

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES EXTRATOS DE LEVEDURA (INSUMOS) NA PRODUÇÃO E VISCOSIDADE DE XANTANA PRUNI

IZADORA ALMEIDA PEREZ¹; KARINE LASTE MACAGNAN²; EDUARDO DOS SANTOS MACEDO COSTA²; GEOVANE DIEL DE OLIVEIRA²; DANIELLE ROSSI³; ANGELITA DA SILVEIRA MOREIRA^{1,2*}

¹Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, UFPel – izadora_perez@hotmail.com; *angelitadasilveiramoreira@gmail.com

²Biотecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, UFPel. – karinemacagnan@hotmail.com; eduardodossantosmacedocosta@gmail.com; geovanediel@gmail.com

³Empresa Procelys by Lesafre - d.rossi@procelys.lesaffre.com

1. INTRODUÇÃO

Dentre os polímeros microbianos, a xantana apresenta merecido destaque devido suas propriedades reológicas, responsáveis por sua grande utilização na indústria de alimentos. A xantana, comercialmente produzida pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv *campestris* (GARCÍA-OCHOA et al., 2000), ainda não é produzida no Brasil, sendo totalmente importada; no entanto, o país apresenta potencial para fabricação de xantana em escala industrial. As bactérias do gênero *Xanthomonas* são abundantes na microbiota brasileira. A bactéria *X. arboricola* pv *pruni* produz a xantana *pruni*, com composição química e características reológicas diferenciadas. E os insumos para síntese e recuperação da xantana representam um custo competitivo, já que o país dispõe das matérias-primas básicas (açúcar, extrato de levedura e álcool) (VENDRUSCOLO, 1995; MOREIRA, et al., 2001).

A produção e o rendimento de xantana no bioprocessamento são influenciados por diversos fatores, tais como: o tipo de biorreator, o modo de operação, composição do meio, e as condições da cultura (temperatura, pH e concentração de oxigênio dissolvido) (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). Assim, a grande aplicabilidade industrial da xantana e seu amplo mercado mundial vêm estimulando os pesquisadores da área a desenvolverem estudos sobre as melhores condições de multiplicação celular da *Xanthomonas*, parâmetros de produção, recuperação e purificação deste heteropolissacarídeo, bem como estudo sobre as suas propriedades, a fim de obter a melhor relação de rendimento e qualidade reológica do produto sintetizado (GARCÍA-OCHOA, 2000; VENDRUSCOLO et al., 2000; ANTUNES et al., 2003; BORGES et al., 2009).

Assim, objetivou-se o aprimoramento do processo de produção de xantana pela bactéria *X. arboricola* pv *pruni*, cepa 106, através da modificação dos meios de crescimento celular e de produção com diferentes tipos de extratos de levedura não utilizados normalmente na produção de xantana (Procelys® by Lesafre®) e que se diferiram quanto ao teor de nitrogênio.

2. METODOLOGIA

2.1 Crescimento celular (inóculo)

Utilizou-se a cepa 106 de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*, a qual pertence à bacterioteca do Laboratório de Biopolímeros/CDTec da Universidade Federal de Pelotas. Formou-se o pré-inóculo a partir de suspensão de células obtidas por repiques multiplicativos em meio SPA sólido (HAYWARD, 1964), à 28°C e 72h. O pré-inóculo (10mL) foi adicionado em *Erlenmeyers* de 250mL contendo 40mL de meio *Yeast Malt* (YM) (JEANES, 1974). O meio YM variou quanto ao tipo de extrato de levedura teste (Procelys®) ou padrão (marca consolidada no mercado nacional) adicionado na composição (3g/L), denominados: 1- controle, 2- 560PW, 3- 810PW,

4- 845MG, 5- 851MG, 6- 861PW. Incubou-se em agitador incubador orbital em 28°C, 150rpm por 24h, após avaliou-se a densidade óptica em espectrofotômetro a 600nm (DO_{600nm}).

2.3 Produção de xantana

Os inóculos obtidos foram adicionados, em uma proporção de 10%, em *Erlenmeyers* de 250mL contendo 45mL meio de produção segundo pedido de patente (VENDRUSCOLO et al., 2004), aqui denominado padrão, adicionado ou não dos diferentes extratos (3g/L). Incubou-se na temperatura de 28°C, 200rpm por 72h. No final da fermentação, recuperou-se a xantana com etanol 96%, na proporção de 4:1 de caldo fermentado. Secou-se o biopolímero em estufa à 56°C até atingir peso constante e determinou-se o rendimento por gravimetria, expresso em g/L.

2.4 Análise estatística

As médias dos resultados, de crescimento celular (DO_{600nm}) e rendimento de xantana (g/L), foram avaliadas em triplicata e analisadas estatisticamente pelo teste de *Tukey* $p < 0,05$ no programa Statistix 9.

