

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



Dissertação

**“Potencial de 10 isolados de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* para produção de xantana e
otimização das condições de recuperação”**

”

Adriel Penha Munhoz

Pelotas, 2020

Adriel Penha Munhoz

“Potencial de 10 isolados de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* para produção de xantana e otimização das condições de recuperação”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos (área do conhecimento: Microbiologia de Alimentos).

Orientador: Prof^a. Dr^a. Patrícia Silva Diaz

Coorientadores: Prof. Dr. Carlos André Veiga Burkert
Prof^a. Dr^a. Janaina Fernandes de Medeiros Burkert

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M963p Munhoz, Adriel Penha

Potencial de 10 isolados de xanthomonas arborícola pv pruni para produção de xantana e otimização das condições de recuperação / Adriel Penha Munhoz ; Patrícia Silva Diaz, orientadora ; Carlos André Veiga Burkert, Janaina Fernandes de Medeiros Burkert, coorientadores. — Pelotas, 2020.

68 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. Goma bacteriana;. 2. Biopolímeros;. 3. Fitopatogênicos;. 4. Alta concentração. I. Diaz, Patrícia Silva, orient. II. Burkert, Carlos André Veiga, coorient. III. Burkert, Janaina Fernandes de Medeiros, coorient. IV. Título.

CDD : 664

Adriel Penha Munhoz

“Potencial de 10 isolados de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* para produção de xantana e otimização das condições de recuperação”

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Patrícia Silva Diaz (Orientadora) Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dr. Carlos André Veiga Burkert (Coorientador) Doutor em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas.

Prof^a. Dr^a. Janaína Fernandes de Medeiros Burkert (Coorientadora) Doutora em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas.

Dr^a. Renata Aguirre Trindade. Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, por nos permitir a vida.

Agradeço aos meus pais e familiares, em especial a minha mãe, Maria Graciela Lima Penha, por sempre se esforçar, me incentivar, permitindo que eu pudesse seguir estudando.

Ao meu companheiro Sandro Saralegui Ferrari, por sempre me apoiar e me incentivar nas minhas conquistas.

A todos integrantes do Laboratório de Tecnologia de Bioprocessos UFPeL, em especial a Bruna e Bianca de Oliveira Molon, Matheus Acevedo Montano, Jackson Becker, Vicente e Reisser por todo apoio e amizade na hora de realizar as atividades do mestrado.

A minha orientadora Patrícia Silva Diaz por ser minha amiga, me ajudando nas horas que achamos que não vamos conseguir seguir em frente e alegrando nossos dias no laboratório.

A minha amiga Renata Aguirre Trindade por me introduzir a pesquisa científica em 2013 e ser um exemplo de pessoa, demonstrando sempre ética no seu trabalho, um carinho enorme nas atividades que realiza e no modo de lidar com as pessoas.

A todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho, meu sincero
MUITO OBRIGADO!

“Se cheguei até aqui foi porque me apoiei no ombro dos gigantes.”
Isaac Newton

RESUMO

Munhoz, Adriel Penha. “Potencial de 10 isolados de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* para produção de xantana e otimização das condições de recuperação” 2020. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

Os micro-organismos são capazes de sintetizar ampla diversidade de estruturas químicas, como a produção de biopolímeros hidrossolúveis com diferentes propriedades. A produção de biopolímeros bacterianos pode ser induzida pelo excesso de macronutrientes, juntamente com limitação de outros micronutrientes, além de fatores, como a espécie de micro-organismo, condições do cultivo microbiano e o solvente aplicado para precipitação da goma. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a produção de xantana, conteúdo de acetil e piruvato e o perfil de viscosidade das gomas oriundas de bactérias isoladas da cidade de Pelotas-RS em dois meios de produção distintos, comparando com a bactéria *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459, que é utilizada industrialmente para obtenção da goma. Foram utilizadas 10 isolados de bactérias *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* e *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. Para a produção do biopolímero xantana foram utilizados os meios MPI+II (meio A) e o meio de produção MP11 (meio B). Para as análises reológicas foram preparadas soluções a 1% (m/v) e conduzidas em reômetro Rheostress (HAAKE RS 150) variando-se a taxa de deformação entre 0,1 e 1000 s⁻¹, por 300 s, a 25 °C. As determinações dos ácidos acético e pirúvico foram realizadas através dos métodos do ácido hidroxâmico e do 2,4 dinitrofenilhidrazina, sendo que os valores de concentração de xantana e biomassa foram obtidos por análise gravimétrica. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Os valores médios e desvios-padrão foram submetidos à Análise de Variância e teste de Tukey. Todos isolados de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* provenientes dos pessegueiros da cidade de Pelotas-RS possuem um grande potencial de produção de xantana em comparação com *Xanthomonas campestris* NRRL B – 1459, que é utilizada industrialmente. Valores de concentração de goma xantana em meio A variaram de 4,54 ± 0,44 g L⁻¹ a 17,68 ± 2,14 g L⁻¹ e em meio B de 8,12 ± 1,17 g L⁻¹ a 26,02 ± 0,18 g L⁻¹. Já os valores de piruvato variaram de 0,33 ± 0,09% a 2,91 ± 0,49% em meio A e 0,37 ± 0,09% a 6,74 ± 0,63% em meio B, enquanto que os valores de acetil variaram de 0,30 ± 0,2% a 3,11 ± 0,10% em meio A, e em meio B de 0,33 ± 0,06% a 3,31 ± 0,05%. O perfil de viscosidade das xantanas em solução aquosa apresentou um comportamento de fluido não newtoniano, pseudoplástico, o que é característico para este tipo de goma.

