# MODIFICAÇÕES QUÍMICAS EM XANTANA PRODUZIDA POR Xanthomonas arboricola pv pruni PROMOVIDAS POR TRATAMENTO TÉRMICO

<u>SILVEIRA,Carla F.</u><sup>1,3</sup>; PREICHARDT,Leidi D.<sup>2,3</sup>; FIGUEIREDO,Roger dos S.<sup>3</sup>; VENDRUSCOLO,Claire T.<sup>1,2,3</sup>; FURLAN, Lígia<sup>4</sup>; MOREIRA,Angelita da S.<sup>1,3</sup>

(1) Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – Cenbiot/UFPel - CEP 96010-900. (2) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial – DCTA/UFPel, (3) Laboratório de Biopolímeros – Cenbiot/UFPel, (4) Instituto de Química e Geociências – DQO/UFPel.carlafesil@hotmail.com

## 1. INTRODUÇÃO

A xantana é um exopolissacarídeo aniônico, produzido industrialmente por fermentação aeróbica de açúcar por culturas de *Xanthomonas campestris* (Lilly, 1958). Entretanto, as outras espécies de *Xanthomonas* também são capazes de produzir xantana, com eficiência e qualidade variável (WO2006/ 047845). Apresenta alta viscosidade e pseudoplasticidade e certa tixotropia em baixas concentrações; elevada estabilidade térmica e iônica numa ampla faixa de pH quando comparados a outros polímeros (Sutherland, 1982; García-Ochoa et al., 2000); é facilmente biodegradável e não apresenta nenhuma toxicidade.

As propriedades da xantana são determinadas por sua composição química (monossacarídeos e derivados e radicais acetil e piruvato), ligação, arranjo e peso molecular. Essas características podem ser alteradas por mudanças na espécie, patovar ou cepa, além das condições de crescimento, parâmetros do processo fermentativo (Garcia-Ochoa et al., 2000) e tratamentos pós-fermentativos. Estas modificações podem promover melhoras no seu comportamento reológico. A xantana também pode ser modificada através da reação de desacetilação parcial das cadeias laterais da molécula. O objetivo deste trabalho foi comparar a composição química de xantanas, produzidas por *Xanthomonas arboricola* pv pruni, tratadas e não tratadas termicamente, provenientes de diferentes tempos de produção (66h e 72h).

#### 2. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 2.1 Polímeros utilizados

Xantanas produzidas por fermentação aeróbica de açúcares pela bactéria Xanthomonas arboricola pv pruni em 66h e 72h, com e sem tratamento térmico do caldo fermentado (E/C e NE/C, respectivamente), segundo PI 04060009-0.

#### 2.2 Reometria

Foi preparada uma solução aquosa dos polímeros a 0,5% (p/v) em água deionizada (Moreira, 2001). Após 24h, foram realizadas as leituras em reômetro

Haake RS 150 com sistema de cilindros coaxiais e sensor DG 41, a 25℃, nas taxas de deformação de 0.01 s<sup>-1</sup> a 1000 s<sup>-1</sup>, durante 300 s.

## 2.3 Determinação do grau de acetilação

A determinação quantitativa de grupos acetil presentes nas amostras de xantana foi realizada através de análise colorimétrica, segundo método preconizado por Mccomb e Mccready (1957) com modificações.

## 2.4 Determinação do grau de piruvatação

A determinação quantitativa de grupos de piruvato da xantana foi realizada através de análise colorimétrica (Slonecker & Orentas, 1962).

#### 2.5 Determinação de monossacarídeos e derivados

A determinação dos monossacarídeos e ácido derivado componentes das xantanas foi realizada por cromatografia de camada delgada comparativa, segundo Moreira et al. (1998).

#### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Açúcares e derivados componentes

As quatro amostras analisadas possuem em sua composição química manose, glicose, ácido glicurônico e ramnose, conforme o esperado para polímeros produzidos por *Xanthomonas arboricola* pv pruni (Moreira et al., 1998). Os valores de Rf (fator de retenção) para os monossacarídeos glicose, manose e ramnose foram de 0,61, 0,63 e 0,76, respectivamente, e 0,36 para o ácido glicurônico.

