

ANÁLISE DO TEOR DE ACETIL E PIRUVATO DA XANTANA SINTETIZADA POR *XANTHOMONAS ARBORÍCOLA* PV. PRUNI CEPA 106 MODIFICADA QUÍMICAMENTE POR DESACETILAÇÃO DURANTE ARMAZENAMENTO

BRUNA DE OLIVEIRA MOLON¹; BIANCA DE OLIVEIRA MOLON²; PATRICIA DIAZ DE OLIVEIRA³

¹*Universidade Federal de Pelotas – bbruna_molon@hotmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – bbmolon@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – bilicadiaz@yahoo.com.br*

1. INTRODUÇÃO

A goma xantana é um polissacarídeo extracelular produzido por espécies de bactérias fitopatogênicas do gênero *Xanthomonas* (BECKER et al., 1998). O patovar pruni é o causador da mancha bacteriana em espécies do gênero *Prunus* (CIVEROLO; HATTINGH, 1993), como o pessegueiro e a ameixeira. A xantana comercial é produzida por cepas das bactérias *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (SUTHERLAND, 1993).

A composição química da goma é formada por estrutura primária contendo unidades de pentasacarídeos repetidas (Figura 1), sendo formadas por duas unidades de D-glicose, duas unidades de D-manoze e uma unidade de ácido D-glicurônico, sendo a estrutura química da cadeia principal idêntica à da celulose (GARCIA-OCHOA et al., 2000) possuindo proporções variáveis de resíduos de acetil e piruvato.

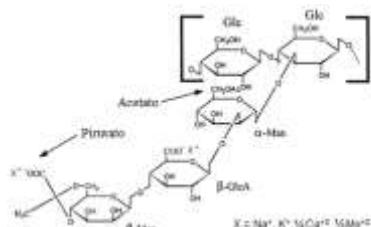


Figura 1: Unidade de repetição pentassacarídica da goma xantana.

Fonte: adaptado de VIEBKE (2004)

A modificação química de xantana pode ocorrer através do uso de diferentes meios de produção, alterações nas condições operacionais ou com substâncias químicas, conforme relatado por KLAIC et al. (2016).

A desacetilação permite a remoção dos substituintes acetila da xantana pela aplicação de base. Os níveis de concentração da base empregada podem alterar a desacetilação da xantana (TAKO; NAKAMURA, 1984). Os resíduos de acetila que estão ligados aos resíduos internos da cadeia da manose, das cadeias laterais, contribuem para a associação intramolecular da xantana, e as cadeias laterais tornam-se mais flexíveis após a desacetilação.

Na literatura são descritos diversos valores para os teores de acetil e piruvato para xantana e não há uma determinação de teores mínimo e máximo. No entanto, é preconizado um teor de piruvato mínimo de 1,5% para xantanás comerciais, porém valores variando entre 0,24 e 6,0% são descritos no trabalho de OLIVEIRA et al. (2008). Os autores ainda relataram em sua pesquisa bibliográfica teores de acetila registrados na literatura, variando 0,2 e 14,3%.

Este trabalho teve por objetivo analisar os conteúdos de acetil e piruvato da xantana sintetizada por *Xanthomonas arborícola* pv pruni cepa 106 e da xantana

comercial Jungbunzlauer® (Suíça) modificadas termoquimicamente por desacetilação e armazenadas a temperatura ambiente por 6 meses.

2. METODOLOGIA

2.1 Produção da xantana

Para produção da xantana pruni foi utilizada a cepa 106 de *Xanthomonas arboricola* pv pruni e realizada em 7 L de meio de cultivo MPII contendo (gL^{-1}): 50,0 sacarose; 1,5 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$; 2,5 K_2HPO_4 ; 5,0 KH_2PO_4 ; 2,0 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,3 MgSO_4 (CADMUS et al., 1978) em biorreatador de bancada (Biostat B - New Brunswick) a 28 °C, 400 rpm, 1 vvm de aeração, 66 h com pH controlado em 7,0.

