

# PRODUTIVIDADE DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE XANTANA: UM ESTUDO DO EFEITO DA AGITAÇÃO E AERAÇÃO EMPREGANDO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

**ALVES-GAUTÉRIO, F. G.<sup>1</sup>; MOREIRA, A. S.<sup>2</sup>**; VENDRUSCOLO, C. T.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas - Doutorado PPG em Biotecnologia - Centro de Desenvolvimento Tecnológico - Laboratório de Biopolímeros - [fegeal@mikrus.com.br](mailto:fegeal@mikrus.com.br)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas - Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos - Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial; Centro de Desenvolvimento Tecnológico - Laboratório de Biopolímeros

## 1. INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Xanthomonas* produzem um polissacarídeo denominado xantana, que possui elevada importância comercial para as indústrias alimentícias, farmacêutica e petrolífera. É o único polímero que pode apresentar, simultaneamente, alta viscosidade, mesmo em baixas concentrações, pseudoplasticidade e resistência térmica a, no mínimo 65°C; além de ser estável em ampla faixa de pH e temperatura (SUTHERLAND, 1996; BORN et al., 2002).

Variações nas condições operacionais como temperatura, pH, agitação, aeração, entre outros, aplicadas à produção da xantana são fatores que podem influenciar a produtividade do processo, bem como na qualidade do polímero obtido. Agitação e aeração são parâmetros que devem ser corretamente determinados para evitar-se condições de anaerobiose, decorrentes da alta viscosidade do meio ocasionada pela formação da xantana (GARCÍA-OCHOA et al, 2000; PAPAGIANNI et al, 2001).

A literatura reporta pesquisas referentes às diferentes condições de agitação e de aeração, onde estes parâmetros são variados isoladamente (CASAS, SANTOS; GARCÍA-OCHOA, 2000; PAPAGIANNI et al., 2001). Entretanto, existe uma ausência do emprego da metodologia de planejamento experimental para a agitação e a aeração na produção de xantana, de forma a avaliar simultaneamente estas duas variáveis.

Por esta razão, a combinação adequada de agitação e aeração deve ser estudada a fim de evitar a limitação na transferência de oxigênio no processo. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar, simultaneamente, a influência das condições operacionais, agitação e aeração, na produtividade de xantana de *Xanthomonas arboricola* pv pruni EDE.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Manutenção do microrganismo e preparo do inóculo

Utilizou-se nos experimentos a bactéria *Xanthomonas arboricola* pv pruni, cepa EDE, da coleção do Laboratório de Biopolímeros. A bactéria foi mantida por repiques mensais em meio SPA, segundo HAYWARD (1964). Para produção do inóculo, a multiplicação de células foi realizada em agitador rotativo (B. Braun Biotech International®) a 28°C, 150rpm por 24h, conforme patente WO/2006047845 (VENDRUSCOLO; MOREIRA; VENDRUSCOLO, 2006).

### 2.2. Produção e recuperação do biopolímero

O biopolímero foi produzido por fermentação submersa, segundo a patente WO/2006047845 (VENDRUSCOLO; MOREIRA; VENDRUSCOLO, 2006). As

fermentações foram conduzidas em fermentador (*Biostat B* de 5L, *Braun Biotech International*®) a 28°C, por 72h, pH ajustado inicialmente em 7,0 e não mais controlado durante o processo. A xantana foi recuperada do caldo fermentado mediante insolubilização pela adição de etanol 96°GL na proporção 1:4 (v/v), e posterior secagem em estufa a 56°C até peso seco (VENDRUSCOLO et al., 2000, modificado).

### 2.3. Planejamento experimental

A influência da agitação e da aeração na produtividade do processo foi avaliada através de um Planejamento Experimental - Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR; 2<sup>2</sup> ensaios + 4 ensaios nas condições axiais + 3 repetições no ponto central). As faixas estudadas no delineamento foram selecionadas de acordo com a patente WO/2006047845 (VENDRUSCOLO; MOREIRA; VENDRUSCOLO, 2006). As variáveis independentes foram agitação e aeração, tendo como variável resposta a produtividade de xantana. A produtividade do processo foi calculada como sendo a relação entre as produções máxima e inicial alcançada em cada ensaio e o seu respectivo tempo.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 1 apresenta a matriz do DCCR com variáveis codificadas, valores previstos e desvio relativo obtidos para cada ensaio, para a resposta produtividade de xantana. Os desvios relativos foram calculados para cada ensaio e estão reportados na Tabela 1. Embora elevados, o desvio relativo foi em torno de 12% na região de maior produtividade.

