

## ESCALONAMENTO DE PRODUÇÃO DE XANTANA PRUNI COM MEIO DE CRESCIMENTO CELULAR ALTERNATIVO

ISABEL SANTOS PEDONE <sup>1</sup>; FABIÓLA INSAURRIAGA AQUINO <sup>2</sup>; EDUARDO DOS SANTOS MACEDO COSTA <sup>3</sup>; LENNON DE OLIVEIRA MEYER <sup>4</sup>; KARINE LASTE MACAGNAN <sup>5</sup>; ANGELITA DA SILVEIRA MOREIRA <sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – isabeltecalimentos@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – fabiolaiaquino@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – eduardodossantosmacedocosta@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – lennonmeyer7@hotmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – karinemacagnan@hotmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – angelitadasilveiramoreira@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

Xantana é o biopolímero produzido por bactérias do gênero *Xanthomonas*, amplamente utilizado nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica, devido às suas propriedades reológicas. Mesmo em baixas concentrações, a xantana forma soluções viscosas e estáveis, resistindo a condições extremas, como variações de temperatura, pH e níveis elevados de sais. A produção de xantana requer uma fonte de carboidrato, além de fontes de nitrogênio e minerais essenciais para o crescimento bacteriano e a síntese do biopolímero. Com o crescente foco na sustentabilidade e redução de custos, há um interesse cada vez maior em utilizar substratos alternativos (CANCELLA et al., 2024).

A água de parboilização de arroz (APA) é um resíduo industrial gerado em grandes volumes durante o processo de parboilização. Para cada quilo de arroz produzido são gerados de 2 a 4 litros de água residual (GONZÁLEZ-GÓNZALES et al., 2018). Esse efluente/resíduo é rico em nutrientes, como açúcares, nitrogênio e minerais, e requer tratamento, o que gera custos adicionais para a indústria. No entanto, esse subproduto tem potencial para ser utilizado como fonte de nutrientes no cultivo de *Xanthomonas*, promovendo a valorização desse resíduo e a redução do volume a ser tratado, com consequente redução de custo (PEDONE et al., 2023).

O escalonamento da produção de xantana é uma etapa crucial. Estudos em escala de bancada, em volume de 50 a 100 ml, em Erlenmeyer incubados em agitadores orbitais, comumente usados em fases preliminares, não refletem os desafios encontrados em biorreatores, onde fatores como a transferência de oxigênio e a homogeneidade do meio afetam significativamente o rendimento e as características do biopolímero (GARCIA-OCHOA e GOMEZ, 2009). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes proporções de APA, peptona e extrato de levedura em meio para produção de inóculo de *Xanthomonas arboricola*, e, em seguida, selecionar dois inóculos geradores de elevadas concentrações de xantanas de alta e baixa viscosidades para o escalonamento em biorreatores, visando aumentar rendimento e reduzir custos da produção de xantana pruni.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Preparo do Inóculo e fermentação

Neste estudo, foi utilizada a cepa *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* 101. A cultura bacteriana foi mantida em ágar SPA (Hayward, 1964). O inóculo foi

preparado através da suspensão  $1,9 \times 10^9$  de células em meio líquido com diferentes concentrações de peptona (Himedia®), extrato de levedura (Procelys by Lesafre®) e água residual da parboilização de arroz, coletada da indústria Nelson Wendt (Pelotas, RS). O delineamento foi tipo composto central fatorial  $2^3$ , com níveis codificados (-1, 0, +1) e repetições no ponto central (0) (Tabela 1). Os tratamentos foram diluídos em meio SPA modificado (Hayward, 1964) e os inóculos preparados em incubadora orbital (B. Braun Biotech International® Certomat BS-1, Alemanha), a (28 °C, 150 rpm, 24 h. O meio de crescimento padrão SPA foi usado como controle. A fase de produção da xantana foi realizada com meio MP11 (VENDRUSCOLO, 2006), em duas escalas: incubadora orbital, (100 mL, 28 °C, 200 rpm, 72 h) e biorreator (New Brunswick Bioflo® & Celligen 310) (10 L, 600 rpm, 1 vvm, 28 °C, 72 h). No biorreator, o pH foi controlado a 7 após 24 h, com adição de NaOH 1M. Utilizou-se 80% de meio de produção, 10% de solução de sacarose (5g/L) e 10% de inóculo (v/v). O biopolímero foi recuperado por adição de etanol 96°GL ao caldo fermentado (4:1 v/v), e a xantana insolubilizada foi seca em estufa a 56 °C até peso constante. Avaliou-se o rendimento por método gravimétrico, sendo expresso em g/L.