A recuperação foi realizada por precipitação com etanol 96% (razão etanol:caldo de 4:1 (vv⁻¹)), após a esterilização dos caldos fermentados a 121 °C por 15 min. A xantana recuperada foi seca a 56 °C, em estufa até peso constante e trituradas à granulometria de 60 – 150 mesh.

2.2 Modificação termoquímica - Desacetilação

A reação de desacetilação foi realizada com NaOH em duas etapas, utilizando Erlenmeyers de 500 mL. As amostras de xantana na concentração de 1% (mv⁻¹) foram diluídas em 150 mL de água Mili-Q e solubilizadas em agitador incubador orbital com agitação de 200 rpm a 25 °C, durante 24 horas. Em seguida, foram adicionados 150 mL de NaOH 0,02 mol L⁻¹ e a reação ocorreu por 3 h a 45 °C. Após, as soluções foram neutralizadas com HCl 2 mol L⁻¹ e a recuperação realizada conforme descrito no item 2.1.

2.3 Determinação do conteúdo de acetila e piruvato

Os teores de acetila foram avaliados pelo método colorimétrico do ácido hidroxâmico proposto por MCCOMB & MCCREADY (1957) e o teor de piruvato pelo método colorimétrico da 2,4-dinitrofenilhidrazina (SLONEKER & ORENTAS; 1962), sendo realizadas em intervalos de tempo e as amostras de xantana armazenadas a temperatura ambiente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as amostras no tempo inicial, foi observado que o teor de acetila da xantana pruni natural é condizente com os preconizados na literatura, pois são descritos valores de 3,5% (BORGES et al., 2007) para cepa 106 e 2,76% (OLIVEIRA et al., 2008) para cepa 06, conforme Tabela 1. Para a xantana comercial natural, o teor determinado foi superior aos descritos na literatura, sendo relatado 4,1% para xantana Jungbunzlauer® por PINTO (2005) e 5,14% para xantana Kelco® por WANG et al. (2002). Uma desacetilação parcial foi obtida nas xantanas pruni e comercial pelo processo de desacetilação termoquímica e os teores observados são condizentes com os reportados na literatura (PINTO, 2005; KLAIC, 2016). Foi observada diminuição nos teores de acetila em todas as xantanas durante o período de armazenamento. Não há relatos na literatura sobre análises de estrutura química de xantana durante um período de armazenamento, somente foi analisada a viscosidade de uma amostra de xantana durante 12 meses e não foram observadas alterações significativas (FAO, 2016).

Tabela 1 – Teor de acetila das xantanas pruni e comercial naturais e desacetiladas

Xantana	Teor de acetila (% p p ⁻¹)		
	Amostra inicial	Após 4 meses	Após 6 meses
Pruni natural	2,81±0,27 ^{a,B}	1,33±0,32 ^{b,B}	1,66±0,06 ^{b,B}
Pruni desacetilada	1,51±0,37 ^{a,C}	0,91±0,20 ^{b,BC}	0,57±0,02 ^{b,C}
Comercial natural	6,19±0,25 ^{a,A}	5,34±0,29 ^{A,b}	4,49±0,32 ^{A,c}
Comercial desacetilada	0,95±0,02 ^{a,C}	0,58±0,06 ^{b,C}	0,55±0,01 ^{b,C}

Valores = médias ± SD; n = 3. Linhas com letras minúsculas diferentes e colunas com letras maiúscula diferentes, são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p<0,05).

O teor de piruvato determinado para a xantana pruni natural está entre os valores relatados na literatura para a mesma cepa de 0,78% (OLIVEIRA et al., 2008) e 0,31% (BORGES et al., 2007). A xantana comercial apresentou valor superior ao encontrado para xantana Jungbunzlauer® (PINTO, 2005) de 3,6% e para xantana Kelco® (WANG et al., 2002) de 4,4%. O processo de desacetilação parcial pode afetar o teor de piruvato nas xantanas sendo observada pequena diminuição (KLAIC, 2016). Em nosso estudo esse comportamento não foi observado.

