

INFLUÊNCIA DA AGITAÇÃO E AERAÇÃO NA PRODUÇÃO E NA PRODUTIVIDADE DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE XANTANA POR *Xanthomonas arboricola* pv pruni

**ALVES, Fernanda Germano^{1*}; MOREIRA, Angelita da Silveira¹;
VENDRUSCOLO, Claire Tondo¹**

¹Universidade Federal de Pelotas – fegeal@mikrus.com.br *

1 INTRODUÇÃO

A xantana é um exopolissacarídeo aniônico produzido por fermentação aeróbia de açúcar por bactérias do gênero *Xanthomonas* (LILLY, 1958). É o único polímero que pode apresentar, simultaneamente, alta viscosidade mesmo em baixas concentrações, pseudoplasticidade e resistência térmica a, no mínimo 65°C (Sutherland, 1996; García-Ochoa et al., 2000; Born et al., 2002).

Sob o ponto de vista comercial e industrial, a xantana é considerada o mais importante biopolímero microbiano; além de ser o segundo a ser produzido em larga escala e o primeiro a ser utilizado na indústria alimentícia (Morris, 1995; Maugeri-Filho 2001). Apresenta elevado interesse nas indústrias alimentícia, farmacêutica, de tintas e petrolífera por sua capacidade de formar soluções viscosas pseudoplásticas e estáveis; isto se deve às suas propriedades reológicas, que superam as de outros polissacarídeos comercializados (Sutherland, 1982; García-Ochoa et al., 2000; Rosalam, England, 2006).

Variações nas condições operacionais como temperatura, pH, agitação, aeração, entre outros, aplicadas à produção da xantana são fatores que podem influenciar na produtividade do processo fermentativo, bem como na qualidade do polímero obtido. A agitação e a aeração são parâmetros necessários para evitar condições de anaerobiose decorrentes da alta viscosidade do meio ocasionada pela formação da xantana (García-Ochoa et al., 2000; Papagianni et al., 2001; Feng et al., 2003).

Desta forma, 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 destes parâmetros operacionais na produtividade e na produção de xantana proveniente de *Xanthomonas arboricola* pv pruni EDE.

2 METODOLOGIA

2.1 Manutenção do microrganismo, inóculo e produção do biopolímero

X. arboricola pv pruni, cepa EDE, foi utilizada nos experimentos; sendo mantida por repiques mensais em meio SPA (Hayward, 1964). A multiplicação celular foi realizada em agitador rotativo (B. Braun Biotech International) a 28°C, 150rpm por 24h, conforme PI0406309-0 (Vendruscolo et al., 2004).

Xantana foi produzida por fermentação submersa, segundo WO/2006047845 (Vendruscolo et al., 2006), acrescido de 10% (v/v) de inóculo. As fermentações foram conduzidas em Fermentador Biostat B de 2 L (B. Braun Biotech International) com um volume útil de 1,5 L, temperatura mantida a 28°C, por 72h, pH ajustado para 7,0 e, não mais controlado durante todo o processo.

2.2 Recuperação do biopolímero

Para promover a recuperação da xantana do caldo fermentado, esta foi centrifugada (Centrífuga Sorvall® RC 6), e posteriormente precipitada com adição de

etanol 96°GL na proporção 1:4 (v/v); submetida à secagem em estufa a 56°C até peso seco (Estufa de Cultura, modelo 002 CB) (Vendruscolo et al., 2000, modificado).

2.3 Delineamento experimental

A influência da agitação e da aeração do processo foi avaliada através de um Delineamento Composto Central (*Central Composite Design*, CCD; 2² ensaios + 3 pontos centrais). As faixas estudadas no delineamento foram selecionadas de acordo de acordo com a patente WO2006047845* (Vendruscolo et al., 2006): ensaio 1 (agitação mínima recomendada* e 0,5vvm); ensaio 2 (agitação máxima* e 0,5vvm); ensaio 3 (agitação mínima* e 1,0vvm); ensaio 4 (agitação máxima* e 1,0vvm); ensaios 5-7 (agitação intermediária* e 0,75vvm), conforme Tabela 1.

As variáveis independentes foram a agitação e aeração, tendo como variáveis resposta a produção de polímero e a produtividade do processo. 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 DCC com as variáveis codificadas, bem como os valores experimentais, valores previstos e desvio relativo obtidos para cada ensaio, para o polímero produzido e produtividade.