Palavras-Chaves: Goma bacteriana; biopolímeros; fitopatogênicos; alta concentração.

ABSTRACT

Munhoz, Adriel Penha. 2020. 68f. **“Potential of 10 isolates of *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* for xanthan production and optimization of recovery conditions”**. Dissertation (MSc in Food Science and Technology) – Postgraduate Program in Food Science and Technology, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil, 2020.

Microorganisms are capable of synthesizing a wide variety of chemical substances, such as the production of water-soluble biopolymers with different properties. The production of bacterial biopolymers can be induced by the excess of macronutrients, including limitation of other micronutrients, in addition to factors such as a species of microorganism, the conditions of the cultivation process and the use of prohibited substances for gum. In this context, the aim of the present work was to evaluate the production of xanthan, content of acetyl and pyruvate and the viscosity profile of gums from bacteria isolated in the city of Pelotas-RS in two different production methods, comparing with *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459, which is industrially used to cause damage. Ten species of *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* and *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 were used. For the production of xanthan biopolymers, MPI + II media (medium A) and MPII production medium (medium B) were used. For rheological analyses, 1% (w / v) solutions were prepared and a Rheostress rheometer (HAAKE RS 150) was used, varying the shear rate between 0.1 and 1000 s⁻¹, for 300 s, at 25 °C. The determination of acetic and pyruvic acid contents was performed using the hydroxamic acid and 2,4-dinitrophenylhydrazine methods, while the concentration values of xanthan and biomass were analyzed by gravimetric analysis. All experiments were carried out in triplicate. Mean values and standard deviations were submitted to analysis of variance and Tukey test. All *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* strains isolated from peach trees from the city of Pelotas-RS have a great potential for xanthan production compared to the *Xanthomonas campestris* NRRL B - 1459 which is used industrially. Xanthan gum concentration in medium A ranged from 4.54 ± 0.44 g L⁻¹ to 17.68 ± 2.14 g L⁻¹, and in medium B from 8.12 ± 1.17 g L⁻¹ to 26, 02 ± 0.18 g L⁻¹. The values of pyruvate content varied from 0.33 ± 0.09% to 2.91 ± 0.49% in medium A and 0.37 ± 0.09% to 6.74 ± 0.63% in medium B, while the values of acetyl ranged from 0.30 ± 0.2% to 3.11 ± 0.10% in medium A, and in medium B from 0.33 ± 0.06% to 3.31 ± 0.05%. The viscosity profile of the xanthans in the aqueous solution showed a non-Newtonian, pseudoplastic behavior, typical for this type of gum.

Key words: Bacterial gum; biopolymers; phytopathogens; high concentration.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	OBJETIVOS	11
2.1	Objetivo geral	11
2.2	Objetivos específicos.....	11
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	12
3.1	A bactéria do gênero <i>Xanthomonas</i>	12
3.1.1	A bactérias do gênero <i>Xanthomonas</i> e seus impactos na agricultura	12
3.1.2	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i>	14
3.2	Goma Xantana	15
3.2.1	Viscosidade	16
3.2.2	Acetil piruvato	17
3.2.3	Aplicações industriais	18
3.3	Produção de goma xantana.....	19
3.3.1	Isolados de <i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i> provenientes do laboratório de bioprocessos da UFPEL	23
3.3.2	Meios de produção	26
3.4	Biorrecuperação de Xantana	27
4	CAPITULO 1 - ALTA PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA UTILIZANDO 10 ISOLADOS DE <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>pruni</i> PROVENIENTE DA REGIÃO SUL DO BRASIL.....	28
5	CAPITULO 2 - OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE RECUPERAÇÃO DE XANTANA OBTIDA POR <i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i> ISOLADO 66	45
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

1 INTRODUÇÃO

Na década de 1950 começaram a ser introduzidos no mercado internacional produtos que utilizam polissacarídeos de origem microbiana, sendo que, até aquele momento, somente os polissacarídeos de origem vegetal eram utilizados. Os micro-organismos são capazes de sintetizar ampla diversidade de estruturas químicas, e alguns deles possibilitam a produção de biopolímeros hidrossolúveis com diferentes propriedades. A esses grupos de polissacarídeos solúveis em água, de origem vegetal, animal ou microbiana, foi designado o termo de gomas industriais (LUVIELMO; SCAMPARINI, 2009).

Entre os micro-organismos sintetizadores de biopolímeros encontram-se as bactérias do gênero *Xanthomonas*, pertencentes à família *Pseudomonaceae*, as quais apresentam morfologia de bastonetes retos e isolados, móveis, com flagelo único polar e são classificadas como Gram negativas. Essas bactérias são responsáveis pela produção do biopolímero designado goma xantana (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

A composição química da xantana é normalmente constituída de glicose, manose e ácido glicurônico, na relação de 2:2:1. A xantana destaca-se por apresentar propriedades reológicas distintas das outras gomas microbianas devido ao comportamento pseudoplástico e viscosidade elevada, mesmo em baixas concentrações, solubilidade e estabilidade em soluções ácidas e alcalinas, resistência à degradação em elevadas temperaturas e em diferentes níveis de pH, sendo empregada na indústria de alimentos, farmacêutica e petroquímica (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; TRINDADE, 2014).

A produção de biopolímeros bacterianos pode ser induzida, como parte de uma resposta ao estresse, sendo sua produção geralmente estimulada por excesso de macronutrientes como carbono e nitrogênio, juntamente com limitação de outros micronutrientes (FREITAS et al., 2010; DONOT et al., 2012; TRINDADE, 2014).

Produzir biopolímeros por meio de bactérias é vantajoso, pois a produção demora somente alguns dias. Além disso, os biopolímeros são naturalmente sintetizados pela maioria dos micro-organismos no meio extracelular, o que facilita sua recuperação (FREITAS et al. 2011).

