



## INFLUÊNCIA DE TRATAMENTOS PÓS-FERMENTATIVOS NO RENDIMENTO E VISCOSIDADE DE XANTANA PRODUZIDA POR *Xanthomonas arboricola* pv. pruni.

**STARK, Cíntia Behling<sup>1</sup>; PREICHARDT, Leidi Daiana<sup>1</sup>; MOREIRA, Angelita da Silveira<sup>1</sup>; VENDRUSCOLO, Claire Tondo<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Laboratório de Biopolímeros/Centro de Biotecnologia/Universidade Federal de Pelotas – Campus Universitário s/nº - Caixa Postal 354 - CEP 96010-900. [cintiastark@hotmail.com.br](mailto:cintiastark@hotmail.com.br)

### 1. INTRODUÇÃO

A xantana é um heteropolissacarídeo aniônico produzido por bactérias do gênero *Xanthomonas*, sendo amplamente utilizada em diversos segmentos industriais como espessante e estabilizante (Jeanes, 1974). O Brasil segue a tendência mundial de incremento no consumo de xantana, que é totalmente importada; por isso, vários estudos vêm sendo desenvolvidos no país com a finalidade de selecionar bactérias produtoras, parâmetros fermentativos e pós-fermentativos, como recuperação a custos competitivos no mercado internacional. Uma razão importante para continuar com estas pesquisas é que o Brasil é um dos maiores produtores de açúcar e álcool de cana-de-açúcar, principais matérias-primas utilizadas para a produção e recuperação deste biopolímero, o que poderá ser decisivo no custo final do produto. (Souza & Vendruscolo, 1999).

Nos estudos de produção de biopolímeros, como em qualquer outro segmento onde se busca a chegar comercialização, é fundamental o estudo da viabilidade econômica deste produto. Uma grande parte do total dos custos para a produção da goma xantana é gasta na recuperação e purificação do produto. A recuperação deve, portanto, aliar eficiência e economia (Raimann et al., 2002).

O objetivo deste trabalho foi estudar métodos de recuperação utilizando diferentes solventes, tendo como foco a redução de gastos nesta fase do processo, bem como a influência do tratamento térmico e possíveis alterações nas características físico-químicas do polímero de *Xanthomonas arboricola* pv. pruni.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 Microorganismo

A bactéria utilizada foi *Xanthomonas arboricola* pv. pruni, mantida a 4°C e repicada a cada 30 dias.

#### 2.2 Produção da Xantana

A produção foi realizada conforme Vendruscolo, Moreira e Vendruscolo (WO2006/ 047845), em fermentação aeróbica, num volume total de 7 L.

#### 2.3 Recuperação

Nesse experimento, o caldo fermentado utilizado foi centrifugado em centrífuga Sorvall Instruments modelo RC-5C, durante 45 minutos, a 4°C para remoção das células. Posteriormente, o sobrenadante foi dividido em três partes, e os tratamentos foram, respectivamente, sem tratamento térmico (1), 100°C por 30 minutos (2) e 121°C por 15 minutos (3). A seguir, foram utilizados três métodos de recuperação para cada um dos caldos tratados. No primeiro método o solvente utilizado foi etanol 90°GL (método padrão), no segundo utilizou-se etanol 96°GL:acetona 75:25 (v/v) e no terceiro etanol 96°GL: acetona 75:25 (v/v) com adição de 1% de NaCl. A proporção utilizada de solvente em relação ao caldo foi 4:1, 2,5:1 e 2:1 (v/v), para o primeiro, segundo e terceiro método respectivamente. Foram obtidos 9 tipos de amostras as quais foram codificadas como: 1.1, 1.2, 1.3; 2.1,2.2, 2.3; 3.1,3.2, 3.3, sendo o primeiro número referente ao tipo de pós-tratamento do caldo e o segundo ao método de recuperação aplicado.

