

## INFLUÊNCIA NO RENDIMENTO DE XANTANA PRUNI DA CONCENTRAÇÃO DAS FONTES DE NITROGÊNIO DO MEIO DE CRESCIMENTO CELULAR

EDUARDO DOS SANTOS MACEDO COSTA<sup>1</sup>; KARINE LASTE MACAGNAN<sup>1</sup>;  
IZADORA ALMEIDA PEREZ<sup>2</sup>; VICTORIA CUNHA CONSENTINS<sup>3</sup>; FABÍOLA  
INSAURRIAGA AQUINO<sup>4</sup>; ANGELITA DA SILVEIRA MOREIRA<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup>Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, UFPel –

[eduardodossantosmacedocosta@gmail.com](mailto:eduardodossantosmacedocosta@gmail.com); [karinemacagnan@hotmail.com](mailto:karinemacagnan@hotmail.com)

<sup>2</sup>Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de Ciência e Tecnologia de Agroindustrial – [angelitadasilveiramoreira@gmail.com](mailto:angelitadasilveiramoreira@gmail.com); [izadora\\_perez@hotmail.com](mailto:izadora_perez@hotmail.com)

<sup>3</sup>Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, UFPel – [viccunhaconsentins@gmail.com](mailto:viccunhaconsentins@gmail.com)

<sup>4</sup>Empresa Biopolix – [fabiolaiaquino@gmail.com](mailto:fabiolaiaquino@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A goma xantana é um polissacarídeo extracelular produzido por bactérias fitopatogênicas do gênero *Xanthomonas* (ROTTAVA et al., 2005). A xantana é aplicada em diversos segmentos industriais, como o de alimentos, em diversos produtos, como bebidas, comidas congeladas, laticínios, etc. No setor farmacêutico é usada principalmente em soluções e cosméticos, e no setor petroquímico é usada na extração de petróleo com finalidade de aumentar o rendimento da extração (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). Os motivos pelos quais a xantana é amplamente utilizada são diversos, pois suas propriedades incluem estabilidade em amplas faixas de temperatura e pH, estabilização e viscosificante de soluções e boas propriedades reológicas. Além disso, o uso do polímero é mínimo, pois em suas aplicações utiliza-se apenas 0,03% a 1% de xantana (LIMA, 2001).

O processo de produção de xantana se dá através de bioprocessos em biorreatores, através da fermentação de forma aeróbica e a 28 °C, onde a bactéria necessita de vários nutrientes, como carbono, nitrogênio, magnésio, potássio entre outros, sendo a glicose e a sacarose as fontes de carbono geralmente usadas e o nitrogênio pode estar disponível tanto na forma orgânica quanto inorgânica.

A produção e o rendimento do polímero no bioprocesso são influenciados por diversos fatores, tais como: a composição dos meios, e as condições da cultura (temperatura, pH e concentração de oxigênio dissolvido) (LUVIELMO et al., 2009; LIMA et al., 2001; BORGES et al., 2008).

O amplo uso da xantana em diversos setores industriais e seu vasto mercado mundial vêm incentivando os pesquisadores da área; tanto para o desenvolvimento de novos trabalhos para melhoramento do processo de produção do polímero em suas fases, como multiplicação celular, parâmetros de produção, recuperação e purificação, bem como estudos sobre as suas propriedades, a fim da obtenção de melhores rendimentos e qualidade reológica das xantanas. (NEJADMANSOURI et al., 2021; WANG et al., 2017; NIKNEZHAD et al., 2016; BORGES et al., 2008; ANTUNES et al., 2003).

Xantanas comerciais são produzidas por cepas de *Xanthomonas campestris* pv *campestris*, enquanto a xantana pruni, uma xantana diferenciada química e reologicamente, é produzida por *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* (KLAIC et al., 2016; MOREIRA et al., 2001).

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, como baixa viscosidade em relação às xantanas tradicionais.

Objetivou-se a transposição de escala de produção de xantana pruni 101 para melhorar os rendimentos do bioprocesso para obtenção de diferentes xantanas, utilizando-se de modificações de meios de inóculo pré-selecionados.

## 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 variações do meio SPA (HAYWARD, 1964) com modificações referentes às fontes de nitrogênio, sendo T1 e T3 composto de 4,25 g.L<sup>-1</sup> de extrato de levedura e 0,75 g.L<sup>-1</sup> de peptona, e T2 e T4 composto de 5 g.L<sup>-1</sup> de peptona e 2,5 g.L<sup>-1</sup> de extrato de levedura.