No âmbito do mercado mundial, a goma xantana destaca-se pela relevância na aplicação em indústrias alimentícias e derivados, assim como para a área de exploração de petróleo e gases industriais, chegando a movimentar cerca de US\$ 722 milhões em 2016. Espera-se que a movimentação do mercado mundial de xantana cresça a 5,9% de CAGR (taxa de crescimento anual composta) entre 2017-2023, até atingir cerca de US\$ 1,076 bilhões ao final do período (SAHU, 2017).

O Brasil, segundo dados do Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior (COMEXSTAT, 2018), importou 2.200 toneladas de goma xantana em 2017, cerca de US\$ 13

milhões, atingindo US\$ 14 milhões até o mês agosto de 2018. Atualmente, quase toda a xantana consumida no país é produzida pela China, França, Áustria e Estados Unidos.

Considerando-se que a xantana utilizada em território nacional é totalmente depende de importação e que o Brasil possui em grandes quantidades os insumos básicos para a produção, como por exemplo sacarose como fonte de carbono para o micro-organismo e o álcool para recuperação do biopolímero sintetizado (OLIVEIRA et al., 2013), se torna necessária a pesquisa de cepas de *Xanthomonas* capazes de produzir xantana com níveis de produtividade industrial. Com isso, vêm-se estudando condições de produção, recuperação e purificação deste exoheteropolissacarídeo, a fim de obter maior qualidade na goma, processos industriais que sejam mais viáveis e vantajosos no tocante à produção em larga escala, impactando diretamente no custo do escalonamento industrial.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Selecionar isolados de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* que apresentem alta produção e determinar o seu perfil de viscosidade.

2.2 Objetivos específicos

- Produzir biopolímero bacteriano xantana sintetizado por 10 isolados distintos de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*, utilizando como padrão a xantana sintetizada por *Xanthomonas campestris* pv *campestris* em dois meios de cultivo distintos, avaliando a produção.
- Caracterizar as xantanas sintetizadas quanto aos conteúdos dos radicais acetil e piruvato e viscosidade.
- Analisar a melhor quantidade de solvente (etanol) e tempo de contato para processo de recuperação, utilizando o isolado que apresentar alta produção.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A bactéria do gênero *Xanthomonas*

As bactérias pertencentes ao gênero *Xanthomonas* (do grego, “*xanthus*” = amarelo, “*monas*” = unidade) são bacilos Gram negativos, medindo $0,4 - 0,7 \times 0,7 - 1,8 \mu\text{m}$. Para meio de locomoção possui um único flagelo polar, são aeróbicos estritos, seu metabolismo respiratório tem O_2 comoceptor final de elétrons. A temperatura ótima de crescimento situa-se entre 25 e 30 °C e as colônias normalmente são amarelas, lisas e viscosas. Caracteristicamente, produzem um pigmento amarelo, insolúvel em água, denominado xantomonadina (GARCIA-OCHOA, 2000; TESSMANN, 2002).

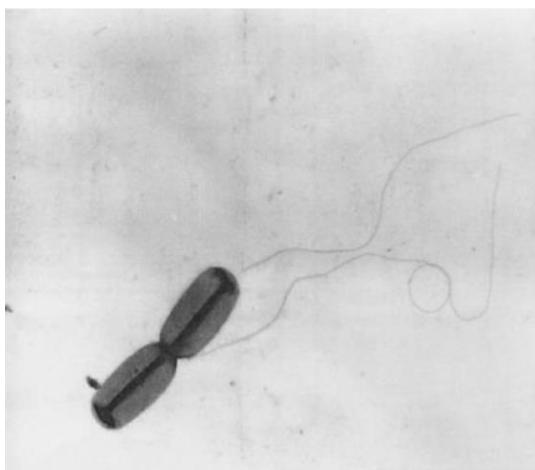


Figura 1: Microscopia Eletrônica de Transmissão de *Xanthomonas campestris*

Fonte: Garcia-Ochoa (2000)

Vários patovares de *Xanthomonas* e espécies produzem exopolissacarídeos (EPS). Por serem bactérias fitopatogênicas, a produção desse polímero está relacionada com a sua sobrevivência, enquanto na superfície do vegetal hospedeiro causam uma variedade de doenças (ROTTAVA, 2005).

3.1.1 As bactérias do gênero *Xanthomonas* e seus impactos na agricultura

Xanthomonas é um dos mais importantes gêneros de bactérias fitopatogênicas, atacando diversas espécies de plantas de importância econômica. Algumas características destas bactérias são de fundamental importância para o conhecimento das doenças causadas por esse gênero. A constatação da doença nas plantas em condição de cultivo é um processo final de um conjunto de defesa que a bactéria utiliza para interagir com o hospedeiro, que garantem o desenvolvimento de epidemias (MARCUSO, 2009).

A bactéria pode estar presente em sementes, plantas infectadas, restos de culturas, solos e em ervas daninhas. Os agentes de disseminação são: água, insetos, sementes contaminadas e implementos agrícolas. A via de penetração do patógeno geralmente é através de poros localizados nas margens das folhas. A doença ocorre com maior intensidade em ambientes com temperaturas entre 28 °C e 30 °C, e alta umidade. Nessas condições apenas uma planta infectada é suficiente para causar uma epidemia em todo o plantio (MONTEIRO, 2002).

De acordo com dados divulgado pelo MAPA (2019), o Brasil produzirá até o final da safra de 2019 R\$ 564,32 bilhões com grãos, cana-de-açúcar e banana, café, mandioca, cacau, citrus, entre outros, tendo impacto significativo na economia do país. Porém algumas pragas podem auxiliar na perda da produção, como por exemplo doenças causadas pela *Xanthomonas* (Tabela 1).

