

INFLUÊNCIA DA FONTE DE CARBONO (CELULOSE, NANOCELULOSE E SACAROSE) NA PRODUÇÃO DE XANTANA PRUNI POR *Xanthomonas arboricola* CEPA 106

GEOVANE DIEL DE OLIVEIRA¹; VICENTE GOMES WIETH²; ANA CAROLINA RODRIGUES RIBEIRO³; GABRIEL VALIM CARDOSO³; KARINE LASTE MACAGNAN¹; ANGELITA DA SILVEIRA MOREIRA^{1,2,4*}

¹Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, UFPel - geovanediel@gmail.com; karinemacagnan@hotmail.com

²Química de Alimentos, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, UFPel - vicente.wieth@gmail.com

³Curso de Engenharia Industrial Madeireira, UFPel - carolinarodrib@gmail.com; gabriel.valim.cardoso@gmail.com

⁴Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, UFPel – angelitadasilveiramoreira@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A goma xantana é um polissacarídeo sintetizado pelo gênero de bactérias *Xanthomonas*, faz parte da família *Pseudomonaceae*, que em sua maioria caracterizam-se por serem fitopatogênicas. Apresenta forma Gram-negativa de bastonetes com dimensões que variam entre 0,4-0,7 µm de largura e 0,7-1,8 µm de comprimento, móveis de um único flagelo 1,7-3,0 µm de comprimento (ROTTAVA et al., 2005). Todas as *Xanthomonas* produzem a enzima celulase, capaz de hidrolisar a celulose, assim como a própria xantana (ALVES-GAUTÉRIO, 2012).

Possui grande interesse industrial por apresentar propriedades reológicas atrativas, sendo aplicada em diversas áreas, como nos setores de alimentos, farmacêuticos, petroquímicos, entre outros (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). Além disso, é muito utilizada por apresentar vantagens frente a outras gomas como alta viscosidade mesmo em baixas concentrações, estabilidade em ampla variação de pH, alta produtividade em curto tempo através do processo fermentativo, além de suas características pseudoplásticas (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

A obtenção da goma xantana ocorre através de processo fermentativo aeróbio submerso em meio contendo nutrientes necessários para a bactéria. O meio é composto de carboidratos, nitrogênio e sais minerais (LUVIELMO et al., 2009). A multiplicação do microrganismo e a produção do biopolímero são influenciados por fatores como o modelo de biorreator usado, sua operação, composição do meio, e as condições de cultura (temperatura, pH, concentração de oxigênio dissolvido) (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Devido aos altos custos de sua produção é de grande interesse estudar fontes de carbono alternativas a sacarose utilizada no meio de produção padrão com o fim de diminuir os custos e aumentar sua produtividade (DURZIAN, 2007).

Uma vez que a xantana é constituída de unidades de glicose, o objetivo do trabalho foi avaliar a influência da substituição parcial da fonte de carbono sacarose por celulose e nanocelulose no meio de produção, no rendimento de produção do polímero e nas características reológicas.

2. METODOLOGIA

Foi utilizada a bactéria *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa 106 pertencente ao acervo de bactérias do laboratório de Biopolímeros (CDTec - UFPEL).

O crescimento celular inóculo, foi realizado em cultivo submerso em *Erlenmeyers* de 250 mL no meio *Yeast Malt* (YM) líquido (JEANES, 1974) composto de 10 g/L de glicose, 5 g/L de peptona, 5 g/L extrato de malte e 3 g/L extrato de levedura. O volume de 10 mL de suspensão bacteriana, obtidas a partir de repiques multiplicativos em meio SPA sólido (HAYWARD, 1964), foi adicionado aos *Erlenmeyers* contendo 40 mL de meio YM. As condições de cultivo em agitador incubador orbital foram 150 rpm, 28°C, por 24 h.

Os inóculos obtidos após 24 h foram transferidos para *Erlenmeyers* de 500ml contendo o meio de produção MPII (VENDRUSCOLO et al., 2004) com 100ml de volume final em uma proporção de 10%. Os meios de produção variaram quanto à fonte de carbono adicionada. Os tratamentos modificados avaliados foram: TP - tratamento padrão contendo MPII (50 g/L de sacarose), TC - tratamento havendo a substituição de 20% de sacarose por celulose previamente triturada, TN - havendo a substituição de 20% da sacarose por nanocelulose. As formulações obtidas para avaliação estão demonstradas na Tabela 1.