Para validação do modelo proposto para o processo, foi realizada a Análise de Variância (ANOVA), conforme reportada na Tabela 2. Para isto, os máximos valores de produtividade foram empregados nesta análise. As variáveis dependentes e independentes foram ajustadas a um modelo quadrático. Em razão do termo de interação entre as variáveis independentes não ter sido significativo, este foi incorporado aos resíduos para o cálculo da ANOVA.

Tabela 1 – Matriz do DCCR com variáveis codificadas para a produtividade.

Ensaio	Agitação (rpm)	Aeração (vvm)	Produtividade (g.L <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )		
			Experimental	Previsto	Desvio (%)
1	-1	-1	0,07	0,10	-46,00
2	+1	-1	0,13	0,16	-19,42
3	-1	+1	0,09	0,08	11,76
4	+1	+1	0,15	0,13	11,69
5	-1,42	0	0,06	0,06	-6,76
6	+1,42	0	0,12	0,14	-15,70
7	0	-1,42	0,08	0,15	-86,62
8	0	+1,42	0,11	0,12	-6,52
9	0	0	0,12	0,12	0,57
10	0	0	0,12	0,12	0,57
11	0	0	0,12	0,12	0,57

Neste presente estudo foi obtido valor alto para R<sup>2</sup> (0,9) e um desempenho bom do F<sub>teste</sub> (12,54, sendo aproximadamente três vezes maior que o F<sub>tabelado</sub> (4,53) para a produtividade, podendo concluir-se que o modelo ajustou-se bem aos dados experimentais. O valor do erro puro foi nulo para a produtividade, indicando uma boa reprodutibilidade experimental.

Tabela 2 – ANOVA para a produtividade no DCCR.

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F calculado
Regressão	0,007216	4	0,001804	12,545201
Resíduo	0,000863	6	0,0001438	
Falta de ajuste	0,000863	4		
Erro puro	0	2		
Total	0,008079	10		

Produtividade:  $R^2 = 0,9$

$F_{\text{tabelado } 4,6; 0,95} = 4,53$

O modelo com as variáveis codificadas, que representa a produtividade em função da agitação e da aeração, está demonstrado na Equação 1. Em função do modelo codificado ter sido considerado preditivo e significativo, foi possível obter as superfícies de resposta e de contorno para a produtividade, apresentadas nas Figuras 1a e 1b, respectivamente.

$$\text{Produtividade} = 0,119321 + 0,026521 (\text{Agitação}) - 0,008990 (\text{Agitação})^2 + 0,011391 (\text{Aeração}) - 0,006999 (\text{Aeração})^2 \quad (\text{Equação 1})$$