Segundo Junior (2015), o crescimento bacteriano foliar é uma das mais graves doenças, causando perdas que variam de 20 a 30% da produção, podendo chegar a 75% quando as condições são favoráveis à doença. As perdas de rendimento devido à estria bacteriana da folha costumam variar de 1,5 a 20%. No entanto, sob condições favoráveis para a disseminação, podem causar reduções de até 32% da produção de grãos.

Tabela 1: Espécies de *Xanthomonas* e seus hospedeiros

Espécie	Tipo de hospedeiro	Patologia	Referência
<i>X. albilineans</i>	gramíneas	escaldadura-das-folhas	Zavaglia (2012)
<i>X. alfalfae</i> , <i>X. fuscans</i>	leguminosas	mancha bacteriana	Yaripour (2017) Almeida (2014)
<i>X. arboricola</i>	frutíferas		Garrido (2003)
<i>X. ampelina</i>	videiras	queima bacteriana	Fonseca (2005)
<i>X. axonopodis</i>	plantas cítricas	cancro cítrico	Bonini (2012)
<i>X. oryzae</i> , <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i>	grãos	estria bacteriana da folha, crescimento bacteriano foliar, pústula bacteriana	Junior (2015) Tebaldi (2016)
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	brássicas	podridão negra	Santos (2008)

3.1.2 *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*

Sendo uma bactéria do gênero *Xanthomonas*, elas possuem morfologia de bastonetes retos, isolados. As espécies são gram negativas e aeróbicas. As colônias são usualmente amarelas, lisas e mucóides. Caracteristicamente produzem pigmentos amarelos, insolúveis em água, denominado xantomonadina, produtoras de exopolissacarídeos e sendo caracterizada como fitopatogênica (MULATI, 2004).

Mancha bacteriana causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* foi descrita pela primeira vez em 1902 na América do Norte. A doença ocorre na maioria dos países onde são cultivadas frutas de caroço. A doença é agora relatada em quase todos os continentes onde são cultivadas frutas de caroço incluindo damasco (*P. armeniaca*), cereja (*P. avium*), amêndoa (*P. amygdalus*), pêssego e nectarina (*P. persica* e *P. persica* var. *nectarina*), ameixa europeia (*P. domestica*), ameixa japonesa (*P. salicina*), ameixa em flor (*P. baireana*) e cereja azeda (*P. cerasus*). As perdas econômicas diretas causadas pela doença resultam da menor comercialização de frutas com manchas desagradáveis (EUROPA, 2005).



Figura 2: Sintomas de bacteriose em folhas e fruto de pêssegos causados por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*

Fonte: Garrido (2016)

Toda a colheita pode ser afetada quando as condições são favoráveis ao desenvolvimento de infecções e doenças. Além disso, galhos e infecções de folhas pesadas com desfolhamento subsequente desvitalizam árvores. As árvores severamente afetadas são suscetíveis a danos no inverno, incluindo morte terminal ou extensa. Árvores infectadas cronicamente se tornam improdutivas (CIVEROLO, 1993).

3.2 Goma Xantana

O polissacarídeo extracelular (exopolissacarídeo) produzido por bactérias do gênero *Xanthomonas* é denominado xantana (GARCIA-OCHOA, 2000; OLIVEIRA, 2013). Comercialmente, a xantana é produzida por cepas da bactéria fitopatogênica *Xanthomonas campestris* pv *campestris* (SUTHERLAND, 2001).

A xantana apresenta amplas possibilidades de aplicação devido às suas propriedades reológicas, sendo utilizada como espessante, agente suspensivo e estabilizador de emulsões. É especialmente atrativa para a indústria farmacêutica, de alimentos e exploração de petróleo, por sua capacidade de formar soluções viscosas, pseudoplásticas e estáveis frente a diversas condições de temperatura, pH e concentração iônica, mesmo em baixas concentrações (PETRI, 2015; BRUNCHI, 2019).

Em alimentos, xantanas de alta viscosidade têm sido utilizadas como espessante, gelificante e estabilizante em produtos que necessitam manter uma consistência firme; xantanas de baixa viscosidade têm sido utilizadas como estabilizante de sucos e néctares (ALMEIDA DE LIMA, 2001).

A goma xantana foi descoberta em 1950 por pesquisas do *Northern Regional Research Laboratory* no Departamento de Agricultura dos EUA, como uma alternativa a outras gomas naturais e sintéticas. Como resultado, a goma xantana foi o primeiro polímero microbiano a ser produzido em escala industrial. A primeira produção industrial de goma xantana foi feita em 1960, com *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459, sendo que no ano de 1964 o produto já era comercializado. Seu uso em alimentos foi aprovado no Brasil pelo Decreto-Lei nº 55.871 (Brasil, 1965); nos Estados Unidos, foi aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) em 1969 e pela FAO/WHO (Organização para Alimentação e Agricultura das Nações Unidas / Organização Mundial da Saúde) em 1974 (PREICHARDT, 2016; KLAIC, 2016; GARCIA-OCHOA, 2000).

A cadeia principal da xantana é semelhante a uma cadeia celulósica, formada por duas unidades de glicose unidas por ligações do tipo β (1 $\rightarrow$ 4). A cadeia lateral trissacarídica é composta por uma unidade de ácido glicurônico entre duas unidades de manose ligadas na posição do carbono terciário de resíduos da segunda unidade de glicose na cadeia principal. É verificada na unidade da manose interna ligada à cadeia principal a ligação de um grupo acetil na posição C (6) e aproximadamente metade da manose terminal contém resíduo de ácido pirúvico ligado nas posições 4 e 6 (JANSSON; KENNE; LINDBERG, 1975).