Tabela 1: Matriz do DCC para a atividade enzimática e produtividade.

| Ensaio | Agitação (rpm) | Aeração (vvm) | Polímero (g.L ⁻¹) | | | Produtividade (g.L ⁻¹ .h ⁻¹) | | |
|--------|----------------|---------------|-------------------------------|-------|-----------|---|-------|-----------|
| | | | Exp. | Prev. | Desv. (%) | Exp. | Prev. | Desv. (%) |
| 1 | -1 | -1 | 7,20 | 7,08 | 1,67 | 0,10 | 0,10 | 0 |
| 2 | +1 | -1 | 9,58 | 9,46 | 1,25 | 0,13 | 0,13 | 0 |
| 3 | -1 | +1 | 7,85 | 7,73 | 1,53 | 0,11 | 0,11 | 0 |
| 4 | +1 | +1 | 11,13 | 11,01 | 1,10 | 0,15 | 0,15 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 8,68 | 8,82 | -1,61 | 0,12 | 0,12 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 8,63 | 8,82 | -2,20 | 0,12 | 0,12 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 8,65 | 8,82 | -1,98 | 0,12 | 0,12 | 0 |

Para validação do modelo proposto para o rendimento em polímero e produtividade do processo foi realizada uma Análise de Variância (ANOVA), conforme reportados na Tabela 2. Para isto, os máximos valores de xantana e produtividade foram empregados nesta análise. As variáveis dependentes e independentes foram ajustadas a um modelo linear.

Neste presente estudo, foram obtidos valores de R² altos (0,99 e 0,99) e um desempenho bom do F_{teste} (66,28 e 67,33), sendo sete vezes maior que o F_{tabelado} (9,28 e 9,28) para a xantana e produtividade. Além disso, o valor do erro puro foi baixo, indicando uma boa reprodutibilidade experimental. Os desvios relativos foram calculados para cada ensaio e estão reportados na Tabela 1. Para o polímero todos os desvios foram baixos, na ordem de 2%, principalmente na região de maior produção do polímero (Ensaio 4; 1,17%). Para a produtividade, não houve desvio para todos os ensaios do planejamento. Assim, o modelo codificado foi considerado preditivo e significativo (Equações 1 e 2), podendo obter as superfícies de resposta para polímero e produtividade, apresentadas na Figura 1.

Tabela 2: ANOVA para polímero e produtividade do CDD.

| Fonte de variação | Soma quadrática | | Graus de liberdade | | Média quadrática | | F calculado | |
|-------------------|-----------------|----------|--------------------|-------|------------------|----------|-------------|---------|
| | Pol. | Prod. | Pol. | Prod. | Pol. | Prod. | Pol. | Prod. |
| Regressão | 9,4214 | 0,001818 | 3 | 3 | 3,140467 | 0,000606 | 66,281146 | 67,3333 |
| Resíduo | 0,142143 | 0,000027 | 3 | 3 | 0,047381 | 0,000009 | | |
| Falta de ajuste | 0,140876 | 0,000027 | 1 | 1 | | | | |
| Erro puro | 0,001267 | 0 | 2 | 2 | | | | |
| Total | 9,563543 | 0,001845 | 6 | 6 | | | | |

Pol (Polímero): $R^2=0,99$

Prod (Produtividade): $R^2=0,99$

$F_{\text{tabelado } 3, 3; 0,95} = 9,28$

$F_{\text{tabelado } 3, 3; 0,95} = 9,28$

$$\text{Pol.} = 8,82 + 1,42 (\text{Agitação}) + 0,55 (\text{Aeração}) + 0,23 (\text{Agitação} \times \text{Aeração}) \quad (1)$$

$$\text{Prod.} = 0,122 + 0,019(\text{Agitação}) + 0,007(\text{Aeração}) + 0,003(\text{Agitação} \times \text{Aeração}) \quad (2)$$