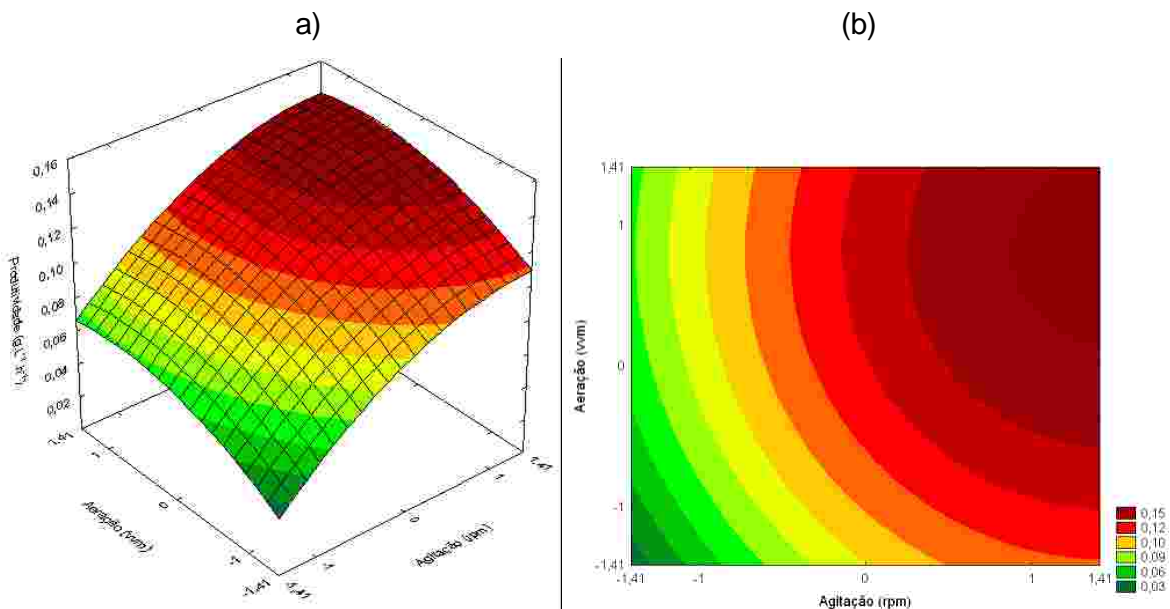


Figura 1 – Superfícies de (a) resposta e de (b) contorno para a produtividade de xantana como uma função das variáveis agitação e aeração.

Através da superfície de resposta gerada pelo modelo (Figura 1), foi possível visualizar as condições de agitação e de aeração que resultaram em maiores produtividades, a saber  $0,15\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ . A faixa ótima iniciou a partir do nível +1 para a agitação e aeração, respectivamente. Tais resultados são interessantes, visto demonstrarem que não é necessário manter-se as condições operacionais de agitação e de aeração em seus níveis mais elevados (pontos axiais positivos); o que para o processo é mais favorável economicamente. Cumpre salientar ainda que, sob o ponto de vista energético e desgaste mecânico do equipamento, a manutenção de elevados níveis de agitação mecânica ocasiona maior consumo e desgaste, respectivamente. De acordo com SCHMIDELL (2001), a manutenção de elevadas concentrações de oxigênio em

um meio de cultura com elevada viscosidade demanda um maior consumo de energia, em função da necessidade de agitação e aeração mais intensas.

Para finalizar o experimento, foi realizada a validação do DCCR na condição extrema indicada pela análise da superfície de resposta (agitação e aeração na condição +1,41), obtendo a confirmação da produtividade obtida anteriormente ( $0,15\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ).

#### 4. CONCLUSÕES

O modelo proposto pelo planejamento experimental foi considerado válido, sendo que as faixas ótimas para a produtividade por *X. arboricola* pv pruni, cepa EDE, foi a agitação e aeração a partir dos níveis +1, atingindo  $0,15\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ .

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORN, K.; LANGENDORFF, V.; BOULENGUER, P. XANTHAN. In: STEINBÜCHEL, A.; VANDAMME, E. J.; DE BAETS, S. **Biopolymers**. Weinheim: Wiley-VCH, 2002, v. 5, p. 259-291.

CASAS, J. A.; SANTOS, V. E.; GARCÍA-OCHOA, F. Xanthan gum production under several operational conditions: molecular structure and rheological properties. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 26, p. 282-291, 2000.

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 group in *Xanthomonas malvacearum*. **Journal of General Microbiology**, p. 287-298, 1964.

PAPAGIANNI, M.; PSOMAS, S.K.; BATSILAS, L.; PARAS, S.V.; KYRIAKIDIS, D. A.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M. A. Xanthan Production by *Xanthomonas campestris* in Batch Cultures. **Process Biochemistry**, v. 37, p. 73-80, 2001.

SCHMIDELL, W. Microrganismos e meios de cultura para utilização industrial. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. de A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biociencia Industrial**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001, v. 2, p. 5-18.

SUTHERLAND, I. W. Microbial biopolymers from agricultural products: production and potencial. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 38, p. 249-261, 1996.

VENDRUSCOLO, C. T.; VENDRUSCOLO, J. L.S.; MOREIRA, A. S., **WO/2006047845**. Universidade Federal de Pelotas, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2006.

VENDRUSCOLO, C. T.; MOREIRA, A. S.; SOUZA, A. S.; ZAMBAZI, R.; SCAMPARINI, A. R. P. Heteropolysaccharide produced by *Xanthomonas campestris* pv pruni C24. In: NISHINARI, K. **Hydrocolloids**. Amsterdam: Elsevier, v. 1, p. 187-191, 2000.