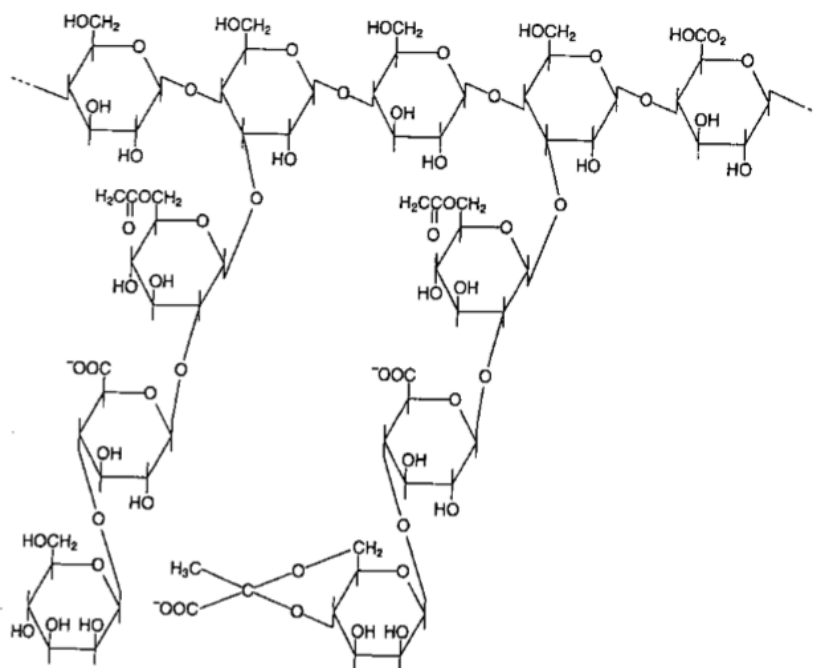


Figura 3 - Estrutura química da xantana

Fonte: (ALMEIDA DE LIMA, 2001)

3.2.1 Viscosidade

As soluções aquosas de xantana apresentam características reológicas diferenciadas dos demais biopolímeros, como a alta viscosidade em baixa concentração. Em soluções altamente concentradas suas propriedades de interações moleculares e fraca gelatinização são manifestadas. Apresentam altos níveis de pseudoplasticidade e estabilidade frente a variações de temperatura, pH. Ainda assim é hidrossolúvel (PETTITT, 1982; GARCIA-OCHOA, 2000; ALMEIDA DE LIMA, 2001).

A xantana é um dos polissacarídeos bacterianos atualmente existente no mercado com a mais ampla estabilidade, induz a formação de soluções aquosas de alta viscosidade, são extremamente pseudoplásticas. Devido a isto, vem sendo amplamente utilizada em vários setores industriais. Pode ser utilizada como agente espessante, estabilizante e emulsificante, possibilitando a criação de novos produtos com texturas únicas (MARCOTTE, 2001).

Segundo Tagliari (2011), os fluidos pseudoplásticos são aqueles que a viscosidade aparente diminui com aumento de uma tensão de cisalhamento. Um dos modelos reológicos que descrevem seu comportamento é o de Ostwald-de-Waele, que faz uma relação entre tensão de cisalhamento e taxa de deformação, seguindo a seguinte equação:

$$\tau_{yx} = k(\gamma_{yx})^n \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

τ : tensão de cisalhamento;

n : índice de comportamento

γ : taxa de deformação;

k : índice de consistência do fluido;

3.2.2 Acetil Piruvato

Com relação aos substituintes acetil e piruvato, estudos têm mostrado que ocorrem variações em xantanas produzidas por diferentes espécies as quais possuem piruvato em sua composição variando de 1,00 a 7,40%. A grande variação nas quantidades dos substituintes acetil e piruvato que estão ligados na cadeia lateral depende particularmente da cepa utilizada para produção da xantana. Para *X. campestris* pv *campestris* estima-se um conteúdo médio de 4,7% de acetil, dependendo da espécie de *Xanthomonas* pode chegar até a 10% (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Tabela 2: Teores de acetila e piruvato de diferentes xantanas sintetizadas por diferentes gêneros da bactéria *Xanthomonas*

Bactéria	Teor de acetil (%)	Teor de piruvato (%)	Referência
<i>Xanthomonas campestris</i>	0,41	0,38	Bueno e Petri, 2014
<i>Xanthomonas campestris</i>	5,10 - 6,20	2,20 - 6,50	Erten et al., 2014
<i>Xanthomonas campestris</i>	5,79	3,70	Kool et al., 2013
<i>Xanthomonas campestris</i>	1,90 - 6,00	1,00 - 5,70	Garcia-Ochoa, 2000
<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>campestris</i> 646 (ATCC 13951)	4,50	4,40	Shatwell et al., 1990
<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>campestris</i> 646 (ATCC 13951), desacetilada	1,30	3,60	Shatwell et al., 1990
<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>phaseoli</i> 1128	7,70	1,70	Shatwell et al., 1990
<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>phaseoli</i> 556	1,60	6,00	Shatwell et al., 1990
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i> cepa 101	2,39	1,52	Klaic, 2016
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i> cepa 106	1,81 - 3,78	0,86	Borges, 2009
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i> cepa 06	2,76	2,48	Oliveira, 2013
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i> cepa 82	3,29	3,34	Oliveira, 2013

Fonte: Molon (2019)

Segundo alguns autores, a presença de acetil confere estabilidade para a conformação helicoidal da estrutura, enquanto os grupos piruvato desestabilizam a conformação helicoidal. A xantana possui característica polieletrólítica aniônica devido à presença de grupos acetil e piruvato (RICHARDSON; ROSS-MURPHY, 1987; RENOUE et. al, 2013; MOLON, 2019).