Tabela 1. Formulação dos meios de produção (g/L), adaptados de Vendruscolo et al., 2004.

Componentes/ Formulações	TP	TC	TN
(NH ₄) ₂ HPO ₄	1,5	1,5	1,5
K ₂ HPO ₄	2,5	2,5	2,5
KH ₂ PO ₄	5,0	5,0	5,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,0	2,0	2,0
MgSO ₄	0,3	0,3	0,3
Sacarose	50,0	40,0	40,0
Celulose	-	10,0	-
Nanocelulose	-	-	10,0

*TP: tratamento padrão; TC: tratamento composto de celulose; TN: tratamento composto de nanocelulose.

Os cultivos foram incubados em agitador incubador orbital em 200 rpm, na temperatura de 28 °C, por 72 h. No final da fermentação, recuperou-se a xantana com etanol 96%, em uma 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. As médias dos resultados de rendimento de xantana (g/L), foram avaliadas em triplicata e analisadas estatisticamente pelo teste de *Tukey* $p < 0,05$ no programa Statistix 9.

Com a finalidade de avaliar a qualidade das xantanas produzidas agitou-se por 2 h soluções aquosas de xantana a 1% (m/v) e caracterizou a viscosidade através de reologia. A viscosidade foi determinada a partir de curvas de tensão de cisalhamento versus taxa de deformação a 25°C, usando reometria de cone e 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 foram também avaliadas quanto à viscoelasticidade. As propriedades viscoelásticas lineares das xantanas foram determinadas através da medição dos módulos elástico $G'(\omega)$ e viscoso $G''(\omega)$, com frequência variando de 1 a 10Hz.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O melhor tratamento para o rendimento de xantana foi o meio de cultivo composto de celulose, no qual resultou em 4,16 g/L de biopolímero, superior ao alcançado nos tratamentos padrão e com substituição de nanocelulose, 3,50 e 3,15 g/L, respectivamente.

A hipótese do trabalho foi que a substituição parcial da fonte de carbono sacarose por celulose e nanocelulose resultaria em maior produtividade do biopolímero, uma vez que a sua formação seria facilitada pela degradação da celulose e nanocelulose, devido à fitopatogenicidade da bactéria, em açúcares simples ou pela utilização desses como cadeia principal do biopolímero.

Com o intuito de comprovar a pureza e qualidade das xantanas obtidas foi feita a caracterização reológica, demonstrada na Figura 1.

Averiguou-se que as soluções de xantana tiveram comportamento reológico padrão, ou seja, a viscosidade diminuiu conforme a taxa de deformação aplicada, confirmando a pseudoplasticidade dos biopolímeros. Os tratamentos padrão e com substituição parcial da fonte de carbono por nanocelulose resultaram em soluções de maiores viscosidades em relação ao tratamento com celulose. Isso pode ser explicado, devido à impureza da xantana recuperada com o tratamento de celulose, podendo a celulose não consumida pela bactéria estar presente na xantana.

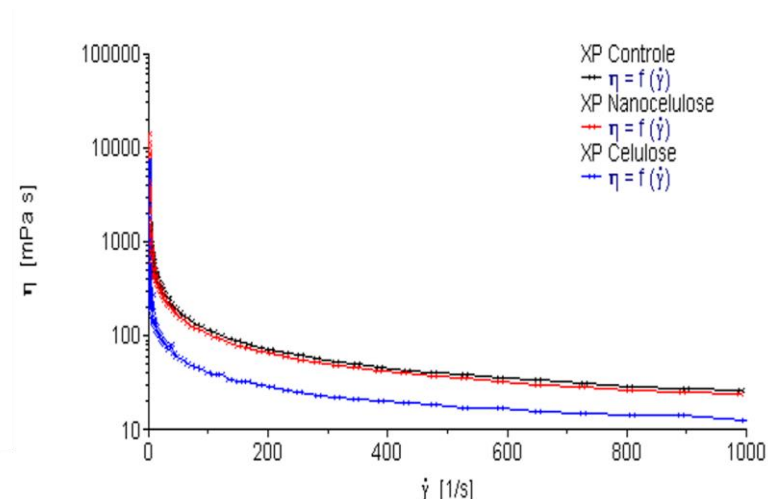


Figura 1. Viscosidade (mpas) das soluções de xantana pruni 1% obtidas a partir dos diferentes tratamentos.

