C e 45 °C, estão apresentados na

Tabela 6.

Tabela 6: Teor de piruvato (% p p⁻¹) das amostras das xantanas pruni e comercial, naturais e desacetiladas, ao longo do período de armazenamento nas temperaturas de 25 °C e 45 °C.

Xantana	Teor de Piruvato (%)			
	T0	T1	T2	T3
Xp nat 45 °C	0,71 ^{A,c} ± 0,08	0,68 ^{A,c} ± 0,01	0,73 ^{A,b} ± 0,24	0,83 ^{A,b} ± 0,34
Xp desa 45 °C	0,71 ^{A,c} ± 0,18	0,65 ^{A,c} ± 0,03	0,52 ^{A,b} ± 0,16	0,66 ^{A,b} ± 0,11
Xc nat 45 °C	3,66 ^{B,b} ± 0,06	3,28 ^{B,b} ± 0,59	3,11 ^{B,a} ± 0,20	5,14 ^{A,a} ± 0,17
Xc desa 45 °C	5,40 ^{A,a} ± 0,65	4,66 ^{A,B,a} ± 0,82	3,17 ^{B,a} ± 0,04	5,05 ^{A,a} ± 0,79
Xp nat 25 °C	-	0,49 ^{A,c} ± 0,08	0,40 ^{A,b} ± 0,003	0,73 ^{A,b} ± 0,23
Xp desa 25 °C	-	0,30 ^{A,c} ± 0,03	0,33 ^{A,b} ± 0,02	0,54 ^{A,b} ± 0,37
Xc nat 25 °C	-	4,31 ^{A,B,a,b} ± 0,70	3,07 ^{B,a} ± 0,23	5,57 ^{A,a} ± 0,70
Xc desa 25 °C	-	3,89 ^{A,a,b} ± 0,58	3,34 ^{A,a} ± 0,15	4,45 ^{A,a} ± 0,72

Valores = médias ± SD; *n* = 3 Linhas com letras minúsculas diferentes apresentam diferença significativa a partir do teste de Tukey (*p*<0,05). Colunas com letras maiúsculas diferentes apresentam diferença significativa a partir do teste de Tukey (*p*<0,05).

* Xp nat 25 °C - xantana pruni natural armazenada a 25 °C, Xp desa 25 °C - xantana pruni desacetilada armazenada a 25 °C, Xc nat 25 °C - xantana comercial natural armazenada a 25 °C, Xc desa 25 °C - xantana comercial desacetilada armazenada a 25 °C, Xp nat 45 °C - xantana pruni natural armazenada a 45 °C, Xp desa 45 °C - xantana pruni desacetilada armazenada a 45 °C, Xc nat 45 °C - xantana comercial natural armazenada a 45 °C, Xc desa 45 °C - xantana comercial desacetilada armazenada a 45 °C. T0 - tempo inicial de armazenamento; T1 - após 3 meses de armazenamento; T2 - após 6 meses de armazenamento e T3 - após 9 meses de armazenamento

O conteúdo de piruvato das amostras de xantana pruni (Xp nat) e (Xp desa), nas duas condições de armazenamento (25 °C e 45 °C), não apresentaram diferença significativa (*p*<0,05) ao longo do período de armazenamento. A xantana pruni (Xp nat) apresentou baixos teores de piruvato em sua composição durante o período de armazenamento, tendo como teor inicial a 25 °C de 0,71% (T0). A literatura relata valores de piruvato para a mesma cepa bacteriana estudada neste trabalho: 1,93% (RODRIGUES, 2010); 1,26% (PREICHARDT, 2009); 0,79% (BORGES et al., 2009); 0,63% (KLAIC, 2016). E para diferentes cepas do mesmo patovar foram determinados

por Oliveira et al., (2013) teores de piruvato de 2,48% para cepa 06 e 3,34% para a cepa 82. Dessa maneira evidencia-se que os teores de piruvato podem variar devido ao processo de fermentação e com a cepa utilizada.

A modificação química por desacetilação termoquímica pós-fermentativa da xantana pruni (Xp desa), nas duas condições de armazenamento (25 °C e 45 °C), não diferiu significativamente da xantana pruni (Xp nat) ao nível de 95% de significância. Comprovando que a reação de desacetilação empregada no biopolímero não causou mudanças nos substituintes piruvato.

A xantana comercial (Xc nat 25 °C) e (Xc desa 25 °C) apresentaram teores de piruvato diferentes estatisticamente ($p < 0,05$), porém valores muito próximos. Os teores de piruvato para a xantana comercial (Xc nat) ao longo do período de armazenamento a 25 °C e 45 °C, estão dentro do relatado na literatura por Garcia-Ochoa et al., (2000) que estabelece um limite de 1 a 5,7% para xantanas produzidas por *Xanthomonas campestris*. Abbaszadeh et al., (2015) e Erten et al., (2014) encontraram teores de piruvato de 0,50% a 6,98% e 2,2% a 6,5% respectivamente, para a xantana comercial DuPonte. Pinto et al., (2011), relataram teores de piruvato de 3,6% para a xantana Jungbunzlauer.

Relacionando a xantana pruni e xantana comercial, observou-se ao longo do armazenamento um baixo teor de piruvato nas xantanas produzidas por *Xanthomonas arboricola* pv pruni. Os substituintes acetil e piruvato dependem da cepa bacteriana e das condições de fermentação. O armazenamento a temperaturas de 45 °C das xantanas pruni e comercial, naturais e desacetiladas, não apresentaram alterações em seu conteúdo de piruvato em relação as xantanas armazenadas a 25 °C, ao longo do armazenamento. Desse modo, pode-se afirmar que não houve degradação nos substituintes piruvato.

3.4.2 Grau de intumescimento (GI)

A determinação do grau de intumescimento (GI) foi realizada para avaliar a capacidade de retenção de água das xantanas pruni e comercial, naturais e modificadas, armazenadas nas temperaturas de 25 °C e 45 °C, conforme apresentado nas Figuras 7 e 8.

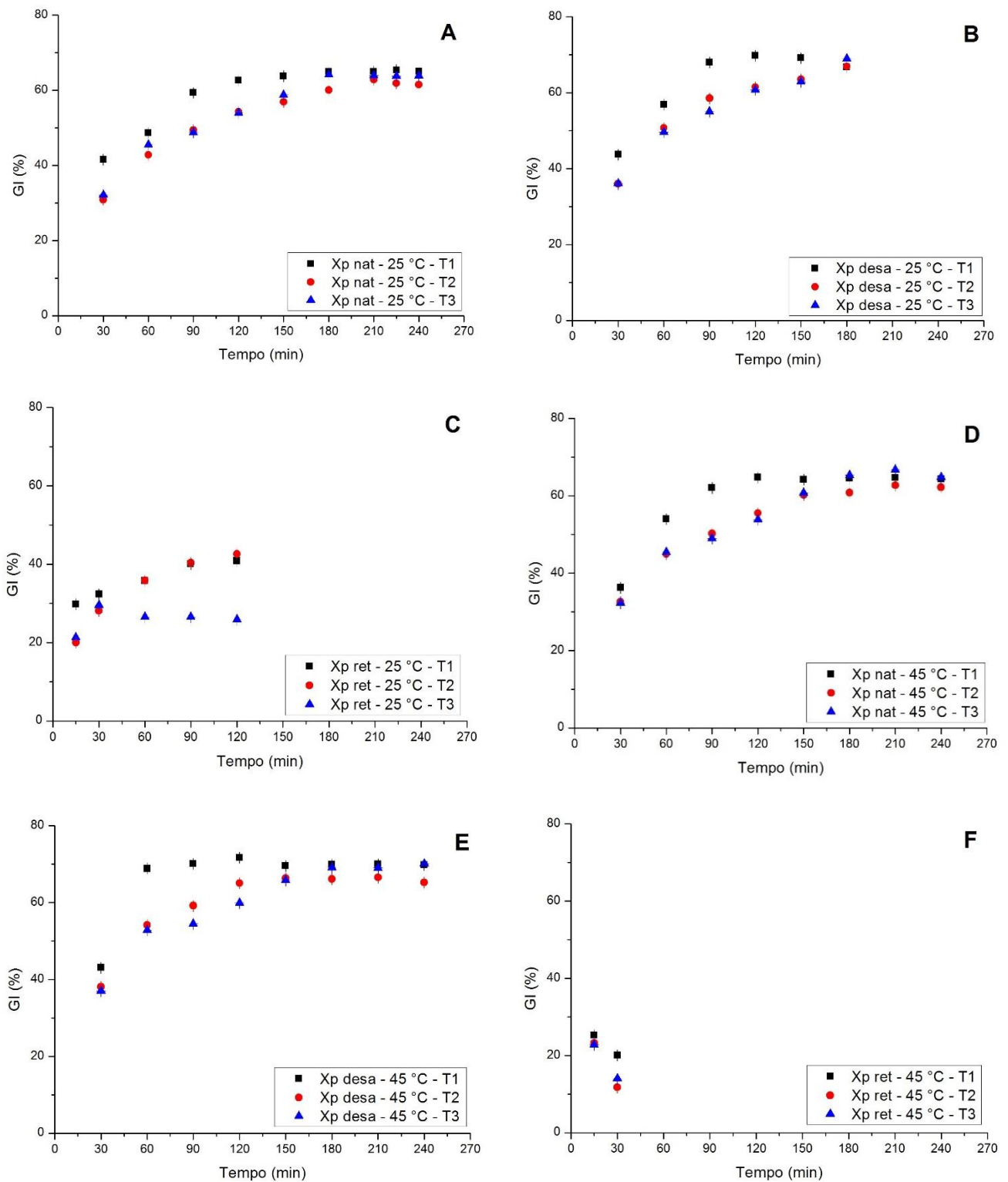


Figura 7. Grau de intumescimento da xantana pruni natural (Xp nat), desacetilada (Xp desa) e reticulada (Xp ret). (A), (B) e (C) armazenadas a 25 °C; (D), (E) e (F) armazenadas a 45 °C. T1 - após 3 meses de armazenamento; T2 - após 6 meses de armazenamento e T3 - após 9 meses de armazenamento.