3.2.3 Aplicações industriais

A xantana recebe uma grande atenção dos pesquisadores devido às suas propriedades especiais (alta viscosidade mesmo em baixa concentração, pseudoplasticidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade e não toxicidade), o que a torna útil em várias aplicações das indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica, etc (GARCIA-OCHOA, 2000; BRUNCHI, 2019).

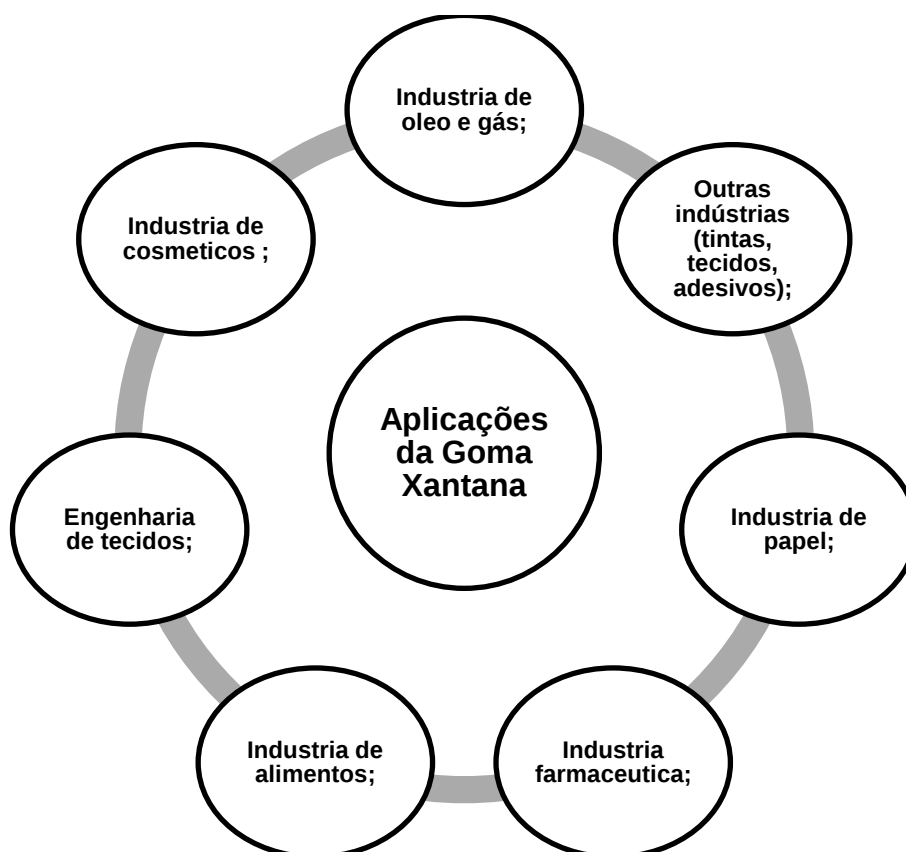


Figura 4: Aplicações de goma xantana

Fonte: Adaptado de Brunchi, 2019

A aplicação mais importante da xantana é na indústria de alimentos como aditivo, pois em pequenas quantidades confere aos produtos a estabilidade durante o armazenamento, atua como um emulsificante para sistemas óleo-água e pode ter o papel de espessante para soluções aquosas. Além disso, a xantana melhora a textura e as propriedades

pseudoplásticas de diferentes produtos alimentícios como massa sem glúten, molhos e maioneses (KLAIC, 2016; BRUNCHI, 2019).

A goma xantana é empregada nas formulações em indústrias farmacêuticas na forma de emulsão ou suspensão e impede a separação dos componentes insolúveis em água (KATZBAUER, 1998; BRUNCHI, 2019).

Devido às suas propriedades pseudoplásticas, compatibilidade com a estabilidade térmica e salina, a xantana é frequentemente usada na indústria de petróleo como aditivo para fluidos de perfuração ou na limpeza de tubulações, operações de completação, etc. A adição de xantana nas formulações utilizadas na indústria agrícola (fungicidas, herbicidas e inseticidas) leva à uniformidade do componente sólido no sistema de suspensão, melhorando sua capacidade de fluxo (ROSALAM, 2006; BRUNCHI, 2019).

Na adição em cosméticos e produtos de cuidados pessoais, melhora as propriedades de fluxo de afinamento por cisalhamento para produtos embalados em tubo e oferece uma excelente estabilidade para cremes e emulsões para a pele. A xantana tem a vantagem de ser resistente à ação de enzimas, as propriedades de sua solução não são afetadas pela alteração em uma ampla faixa de pH (1 a 13) e apresenta estabilidade térmica. Devido a essas propriedades é possível aplicar a xantana na formulação de vários cosméticos, como por exemplo cremes para a pele, cosméticos, xampu, creme dental, entre outros (KNOWLTON, 1993; BRUNCHI, 2019).

A xantana é adicionada às tintas à base de água para melhorar suas propriedades reológicas e estabilizar o pigmento no sistema. Além disso, pela adição da xantana, a difusão da tinta e sua pulverização são controladas com mais eficiência (BRUNCHI, 2019).

3.3 Produção de goma xantana

A ampla variedade de espécies de *Xanthomonas* capazes de produzir goma xantana, podem diferir em termos de produção de polímeros, podendo apresentar características estruturais diferenciadas, influenciando diretamente na sua viscosidade, quantidade e estabilidade (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; LUVIELMO, SCAMPARINI, 2009).

