

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DAS FONTES DE NITROGÊNIO DO MEIO DE CRESCIMENTO CELULAR NA VISCOSIDADE DE XANTANAS PRUNI

EDUARDO DOS SANTOS MACEDO COSTA¹; KARINE LASTE MACAGNAN²;
IZADORA ALMEIDA PEREZ³; FABÍOLA INSAURRIAGA AQUINO⁴; MARINA
VIEIRA FOUCHY⁵; ANGELITA DA SILVEIRA MOREIRA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – eduardodossantosmacedocosta@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – karinemacagnan@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – izadora_perez@hotmail.com

⁴Empresa Biopolix – fabiolaiaquino@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – marinavieira01@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – angelitadasilveiramoreira@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A goma xantana é um biopolímero tipo exopolissacarídeo, produzido por bactérias fitopatogênicas do gênero *Xanthomonas spp* (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). É aplicada em diversos segmentos industriais, como o de alimentos, no setor farmacêutico, e no setor petroquímico (GARCÍA-OCHOA, 2000; LUVIELMO et al., 2009). Suas soluções possuem ótimas propriedades reológicas, com estabilidade em amplas faixas de pH e temperatura, sendo utilizada como viscosificante, estabilizador de emulsões e agente suspensivo (LIMA et al., 2001).

As gomas xantanas comerciais são produzidas pela *Xanthomonas campestris*, e apresentam uma estrutura primária composta de unidades repetidas pentassacarídicas. Geralmente é constituída de β-D-glicose unidas por ligação 1-4 que formam a principal cadeia celulósica. Possui uma cadeia lateral trissacarídica no C(3) de cada resíduo de glicose alternada, com unidades de β-D-manose1,4-β-D-ácido glicurônico-1,2-α-D-manose, podendo apresentar a manose, ácido acético e ácido pirúvico ligados, o que influencia nas características do polímero (SLONEKER & JEANES, 1962; BORGES et al., 2008).

A xantana pruni, produzida por *X. arboricola* pv pruni é diferenciada química e reologicamente pela presença de ramnose em sua estrutura química, ausente nas xantanas comerciais produzidas por *X. campestris*, e pela capacidade de formar geis verdadeiros (KLAIC et al., 2016; MOREIRA et al., 2001).

O processo de produção da goma xantana ocorre em duas etapas, multiplicação celular e produção propriamente dita, que utilizam meios e condições diferentes. Para manutenção das *Xanthomonas* é preconizado o meio SPA sólido (HAYWARD, 1993) Na fase do crescimento celular ou obtenção do inóculo, geralmente utiliza-se o meio YM (LUVIELMO, 2009), composto por: 10 g.L⁻¹ glicose; 5 g.L⁻¹ peptona; 3 g.L⁻¹ extrato de malte; 3 g.L⁻¹ extrato de levedura. Estudos demonstram que a fonte de nitrogênio afeta diretamente o rendimento no processo de produção de xantana (PALANIRAJ 2011), o conteúdo de piruvato e, consequentemente, suas propriedades reológicas (CANDIA et al., 1999).

Em estudos anteriores, ainda não publicados, testaram-se variações dos meios YM e SPA em escala de 50 mL em shaker buscando redução de custos e obtenção de xantanas com propriedades reológicas diferenciadas.

Objetivou-se a transposição de escala de produção de xantana pruni 101 utilizando modificações de meios de inóculo pré-selecionados para obtenção de xantana de alta (HV) e baixa (LV) viscosidade, e caracterização reológica dos polímeros obtidos.



2. METODOLOGIA

2.1 *Microrganismo*

Utilizou-se a bactéria *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa 101 pertencente à bacterioteca do Laboratório de Biopolímeros (CDTec – UFPel).