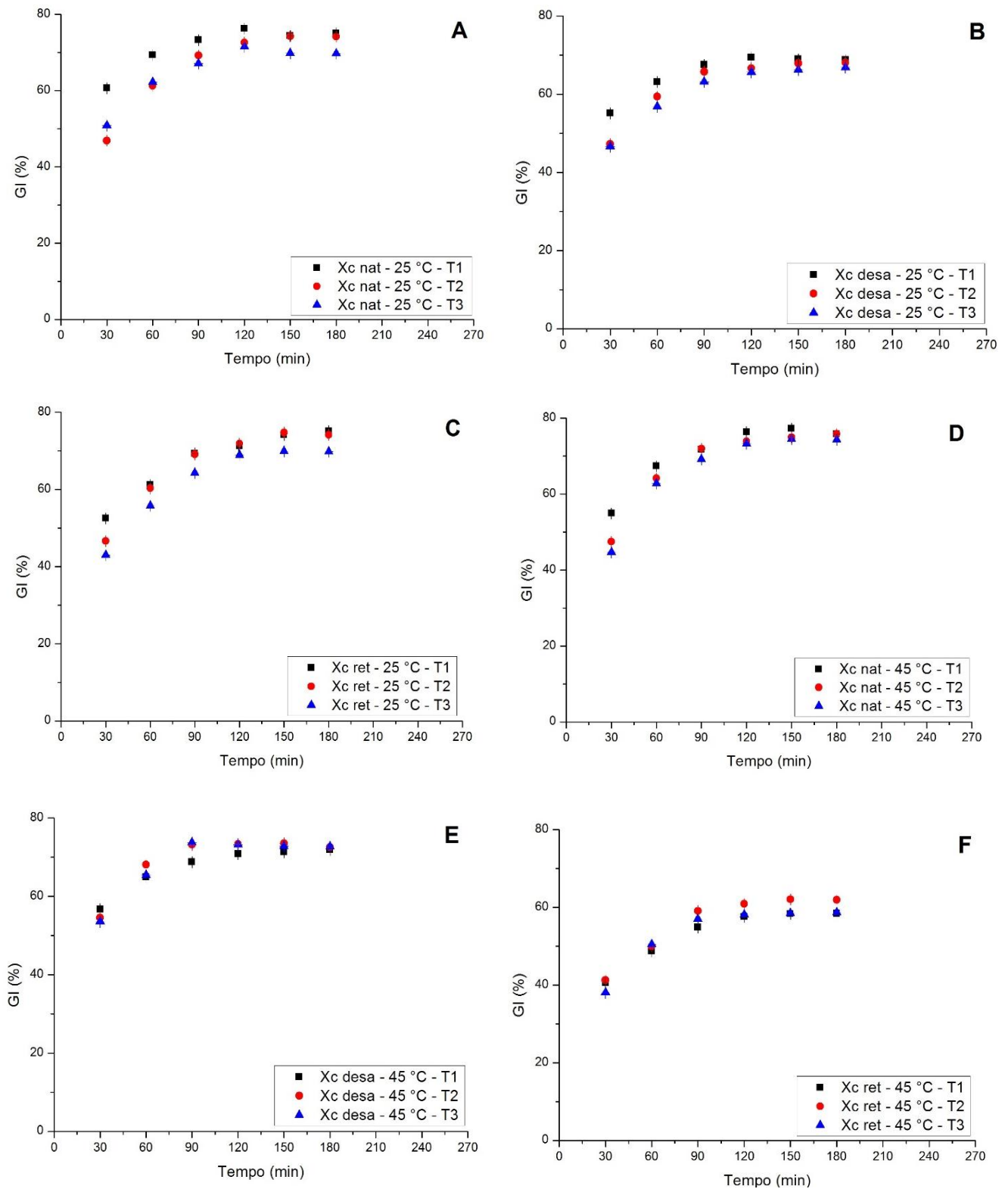


Figura 8. Grau de intumescimento da xantana comercial (Xc nat), desacetilada (Xc desa) e reticulada (Xc ret). (A), (B) e (C) armazenadas a 25 °C; (D), (E) e (F) armazenadas a 45 °C. T1 - após 3 meses de armazenamento; T2 - após 6 meses de armazenamento e T3 - após 9 meses de armazenamento.

Na Figura 7 (A, B, D e E) pode-se observar um aumento no grau de intumescimento das xantanas pruni (Xp nat T1, T2, T3 a 25 °C), (Xp desa T1,T2,T3 a

25 °C), (Xp nat T1,T2,T3 a 45 °C) e (Xp desa T1,T2,T3 a 45 °C), ao decorrer da análise até atingir o equilíbrio através da saturação na adsorção da água. Ainda, observa-se que o primeiro período de armazenamento (T1) apresentou maior grau de intumescimento até o ponto de saturação, onde iguala-se aos demais períodos.

As xantanas pruni (Xp ret 25 °C) e (Xp ret 45 °C) apresentaram comportamentos distintos das demais amostras, sendo o menor grau de intumescimento e com o passar do período de armazenamento, ocorreu a diminuição da capacidade de inchamento, conforme mostrado na Figura 7 (C e F). Para a xantana pruni (Xp ret 45 °C), observa-se na Figura 7 (F) somente dois pontos de retirada de amostra (15min e 30min) pois estas apresentaram-se instáveis, onde pequenas partículas insolúveis se dissolveram. Isso pode ter ocorrido devido a reticulação parcial das cadeias do polímero o que impossibilitou o intumescimento da amostra. Diante disso, a reticulação com glutaraldeído pode formar uma rede tridimensional polimérica, o qual ocupa os sítios capazes de adsorver água, e assim, influenciando no seu inchamento e afetando diretamente na solubilidade das amostras.

Segundo Gonçalves et al., (2005) que estudou os efeitos da reticulação da quitosana com glutaraldeído e epícloridrina, o alto grau de reticulação leva a um menor grau de inchamento, e uma baixa reticulação pode ocasionar uma deterioração das esferas. Além disso, os autores ressaltam que o mecanismo de intumescimento envolve o relaxamento da estrutura devido a repulsão eletrostática exercida entre as cadeias polimérica e a dissociação de interações secundárias, pontes de hidrogênio, seguidas do inchamento.

Segundo Kang et al., (2019), que estudaram a caracterização de hidrogéis a base de xantana com adição de íon ferro, após a perda da água livre do polímero, a estrutura reticulada dos hidrogéis torna-se densa e mais compacta com a crescente densidade de reticulação.

Bueno et al., (2013) através do estudo do comportamento da síntese e intumescimento de hidrogéis a base de xantana, relataram que o mecanismo inicial da adsorção de água não depende da composição do hidrogel reticulado, e sim da passagem do solvente por poros interconectados sem interação com cadeias poliméricas. Já o inchamento após a fase inicial, pode ser controlado pela composição do hidrogel e as interações entre o solvente e cadeias poliméricas.

Comparando as xantanas pruni (Xp nat), (Xp desa), (Xp ret) nas duas condições de armazenamento (25 °C e 45 °C), em todas os períodos de análise (T1,

T2 e T3), a goma xantana pruni desacetilada apresentou maior grau de intumescimento (66% T1, 66% T2, 69% T3 a 25 °C e 69% T1, 65% T2, 70% T3 a 45 °C), devido a reação de desacetilação substituir os grupamentos acetil e preencher com grupos hidroxilas, que favorece a interação com moléculas de água, o que provavelmente ocorre através da ligação de hidrogênio, aumentando o grau de inchamento (BANEGAS et al., 2013).

A Figura 8 apresenta o comportamento da xantana comercial natural e modificadas quimicamente por desacetilação e reticulação, nas duas condições de armazenamento (25 °C e 45 °C) e nos períodos analisados (T1, T2, T3). Pode-se observar um aumento no grau de intumescimento com o transcorrer da análise para todas as xantanas comerciais. Esse aumento é devido a interações hidrofílicas da matriz com o solvente, levando ao relaxamento molecular e expandindo a matriz polimérica, até a saturação completa da matriz, ponto de equilíbrio (SUKRITI et al., 2017).

Foi possível verificar que o grau de intumescimento das amostras de xantana comercial armazenadas a 25 °C foi maior no início do período de armazenamento (T1), havendo uma diminuição do teor de adsorção de água durante as análises ao longo do armazenamento (T2 e T3). É possível observar para todas as amostras de xantana ao longo do armazenamento (T1, T2 e T3) e nas duas condições de temperatura (25 °C e 45 °C) que o ponto de equilíbrio do grau de inchamento das amostras foi de 150min de análise.

Analisando as condições de armazenamento (25 °C e 45 °C) das xantanas comerciais natural e modificadas, observa-se que em armazenamento a 25 °C a xantana comercial (Xc desa 25 °C) apresentou menor grau de inchamento em todas as etapas de análise (T1, T2 e T3). Em contrapartida, o armazenamento a 45 °C a xantana comercial (Xc ret 45 °C) apresentou menor grau de inchamento em todas as etapas de análise (T1, T2 e T3).

O comportamento das esferas ao longo do período das análises do grau de intumescimento, podem ser visualizados através das Figuras 9 e 10. Ao observar as esferas nas diferentes etapas da análise de intumescimento (a - início da análise e b - fim do período da análise) ao longo do armazenamento, pode-se notar que as xantanas pruni (Xp ret 25 °C) e (Xp ret 45 °C) possui um processo diferenciado de inchamento das demais xantanas pruni.