A recuperação do caldo fermentado foi realizada em triplicata, sendo utilizadas alíquotas de 100 mL de caldo, conforme a codificação anteriormente citada, sendo os polímeros precipitados, separados mecanicamente e secos em estufa a 56°C até peso constante, pesados, moídos até atingirem a granulometria de 0,5µm e armazenados em recipiente de vidro.

#### 2.4 Avaliação do Rendimento

O rendimento de xantana obtido para cada tipo de amostra foi avaliado gravimetricamente, através da relação entre o peso do produto seco e o volume de caldo fermentado utilizado nas alíquotas (g.L<sup>-1</sup>).

#### 2.5 Avaliação da Viscosidade

Para medir a viscosidade foram preparadas soluções a 0,5% de xantana e medidas em um viscosímetro Thermo Haake D-76227; as medidas foram feitas a 60 rpm.

#### 2.6 Avaliação da Proteína

O teor de Proteína bruta foi obtido pelo método de Kjeldahl conforme AOAC (1983).

#### 2.7 Avaliação do Teor de Cinzas

Realizada por calcinação em mufla 500°C conforme AOAC (1983).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O gráfico abaixo expressa a produção final obtida da xantana.

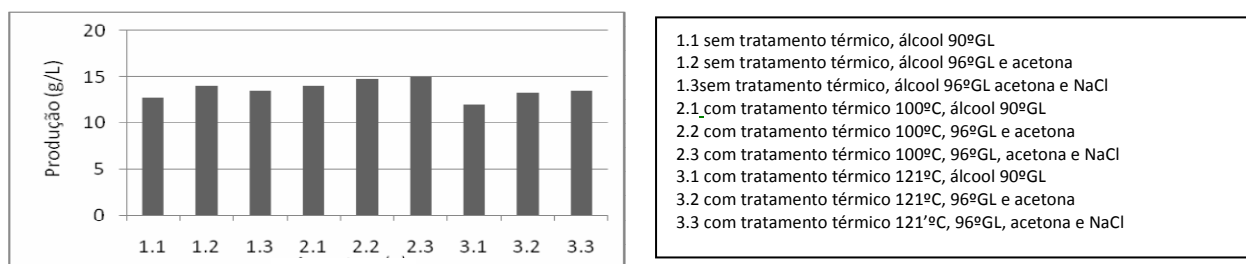
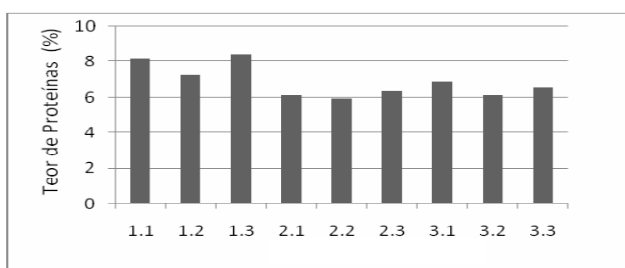


Fig.01- Rendimento da xantana (g.L<sup>-1</sup>)

- 1.1 sem tratamento térmico, álcool 90°GL
- 1.2 sem tratamento térmico, álcool 96°GL e acetona
- 1.3 sem tratamento térmico, álcool 96°GL acetona e NaCl
- 2.1 com tratamento térmico 100°C, álcool 90°GL
- 2.2 com tratamento térmico 100°C, 96°GL e acetona
- 2.3 com tratamento térmico 100°C, 96°GL, acetona e NaCl
- 3.1 com tratamento térmico 121°C, álcool 90°GL
- 3.2 com tratamento térmico 121°C, 96°GL e acetona
- 3.3 com tratamento térmico 121°C, 96°GL, acetona e NaCl

O rendimento obtido pelos diferentes métodos de recuperação (Figura 1) encontram-se condizentes com a literatura, que menciona valores de 10 a 30 g.L<sup>-1</sup> (García-Ochoa et al., 2000). Os resultados apresentados demonstram que a utilização dos métodos alternativos de precipitação (álcool 96º:acetona 75:25 v/v e álcool 96º:acetona 75:25 v/v e 1%NaCl), quando comparados ao padrão, com etanol 90ºGL, ocasionaram redução de 37,5% e 50% no volume de solvente necessário, respectivamente, sem prejuízo ao rendimento. O tratamento térmico influenciou no rendimento; 100ºC por 30 minutos apresentou os melhores resultados.