Sloneker e Jeanes (1962) mostraram que a xantana consiste de D-glicose, D-manose, D-ácido glicurônico e resíduos de ácido acético e pirúvico. No entanto, numerosos estudos têm mostrado que diferentes cepas de *Xanthomonas* e condições de cultivo podem produzir polímeros com diferentes composições (Sutherland, 1983). A presença de outros açúcares e ácidos derivados pode facilmente ser detectada pela técnica de cromatografia de camada delgada comparativa. Pequenas diferenças entre os teores destes componentes, entretanto, não podem ser detectadas (Moreira et al., 1998; Moreira et al., 2001).

Os polímeros produzidos em 72h apresentaram maior conteúdo de glicose que aqueles produzidos em 66h, a julgar pela intensidade da coloração das respectivas manchas. Em relação ao tratamento térmico pós-fermentativo, parece ter ocasionado uma redução no conteúdo de glicose em relação ao de manose, principalmente no polímero de 66h.

#### 3.2 Determinação do grau de acetilação e piruvatação

Os valores de acetil e piruvato das xantanas analisadas estão apresentados na Tabela 1. Os polímeros de 72h apresentaram maior teor de acetil e piruvato, em relação aos polímeros de 66h. O tratamento térmico ocasionou redução desses valores para ambos; entretanto, esta foi mais acentuada no polímero de 72h. A redução nos teores de acetil e piruvato ocasionadas pela aplicação de tratamento térmico pós-fermentativo já tem sido relatada na literatura.

Ao analisarem amostras de xantanas de diferentes cepas de *Xanthomonas campestris* com diferentes graus de piruvatação, Sandford et al. (1977) deduziram que as xantanas com maior teor de piruvato (4,0-4,8%) são mais viscosas do que as com menor teor (2,5-3,0%), particularmente na presença de sais. Tako e Nakamura (1984), ao removerem os grupos acetil de uma amostra de xantana comercial,

observaram um incremento da viscoelasticidade do biopolímero desacetilado em altas concentrações em relação ao biopolímero natural. Em contrapartida, a xantana comercial proveniente de um único fabricante, preparada com vários teores de acetil e piruvato por Bradshaw et al. (1983), não apresentaram mudança de viscosidade entre si.

**Tabela 1.** Teores de acetil e piruvato (e=tratamento térmico; ne=sem tratamento térmico).

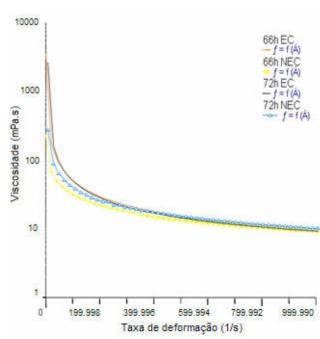


Figura 1. Viscosidade das xantanas.

Amostras	Acetil % ± DP	Piruvato % ± DP
66 h NE/C	$3,99 \pm 0,02$	1,07 ± 0,09
66 h E/C	$2,87 \pm 0,16$	$0.97 \pm 0.06$
72 h NE/C	$6,00 \pm 0,26$	1,27 ± 0,10
72 h E/C	$4,25 \pm 0,16$	$1,00 \pm 0,10$

### 3.3 Análise reológica

Os valores de viscosidade das xantanas estão demonstrados na Figura 1. Em relação aos polímeros não tratados termicamente, o polímero obtido em 72h de fermentação apresentou viscosidade superior. Porém quando submetidos ao tratamento térmico pós-fermentativo, o polímero de 66h apresentou viscosidade levemente superior. Ambos os polímeros tiveram suas viscosidades aumentadas pelo tratamento térmico. A influência exercida pelo tratamento térmico sobre a viscosidade dos polímeros é cepa dependente, podendo não aumentar a viscosidade, ou mesmo diminuí-la<sup>1</sup>.

#### 3.4 Relação entre composição guímica e viscosidade

A relação entre o teor de acetil e piruvato e viscosidade é controversa na literatura pertinente. Estudos realizados com xantana aceitam, em geral, a hipótese de que os grupos acetil e piruvato influenciam na viscosidade de soluções de xantana. Slonecker e Jeanes (1962) relatam que a remoção dos grupos acetil da xantana sintetizada pela *Xanthomonas campestris* pv campestris cepa NRRL B-1459 proporciona mudanças em suas propriedades físicas, como o incremento de sua

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Segundo dados experimentais ainda não publicados.

viscosidade na presença de sais. Entretanto, em outros estudos, amostras de xantana de diferentes cepas de *Xanthomonas campestris*, com diversos graus de acetilação, apresentaram viscosidades aproximadas. (Sutherland; Tait, 1992).