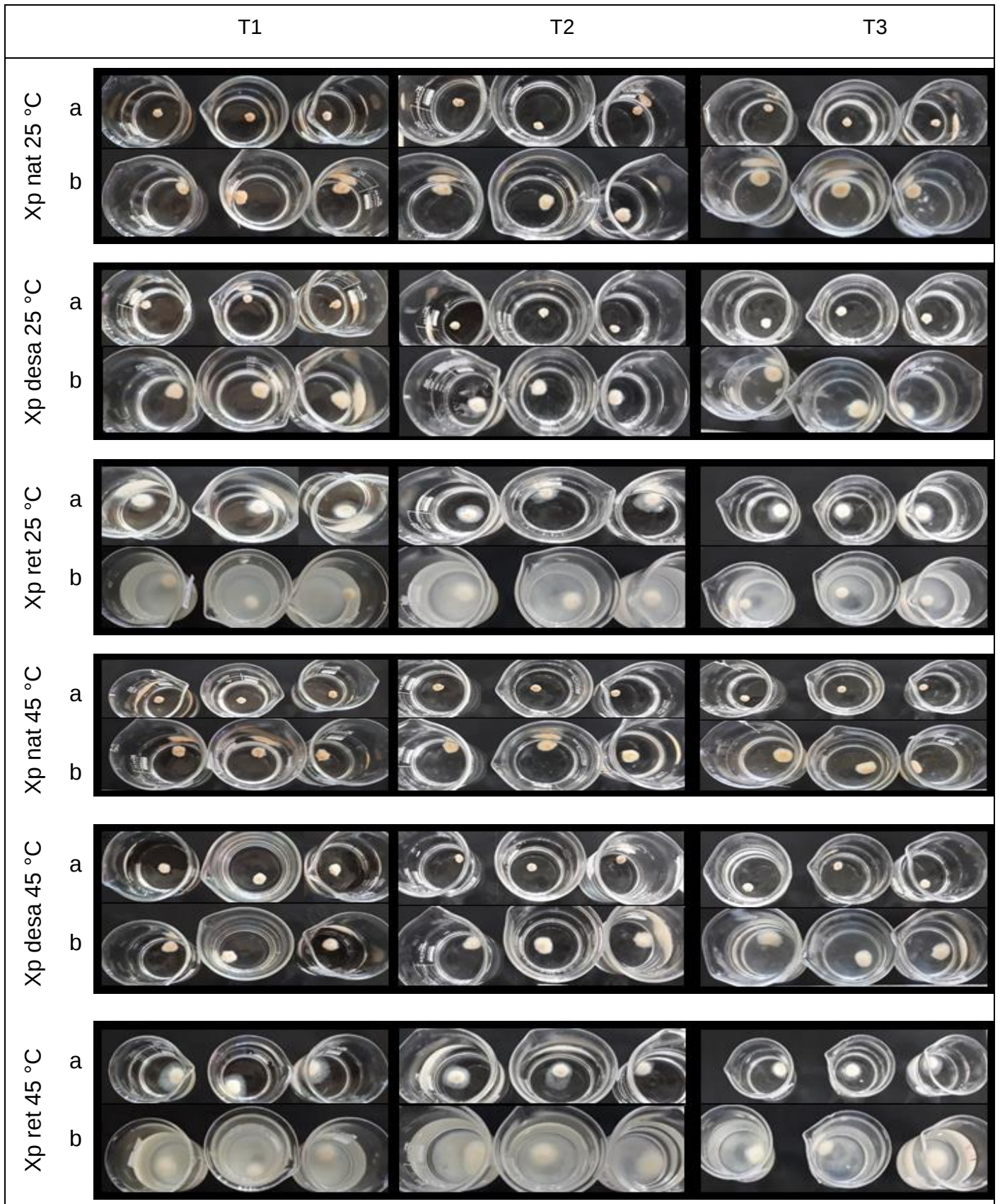


Figura 9. Foto da análise do grau de intumescimento das amostras das xantanas pruni natural (Xp nat), desacetilada (Xp desa) e reticulada (Xp ret), armazenadas a 25 °C e 45 °C. T1 - após 3 meses de armazenamento; T2 - após 6 meses de armazenamento e T3 - após 9 meses de armazenamento. a - tempo inicial da análise e b - tempo final da análise.

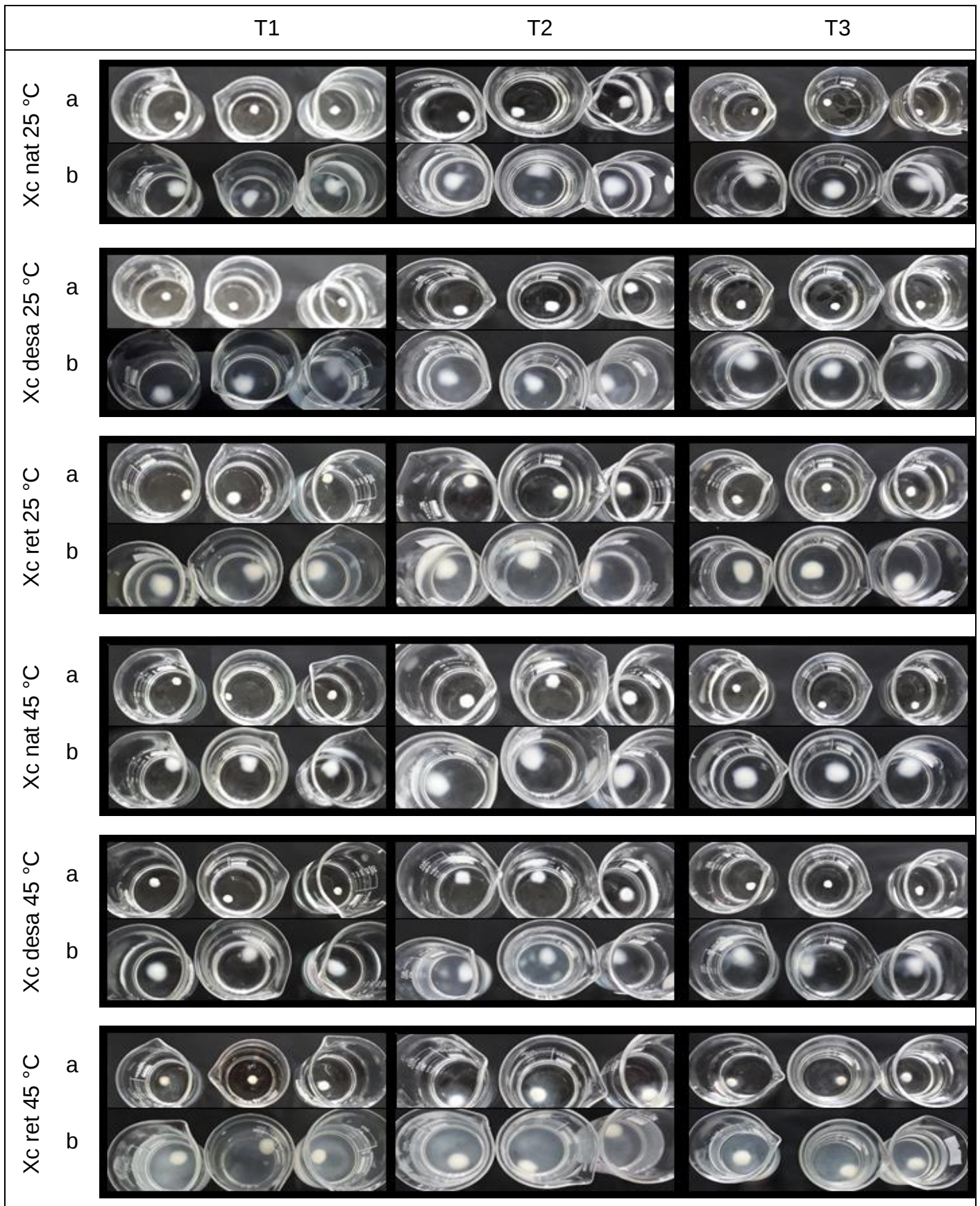


Figura 10. Foto da análise do grau de intumescimento das amostras das xantanas comercial natural (Xc nat), desacetilada (Xc desa) e reticulada (Xc ret), armazenadas a 25 °C e 45 °C. T1 - após 3 meses de armazenamento; T2 - após 6 meses de armazenamento e T3 - após 9 meses de armazenamento. a - tempo inicial da análise e b - tempo final da análise.

Percebe-se no início da análise (tempo - a) que em alguns instantes as esferas já começaram a perder massa, impedindo seu inchamento, no final da análise (tempo - b), as esferas encontram-se com grande parte do seu conteúdo disperso na água, não formando uma solução homogênea, pois a massa do polímero que não estava reticulada permaneceu no fundo do recipiente. Corroborando com os dados apresentados na Figura 7 (C e F).

Na Figura 9, observa-se que a xantana pruni (Xp nat) e (Xp desa) para as duas condições de temperatura (25 °C e 45 °C), apresentaram comportamento semelhante, onde ambas as amostras apresentaram esferas intumescidas no final do período da análise (tempo - b). A xantana comercial (Xc nat), (Xc desa) e (Xc ret) nas duas condições de armazenamento 25 °C e 45 °C, apresentaram comportamentos similares ao grau de intumescimento, conforme ilustrado na Figura 10.

Outro resultado relevante neste trabalho, refere-se à comparação do comportamento do grau de intumescimento das esferas das xantanas pruni e comercial, reticuladas com glutaraldeído, As xantanas pruni (Xp ret 25 °C) e (Xp ret 45 °C), demonstraram uma grande perda de massa, afetando a sua solubilidade, enquanto a xantana comercial (Xc ret 25 °C), obteve um grau de inchamento superior.

3.4.3 Análises reológicas

As curvas de viscosidade das amostras das xantanas pruni e comercial em todos os períodos e temperaturas analisados foram verificadas quanto ao ajuste ao modelo de Ostwald-de-Waele (modelo da potência) e todas apresentaram correlação superior a 0,99.

As xantanas pruni e comercial nas três formas estudadas (natural, desacetilada e reticulada) apresentaram altos níveis de pseudoplasticidade, que é o decréscimo da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento aplicada. Este comportamento é atribuído a presença de aglomerados que envolvem ligações do tipo pontes de hidrogênio e a pontos de entrelaçamentos entre as moléculas de xantana em solução. Com o aumento da taxa de cisalhamento aplicada, as moléculas tendem a alinhar-se na direção do movimento, diminuindo assim a viscosidade, como pode ser observado nas Figuras 11 e 12.

Tal comportamento é característico desse biopolímero (KUPPUSWAMI, 2014). Porém, a amostra de xantana pruni (Xp ret 45 °C) apresentou o menor nível de

pseudoplasticidade nos tempos de armazenamento estudados (Figura 11 - F). Para possibilitar a comparação dos valores de viscosidade entre as amostras será utilizada a taxa de deformação de 100 s^{-1} .