O gráfico a seguir se refere ao teor de proteínas das amostras, oriundas de células não removidas durante a centrifugação.

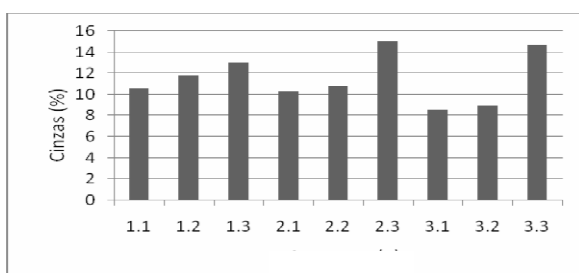


- 1.1 sem tratamento térmico, álcool 90ºGL
- 1.2 sem tratamento térmico, álcool 96ºGL e acetona
- 1.3 sem tratamento térmico, álcool 96ºGL acetona e NaCl
- 2.1 com tratamento térmico 100ºC, álcool 90ºGL
- 2.2 com tratamento térmico 100ºC, 96ºGL e acetona
- 2.3 com tratamento térmico 100ºC, 96ºGL, acetona e NaCl
- 3.1 com tratamento térmico 121ºC, álcool 90ºGL
- 3.2 com tratamento térmico 121ºC, 96ºGL e acetona
- 3.3 com tratamento térmico 121ºC, 96ºGL, acetona e NaCl

Figura 2- Teor de proteínas (%) na xantana

O tratamento térmico influenciou na concentração de proteína bruta, como mostra a Figura 2. As amostras que não sofreram tratamento térmico tiveram teores superiores de proteína bruta. A centrifugação é dificultada quando se trabalha com caldos viscosos e o tratamento térmico auxilia na eliminação desse resíduo (Borges, 2008).

O gráfico abaixo representa as percentagens de cinzas encontradas nas amostras, oriundas dos sais do meio de fermentação ou utilizados na recuperação.

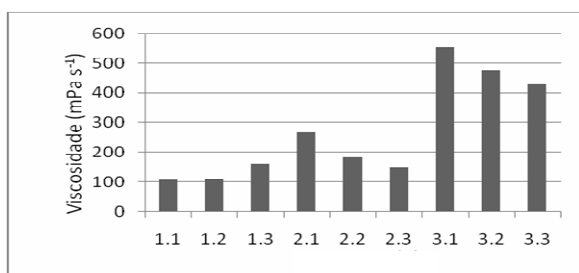


- 1.1 sem tratamento térmico, álcool 90ºGL
- 1.2 sem tratamento térmico, álcool 96ºGL e acetona
- 1.3 sem tratamento térmico, álcool 96ºGL acetona e NaCl
- 2.1 com tratamento térmico 100ºC, álcool 90ºGL
- 2.2 com tratamento térmico 100ºC, 96ºGL e acetona
- 2.3 com tratamento térmico 100ºC, 96ºGL, acetona e NaCl
- 3.1 com tratamento térmico 121ºC, álcool 90ºGL
- 3.2 com tratamento térmico 121ºC, 96ºGL e acetona
- 3.3 com tratamento térmico 121ºC, 96ºGL, acetona e NaCl

Figura 3 - Teor de cinzas (%) na xantana

As amostras precipitadas com a adição de NaCl tiveram os maiores teores de cinzas e os tratamentos térmicos incrementaram a incorporação do sal nestes polímeros, como mostra a Figura 3, mas reduziram nas demais amostras.

Os dados abaixo referem-se aos valores de viscosidade.