Quando existe informações sobre o comportamento da espécie produtora é possível estabelecer se o material polimérico sintetizado é eficiente e se este pode ser conduzido para uma determinada aplicação. Por este motivo, torna-se interessante estudar diferentes processos de aquisição e diferentes tipos de micro-organismos produtores. Nestas circunstâncias, aplicado em pesquisas cujo foco é a seleção de linhagens e aumento da produtividade (ALMEIDA, 2010).

Habibi (2017) realizou um estudo de revisão mostrando algumas variáveis de produção e o efeito no rendimento de goma xantana em diferentes espécies de *Xanthomonas*, conforme mostrado na Tabela 3.

Tabela 3 - Condições de cultivo utilizadas na produção de goma xantana

Micro-organismo	T (°C)	Agitação (rpm)	pH	Produção	Substrato	Xantana (g L ⁻¹)	Biomassa (g L ⁻¹)	Referência
<i>X. campestris</i> NRRL B-1459 S4-LII	-	200-800	-	Tanque agitado (15 L)	Glicose	11,8 - 18,9	-	Peters et al., 1989
<i>X. campestris</i> NRRL B-1459	-	-	-	<i>Shaker</i>	Sacarose	10	2,19	Garcá-Ochoa et al., 1992
<i>X. campestris</i> NRRL B-1459	24 - 36	-	4,5 - 8,5	Frascos agitados (500 mL)	Glicose	17,7	3,2	Esgalhado et al., 1995
<i>X. campestris</i> NRRL B-1459	30	200	-	<i>Shaker</i>	Glicose	8-9	2 - 3	Umashankar et al., 1996
<i>X. campestris</i> GK	30	-	-	Frascos <i>Erlenmeyer</i>	Glicose	14 - 16	-	Leela et al., 2000
<i>X. campestris</i> NRRL B-1459	25 - 31	100 - 1000	-	Biorreator (1,5 L)	Sacarose	17	-	Casas et al., 2000
<i>X. campestris</i>	-	-	-	Frascos <i>Erlenmeyer</i> (500 mL) em agitador orbital	Águas residuais de moinho de azeitona	2,04 - 4,14	0,25 - 1	López et al., 2001
<i>X. campestris</i> ATCC 1395	-	-	5,5 - 7,7	Frascos <i>Erlenmeyer</i> em agitador orbital	Melaço de beterraba	53	-	Kalogiannis et al., 2003
<i>X. campestris</i> ATCC 33913	25 - 35	100 - 600	-	Biorreator (2 L)	Meio sintético	7	3,5	Psomas et al., 2007
<i>X. campestris</i> EBK-4	28	200	-	Biorreator (2L)	Hidrolisado de chifre de carneiro	25,6	-	Kurbanoglu et al., 2007
<i>X. campestris</i> pv. mangiferaeindica e IBSBF 1230	28	101 - 693	-	Biorreator (2,5 L)	Soro de queijo mussarela	36	-	Mesomo et al., 2009

<i>X. campestris</i> 1230 e 1182	28	180	7,2	Agitador orbital	Soro de queijo	25,42 (1230) 26,35 (1182)	-	Silva et al., 2009
<i>X. campestris</i> NRRL B-1459	37	-	-	Agitador orbital	Suco de tamareira	43,35	3,35	Salah et al., 2010
<i>X. campestris</i> NRRL B-1459	37	250	-	Agitador orbital	Suco de tamareira	24,5	-	Salah et al., 2011
<i>X. axonopodis</i> pv <i>vesicatoria</i> XCVA3-1	30	250	7	Frascos <i>Erlenmeyer</i> (250 mL) em agitador orbital	Glicose	13,25 (XCVA3-1)	-	Mirik et al., 2011
<i>X. campestris</i> NRRL B1459						14,8 (NRRL B1459)		
<i>X. campestris</i> PTCC 1473	25 - 36	200 - 800	-	Frasco <i>Erlenmeyer</i> (1 L)	Melaço	17,1	-	Gilani et al., 2011
<i>X. campestris</i> PTCC 1473	-	-	-	Frascos <i>Erlenmeyer</i> (500 mL)	Extrato	14,61	-	Farhadi et al., 2012
<i>X. campestris</i> MTCC 2286	26 - 32	-	6,6 – 7,2	-	Melaço de cana-de- açúcar acidificado	12,23	-	Murugesan et al., 2012
<i>X. campestris</i> DSMZ- 19000	-	-	-	Agitador orbital	Meio industrial semidefinido	19,9	3,36	El Enshasy et al., 2013
				Tanque agitado (16 L)		28,45	4,45	
<i>X. campestris</i> pv. <i>mangiferae</i> indica e IBSBF 1230	28	200	7	Frascos <i>Erlenmeyer</i> (500 mL) em agitador orbital	Sacarose e glicerol	4,07 – 4,98	-	Trindade et al., 2015

X. campestris PTCC 1473	-	200 - 400	-	Agitador orbital	Subprodutos de suco	6.72 ± 0.26	-	Moshaf et al., 2015
X. campestris PTCC14 73	-	-	-	Frascos <i>Erlenmeyer</i> (50 mL)	Soro de queijo	16,77	-	Niknezhad et al., 2015
X. campestris LRELP -1	30	180	7	Frascos Agitados	Hidrolisado de resíduos de cozinha	11,73	5,5	Li et al., 2016
X. campestris pv. Campestres (b82)	-	150 - 250	-	Frascos (500 mL)	Suco de uva concentrado	14,35	-	Ghashghaei et al., 2016
<i>X. campestris</i> pv. <i>mangiferae indica</i> e IBSBF 1230	28	200	7	Frascos <i>Erlenmeyer</i> (500 mL) em agitador orbital	Sacarose e glicerol	4,07 – 10,78	-	Trindade et al., 2018