2.2 *Crescimento celular (inóculo)*

Para a fase de inóculo, utilizou-se o meio SPA (HAYWARD, 1964) como controle (TC) e duas variações com modificações referentes às fontes de nitrogênio, sendo T1 composto de 4,25 g.L⁻¹ de extrato de levedura e 0,75 g.L⁻¹ de peptona visando a obtenção de xantana HV (High Viscosity), e T2 composto de 5 g.L⁻¹ de peptona e 2,5 g.L⁻¹ de extrato de levedura para obtenção de xantana LV (Low Viscosity).

2.3 *Produção de Xantana pruni*

Os inóculos obtidos foram adicionados, em uma proporção de 10%, em biorreator de 10L, contendo 9L de meio de produção mineral (MPII) (VENDRUSCOLO et al., 2004), perfazendo um volume de 10L. O processo foi conduzido na temperatura de 28 °C, taxa de agitação 600 rpm e pH livre.

No final da fermentação, recuperou-se a xantana com etanol 96°GL, na proporção de 4:1 (v/v) de caldo fermentado.

2.4 *Reologia*

Preparou-se soluções aquosas de xantana a 1% (m/v) em água destilada. Agitou-se as soluções por 2 h à temperatura ambiente e armazenou-se por 24 h à 4°C. As soluções foram analisadas por ensaio rotacional em reômetro (Haake® RheoStress 600, modelo RS150). A viscosidade foi determinada a partir de curvas de tensão de cisalhamento versus taxa de deformação a 25°C, usando geometria de cone e placa (sensor C60/2° Ti; 0,104 mm de intervalo) e taxas de cisalhamento de 0,01 a 1000 s⁻¹ por 300 s. Aplicou-se ajuste de curva de acordo com modelo matemático de Ostwald de Waele para determinar os parâmetros K e n.

2.5 *Análise estatística*

As análises foram realizadas em triplicada e as médias foram comparadas e analisadas por ANOVA (análises de variância) e teste de Tukey (5% de probabilidade) usando o programa Statistix 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, estão os dados dos padrões n e K de acordo com modelo matemático de Ostwald de Waele, onde n quantifica o nível de pseudoplasticidade

das soluções, sendo que quanto menor o valor, mais pseudoplástica é a solução. O valor de K refere-se à viscosidade da solução e, quanto maior o valor, mais viscosa a solução (XUN et al., 2016).

Tabela 1. Parâmetros reológicos K e n, obtidos por ajuste com modelo matemático de *Ostwald de Waele*, das soluções das xantana obtidas nos diferentes meios de inóculo.

Tratamento	K (mPa.s ⁿ)	n (adm)	R
TC	0,635 ^B ± 0,015	0,518 ^A ± 0,001	>0,99
T1	1,843 ^A ± 0,025	0,339 ^C ± 0,007	>0,99
T2	0,635 ^B ± 0,008	0,448 ^B ± 0,002	>0,99

TC: Xantana pruni utilizando meio de cultivo padrão SPA

T1: Xantana pruni utilizando meio de cultivo destinado para alta viscosidade

T2: Xantana pruni utilizando meio de cultivo destinado para baixa viscosidade

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

Segundo a Tabela 1, com o tratamento T1 obteve-se xantana mais viscosa ($K = 1,843$) e mais pseudoplástica ($n = 0,339$). Os tratamentos TC e T2, inicialmente, apresentaram viscosidade similares ($K = 0,635$), considerada baixa. Porém, o tratamento T2 apresentou maior pseudoplasticidade ($n = 0,448$) comparado com o controle ($n = 0,518$), o que justifica a sua menor viscosidade nas maiores taxas de deformação.

Os resultados de viscosidade apresentados na Figura 1 demonstram que os 3 tratamentos geraram xantanas com comportamento pseudoplástico, reforçando os resultados apresentados na Tabela 1.