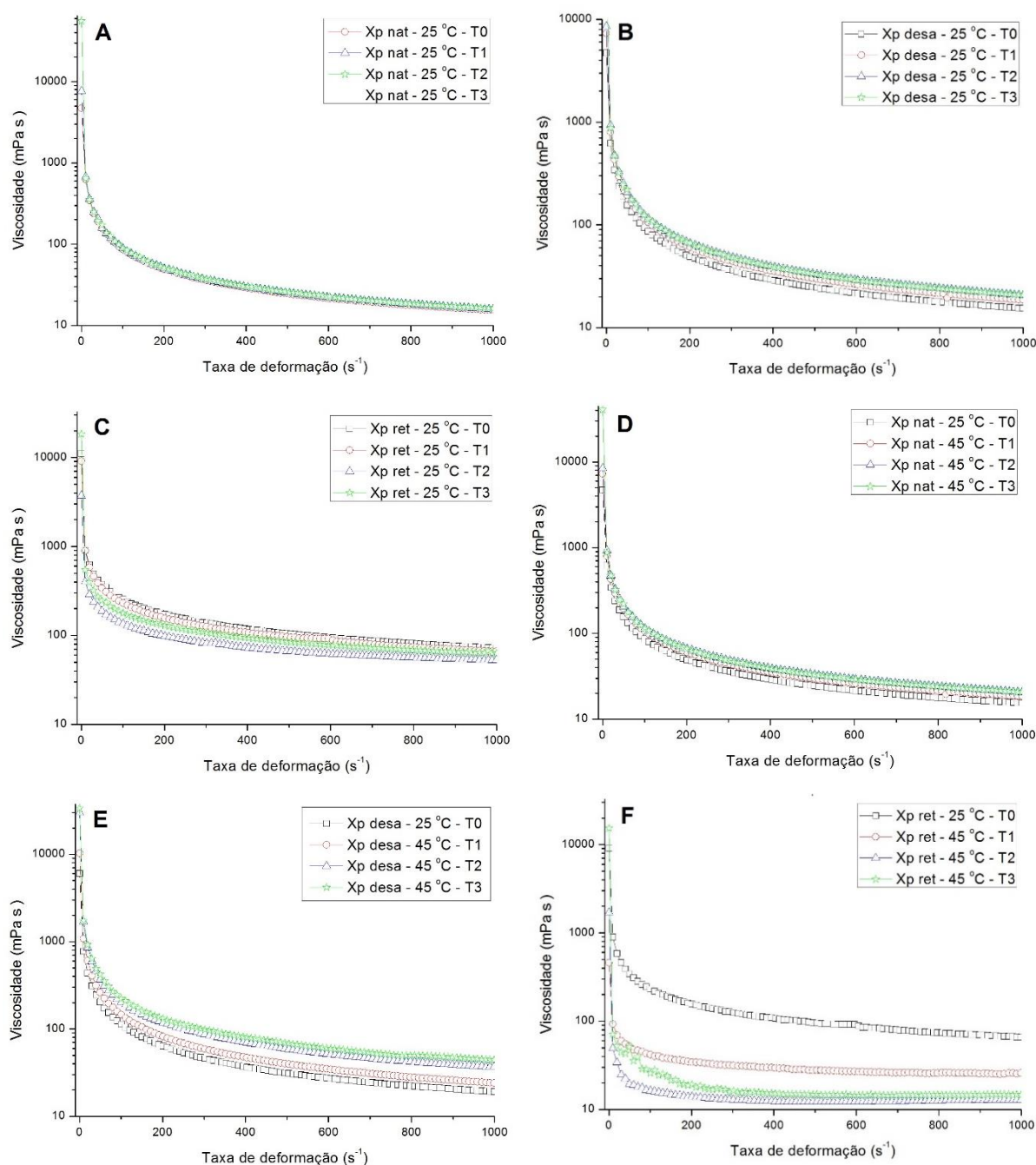


Figura 11. Viscosidade das soluções aquosas das xantanas pruni natural (Xp nat), desacetilada (Xp desa) e reticulada (Xp ret). (A), (B) e (C) armazenadas a 25°C ; (D), (E) e (F) armazenadas a 45°C . T0 - tempo inicial; T1 - após 3 meses de armazenamento; T2 - após 6 meses de armazenamento e T3 - após 9 meses de armazenamento.

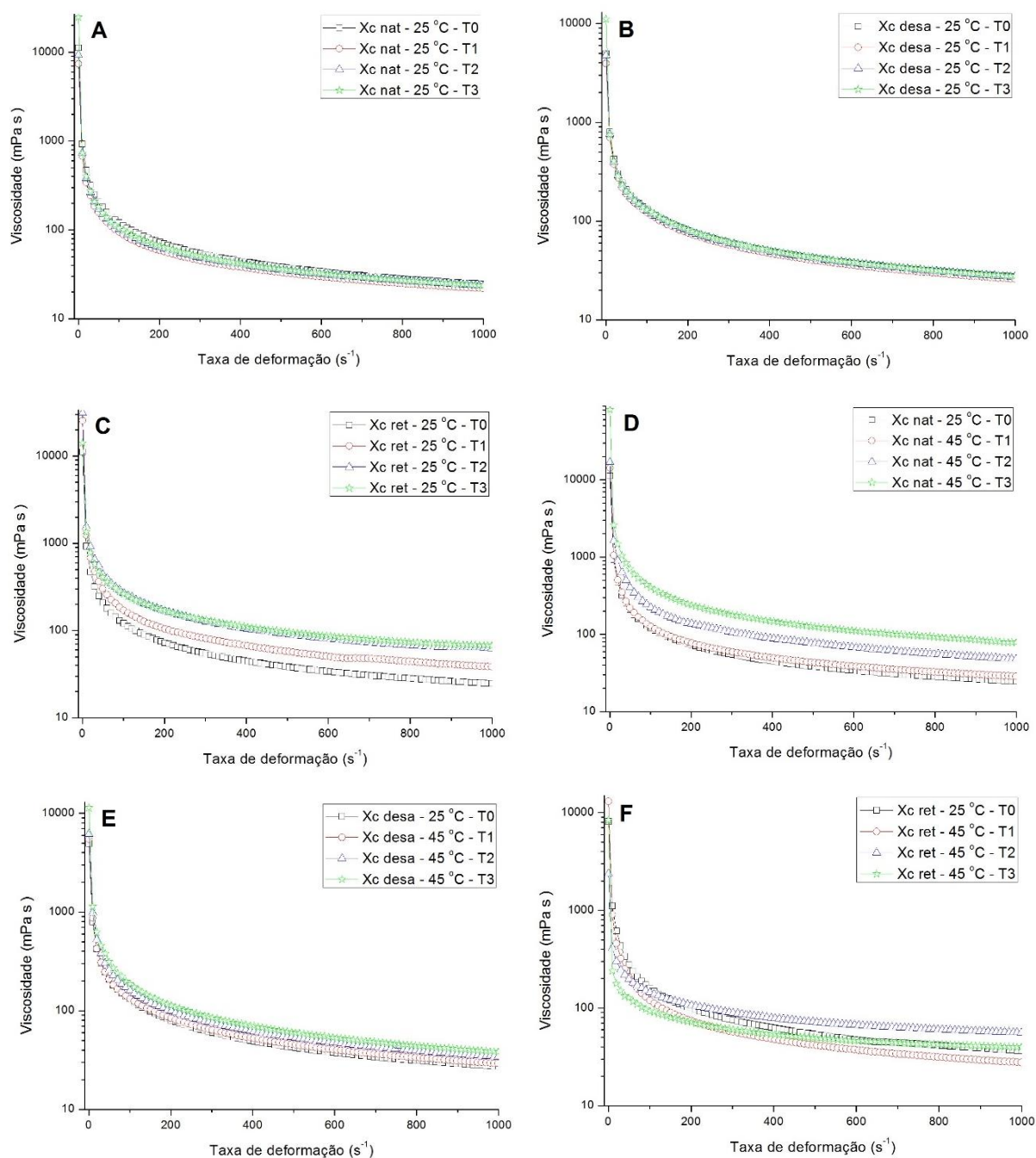


Figura 12. Viscosidade das soluções aquosas das xantanas comercial natural (Xc nat), desacetilada (Xc desa) e reticulada (Xc ret). (A), (B) e (C) armazenadas a 25 °C; (D), (E) e (F) armazenadas a 45 °C. T0 - tempo inicial; T1 - após 3 meses de armazenamento; T2 - após 6 meses de armazenamento e T3 - após 9 meses de armazenamento.

A viscosidade da xantana pruni (Xp nat 25 °C) não apresentou variação entre os tempos de armazenamento, sendo os valores encontrados de 86,1 (T0), 94,6 (T1), 88,6 (T2) e 89,6 (T3), (Figura 11 - A). Já para as xantanas pruni (Xp desa 25 °C) e (Xp ret 25 °C), os valores de viscosidade foram superiores aos observados para a xantana pruni (Xp nat 25 °C) sendo para a desacetilada de 113,0 (T0), 122,0 (T1), 124,0 (T2) e 130,0 (T3) e para a reticulada de 230,0 (T0), 253,0 (T1), 136,0 (T2) e

178,0 (T3) (Figuras 11 - B e C). Entretanto, observa-se que para a xantana pruni (Xp ret 25 °C) nos períodos de armazenamento (T2) e (T3), houve decréscimo na viscosidade em comparação aos períodos (T0) e (T1).

A xantana pruni (Xp nat 45 °C) apresentou um aumento em sua viscosidade durante o período de armazenamento em relação ao tempo inicial (T0), sendo os valores encontrados de 86,1 (T0), 106,0 (T1), 115,0 (T2) e 113,0 (T3), (Figura 11 - D), sendo os valores de viscosidade durante o armazenamento a 45 °C superiores aos valores determinados a 25 °C. O mesmo comportamento foi observado para a xantana pruni (Xp desa 45 °C) com valores de 113,0 (T0), 146,0 (T1), 203,0 (T2) e 222,0 (T3), (Figura 11 - E), sendo estas viscosidade superiores as determinadas para amostra armazenada a 25 °C. A xantana pruni (Xp ret 45 °C), apresentou decréscimo de viscosidade em todos os períodos de armazenamento, com valores de 230,0 (T0), 41,6 (T1), 16,3 (T2) e 25,8 (T3) (Figura 11 - F), sendo esses valores muito inferiores aos observados para a amostra armazenada a 25 °C.

