

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES EXTRATOS DE LEVEDURA (INSUMOS) NO RENDIMENTO DE XANTANA PRODUZIDA POR *Xanthomonas arboricola* pv pruni CEPA 101

GEOVANE DIEL DE OLIVEIRA¹; EDUARDO DOS SANTOS MACEDO COSTA²;
CAMILA WASCHBURGER AMES³; ENGUERRAN SALENGRO⁴; ANGELITA DA
SILVEIRA MOREIRA⁵; KARINE LASTE MACAGNAN^{6*}

¹Universidade Federal de Pelotas – geovanediel@gmail.com;

²Universidade Federal de Pelotas – eduardodossantosmacedocosta@gmail.com;

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

⁴Empresa Procelys by Lesaffre – e.salengro@procelys.lesaffre.com;

⁵Universidade Federal de Pelotas – angelitadasilveiramoreira@gmail.com;

⁶Universidade Federal de Pelotas – karinemacagnan@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Alguns microrganismos possuem a capacidade de sintetizar exopolissacarídeos (EPS); entre eles estão as bactérias do gênero *Xanthomonas*, que produzem o EPS chamado xantana (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). A goma xantana possui propriedades reológicas, viscosidade e viscoelasticidade, de extremo interesse comercial, aplicando-se nos setores de alimentos, farmacêuticos, petroquímicos, entre outros (ROTTAVA ET AL., 2005).

Industrialmente, a produção da xantana ocorre em duas fases, nas quais se utilizam meios com composição diferentes, principalmente em relação ao tipo e concentração de nitrogênio e concentração de carbono. A primeira fase é direcionada à multiplicação celular, e a segunda à produção de xantana. O rendimento de xantana no bioprocesso é influenciado 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 desse heteropolissacarídeo, bem como estudo sobre as suas propriedades, a fim de obter a melhor relação de rendimento e qualidade reológica do produto sintetizado (GARCÍAOCHOA, 2000; VENDRUSCOLO et al., 2000; ANTUNES et al., 2003; BORGES et al., 2009).

Portanto, como uma forma de diminuir os custos do processo e aumentar o rendimento de produção, este trabalho tem como objetivo avaliar a produção da *Xanthomonas arboricola* pv pruni, cepa 101, em diferentes meios de produção enriquecidos ou não com diferentes extratos de levedura.

2. METODOLOGIA

2.1 Microrganismo

Para o estudo utilizou-se a linhagem de *Xanthomonas arboricola* pv pruni, cepa 101, a qual pertence à bacterioteca do Laboratório de Biopolímeros/CDTec da Universidade Federal de Pelotas.

2.2 Crescimento celular – inóculo

Formou-se o pré-inóculo a partir de suspensão de células obtidas por repiques multiplicativos em meio SPA sólido (HAYWARD, 1964), a 28°C e 72 h. O pré-inóculo (10 mL) foi inoculado em *Erlenmeyers* de 250 mL contendo 40 mL de meio *Yeast Malt* (YM) (JEANES, 1974), incubou-se em agitador incubador orbital a 28°C e 150 rpm por 24 h.

2.3 Produção de xantana pruni em shaker (50 mL)

Os inóculos obtidos foram adicionados, em uma proporção de 10%, em *Erlenmeyers* de 250 mL contendo 45 mL de meio de produção mineral. Testou-se os meios de produção denominados como MPI+II e MPII, produzidos de acordo com Vendruscolo (2004), nas versões enriquecido ou não com diferentes extratos de levedura (3 g.L^{-1}). Incubou-se a 28°C e 200 rpm por 72 h. O extrato de levedura utilizado como controle (1) foi de marca consolidada no mercado nacional e já utilizado anteriormente por nosso grupo de estudo na produção de xantana pruni, e outros 5 extratos diferenciados (Procelys by Lesaffre®, Campinas, Brasil), não testados anteriormente para produção de xantana Pruni, foram utilizados, sendo: 560PW (2), 810PW (3), 845MG (4), 851MG (5), 861PW (6). No final da fermentação, recuperou-se a xantana com etanol 96%, na proporção de 4:1 (v/v) 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^{-1} .

2.4 Produção de xantana pruni em biorreator (10 L)

Foi selecionado o melhor resultado para aumentar a escala de produção em biorreator de bancada com cuba de volume útil de 10 L. Utilizou-se as condições operacionais: pH livre, temperatura de 28°C, agitação de 600 rpm e aeração de 1 vvm durante 72 h. Ao final, determinou-se o rendimento por gravimetria, expresso em g.L^{-1} .