## **2.2 Viscosidade**

Determinou-se as propriedades reológicas das soluções aquosas das xantana em reômetro (Haake® RheoStress 600, modelo RS150). Soluções a 1% (m/v) foram agitadas por 2 h e armazenadas a 4 °C por 24 h. A análise foi a 25 °C, utilizando geometria de cone e placa (sensor C60/2° Ti; intervalo de 0,104 mm). Aplicou-se ajuste de curva de acordo com modelo de Ostwald, de Waele para determinar o índice de consistência e índice de fluxo, com  $R^2$  de 0,99

## **2.3 Estatística**

Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. A comparação entre os tratamentos e o padrão SPA foi realizada por meio do teste t, com nível de significância de 5%, utilizando o software Excel.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Na xantana produzida em escala de bancada o K variou de 4,874 a 0,205; o índice  $\eta$  de 0,605 a 0,181, confirmando o comportamento pseudoplástico ( $\eta < 1$ ) (Tabela 1). O tratamento 1, com menor concentração de água residual (20%), apresentou a maior viscosidade ( $K = 4,874$ ) e o menor  $\eta$  (0,181), enquanto o tratamento 4, com altas concentrações de peptona e extrato de levedura, apresentou a menor viscosidade ( $K = 0,205$ ) e maior  $\eta$  (0,605). O tratamento 7 também se destacou por sua baixa viscosidade ( $K = 0,737$ ) e ( $\eta = 0,461$ ), sendo composto por altas concentrações de água de parboilização e extrato de levedura, além de baixas concentrações de peptona, o que o torna economicamente mais viável em comparação com o tratamento 4. Comparando-se com estudos como Cancelli et al. (2024) e Crujeira et al. (2023), verificou-se que a xantana produzida com água de parboilização de arroz teve índices de consistência superiores aos obtidos com permeado de leite, soro de leite e bagaço de azeitona. Trivunović et al. (2024) também obtiveram valores de viscosidade mais baixos utilizando águas residuais de vinícolas.

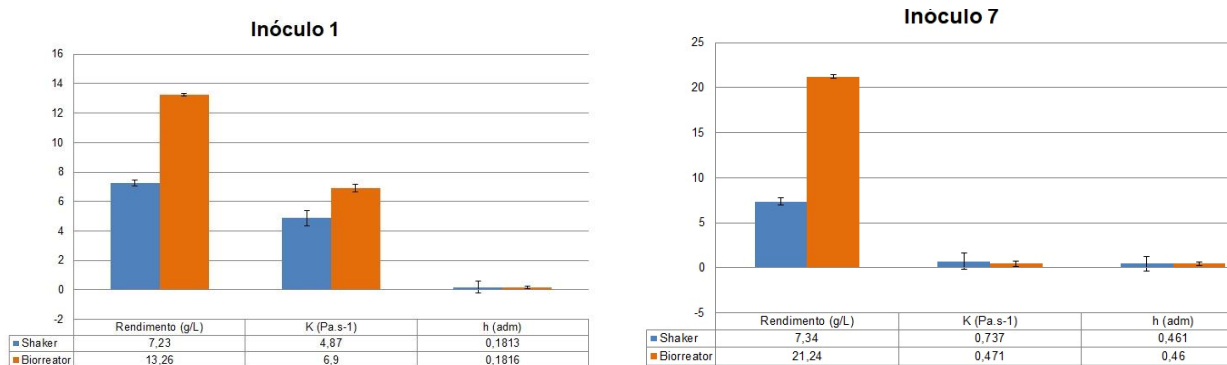
Tabela 1 - Parâmetros reológicos da goma xantana produzida por cepa de *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa 101 a partir de diferentes concentrações de água parboilização de arroz, peptona e extrato de levedura.

Tratamentos	Peptona (g/L)	Extrato de levedura (g/L)	APA (%)	K (Pa.s <sup>-1</sup> )	η (adm)
1	-1 (1)	-1 (1)	-1(20)	4,874±0,051*	0,181±0,004*
2	+1 (5)	-1 (1)	-1 (20)	1,549±0,018*	0,308±0,006*
3	-1 (1)	+1 (5)	-1 (20)	1,702±0,011*	0,361±0,000*
4	+1 (5)	+1 (5)	-1 (20)	0,205±0,002*	0,605±0,000*
5	-1 (1)	-1 (1)	+1 (80)	2,102±0,099*	0,291±0,013*
6	+1 (5)	-1 (1)	+1 (80)	0,798±0,0236*	0,436±0,004*
7	-1 (1)	+1 (5)	+1 (80)	0,737±0,004*	0,461±0,005*
8	+1 (5)	+1 (5)	+1 (80)	0,290±0,002*	0,590±0,019*
9	0	0	0	0,853±0,0177*	0,417±0,000*
10	0	0	0	1,816±0,0269*	0,337±0,009*
11	0	0	0	0,989±0,0713*	0,402±0,015*
SPA	5	0	0	2,399±0,0665	0,298±0,007

\*Diferença estatística pelo teste T (p<0,05) em relação ao tratamento controle (SPA).