A viscosidade da xantana pruni variam de acordo com a cepa utilizada e as condições de fermentação, como pode ser observado nos trabalhos desenvolvidos por Oliveira et al., (2013) que verificaram viscosidade de 70,0 mPa s para cepa 06, 45,0 mPa s para a cepa 82 e 57,0 mPa s para a cepa 106; Borges et al., (2009) verificaram valor de 45,0 mPa s para a cepa 106, sendo estes valores inferiores ao determinado no presente estudo de 121,0 mPa s, entretanto Klaic, (2016) obteve viscosidade de 208 mPa s para a mesma cepa utilizada neste trabalho. Além das diferenças citadas, ainda é importante notar que o tratamento térmico aplicado após o processo fermentativo, o qual ocorreu com a xantana pruni e a comercial, faz com que a estrutura molecular da xantana passe para a conformação de desordem (*random coil*) e o subsequente resfriamento leva a estrutura a sua forma renaturada na qual são formados os entrelaçamentos e agregados (MOFFAT et al., 2016; MORRIS, 2019).

Os resultados do processo termoquímico de desacetilação para a xantana pruni a 25 °C mostraram um aumento da viscosidade, resultado contrário ao observado por Klaic, (2016), onde houve leve diminuição da viscosidade. Tal fato pode estar associado ao grau de desacetilação obtido, pois no presente estudo a diminuição do teor de acetil foi inferior ao atingido por Klaic, (2016), obtendo-se uma xantana parcialmente desacetilada. Com relação ao processo de reticulação, Klaic, (2016) obteve valor de viscosidade em torno 1100,0 mPa s, sendo superior ao determinado

no presente estudo, entretanto ambos estudos apresentaram o mesmo comportamento, isto é, aumento da viscosidade devido ao processo de reticulação.

Para a xantana pruni, o processo de desacetilação foi favorável para o aumento da viscosidade, especialmente quando armazenada a 45 °C. Já o processo de reticulação mostrou ser aplicável para aumentar a viscosidade em um curto período de tempo, no máximo 3 meses a 25 °C, pois as amostras diminuíram a viscosidade após esse período e mais drasticamente com o armazenamento a 45 °C. Tal diminuição está relacionada a não solubilização total da amostra, mostrando que esse processo químico tende a tornar a xantana insolúvel (Figura 9).

Esses resultados corroboram com a análise de intumescimento, onde a xantana pruni (Xp ret 25 °C) apresentou uma diminuição do grau de inchamento ao longo dos meses (Figura 7 - C). Além disso, a xantana pruni (Xp ret 45 °C) demonstrou um decréscimo de inchamento ao longo das análises (Figura 7 - F). Esse resultado é influenciado pela reticulação com glutaraldeído, o qual substitui parte dos grupos hidroxila e provoca uma alteração na estrutura do polímero.

A xantana comercial (Xc nat 25 °C) apresentou diminuição da viscosidade após o primeiro período de armazenamento (T1) após o qual manteve os valores de viscosidade similares, sendo de 121,0 (T0), 94,6 (T1), 102,0 (T2) e 105,0 (T3), (Figura 12 - A). O mesmo comportamento foi observado para a xantana comercial (Xc desa 25 °C), sendo os valores de viscosidade de 131,0 (T0), 122,0 (T1), 128,0 (T2) e 130,0 (T3), (Figura 12 - B). Para a xantana comercial (Xc ret 25 °C) foi observado aumento significativo da viscosidade nos períodos de armazenamento, sendo os valores de 121,0 (T0), 171,0 (T1), 271,0 (T2) e 263,0 (T3), (Figura 12 - C).

A xantana comercial (Xc nat 45 °C) apresentou aumento da viscosidade durante o período de armazenamento em relação ao tempo inicial (T0), sendo os valores encontrados de 121,0 (T0), 126,0 (T1), 224,0 (T2) e 405,0 (T3), (Figura 12 - D), sendo os valores de viscosidade durante o armazenamento a 45 °C superiores aos valores determinados a 25 °C. O mesmo comportamento foi observado para a xantana comercial (Xc desa 45 °C) com valores de 131,0 (T0), 132,0 (T1), 160,0 (T2) e 187,0 (T3), (Figura 12 - E), sendo estas viscosidade superiores as determinadas para a amostra armazenada a 25 °C. A xantana comercial (Xc ret 45 °C), apresentou decréscimo na viscosidade em todos os períodos de armazenamento, com valores de 121,0 (T0), 120,0 (T1), 145,0 (T2) e 93,1 (T3), (Figura 12 - F), sendo esses valores muito inferiores aos observados para a amostra armazenada a 25 °C.

Para a xantana comercial é possível observar que o processo de desacetilação foi favorável para o aumento da viscosidade, especialmente quando armazenada a 25 °C. Já o processo de reticulação mostrou ser aplicável para aumentar a viscosidade quando armazenada a 25 °C, e desfavorável quando armazenada a 45 °C.

Os valores da viscosidade da xantana comercial natural variam na literatura, sendo descrito por Oliveira et al., (2013) para Xanvis (CP Kelco - USA) em torno de 90 mPa s e por Pinto et al., (2011) para Jungbunzlauer de 76,9 mPa s, enquanto a analisada no presente estudo apresentou valor de 121,0 mPa s.

Para Pinto et al., (2011) o processo de desacetilação da xantana comercial Jungbunzlauer apresentou aumento da viscosidade, de acordo com os resultados desse estudo, entretanto os autores determinaram valor inferior (73,0 mPa s) ao obtido. Tal fato foi esclarecido por Renou et al., (2013) mostrando que o processo de desacetilação aumenta a estrutura ordenada da molécula de xantana e, consequentemente sua viscosidade. O mesmo comportamento foi relatado por Wang et al., (2013) que estudaram a xantana comercial Keltrol (CP KELCO - USA) em variados graus de desacetilação e observaram aumento da fluidez e viscosidade.

Comparando as xantanas pruni e comercial naturais, observa-se que a xantana pruni apresentou valores de viscosidade inferiores em ambas temperaturas e períodos de armazenamento. No processo de desacetilação termoquímica, apresentaram valores semelhantes de viscosidade a 25 °C, mas a 45 °C a xantana pruni (Xp desa 45 °C) apresentou maior incremento na viscosidade para os períodos de armazenamento (T2) e (T3). No processo de reticulação, os comportamentos foram distintos na temperatura de 25 °C, pois a xantana pruni diminuiu a viscosidade durante o armazenamento enquanto a xantana comercial aumentou. Entretanto, no armazenamento a 45 °C ambas xantanas apresentam comportamento semelhante, isto é, ocorreu diminuição nos valores de viscosidade durante o período de armazenamento. Tal fato evidencia a instabilidade das xantanas reticuladas quando armazenadas a 45 °C.

4. AGRADECIMENTO

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da Zona Sul (CEME-SUL) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) pelas análises de microscopia eletrônica

de varredura. Ao Laboratório de Química Analítica III – Laboratório de Eletro Espectro Analítica (LEEA), da Escola de Química e Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), pelas análises de sais.

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível comprovar as diferenças nas propriedades da xantana pruni sintetizada por *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa 106 e da xantana comercial, em relação às modificações químicas realizadas por desacetilação e reticulação, durante o período de armazenamento sob duas condições de temperaturas (25 °C e 45 °C).

A xantana pruni natural (25 °C e 45 °C) é composta por baixo teor de acetil. A desacetilação reduziu ainda mais o teor de acetil na molécula, proporcionando um aumento na viscosidade. A xantana comercial natural (25 °C e 45 °C) apresentou em sua composição, um elevado teor de acetil, e a modificação termoquímica provou ser eficiente com a remoção dos grupos acetila em torno de 87%. A desacetilação proporcionou um incremento na viscosidade. Em relação ao substituinte piruvato, conclui-se que a temperatura de armazenamento e as modificações químicas realizadas, não influenciaram o teor desse substituinte nas xantanas estudadas.

Pode-se concluir que a xantana pruni natural e desacetilada, e a xantana comercial natural, desacetilada e reticulada, em ambas temperaturas (25 °C e 45 °C) apresentaram um aumento no grau de intumescimento com o passar do tempo de análise. A xantana pruni reticulada (25 °C e 45 °C) apresentaram um decréscimo no grau de inchamento e na viscosidade. Comprovando que a reticulação da xantana com glutaraldeído afeta diretamente na solubilidade. A xantana comercial reticulada a 25 °C, demonstrou um incremento na sua viscosidade. Entretanto, a armazenada 45 °C apresentou uma diminuição na sua viscosidade ao longo do período de estocagem.

O estudo da caracterização das propriedades das xantanas pruni e comercial, naturais e modificadas quimicamente ao longo de um período de 9 meses de armazenamento, sob diferentes temperaturas, causou alterações nas xantanas. A realização de modificações químicas em um biopolímero proporciona novos produtos com características específicas.

6. REFERÊNCIAS

- ABBASZADEH, A., LAD, M., JANIN, M., MORRIS, G.A., NAUGHTAN, W.M., SWORN, G. & FOSTER, T.J. (2015). A novel approach to the determination of the pyruvate and acetate distribution in xanthan. *Food Hydrocoll.* 44. p. 162-171.
- BANEGAS, R.S., ZORNIO, C.F., BORGES, A.M.G., PORTO, L.C. & SOLDI, V. (2013). Preparation, Characterization and Properties of Films Obtained from Cross-linked Guar Gum. *Polímeros: Ciência e Tecnologia.* 23(2). p.182-188.
- BEJENARIU, A., POPA, M., DULONG, V., PICTON, L. & CERF, D. (2009). Trisodium trimetaphosphate cross-linked xanthan networks: synthesis, swelling, loading and releasing behaviour. *Polymer Bulletin.* 62. p. 525-538.
- BORGES, C.D., PAULA, R.C.M., FEITOSA, J.P.A. & VENDRUSCOLO, C.T. (2009). The influence of thermal treatment and operational conditions on xanthan produced by *X. arboricola* pv *pruni* strain 106. *Carbohydrate Polymers.* 75. p. 262-268.
- BUENO, V.B., BENTINI, R., CATALANI, L.H. & PETRI, D.F.S. (2013). Synthesis and swelling behavior of xanthan-based hydrogels. *Carbohydrate Polymers.* 92. p. 1091 – 1099.
- BUENO, V.B. & PETRI, D.F.S. (2014). Xanthan hydrogel films: Molecular conformation, charge density and protein carriers. *Carbohydrate Polymers.* 101. p. 897-904.
- CADMUS, M.C., KNUTSON, C.A., LAGODA, A.A., PITTSLEY, J.E. & BURTON, K.A. (1978) Synthetic media for production of quality xanthan gum in 20 liter fermentors. *Biotechnology and Bioengineering.* 20(7). p. 1003-1014.
- CAPRON, I., BRIGAND, G. & MULLER, G. (1997). About the native and renatured conformation of xanthan exopolysaccharide. *Polymer.* 38(21). p. 5289-5295.
- COPINET, A., BLIARD, C. & COUTURIER, Y. (2000). The role played by acetyl group distribution patterns in substituted starch toward enzymatic de-

acetylation and chain fragmentation. *Journal of Polymers and the Environment*. 8(3). p. 111-118.