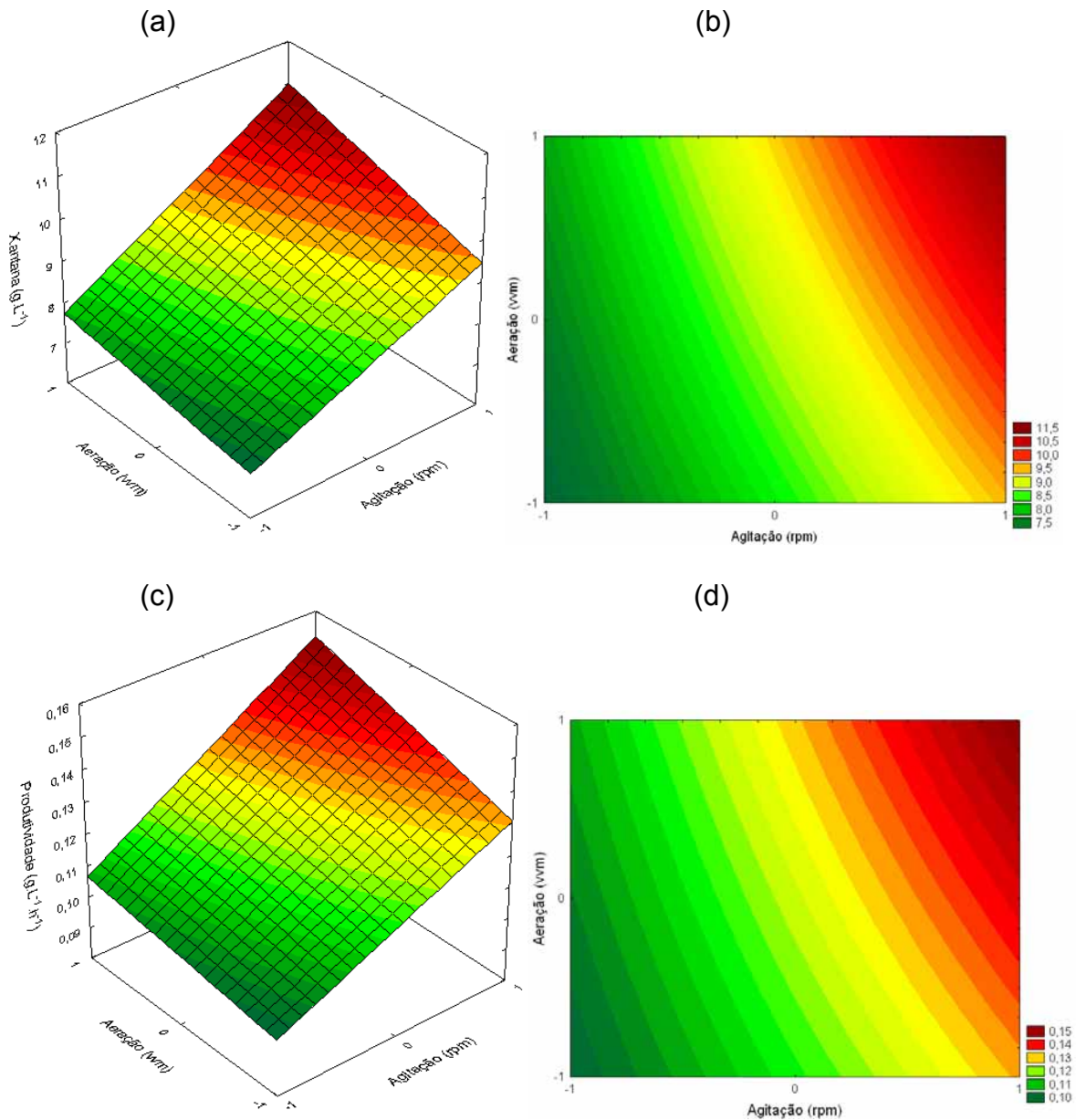


Figura 1: Superfícies de (a) e (c) resposta e de (b) e (d) contorno para o polímero e produtividade do processo, respectivamente, como uma função da agitação e da aeração.

4 CONCLUSÕES

A condição com os maiores níveis de agitação e aeração conduziram o processo a uma maior produção de xantana ($11,13\text{g.L}^{-1}$) e produtividade ($0,15\text{g.L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$).

5 REFERÊNCIAS

- BORN, K.; LANGENDORFF, V.; BOULENGUER, P. Xanthan. In: STEINBÜCHEL, A.; VANDAMME, E. J.; DE BAETS, S. **Biopolymers**. v. 5. Weinheim: Wiley-VCH, 2002. p. 259-291.
- FENG, Y.; HE, Z.; ONG, S. L.; HU, J.; ZHANG, Z.; NG, W. J. Optimization of agitation, aeration and temperature conditions for maximum β -mannanase production. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 322, p. 82-89, 2003.
- 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.
- LILLY, V.G.; WILSON, H.A.; LEARCH, J.G. Bacterial polysaccharides II. Laboratory-scale production of xanthan gum. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 6, p. 105-112, 1958.
- MAUGERI-FILHO, F. Produção de polissacarídeos. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDEL, W. **Biotecnologia Industrial**. v. 3, São Paulo: Edgard Blücher LTDA, 2001. p. 125-154.
- MORRIS, V. J. Bacterial polysaccharides. In: STEPHEN, A. M. **Food polysaccharide and their applications**. New York: Basel Marcel Dekker, 1995. p. 341-375.
- 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.
- ROSALAM, S.; ENGLAND, R. Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas campestris* sp. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, p.197-207, 2006.
- SUTHERLAND, I. W. Microbial biopolymers from agricultural products: production and potencial. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 38, n. 3-4, p. 249-261, 1996.
- SUTHERLAND, I.W. Biosynthesis of microbial exopolysaccharides. **Advances Microbial Physiology**, v. 23, p. 80-142, 1982.
- 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.; VENDRUSCOLO, J. L.S.; MOREIRA, A. S. **PI0406309-0**. Universidade Federal de Pelotas, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2004.
- VENDRUSCOLO, C. T.; MOREIRA, A. S.; SOUZA, A. S.; ZAMBIAZI, 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.

Agradecimentos: A CAPES pela bolsa de estudos.