Na Figura 1 estão os rendimentos (g/L) e os parâmetros reológicos (K e η) das xantanas obtidas, em shaker e biorreator, com inóculo 1, tratamento escolhido por gerar alta viscosidade, e com inóculo 7, por resultar em baixa viscosidade e ter composição econômica, em diferentes escalas.

Figura 1 – Rendimento (g/L) e parâmetros reológicos, K e η, das xantanas obtidas em *shaker* e biorreator, a partir dos inóculos obtidos com os tratamentos selecionados.



A produção de xantana foi maior no biorreator em comparação ao shaker, com um aumento de 2,89 vezes na produção do inóculo 7. Esse comportamento é atribuído ao melhor controle nos parâmetros de produção no biorreator, como oxigênio dissolvido e pH, o que não é possível em um shaker. Segundo Garcia-Ochoa e Gomez (2009), o oxigênio dissolvido tem um impacto direto na produção de goma xantana. Rončević et al. (2019) obtiveram rendimentos de 23,85 g/L ao utilizar águas residuais de vinícolas em biorreator, enquanto Nery et al. (2013) observaram um aumento de 5,4 vezes no rendimento ao escalonar a fermentação de shaker para biorreator, com um aumento de 30% na viscosidade. Também se observou aumento da viscosidade no tratamento 1, que já era alta, na produção em biorreator. Já no tratamento 7, houve diminuição da viscosidade da xantana. Quanto à pseudoplasticidade, não foram observadas diferenças significativas nos valores de η entre as escalas de produção (*shaker* e biorreator).

#### 4. CONCLUSÕES

A composição dos meios de inóculo e a escala de produção influenciaram significativamente a viscosidade e rendimento da xantana pruni. A seleção dos inóculos 1 e 7, com alta e baixa viscosidade, respectivamente, permitiu um comparativo eficaz durante o escalonamento em biorreatores. O tratamento 7 mostrou-se promissor para a escalonamento em biorreatores em função da elevada produção e composição econômica. Esses achados reforçam o potencial da utilização da água de parboilização como um meio de cultivo alternativo para produção da xantana pruni.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CANCELLA, M.J.; CERQUEIRA, A.F.L.W; DA COSTA TEODORO, L.; PEREIRA, J.R.; DA COSTA LUDWING, Z.M.; DE CARVALHO ANJOS,V.; RODARTE, M.P. Xanthan gum produced from milk permeate and deproteinized cheese whey: A comparative analysis with commercial xanthan gums. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v.56, p.103053,2024
- CRUGEIRA, P. J. L.; ALMEIDA, H. H.S.; MARCET, I.; RENDUELES, M.; PIRES, M. G.; RAFAEL, H. M.; RODRIGUES, A. I. G.; SANTAMARIA-ECHART, A.; BARREIRO, M, F. Biosynthesis of antioxidant xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using substrates added with moist olive pomace. **Food and Bioproducts Processing** v.141, p. 210-218,2023.
- GARCIA-OCHOA, F., & GOMEZ, E. Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: an overview. **Biotechnology advances**, v.27, n.2, p.153-176, 2009
- GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, L. M., CORREA, D. F., RYAN, S., JENSEN, P. D., PRATT, S., & SCHENK, P. M. Integrated biodiesel and biogas production from microalgae: Towards a sustainable closed loop through nutrient recycling. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.82, p.1137-114, 2018.
- HAYWARD, A.C. Bacteriophage sensitivity and biochemical group in *Xanthomonas malvacearum*. **Microbiology**, v.35, 287-298, 1964.
- NERY, T. B. R.; CRUZ, A. J. G. D.; DRUZIAN, J. I. Use of green coconut shells as an alternative substrate for the production of xanthan gum on different scales of fermentation. **Polímeros**, v. 23, p. 602-607, 2013
- PEDONE, I.S.; AQUINO, F.I.; MACAGNAM, K. L.; MOREIRA, A.D.S. Produção de xantana pruni em meios alternativos de água de parboilização de arroz. In: IX SEMANA INTEGRADA DE INOVAÇÃO, ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO (SIIPE), Pelotas, 2023.
- RONČEVIĆ, Z., GRAHOVAC, J., DODIĆ, S., VUČUROVIĆ, D., & DODIĆ, J. Utilisation of winery wastewater for xanthan production in stirred tank bioreactor: Bioprocess modelling and optimisation. **Food and Bioproducts Processing**, v.117, p. 113-125, 2019.
- TRIVUNOVIĆ, Z.; ZAHOVIĆ, I.; VLAJKOV, V.; GRAHOVAC, M.; GRAHOVAC, J.; DODIĆ, J. Xanthan Production Using Wastewaters from Rose Wine Industry: Screening of *Xanthomonas euvesicatoria* Isolates. *Periodica Polytechnica. Chemical Engineering*, v. 68, p.428-436, 2024
- VENDRUSCOLO, C.T. VENDRUSCOLO, J.L.S. MOREIRA, A.S. Process for preparing a xanthan biopolymer. **WIPO -World Intellectual Property Organization**, 2006.