CASAS, J.A., SANTOS, V.E. & GARCÍA-OCHOA, F. (2000). Xanthan gum production under several operational conditions: molecular structure and rheological properties. *Enzyme and Microbial Technology*. 26. p. 282-291.

ERTEN, T., ADAMS, G.G., FOSTER, T.J. & HARDING, S.E. (2014). Comparative heterogeneity, molecular weights and viscosities of xanthans of different pyruvate and acetate content. *Food Hydrocolloids*. 42(3). p. 335- 341.

GUO, J., GE, L., LI, X., UM, C. & LI, D. (2014). Periodate oxidation of xanthan gum and its crosslinking effects on gelatin-based edible films. *Food Hydrocolloids*. 39. p. 243-250.

GARCÍA-OCHOA, F., SANTOS, V.E., CASAS, J.A. & GÓMEZ E. (2000). Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*. 18(7). p. 549-579.

GONÇALVES, V.L., LARANJEIRA, M.C.M., FÁVERE, V.T., & PEDROSA, R.C. (2005). Effect of crosslinking agents on chitosan microspheres in controlled release of diclofenac sodium. *Polímeros*. 15(1). p. 6-12.

HABIBI, H. & KHOSRAVI-DARANI, K. (2017). Effective variables on production and structure of xanthan gum and its food applications: A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 10. p. 130-140.

HAYNES, W.C., WICKERHAM, L.J. & HESSELTINE, C.W. (1955). Maintenance of cultures of industrially important microorganisms. *Applied Microbiology*. 3. p. 361-368.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. (2004). *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*. 4ª Ed. 1. São Paulo: IMESP. p. 1032.

JAMPALA, S. N.; MANOLACHE, S.; GUNASEKARAN, S.; DENES, F. S. J. \$ AGRIC. (2005), Plasma-Enhanced Modification of Xanthan Gum and Its Effect on Rheological Properties. *Food Chem*. 53(9). p. 3618-3625

JEANES, A., PITTSLEY, J.E., SENTI, F.R. (1961). Polysaccharide B-1459: a

new hydrocolloid polyelectrolyte produced from glucose by bacterial fermentation. *Journal Applied Polymer Science*. 5. p. 519-526.

JEONG, G.Y., BAK, J.H., & YOO, B. (2018). Physical and rheological properties of xanthan gum agglomerated in fluidized bed: Effect of HPMC as a binder. *International Journal of Biological Macromolecules*.

JIN, W., SONG, R., XU, W., WANG, Y., LI, J., SHAH, B.R., LI, Y., LI, B. (2015). Analysis of deacetylated konjac glucomannan and xanthan gum phase separation by film forming. *Food Hydrocolloids*. 48. p. 320-326.

KANG, M., ODERINDE, O., LIU, S., HUANG, Q., MA, W., YAO, F., FU, G. (2019). Characterization of Xanthan gum-based hydrogel with Fe³⁺ ions coordination and its reversible sol-gel conversion. *Carbohydrate Polymers*. 203. p. 139-147.

KLAIC, P.M.A., NUNES, A.M., MOREIRA, A.S., VENDRUSCOLO, C.T., RIBEIRO, A. S. (2011). Determination of Na, K, Ca and Mg in xanthan gum: Sample treatment by acid digestion. *Carbohydrate Polymers*. 83. p. 1895-1900.

KLAIC, P.M.A. (2010). *Desenvolvimento de método de digestão ácida para determinação de sais em xantana e potencialização reológica de xantana de Xanthomonas arboricola pv pruni por troca iônica*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

KLAIC, P.M.A. (2016). *Parâmetros reológicos e resistência térmica de xantana de Xanthomonas arboricola pv pruni: potencialização por desacetilação, reticulação e troca iônica*. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas

KLAIC, P.M.A., VENDRUSCOLO, C.T, FURLAN, L. & MOREIRA, A. S. (2016). Ion exchange as post-fermentative process enhancer of viscosity of xanthan produced by *Xanthomonas arboricola pv pruni*. *Food Hydrocolloids*. 56. p. 118-126.

KOOL, M.M., SCHOLS, H.A., DELAHAIJE, R.J.B.M., SWORN, G., WIERENGA, P.A., & GRUPPEN, H. (2013). The influence of the primary and secondary xanthan structure on the enzymatic hydrolysis of the xanthan backbone. *Carbohydrate Polymers*. 97(2). p. 368-375.

- KOOL, M. M., GRUPPEN, H., SWORN, G. & SCHOLS, H. A. (2013). Comparison of xanthans by the relative abundance of its six constituent repeating units. *Carbohydrate Polymers*. 98. p. 914-921.
- KOOL, M.M., GRUPPEN, H., SWORN, G., & SCHOLS, H.A. (2014). The influence of the six constituent xanthan repeating units on the order-disorder transition of xanthan. *Carbohydrate Polymers*. 104. p. 94-100.
- KUPPUSWAMI, G. M. (2014). Fermentation (Industrial): Production of Xanthan Gum. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*. Editora Elsevier. p. 816-821.
- MCCOMB, E.A. & MCCREADY, R.M. (1957). Determination of acetyl in pectin and in acetylated carbohydrate polymers. *Analytical Chemistry*. 29(5). p. 819-821.
- MELO, C.P.B., MALI, S., GROSSMANN, M.V.E., YAMASHITA, F. & SANTOS, I.C.P.F. (2009). Microestrutura, Isotermas de Adsorção e Permeabilidade ao Vapor de Água de Filmes de Amido de Mandioca e Goma Xantana Produzidos por Extrusão. *Anais do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros*. Foz do Iguaçu/PR.
- MORRIS, R. (2019). Ordered conformation of xanthan in solutions and “weak gels”: Single helix, double helix - or both?. *Food Hydrocolloids*. 86. p. 18-25.
- OLIVEIRA, P.D., VENDRUSCOLO, C.T., BORGES, C.D., MICHEL, R.C., LOMBA, R.T. & MELLO, A.M. (2013). Avaliação Comparativa das Propriedades de Xantanas Produzidas pelo Patovar Pruni e Clairana com Xantana Comercial para Predição de Uso. *Polímeros*. 23(3). p. 417-424.
- PINTO, E.P. (2005). *Desacetilação de xantana: influência no comportamento reológico*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- PINTO, E.P., FURLAN L. & VENDRUSCOLO, C.T. (2011). Chemical Deacetylation Natural Xanthan (Jungbunzlauer®). *Polímeros*. 21(1). p. 47-52.

- PREICHARDT, L.D. (2009). Aplicação de xantana comercial e xantana sintetizada por *Xanthomonas arboricola* pv pruni em bolos sem glúten. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- SLONEKER, J.H. & ORENTAS, D.G. (1962). Pyruvic acid, a unique component of the exocellular bacterial polysaccharide. *Nature*. 194. p. 478-479.
- RENOU, F., PETIBON, O., MALHIAC, C., & GRISEL, M. (2013). Effect of xanthan structure on its interaction with locust bean gum: Toward prediction of rheological properties. *Food Hydrocolloids*. 32(2). p. 331-340.
- RODRIGUES, A.A. (2010). *Avaliação da genotoxicidade e caracterização de xantana produzida por Xanthomonas arboricola pv pruni*. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- SHATWELL, K.P., SUTHERLAND, I.W., DEA, I.C.M. & ROSS-MURPHY, S.B. (1990). The influence of acetyl and pyruvate substituents on the helix-coil transition behavior of xanthan. *Carbohydrate Research*. 206(1). p. 87-103.
- SOUW, P. & DEMAÏN, A.L. (1979). Nutritional Studies on Xanthan Production by *Xanthomonas campestris* NRRL B1459. *Applied and Environmental Microbiology*. 31. p. 1186-1192.
- SERENO, N.M., HILL, S.E. & MITCHELL, J.R. (2007). Impact of the extrusion process on xanthan gum behaviour. *Carbohydrate Research*. 342(10). p. 1333-1342.
- SUKRITI., KAITH, B.S., JINDAL, R., KUMARI, M. & KAUR, M. (2017). Biodegradable-stimuli sensitive xanthan gum based hydrogel: Evaluation of antibacterial activity and controlled agro-chemical release. *Reactive and Functional Polymers*. 120. p. 1-13.
- VENDRUSCOLO, C.T., MOREIRA, A.S., SOUZA, A.S., ZAMBIAZI, R. & SCAMPARINI, A.R.P. (2000). Heteropolysaccharide produced by *Xanthomonas campestris* pv. pruni C24. In: NISHINARI, K. *Hydrocolloids*. Amsterdam: Elsevier. 1. p. 187-191.

- VIEBKE, C. (2004). Order–Disorder Conformational Transition of Xanthan Gum. In: DUMITRIU, S. Editors. *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility*. Second Edition. CRC Press. New York. p. 459-474.
- ZHENG, M., LIAN, F., XIONG, Y., LIU, B., ZHU, Y., MIAO, S., ZHANG, L. & ZHENG, B. (2018). The synthesis and characterization of a xanthan gum-acrylamide-trimethylolpropane triglycidyl ether hydrogel, *Food Chemistry*.
- WANG, L., ZHU, F., YANG, Q., & LU, D. (2013). Rheological properties of modified xanthan and their influence on printing performances on cotton with reactive dyes in screen printing. *Cellulose*. 20(4)
- YE, X., KENNEDY, J.F., LI, B. & XIE, B.J. (2006). Condensed state structure and biocompatibility of the konjac glucomannan/chitosan blend films. *Carbohydrate polymers*. 64(4). p. 532-538.

5 CONCLUSÃO GERAL

O estudo da caracterização das propriedades das xantanas pruni e comercial, naturais e modificadas quimicamente ao longo de um período de 9 meses de armazenamento, sob diferentes temperaturas (25 °C e 45 °C), promoveu alterações nas xantanas. De forma geral, a temperatura de 45 °C mostrou alterações no grau de intumescimento e nos parâmetros reológicos das xantanas. A desacetilação mostrou-se eficaz e influenciou nos parâmetros reológicos. Já a reticulação influenciou as propriedades reológicas e de intumescimento. Entretanto, é necessário um estudo mais ampliado sobre o grau de reticulação, que pode proporcionar alterações na solubilidade da goma.