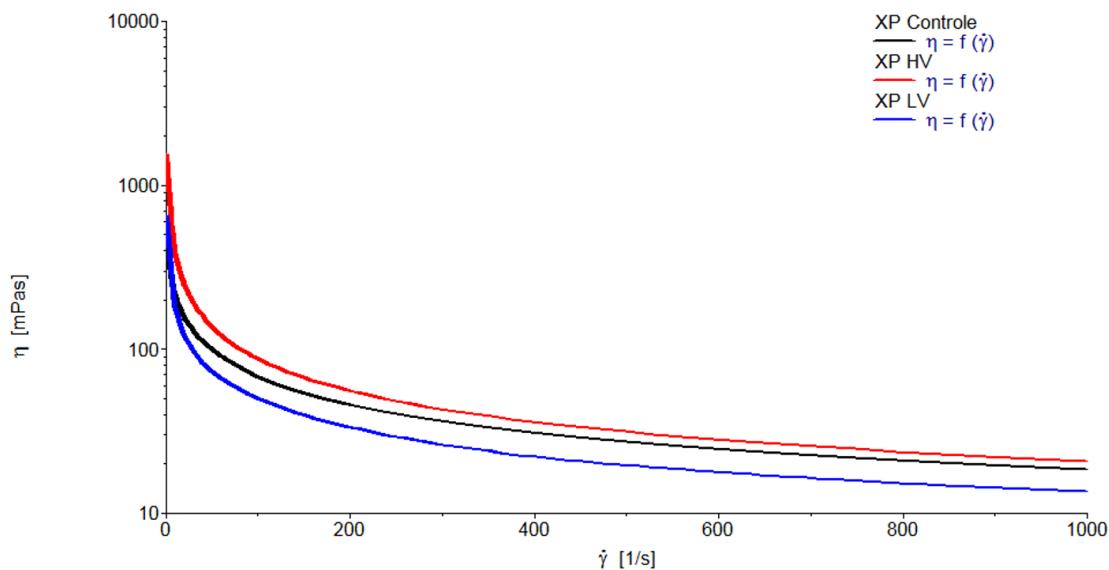


Figura 1. Viscosidade (mPas) das soluções de xantana pruni (1%) obtidas nos diferentes meios de cultivo de inóculo submetidas a taxa de deformação 0,1 a 1000 (s^{-1}).

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que a modulação das fontes de nitrogênio nos meios de crescimento celular afeta diretamente nas características reológicas das xantanas pruni obtidas. Análises complementares serão realizadas a fim de melhor caracterizar os polímeros obtidos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORGES, C. D.; VENDRUSCOLO, C. T. Goma Xantana: características e condições operacionais de produção. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 171-188, 2008a.
- CANDIA, J. L. F.; DECKWER, W. D. Effect of the nitrogen source on pyruvate content and rheological properties of xanthan. **Biotechnology Progress**, v. 15, n. 3, p. 446-452, 1999.
- 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.
- HAYWARD, A. C. In: SWINGS, J. G. & CIVEROLO, E. L. **Xanthomonas**, London: Chapman & Hall, 1993.
- KLAIC, P. M. A; VENDRUSCOLO, C.T; FURLAN, L.; MOREIRA, A. S. Ion exchange as post-fermentative process enhancer of viscosity of xanthan produced by *Xanthomonas arboricola* pv pruni. **Food Hydrocolloids**, v. 56, p. 118 – 126, 2016.
- LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia industrial – Processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Editora Blucher, 2001
- LUVIELMO, MM; SCAMPARINI, ARP. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos tecnológicos**, v. 5, n. 1, p. 50-67, 2009.
- 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, n. 4-6, p. 469–474, 2001.
- PALANIRAJ, A; Jayaraman, V. Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. **Journal of Food Engineering**, v. 2, n. 3, p. 305-309, 2011.
- SLONEKER, J. H. & JEANES, A. Exocellular bacterial polysaccharide from *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2066–2071, 1962.
- XUN, S.; ZHAO, J.; ZHENG, L.; CHEN, X.; ZHANG, X. Flow and heat transfer of Ostwald de Waele fluid over a variable thickness rotating disk with index decreasing. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 103, p. 1214–1224, 2016.