A viscoelasticidade das xantanas foi realizada para observar a sua capacidade de formar géis verdadeiros. Assim, confirmou-se sendo géis verdadeiros as mesmas soluções que apresentaram maior viscosidade. Na figura 3, pode-se observar o módulo elástico (G') superior ao módulo viscoso (G''), característica distintiva de géis verdadeiros, com exceção do tratamento que utilizou-se a celulose como fonte de carbono parcial, o qual não confirmou ser gel verdadeiro.

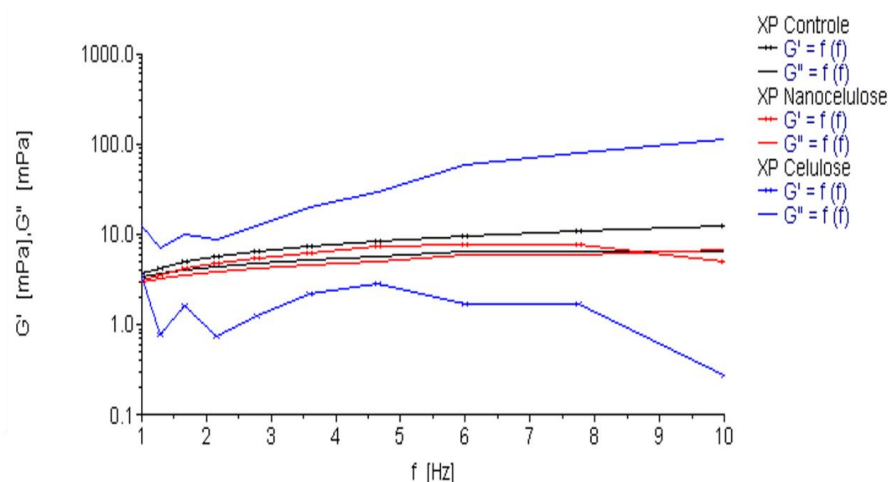


Figura 2. Viscoelasticidade (mpas) das soluções de xantana pruni 1% obtidas a partir dos diferentes tratamentos.

4. CONCLUSÕES

A substituição parcial da fonte de carbono sacarose por nanocelulose no meio de produção não resultou em maior produtividade de xantana em relação ao tratamento padrão, e também não diferiu quanto às características reológicas. Já, a adição de celulose no meio de cultivo resultou em maior rendimento de xantana, porém através da análise de viscosidade observou-se que a solução dessa foi de menor viscosidade, ocasionada provavelmente por impureza de celulose junto ao biopolímero.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES-GAUTÉRIO, F. G. Produção de xantana por *Xanthomonas arboricola* pv pruni, estudo da atividade celulolítica e viabilidade da produção do biopolímero na ausência de células viáveis. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UFPel, Pelotas, 2012.
- DURZIAN J.I. Produção de goma xantana por fermentação do resíduo de suco de maçã Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 2007.
- GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V.E.; CASAS, J.A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: Production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, 18:549-579, 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.
- LUVIELMO, MM; SCAMPARINI, ARP. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. *Estudos tecnológicos - Vol. 5, nº 1: 50-67 (jan/abr 2009)*.
- ROTTAVA, I. SELEÇÃO DE LINHAGENS DE *Xanthomonas* sp PARA PRODUÇÃO DE XANTANA. 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos, URI- Campus Erechim.
- VENDRUSCOLO, C. T.; VENDRUSCOLO, J. L. S; MOREIRA, A. da S. Meio de cultura para crescimento de *Xanthomonas*. BR 122014030015-8, 05 nov. 2004.