2.5 Análise estatística

As médias dos resultados foram avaliadas em triplicata e analisadas estatisticamente pelo teste de Tukey $p<0,05$ no programa Statistix 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Produção de xantana pruni

De modo geral, os maiores rendimentos de xantana foram observados quando utilizou-se o meio de produção MPII, enriquecido ou não com os diferentes extratos de levedura (tabela 1). Verificou-se diferença estatística apenas para o extrato 3 (810PW), que resultou em menor rendimento comparando-se com os diferentes extratos no mesmo meio de cultivo, MPII padrão. Entretanto, o maior valor, embora sem diferença estatística, foi obtido também com o extrato 3 (810PW) no meio MPII enriquecido.

Observou-se ainda que o aumento de rendimento de xantana, nos meios de cultivo enriquecidos com os extratos de levedura, foi dependente do meio de produção e do tipo de extrato. Verificou-se esse aumento de rendimento no meio de produção MPI+II enriquecidos com o extrato controle e com o extrato 2 (560PW) e no meio MPII enriquecido somente com o extrato 3 (810PW). É importante salientar que em nenhum tratamento o enriquecimento do meio de produção com os extratos reduziu o rendimento de xantana; nos casos em que

não houve aumento, não houve diferença estatística em relação ao meio de produção padrão.

Tabela 1. Rendimento de xantana (g.L⁻¹) após 72 h de cultivo nos diferentes meios de produção (MPI+II e MPII) enriquecidos ou não com os extratos de levedura.

Tratamentos	MPI+II	MPI+II+	MPII	MPII+
	Padrão	Extrato	Padrão	Extrato
1 – Controle*	7,21 ^{Ab} ±1,36	8,44 ^{Aab} ±0,19	10,74 ^{ABa} ±0,73	10,11 ^{Aab} ±1,61
2 – 560PW	7,10 ^{Ab} ±0,77	9,36 ^{Aa} ±0,90	11,19 ^{ABa} ±0,26	9,84 ^{Aa} ±0,84
3 – 810PW	6,93 ^{Ab} ±1,12	8,90 ^{Ab} ±1,72	9,85 ^{Bb} ±0,70	13,24 ^{Aa} ±1,04
4 – 845MG	7,38 ^{Ab} ±0,82	8,13 ^{Ab} ±0,46	11,45 ^{ABa} ±0,20	9,15 ^{Aab} ±1,53
5 – 851MG	8,40 ^{Aab} ±1,43	7,43 ^{Ab} ±0,13	10,80 ^{ABa} ±0,45	10,91 ^{Aa} ±1,64
6 – 861PW	8,27 ^{Ab} ±0,32	8,11 ^{Ab} ±0,12	12,27 ^{Aa} ±0,99	10,38 ^{Aab} ±2,17

*Extrato de levedura padrão. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística em relação ao tratamento (coluna) e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística em relação ao meio de cultivo (linha), pelo teste de Tukey p<0,05.

3.2 Aumento de escala

Para o aumento de escala ao volume de 10 L, foi selecionado o extrato de levedura 6 (861PW), o qual resultou em maior rendimento de xantana pruni no meio de produção MPII padrão na escala de produção (50 mL) testada. Os resultados para as produções de xantana pruni em 50 mL e em 10 L no mesmo meio de produção MPII padrão com o extrato 6 (861PW) estão summarizados na tabela 2.

Tabela 2. Rendimento (g.L⁻¹) das xantanas pruni produzidas nas escalas de 50 mL e de 10 L, após 72 h de cultivo no meio MPII padrão e extrato de levedura (861PW) adicionado somente na fase de inóculo.

Escala de produção	Rendimento (g.L ⁻¹)
Erlenmeyer (50 mL)	12,27 ^B ±0,99
Biorreatore (10 L)	17,16 ^A ± 0,80

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística em relação ao tratamento (coluna) pelo teste de Tukey p<0,05.

Pode-se observar que o aumento de escala de produção proporcionou aumento do rendimento de xantana pruni. Isso provavelmente ocorreu devido ao maior fornecimento de oxigênio para a bactéria e aumento da agitação no meio de cultivo em relação ao que ocorre no Erlenmeyer incubado no agitador incubador orbital, onde não ocorre injeção de oxigênio.

4. CONCLUSÕES

Todos os novos extratos de leveduras testados podem ser utilizados em substituição ao extrato padrão na produção de xantana pruni em ambos meios testados. O meio de produção MPII resultou em rendimentos de xantana pruni mais altos. O extrato 810PW mostrou-se o mais eficiente quando enriqueceu-se o meio MPII aumentando o rendimento de xantana. O aumento da escala para o volume de 10L, usando o extrato 861PW, proporcionou um aumento no rendimento da xantana pruni produzida.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V.E.; CASAS, J.A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: Production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, 18:549-579, 2000.
- LUVIELMO, MM; SCAMPARINI, ARP. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. *Estudos tecnológicos* - Vol. 5, n° 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.
- 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.
- VENDRUSCOLO, C. T.; VENDRUSCOLO, J. L. S; MOREIRA, A. da S. Meio de cultura para crescimento de *Xanthomonas*. BR 122014030015-8, 05 nov. 200