Tabela 2 – Teor de piruvato das xantanas pruni e comercial naturais e desacetiladas

Xantana	Teor de piruvato (% p p ⁻¹)		
	Amostra inicial	Após 4 meses	Após 6 meses
Pruni natural	0,46±0,08 ^{a,C}	0,4±0,01 ^{a,C}	0,37±0,07 ^{a,C}
Pruni desacetilada	0,56±0,06 ^{a,C}	0,38±0,03 ^{b,C}	0,32±0,05 ^{b,C}
Comercial natural	8,74±0,36 ^{a,A}	3,66±0,09 ^{b,B}	3,60±0,29 ^{b,B}
Comercial desacetilada	7,98±0,17 ^{a,B}	5,78±0,01 ^{A,b}	5,10±0,46 ^{A,c}

Valores = médias ± SD; n = 3. Linhas com letras minúsculas diferentes e colunas com letras maiúscula diferentes, são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p<0,05).

4. CONCLUSÕES

Pode-se concluir foi possível realizar a desacetilação termoquímica das xantanas pruni e comercial e analisar as mudanças em suas estruturas, através das análises realizadas ao longo do período de armazenamento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECKER, A.; KATZEN, F.; PÜHLER, A.; IELPI, L. Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 50, p. 145-152, 1998.

BORGES, C. D; VENDRUSCOLO, C. T. Xanthan Synthesized by Strains of *Xanthomonas campestris* pv pruni: Production, Viscosity and Chemical Composition. **Bioscience Journal**, v. 23,n. 4, p. 67-73, 2007.

CADMUS, M. C.; KNUTSON, C. A.; LAGODA, A. A.; PITTSLEY, J. E.; BURTON, K. A. Synthetic media for production of quality xanthan gum in 20 liter fermentors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 20, n. 7, p. 1003 -1014, 1978.

CIVEROLO, E. L; HATTINGH, M.J. *Xanthomonas campestris* pv *pruni*: Cause of Prunus Bacterial Spot. In: SWINGS, J. G; CIVEROLO, E. L. *Xanthomonas*. London: Chapman & Hall, 1993. p.-60-64.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 82nd JECFA - Chemical and Technical Assessment (CTA), 2016. XANTHAN GUM - Chemical and Technical Assessment (CTA). Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-br568e.pdf>. Acessado em 04/09/18.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V.E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery and properties. **Biotechnology Advances**, New York, v. 18, n. 7, p. 549-579, nov. 2000.

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

MCCOMB, E. A.; MCCREADY, R. M. Determination of acetyl in pectin and in acetylated carbohydrate polymers. **Analytical Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 819-821, 1957.

OLIVEIRA, P. D.; VENDRUSCOLO, C. T.; BORGES, C. D.; MICHEL, R. C.; LOMBA, R. F. T. Avaliação Comparativa das Propriedades de Xantanas Produzidas pelo Patovar Pruni e Clairana com Xantana Comercial para Predição de Uso. **Polímeros Ciência e Tecnologia**, vol.23, n.3, p.417-424, 2013.

PINTO, E. P. **Desacetilação de xantana: influência no comportamento reológico.** 2005, 94p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SLONEKER, J. H., ORENTAS, D. G. Pyruvic acid, a unique component of an exocellular bacterial polysaccharide. **Nature**, v. 194, p. 478-479, 1962.

SUTHERLAND, I. W. - “**Xanthan**”, in: *Xanthomonas*, SWINGS, J. G. & CIVEROLO, E. L. (eds.), Chapman & Hall, London (1993).

TAKO, M.; NAKAMURA, S. Rheological Properties of Deacetylated Xanthan in Aqueous Media. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 48, n. 12, p. 2987 – 2993, 1984

VIEBKE, C. **Order–Disorder Conformational Transition of Xanthan Gum.** In: DUMITRIU, S. Editors. Polysaccharides: structural diversity and functional versatility. Second Edition, CRC Press, New York, 2004. p. 459 – 474.

WANG, F; WANG, Y; SUN, Z. Food chemistry and toxicology: conformational role of xanthan gum in its interaction with guar gum. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 9, p. 3289–3295, 2002.