### 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 *Determinação do rendimento*

Após a recuperação da xantana dos diferentes tratamentos, secou-se os biopolímeros em estufa à 56 °C até atingirem peso constante e determinou-se os seus rendimentos (g.L<sup>-1</sup>) por gravimetria.

### 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

Segundo a Tabela 1, os maiores crescimentos celulares foram obtidos com os tratamentos T1 e T3, alcançando  $4,18 \times 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Em relação ao rendimento, os melhores resultados (17,84 e 24,67 g.L<sup>-1</sup>) foram obtidos nos tratamentos T3 e T4, nos quais o processo de produção de xantana foram conduzidos com controle de pH em 7. Os tratamentos T1 e T2, em que o

processo de produção foi conduzido em pH livre, apresentaram rendimentos consideravelmente menores em relação aos melhores tratamentos.

**Tabela 1.** Crescimento celular ( $\text{UFC.mL}^{-1}$ ) nos diferentes meios de cultivo de inóculo após 24 h e rendimento de xantana ( $\text{g.L}^{-1}$ ) após 72 h de produção em pH livre e controlado (7).

Tratamento	pH	Crescimento celular ( $\text{UFC.mL}^{-1}$ )	Rendimento de xantana ( $\text{g.L}^{-1}$ )
T1	Livre	$4,18^{\text{A}} \times 10^9 \pm 0,14$	$10,60^{\text{C}} \pm 0,12$
T2		$2,59^{\text{B}} \times 10^9 \pm 0,50$	$11,65^{\text{C}} \pm 0,77$
T3	Controlado	$4,18^{\text{A}} \times 10^9 \pm 0,14$	$24,67^{\text{A}} \pm 0,72$
T4		$2,59^{\text{B}} \times 10^9 \pm 0,50$	$17,84^{\text{B}} \pm 0,79$

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

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

T3: Xantana pruni utilizando meio de cultivo destinado para alta viscosidade

T4: Xantana pruni utilizando meio de cultivo destinado para baixa viscosidade

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

As diferenças entre os rendimentos não estão relacionadas ao crescimento celular do inóculo, visto que T1 e T2 apresentaram diferença estatística para o crescimento celular, porém não apresentaram diferença estatística para o rendimento de xantana. Já T3 e T4 foram diferentes tanto no crescimento celular quanto no rendimento de xantana. As variáveis pH e composição dos meios afetaram diretamente no rendimento do processo fermentativo.

#### 4. CONCLUSÕES

A concentração das fontes de nitrogênio nos meios de crescimento celular interferem diretamente no rendimento do processo de produção de xantana pruni, assim como o controle de pH. A relação entre o custo de produção e escolha das concentrações das fontes de nitrogênio com o rendimento de xantana no processo fermentativo pode ser melhorada através de estudos como este. Análises reológicas devem ser realizadas a fim de caracterizar os polímeros obtidos.

#### 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. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6, p. 317-322, 2003.
- BORGES, C. D.; MOREIRA, A. D. 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, n. 2, 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.
- 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.
- NEJADMANSOURI, M.; RAZMJOOEI, M.; SAFDARIANGHOMSHEH, R.; SHAD, E.; DELVIGNE, F.; KHALESI, M. Semi-continuous production of xanthan in biofilm reactor using *Xanthomonas campestris*. **Journal of Biotechnology**, v. 328, p. 1-11, 2021.
- NIKNEZHAD, S. V.; ASADOLLAHI, M. A.; ZAMANI, A.; BIRIA, D. Production of xanthan gum by free and immobilized cells of *Xanthomonas campestris* and *Xanthomonas pelargonii*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 751-756, 2016.
- ROTTAVA, I. **SELEÇÃO DE LINHAGENS DE *Xanthomonas* sp PARA PRODUÇÃO DE XANTANA**. maio, 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos, URI-Campus Erechim.
- WANG, Z.; WU, J.; GAO, M. J.; ZHU, L.; ZHAN, X. B. High production of xanthan gum by a glycerol-tolerant strain *Xanthomonas campestris* WXLB-006. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 47, n. 5, p. 468-472, 2017.