- 1.1 sem tratamento térmico, álcool 90ºGL
- 1.2 sem tratamento térmico, álcool 96ºGL e acetona
- 1.3 sem tratamento térmico, álcool 96ºGL acetona e NaCl
- 2.1 com tratamento térmico 100ºC, álcool 90ºGL
- 2.2 com tratamento térmico 100ºC, 96ºGL e acetona
- 2.3 com tratamento térmico 100ºC, 96ºGL, acetona e NaCl
- 3.1 com tratamento térmico 121ºC, álcool 90ºGL
- 3.2 com tratamento térmico 121ºC, 96ºGL e acetona
- 3.3 com tratamento térmico 121ºC, 96ºGL, acetona e NaCl

Figura 4- Viscosidade da solução de xantana 0,5%

A viscosidade é proporcional à qualidade da xantana obtida. Os tratamentos térmicos aumentaram as viscosidades, entretanto os métodos alternativos de precipitação reduziram a viscosidade das amostras tratadas termicamente, se comparadas à amostra recuperada com álcool 90°GL. As amostras tratadas termicamente a 121°C por 15 minutos foram as que apresentaram maior viscosidade, 550m Pas-1. Destas, as recuperadas com a mistura álcool/acetona e, principalmente, álcool/acetona e NaCl 1%, apresentaram um declínio em sua viscosidade. A incorporação do sal ao polímero pode interferir favorável ou desfavoravelmente na viscosidade de suas soluções, dependendo da concentração. Outro fator que pode ter auxiliado na diminuição da viscosidade é a menor quantidade de álcool utilizada na precipitação (García-Ochoa, et al.,2000; Raimann et al, 2002).

#### 4. CONCLUSÃO

A utilização dos métodos alternativos de precipitação reduziu em até 50% o volume de solvente necessário, sem reduzir o rendimento. Os tratamentos térmicos reduziram os teores de proteínas e cinzas residuais, com exceção para as amostras precipitadas com a adição concomitante de 1% de NaCl, e aumentaram a viscosidade. Com o tratamento térmico a 100°C foram obtidos os maiores rendimentos e com o tratamento a 121°C as maiores viscosidades. A adição de NaCl na recuperação reduziu a viscosidade da solução das amostras tratadas termicamente, mas aumentou a viscosidade da amostra não tratada. O tratamento térmico a 121°C juntamente com o método de recuperação que utiliza etanol 96°GL:acetona 75:25 (v/v) na proporção de 2,5:1 em relação ao caldo fermentado, demonstrou a melhor relação entre rendimento, viscosidade e volume de solvente gasto, que refletindo beneficemente no custo da recuperação.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao CNPq pelo apoio financeiro concedido na forma de bolsas.

#### 6. REFERÊNCIAS

- BORGES, C. D., de PAULA, R. C. M, FEITOSA, J. P. A, VENDRUSCOLO, C. T. The influence of thermal treatment on xanthan produced by *X. arboricola* pv pruni strain 106 under different operational conditions. **Carbohydrates polymers**. Aceito para publicação em 2008.
- GARCÍA-OCHOA, G.F., SANTOS, V.E, CASAS, J.A, GÓMES, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18 , p.549-579, 2000.
- JEANES, A. Extracellular microbial polysaccharides - New hydrocolloids of interest to the food industry. **Food Technology**, v. 28, n. 5, p.34-40, 1974.
- RAIMANN, S., MOREIRA, A., VENDRUSCOLO, C. **Utilização de sais e solventes para redução de custos na fase de recuperação de xantana produzida por**

**fermentação líquida.** XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos CBCTA; Porto Alegre, 2002.

SOUZA, A. da S., VENDRUSCOLO, C. T. Produção e caracterização dos biopolímeros sintetizados por *Xanthomonas campestris* pv pruni cepas 24 e 58. **Ciência e Engenharia**, v. 8, n. 2, p. 115-123, 1999.

VENDRUSCOLO, C. T., MOREIRA, A. S., VENDRUSCOLO, J. L. S. WO2006/047845.