Observou-se que os polímeros com maior teor de acetil apresentaram as maiores viscosidades, com exceção do polímero de 66h tratado termicamente; este, apesar de ter o menor percentual de acetil, apresentou a maior viscosidade. Os polímeros tratados termicamente apresentaram menores teores de piruvato, mas maiores valores de viscosidade, contrariando a teoria predominante de que maiores teores de piruvato resultam em viscosidades mais elevadas. Entretanto, deve-se levar em consideração que o tratamento térmico também ocasionou mudanças no conteúdo de açúcares, aumentando, aparentemente, a proporção de manose em relação à glicose, principalmente no polímero de 66h. Segundo Moreira et. al. (2001), polímeros com maior conteúdo de manose apresentam maior valor de viscosidade. Esses resultados indicam a influência da interação entre os fatores conteúdo de açúcares, acetil e piruvato na viscosidade.

#### 4. CONCLUSÃO

Os teores de piruvato, acetato e glicose, bem como a viscosidade das xantanas aumentaram com o tempo de fermentação, enquanto que o tratamento térmico reduziu o conteúdo de piruvato, acetato e glicose e elevou a viscosidade das soluções aquosas destas xantanas. Também foi observada a ocorrência de interação entre os fatores conteúdo de monossacarídeos, acetil e piruvato e sua influência na viscosidade dos polímeros.

## 5. REFERÊNCIAS

BRADSHAW, I. J.; NISBET, B. A.; KERR, M. H.; SUTHERLAND, I. W. Modified xanthan-its preparation and viscosity, **Carbohydrate Polymers**, 1983, 3, p. 23-38. GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery and properties, **Biotechnology Advances**, 2000, 18, p. 549-579.

LILLY, V. G.; WILSON, H. A.; LEARCH, J. G. Bacterial polysaccharides II. Laboratory Scale production of polysaccharides by species X. campestris. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 1958, 6, p.105-109.

McCOMB, E. A.; McCREADY, R. M. Determination of acetyl in pectin and in acetylated carbohydrate polymers, **Analytical Chemistry**, 1957, 5, 29, p. 819-821.

MOREIRA, A.S.; SOUZA, A.S.; VENDRUSCOLO, C.T. Determinação da composição de biopolímero por cromatografia em camada delgada: metodologia. **Revista Brasileira de Agrociência**, 1998, 3, p. 222-224.

MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; GIL-TURNES, C.; VENDRUSCOLO, C. T. Screening among 18 novel strains of *Xanthomonas campestris* pv pruni. **F. Hydrocolloids**, 2001, 15, p. 469-474.

SANDFORD, P. A.; PITTSLEY, J. E.; KNUTSON, C. A.; WATSON, P. R.; CADMUS, M.C.; JEANE, A. Variation in Xanthomonas campestris NRRL B-1459: characterization of xanthan products of differing strains. In: SANDFORD, P. A.; LASKINS, A. Extracellular Microbial Polysaccharides. Washington, D. C.: American Chemical Society, 1977, p. 192-210.

SLONEKER, J. H.; JEANES, A. Exocellular bacterial polysaccharide from *Xanthomonas campestris* NRRL B - 1459. **Canadian Journal of Chemistry**, 1962, 40, p. 2066-2071.

SUTHERLAND, I. W. Biosynthesis of microbial exopolysaccharides. **Advances Microbial Physiology**, 1982, 23, p. 80-142.

SUTHERLAND, I.W.; TAIT, M.I. Biopolymers. **Encyclopedia of Microbiology**, 1992, 1, p.339-349.

SUTHERLAND, I. W. Extracellular polysaccharide. In: Dellweg, H. **Biotechnology** Weinheim: Verlag Chemie, 1983, p. 531-574.

TAKO, M.; NAKAMURA, S. Rheological properties of deacetylated xanthan in aqueous media. **Agricultural and Biological Chemistry**, 1984, 48, p. 2887-2993.

#### **6. AGRADECIMENTOS**

Este projeto teve o suporte financeiro do CNPq.