2.5 Caracterização reológica

Para avaliar a qualidade das xantanas produzidas realizou-se a análise reológica de viscosidade e viscoelasticidade em reômetro (Haake® RheoStress 600, modelo RS150). Preparou-se soluções aquosas de xantana a 1% (m/v) em água destilada. Agitou-se as soluções por 2h a 60°C e armazenou-se por 24h à 4°C. A viscosidade foi determinada por ensaio rotacional a partir de curvas de tensão de cisalhamento *versus* taxa de deformação a 25°C, usando geometria de placa-placa (sensor C60/2° Ti; 0,104 mm de intervalo) e taxas de cisalhamento de 0,01 a 200 s^{-1} por 400 s. As soluções de xantana pruni com maior viscosidade, obtidas a partir do tratamento controle (1) e dos extratos de levedura (3 e 4), foram também avaliadas quanto à viscoelasticidade. As propriedades viscoelásticas lineares das xantanas foram determinadas em modo oscilatório através da medição dos módulos elástico $G'(\omega)$ e viscoso $G''(\omega)$, com frequência variando de 1 a 10Hz.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação do crescimento celular (inóculo)

Verificou-se que os diferentes extratos utilizados no meio de cultivo, com exceção do extrato 810PW (DO_{600nm} 3,73 \pm 0,90), foram satisfatórios para o crescimento celular com DO_{600nm} entre 6,07 \pm 0,40 a 6,98 \pm 0,21, e não demonstraram diferenças estatísticas em relação ao tratamento controle (DO_{600nm} 6,49 \pm 0,25).

3.2 Produção de xantana pruni

Os resultados para o rendimento de xantana pruni, em g/L, podem ser verificados na Tabela 1. Verificou-se que não houve diferença estatística para a produção de xantana quando utilizados diferentes extratos na fase de inóculo e meio padrão na fase de produção. O rendimento de xantana variou de 4,02 a 4,37g/L.

Quando adicionou-se os extratos também no meio de produção, o maior rendimento de xantana - 10,09 g/L – obteve-se no tratamento 4, com o extrato de levedura 845MG. Outro excelente resultado - 9,58 g/L - verificou-se no tratamento 3 com o extrato 810PW. Ambos os tratamentos tiveram rendimento de xantana aproximadamente duas vezes maior que o tratamento 1 (controle) - 4,37 g/L, no

qual adicionou-se extrato de levedura convencional apenas no meio de inóculo.

Tabela 1. Rendimentos de xantana pruni obtidas utilizando-se diferentes extratos de levedura adicionados no meio de cultivo do inóculo e no meio de produção padrão.

Tratamentos	XP (g/L) meio Padrão	XP (g/L) meio padrão + Extratos
1 – Controle*	4,37 ^a ±0,14	4,37 ^d ±0,14
2 – 560PW	4,12 ^a ±0,01	7,76 ^{abc} ±0,51
3 – 810PW	4,07 ^a ±0,26	9,58 ^{ab} ±1,23
4 – 845MG	4,02 ^a ±0,08	10,09 ^a ±0,94
5 – 851MG	4,14 ^a ±0,17	6,76 ^{cd} ±1,02
6 – 861PW	4,18 ^a ±0,33	7,40 ^{bcd} ±0,75

*Extrato de levedura padrão adicionado somente na fase de inóculo. Letras diferentes indicam diferença estatística em relação ao tratamento (coluna) pelo teste de Tukey $p < 0,05$.

3.3 Caracterização reológica

Utilizando-se extratos de leveduras somente na fase de inóculo, a viscosidade das soluções de xantana obtidas a partir dos tratamentos 5 e 6 foram ligeiramente superiores quando comparou-se com o restante dos tratamentos (Figura 1A). As xantanas obtidas no tratamento controle e no tratamento 4 tiveram as menores viscosidades. A partir desses resultados foi possível demonstrar que é possível substituir o extrato padrão pelos extratos analisado no meio de cultivo do inóculo, sem prejuízo ao rendimento e à qualidade da xantana.

Com a adição de extratos de levedura também no meio de produção padrão, pode-se observar que a solução de xantana obtida com o tratamento controle, na qual não adicionou-se extrato de levedura no meio de produção, apresentou a maior viscosidade comparando-se com os tratamentos os quais adicionou-se extratos de levedura. Os extratos 3 e 4 resultaram em viscosidade mais semelhantes ao tratamento controle.