6 REFERÊNCIAS

- ALUPEI, I.C., POPA, M., HAMCERENCU, M. & ABADIE, M.J.M. (2002). Superabsorbant hydrogels based on xanthan and poly(vinyl alcohol) 1. The study of the swelling properties. *European Polymer Journal*. 38. p. 2313-2320.
- ANTUNES, A.E.C., MOREIRA, A.S., VENDRUSCOLO, J.L.S. & VENDRUSCOLO, C.T. (2000). Síntese de biopolímero xantana em meios convencionais e alternativos: viscosidade x composição. *Revista Brasileira de Agrociência*. 6(2). p. 83-87.
- ANTUNES, A.E.C., MOREIRA, A.S., VENDRUSCOLO, J.L.S. & VENDRUSCOLO, C.T. (2003). Screening of *Xanthomonas campestris* pv *pruni* strains according to their production of xanthan and its viscosity and chemical composition. *Brazilian Journal of Food Technology*. 6(2). p. 317-322.
- BECKER, A., KATZEN, F., PÜHLER, A. & IELPI, L. (1998). Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 50. p. 145-152.
- BEJENARIU, A., POPA, M., CERF, D. & PICTON, L. (2008). Stiffness xanthan hydrogels: synthesis, swelling characteristics and controlled release properties. *Polymer Bulletin*. 61. p. 631-641.
- BEJENARIU, A., POPA, M., DULONG, V., PICTON, L. & CERF, D. (2009). Trisodium trimetaphosphate cross-linked xanthan networks: synthesis, swelling, loading and releasing behaviour. *Polymer Bulletin*. 62. p. 525-538.
- BORGES, C.D., MOREIRA, A.S., VENDRUSCOLO, C.T. & AYUB, M.A.Z. (2008). Influence of agitation and aeration in xanthan production by *Xanthomonas campestris* pv *pruni* strain 101. *Revista Argentina de Microbiología*. 40. p. 81-85.
- BORGES, C.D., PAULA, R.C.M., FEITOSA, J.P.A. & VENDRUSCOLO, C.T. (2009). The influence of thermal treatment and operational conditions on xanthan produced by *X. arboricola* pv. *pruni* strain 106. *Carbohydrate Polymers*. 75. p. 262-268.
- BORGES, C.D. & VENDRUSCOLO, C.T. (2007). Xanthan synthesized by

strains of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni*: production, viscosity and chemical composition. *Bioscience Journal*. 23(4). p. 67-73.

BORN, K., LANGENDORFF, V. & BOULENGUER, P. (2002). Xanthan, In: STEINBÜCHEL, A., VANDAMME, E.J. & BAETS, S. *Biopolymers*. 5. p. 261-269. Weinheim: Wiley-VCH.

BOROWSKI, J. M. (2011). *Influência de métodos clássicos e alternativos de preservação de cepas de Xanthomonas arboricola pv pruni na produção, viscosidade e composição química da xantana*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

BRADSHAW, I.J., NISBET, B.A., KERR, M.H. & SUTHERLAND, I.W. (1983). Modified Xanthan - Its Preparation and Viscosity. *Carbohydrate Polymers*. 3(1). p. 23-38

BUENO, V.B., BENTINI, R., CATALANI, L. H. & PETRI, D. F. S. (2013) Synthesis and swelling behavior of xanthan-based hydrogels. *Carbohydrate Polymers*. 92. p. 1091-1099.

BUENO, V.B. & PETRI, D.F.S. (2014). Xanthan hydrogel films: Molecular conformation, charge density and protein carriers. *Carbohydrate Polymers*. 101. p. 897-904.

CADMUS, M.C., ROGOVIN, S.P., BURTON, K.A., PITTSLEV, J.E., KNUTSON, C.A. & JEANES, A. (1976). Colonial variation in *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 and characterization of the polysaccharide from a variant strain. *Canadian Journal of Microbiology*. 22. p. 942-948.

CALLET, F., MILAS, M. & RINAUDO, M. (1987). Influence of acetyl and pyruvate contents on rheological properties of xanthan in dilute solution. *International Journal of Biological Macromolecules*. 9(5). p. 291-293.

CALLET, F., MILAS, M. & RINAUDO, M. (1989). On the role of thermal treatments on the properties of xanthan solutions. *Carbohydrate Polymers*. 11(2). p. 127-137.

CAPRON, I., BRIGAND, G. & MULLER, G. (1997). About the native and renatured conformation of xanthan exopolysaccharide. *Polymer*. 38(21). p. 5289-5295.

- CAPRON, I., BRIGAND, G. & MULLER, G. (1998). Thermal denaturation and renaturation of a fermentation broth of xanthan: Rheological consequences. *International Journal of Biological Macromolecules*. 23. p. 215-225.
- CASAS, J.A., SANTOS, V.E. & GARCÍA-OCHOA, F. (2000). Xanthan gum production under several operational conditions: molecular structure and rheological properties. *Enzyme and Microbial Technology*. 26. p. 282-291.
- COMEXSTAT, Portal para acesso gratuito às estatísticas de comércio exterior do Brasil, Acessado em 8 out. 2018. Online. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/home>.
- COVIELLO, T., MATRICARDI, P., MARIANECCI, C., & ALHAIQUE, F. (2007). Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. *Journal of Controlled Release*. 119(1). p. 5-24.
- CURY, B.S.F., CASTRO, A.D., KLEIN, S.I. & EVANGELISTA, R.C. (2009). Modeling a system of phosphated cross-linked high amylose for controlled drug release. Part 2: Physical parameters, cross-linking degrees and drug delivery relationships. *International Journal of Pharmaceutics*. 371(1-2). p. 8-15.
- DAVIDSON, I.W. (1978). Production of polysaccharide by *Xanthomonas campestris* in continuous culture. *FEMS Microbiology Letters*. 3. p. 347-349.
- DIAZ, P. (2002). Influência de parâmetros físicos e químicos e da adição de íons no comportamento reológico de gomas xantana. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- ERTEN, T., ADAMS, G.G., FOSTER, T.J. & HARDING, S.E. (2014). Comparative heterogeneity, molecular weights and viscosities of xanthans of different pyruvate and acetate content. *Food Hydrocolloids*. 42(3). p. 335- 341.
- FLORES CANDIA, J.L., & DECKWER, W.D. (1999). Effect of the nitrogen source on pyruvate content and rheological properties of xanthan. *Biotechnology Progress*. 15(3). 446-452.

- GARCÍA-OCHOA, F., SANTOS, V.E., CASAS, J.A. & GÓMEZ E. (2000). Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*. 18(7). p. 549-579.
- GLIKO-KABIR, I., PENHASI, A. & RUBENSTEIN, A. (1999). Characterization of cross-linked guar by thermal analysis. *Carbohydrate Research*. 316. p. 6-13.
- GLIKO-KABIR, I., YAGEN, B., PENHASI, A. & RUBENSTEIN, A. (1998). Low Swelling, Crosslinked Guar and Its Potential Use as Colon-Specific Drug Carrier. *Pharmaceutical Research*. 15(7). p. 1019-1025.
- GULREZ, S.K.H., AL-ASSAF, S., FANG, Y., PHILLIPS, G.O. & GUNNING, A.P. (2012). Revisiting the conformation of xanthan and the effect of industrially relevant treatments. *Carbohydrate Polymers*. 90. p. 1235-1243.
- HAMCERENCU, M., DESBRIERES, J., POPA, M., KHOUKH, A. & RIESS, G. (2007). New unsaturated derivatives of xanthan gum: synthesis and characterization. *Polymer*. 48. p. 1921-1929.
- HASSLER, R.A. & DOHERTY, D.H. (1990). Genetic engineering of polysaccharide structure: production of variants of xanthan gum in *Xanthomonas campestris*. *Biotechnology Progress*. 6. p. 182-187.
- HAYNES, W.C., WICKERHAM, L.J. & HESSELTINE, C.W. (1955). Maintenance of cultures of industrially important microorganisms. *Applied Microbiology*. 3. p. 361-368.
- JANSSON, P., KENNE, L. & LINDBERG, B. (1975). Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. *Carbohydrate Research*. 45(1). p. 275-282.
- JEANES, A.R. & SLONEKER, J.H. (1961). UNITED STATES, SECRETARY OF AGRICULTURE. *Method of producing an atypically salt-responsive alkalideacetylated polysaccharide*. U. S., Patente n. 3 000 790, 19 set.
- JEONG, G.Y., BAK, J.H., & YOO, B. (2018). Physical and rheological properties of xanthan gum agglomerated in fluidized bed: Effect of HPMC as a binder. *International Journal of Biological Macromolecules*.

- JIN, W., SONG, R., XU, W., WANG, Y., LI, J., SHAH, B.R., LI, Y. & LI, B. (2015). Analysis of deacetylated konjac glucomannan and xanthan gum phase separation by film forming. *Food Hydrocolloids*. 48. p. 320-326.
- JUNGBUNZLAUER, Xanthan Gum A hydrocolloid with outstanding properties. Acessado em 13 jan. 2019. Online. Disponível em: https://www.jungbunzlauer.com/fileadmin/content/_PDF/PRINT_PROJECTS/Folder/JBL_FO_Xanthan_Gum_2017-043.pdf
- KATZBAUER, B. (1998). Properties and applications of xanthan gum. *Polymer Degradation and Stability*. 59. p. 81-84.
- KANG, M., ODERINDE, O., LIU, S., HUANG, Q., MA, W., YAO, F. & FU, G. (2019). Characterization of Xanthan gum-based hydrogel with Fe³⁺ ions coordination and its reversible sol-gel conversion. *Carbohydrate Polymers*. 203. p. 139-147.
- KENNEDY, J.R.M., KENT, K.E. & BROWN, J. R. (2015). Rheology of dispersions of xanthan gum, locust bean gum and mixed biopolymer gel with silicon dioxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering*. 48. p. 347-353.
- KLAIC, P.M.A. (2010). *Desenvolvimento de método de digestão ácida para determinação de sais em xantana e potencialização reológica de xantana de Xanthomonas arboricola pv pruni por troca iônica*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- KLAIC, P.M.A., VENDRUSCOLO, C.T, FURLAN, L. & MOREIRA, A. S. (2016). Ion exchange as post-fermentative process enhancer of viscosity of xanthan produced by *Xanthomonas arboricola pv pruni*. *Food Hydrocolloids*. 56. p. 118-126.
- KLAIC, P.M.A. (2016). *Parâmetros reológicos e resistência térmica de xantana de Xanthomonas arboricola pv pruni: potencialização por desacetilação, reticulação e troca iônica*. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas
- KOOL, M.M., GRUPPEN, H., SWORN, G., & SCHOLS, H.A. (2014). The influence of the six constituent xanthan repeating units on the order–

disorder transition of xanthan. *Carbohydrate Polymers*. 104. p. 94-100.