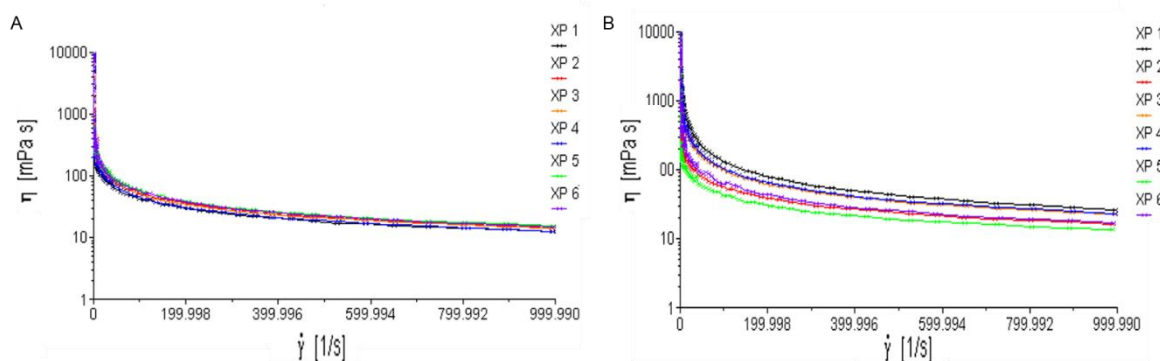


Figura 1. Viscosidades das soluções de xantana Pruni 1,0% obtidas a partir de diferentes extratos de levedura adicionados no meio de cultivo do inóculo YM (A) e no meio de produção MPII (B).

Para as soluções de xantana de maior viscosidade (1- controle, 3 e 4) foi feita a análise de viscoelasticidade (Figura 3). Demonstraram-se géis verdadeiros, com módulo elástico (G') superior ao módulo viscoso (G''), as soluções obtidas com o tratamento controle e extrato 3. A solução obtida a partir do extrato 4 não confirmou ser gel verdadeiro.

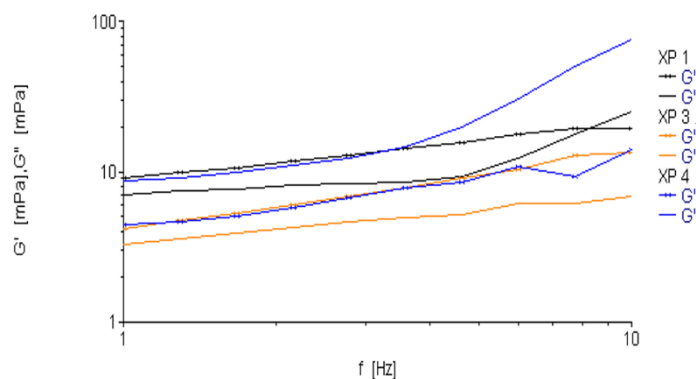


Figura 3. Viscoelasticidade das soluções de xantana Pruni 1,0% obtidas a partir do tratamento controle (1) e dos extratos de levedura (3 e 4) adicionados meio de cultivo do inóculo YM e no meio de produção padrão.

4. CONCLUSÕES

Os diferentes extratos de levedura avaliados são possíveis substituintes do extrato padrão no meio de cultivo para o inóculo sem prejuízo ao rendimento de produção e à qualidade da xantana, quando adicionados apenas no inóculo. Além disso, é possível adicionar os extratos no meio de produção para aumentar o rendimento de produção e obter xantanais com características diferenciadas ampliando, assim, a sua aplicabilidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTUNES, A. E. C.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; VENDRUSCOLO, C. T. Screening of *Xanthomonas campestris* pv pruni strains according to their production of xanthan and its viscosity and chemical composition. **Braslian Journal of Food Technology**, v.6, p. 317-322, 2003.
- BORGES, C. D.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, C. T.; AYUB M. A. Z. Influence of agitation and aeration in xanthan production by *Xanthomonas campestris* pv pruni strain 101. **Revista Argentina de Microbiología**, v.40, p. 81-85, 2008.
- GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery and properties. **Biotechnology Advances**, v.18, p. 549-579, 2000.
- HAYWARD, A. C. Bacteriophage sensitivity and biochemical type in *Xanthomonas malvacearum*. **Journal of General Microbiology**, v. 33, p. 287-298, 1964.
- JEANES A. Extracellular microbial polysaccharides—New hydrocolloids of interest to the food industry. **Food Technology**, v. 28, p. 34–40, 1974.
- MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; GIL-TURNES, C.; VENDRUSCOLO, C. T. Screening among 18 novel strains of *Xanthomonas campestris* pv pruni. **Food Hydrocolloids**, v.15, p. 469-474, 2001.
- VENDRUSCOLO, C. T. **Produção e caracterização do biopolímero produzido por *Beijerinckia* sp isolada do solo cultivado com cana-de-açúcar da região de Ribeirão Preto-São Paulo-Brasil**. 1995. 143f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas.
- VENDRUSCOLO, C. T. ; MOREIRA, A. S. ; VENDRUSCOLO, J. L. S. . Meio de cultura para crescimento de *Xanthomonas*. 2004, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1220140300158, título: "Meio de cultura para crescimento de *Xanthomonas*" , Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 05/11/2004; Pedido do Exame: 13/06/2006; Concessão: 02/05/2017. Instituição(ões) financiadora(s): CNPq; UFPEL.