- KOOL, M.M., SCHOLS, H.A., DELAHAIJE, R.J.B.M., SWORN, G., WIERENGA, P.A., & GRUPPEN, H. (2013). The influence of the primary and secondary xanthan structure on the enzymatic hydrolysis of the xanthan backbone. *Carbohydrate Polymers*. 97(2). p. 368-375.
- LEFEBVRE, J. & DOUBLIER, J.L. (2004). Rheological Behavior of Polysaccharides Aqueous Systems. In: DUMITRIU, S. Editors. *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility*. Second Edition. CRC Press. New York. p. 459-474.
- LINDBLAD, M.S. & ALBERTSSON, A.C. (2004). Chemical Modification of Hemicelluloses and Gums. In: DUMITRIU, S. Editors. *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility*. Second Edition, CRC Press. New York. p. 459-474.
- LIU, W. & NORISUYE, T. (1988). Thermally induced conformation change of xanthan – Interpretation of viscosity behaviour in 0.01 M Aqueous sodium-chloride. *International Journal of Biological Macromolecules*. 10(1). p. 44-50.
- MELTON, L.D., MINDT, L., REES, D.A. & SANDERSON, G.R. (1976). Covalent structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*: evidence from partial hydrolysis studies. *Carbohydrate Research*. 46 p. 245-257.
- MILAS, M., REED, W.F. & PRINTZ, S. (1996). Conformations and flexibility of native and re-natured xanthan in aqueous solutions. *International Journal of Biological Macromolecules*. 18(3). p. 211-221.
- MOREIRA, A.S., VENDRUSCOLO, J.L.S., GIL-TUNES, C. & VENDRUSCOLO, C.T. (2001). Screening among 18 novel strains of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni*. *Food Hydrocolloids*. 15(4-6). p. 469-474.
- MOREIRA, A.S. (2002). *Produção, caracterização e aplicação de biopolímero sintetizado por cepas de Xanthomonas campestris pv pruni*. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Centro de Biotecnologia, UFPel.
- MORRIS, R. (2019). Ordered conformation of xanthan in solutions and “weak gels”: Single helix, double helix - or both?. *Food Hydrocolloids*, 86. p. 18-25.

- MORRIS, V.J. (2006). Bacterial polysaccharides. In: STEPHEN, A.M., PHILLIPS, G.O. & WILLIAMS, P.A. *Food polysaccharides and their applications*. London: Taylor & Francis. p. 413-454.
- OLIVEIRA, P.D., VENDRUSCOLO, C.T., BORGES, C.D., MICHEL, R.C., LOMBA, R.T. & MELLO, A.M. (2013). Avaliação Comparativa das Propriedades de Xantanas Produzidas pelo Patovar Pruni e Clairana com Xantana Comercial para Predição de Uso. *Polímeros*. 23(3). p. 417-424.
- ORENTAS, D.G., SLONEKER, J.H. & JEANES, A. (1963). Pyruvic acid content and constituent sugars of exocellular polysaccharides from different species of the genus *Xanthomonas*. *Canadian Journal of Microbiology*. 9(3). p. 427-430.
- PETRI, D.F.S. (2015). Xanthan gum: A versatile biopolymer for biomedical and technological applications. *Journal Of Applied Polymer science*. 132(23).
- PINTO, E.P. (2005). *Desacetilação de xantana: influência no comportamento reológico*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- PINTO, E.P., FURLAN L. & VENDRUSCOLO, C.T. (2011). Chemical Deacetylation Natural Xanthan (Jungbunzlauer®). *Polímeros*. 21(1). p. 47-52.
- POON, L., WILSON, L.D. & HEADLEY, J.V. (2014). Chitosan-glutaraldehyde copolymers and their sorption properties. *Carbohydrate Polymers*. 109. p. 92-101.
- PRADELLA, J.G.C. (2006). Biopolímeros e Intermediários Químicos. *Centro de Gestão e Estudos Estratégicos*. São Paulo. p. 119.
- PREICHARDT, L.D. (2009). *Aplicação de xantana comercial e xantana sintetizada por Xanthomonas arboricola pv pruni em bolos sem glúten*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- PREICHARDT, L.D. & KLAIC, P.M.A. (2016). Xanthan Gum Application in

Food. In: BUTLER, M. *Xanthan Gum Applications and Research Studies*. New York Nova Science Publisher's. Inc. 1. p. 1-32.

RENAUD, M., BELGACEM, M.N. & RINAUDO, M. (2005). Rheological behaviour of polysaccharide aqueous solutions. *Polymer*. 46(26). p.12348–12358

RENOU, F., PETIBON, O., MALHIAC, C. & GRISEL, M. (2013). Effect of xanthan structure on its interaction with locust bean gum: Toward prediction of rheological properties. *Food Hydrocolloids*. 32(2). p. 331-340.

RICHARDSON, R.K. & ROSS-MURPHY, S.B. (1987). Non-linear viscoelasticity of polysaccharide solutions. 2: Xanthan polysaccharide solutions. *International Journal of Biological Macromolecules*. 9. p. 257-264.

ROCHEFORT, W.E. & MIDDLEMAN, S. (1987). Rheology of xanthan gum: salt, temperature, and strain effects in oscillatory and steady shear experiments. *J. Rheol.* 31. p. 337.

ROCKS, J.K. (1971). Xanthan gum. *Food Technology*. 25. p. 476-483.

RODRIGUES, A.A. (2010). *Avaliação da genotoxicidade e caracterização de xantana produzida por Xanthomonas arboricola pv pruni*. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

ROSALAM, S. & ENGLAND, R. (2006). Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas campestris* sp. *Enzyme and Microbial Technology*. 39(2). p. 197-207.

MARTÍNEZ-RUVALCABA, A., CHORNET, E. & RODRIGUE, D. (2007). Viscoelastic properties of dispersed chitosan/xanthan hydrogels. *Carbohydrate Polymers*. 67. p. 586-595.

SANDFORD, P.A., PITTSLEY, J.E., KNUTSON, C.A., WATSON, P.R., CADMUS, M.C. & JEANES, A. (1977). Variation in *Xanthomonas campestris* NRRL B – 1459: characterization of xanthan products of differing pyruvic acid content. *Extracellular Microbial Polysaccharides*. 015. p. 192-210.

- 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 out. 2018. Online. Disponível em: <https://www.alliedmarketresearch.com/xanthan-gum-market>
- SMITH, I.H., SYMES, K.C., LAWSON, C.J. & MORRIS, E.R. (1981). Influence of the pyruvate content of xanthan on macromolecular association in solution. *International Journal of Biological Macromolecules*. 3(2). p. 129-134.
- SOUZA, A.S. & VENDRUSCOLO, C.T. (1999). Produção e caracterização dos biopolímeros sintetizados por *Xanthomonas campestris* pv pruni cepas 24 e 58. *Ciência e Engenharia*. 8(2). p. 115-123.
- SHATWELL, K.P. & SUTHERLAND, I.W. (1991). Influence of the Acetyl Substituent on the Interaction of Xanthan with Plant Polysaccharides -- III. Xanthan-Konjac Mannan Systems. *Carbohydrate Polymers*. 14. p. 131-147.
- SHATWELL, K.P., SUTHERLAND, I.W., DEA, I.C.M. & ROSS-MURPHY, S.B. (1990). The influence of acetyl and pyruvate substituents on the helix-coil transition behavior of xanthan. *Carbohydrate Research*. 206(1). p. 87-103.
- SUKRITI., KAITH, B.S., JINDAL, R., KUMARI, M. & KAUR, M. (2017). Biodegradable-stimuli sensitive xanthan gum based hydrogel: Evaluation of antibacterial activity and controlled agro-chemical release. *Reactive and Functional Polymers*. 120. p. 1-13.
- SUTHERLAND, I.W. (2001a). Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky Framework. *Microbiology*. 147. p. 3-9.
- SUTHERLAND, I.W. (2001b) Microbial polysaccharides from gram-negative bacteria. *International Dairy Journal*. 11. p. 663-674.
- TAKO, M. & NAKAMURA, S. (1984). Rheological Properties of Deacetylated Xanthan Aqueous Media. *Agricultural and Biological Chemistry*. 48(12). p. 2987-2993.

- TAKO, M. & NAKAMURA, S. (1985). Synergistic interaction between xanthan and guar gum. *Carbohydrate Research*. 138(2). p. 207-213.
- XU, L., DONG, M., GONG, H., SUN, M., & LI, Y. (2015). Effects of inorganic cations on the rheology of aqueous welan, xanthan, gellan solutions and their mixtures. *Carbohydrate Polymers*. 121. p. 147-154.
- VENDRUSCOLO, C.T., MOREIRA, A.S., SOUZA, A.S., ZAMBIAZI, R. & SCAMPARINI, A.R.P. (2000). Heteropolysaccharide produced by *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* C24. In: NISHINARI, K. *Hydrocolloids*. Amsterdam: Elsevier. 1. p. 187-191.
- VIEBKE, C. (2004). Order–Disorder Conformational Transition of Xanthan Gum. In: DUMITRIU, S. Editors. *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility*. Second Edition. CRC Press. New York. p. 459-474.
- ZHAO, D., LIU, H., GUO, W., QU, L. & LI, C. (2016). Effect of inorganic cations on the rheological properties of polyacrylamide/xanthan gum solution. *Journal of Natural Gas Science and Engineering*. 31. p. 283-292.
- ZHOU, Z., LIN, S., YUE, T. & LEE, T.C. (2014). Adsorption of food dyes from aqueous solution by glutaraldehyde cross-linked magnetic chitosan nanoparticles. *Journal of Food Engineering*. 126. p.133-141.