Fonte: adaptado Habibi (2017)

3.3.1 Isolados de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* provenientes do laboratório de bioprocessos da UFPEL

Ao longo de 20 anos, estudos da produção da xantana pela espécie *arboricola* pv *pruni*, anteriormente classificada como *X. campestris* pv *pruni*, vêm sendo realizados por pesquisadores do Núcleo de Biotecnologia do Centro de Desenvolvimento Tecnológico da Universidade Federal de Pelotas (Pelotas/RS – Brasil) (SOUZA; VENDRUSCOLO, 1999; VENDRUSCOLO et al., 2000; ANTUNES, 2000; MOREIRA et al., 2001; DIAZ, 2002; MOREIRA, 2002; ANTUNES, 2003; PINTO, 2005; VENDRUSCOLO, 2006; BORGES et al., 2009; PREICHARDT, 2009; KLAIC, 2010; RODRIGUES, 2010; BOROWSKI, 2011; OLIVEIRA, 2013; KLAIC, 2016; MOLON, 2019). Todos os experimentos foram realizados utilizando frascos *Erlenmeyer* agitados mecanicamente. Dentre os estudos, destaca-se:

Moreira (2001) estudou 18 isolados e caracterizou-os em termos de produção de goma xantana, viscosidade e composição química, encontrando valores para produção de xantana entre 2,3 a 8,3 (g L⁻¹). Como parâmetros de cultivo foram utilizadas temperatura de 28°C e agitação de 200 rpm por 72h. O meio de produção utilizado foi o MPII composto por (g L⁻¹): 50,0 sacarose; 0,1 MgSO₄; 2,5 K₂HPO₄; 1,5 NH₄HPO₄. A viscosidade aparente foi determinada em viscosímetro *Brookfield* em solução aquosa a 3 % (m/v).

Tessmann (2002) estudou 20 isolados e caracterizou-os em termos de produção de goma xantana, viscosidade, composição química e molecular, encontrando valores de produção de xantana entre 2,0 a 4,8 (g L⁻¹). Como parâmetros de cultivo foram utilizadas temperatura de 28°C e agitação de 200 rpm por 72h. O meio de produção utilizado foi o MPII composto por (g L⁻¹): 50,0 sacarose; 0,1 MgSO₄; 2,5 K₂HPO₄; 1,5 NH₄HPO₄. As análises de viscosidade foram feitas em solução aquosa a 3 % (m/v) e as medidas de viscosidade foram realizadas no reômetro rotativo RS150 (HAAKE).

Antunes (2003) estudou 13 isolados e caracterizou-os em termos de produção de goma xantana em dois meios distintos de produção (MPI e MPII), viscosidade, composição química, encontrando valores de produção de xantana em meio MPI entre 11,7 a 21,4 (g L⁻¹) e em meio MPII entre 4,1 a 20,1 (g L⁻¹). Como parâmetros de cultivo foram utilizadas temperatura de 28°C e agitação de 200 rpm por 72 h. Os meios de produção utilizados foram o MPI, composto por (g L⁻¹): 50,0 sacarose; 0,6 MgSO₄.7H₂O; 2,5 K₂HPO₄; 1,5 NH₄H₂PO₄; 2,0 ácido cítrico; 5,0 KH₂PO₄; 0,006 H₃BO₃; 2,0 (NH₄)₂SO₄; 0,0024 FeCl₃; 0,002 CaCl₂.2H₂O; 0,002 ZnSO₄; e MPII, composto por (g L⁻¹): 50,0 sacarose; 0,2 MgSO₄; 2,5 K₂HPO₄; 1,5 NH₄HPO₄. Neste trabalho, os valores de maiores concentrações de xantana foram encontrados em meio MPI. A viscosidade aparente foi determinada em um viscosímetro *Brookfield* em solução aquosa a 3 % (m/v).

Borges (2007) estudou 30 isolados e caracterizou-os em termos de produção de goma xantana, viscosidade, composição química, encontrando valores de produção de xantana

entre 3,8 a 9,2 (g L⁻¹). Como parâmetros de cultivo, foram utilizadas temperatura de 28°C e agitação de 200 rpm por 72 h. O meio de produção utilizado foi o MP II, composto por (g L⁻¹): 50,0 sacarose; 0,2 MgSO₄; 2,5 K₂HPO₄; 1,5 NH₄HPO₄. As análises de viscosidade foram feitas em solução aquosa a 3 % (m/v) e as medidas de viscosidade foram realizadas no reômetro rotativo RS150 (HAAKE).

Tabela 4: Isolados da bacterioteca do laboratório 1 e suas produções

Isolados	Produção (g L ⁻¹)	Meio de cultivo	Viscosidade aparente (mPa s)			Referência
			Taxa de deformação (2,4 s ⁻¹)	Taxa de deformação (6 rpm)	Taxa de deformação (10 s ⁻¹)	
01	5,5	MP II	-	14000	-	Moreira (2001)
02	2,2	MP II	25200	-	-	Tessmann (2002)
04	2,0	MP II	79200	-	-	Tessmann (2002)
06	4,0	MP II	-	25000	-	Moreira (2001)
07	13,8	MP I	-	2500	-	Antunes (2003)
08	6,3	MP II	-	12000	-	Moreira (2001)
11	2,0	MP II	59300	-	-	Tessmann (2002)
12	4,6	MP II	-	-	2150	Borges (2007)
13	2,3	MP II	36000	-	-	Tessmann (2002)
17	2,0	MP II	84800	-	-	Tessmann (2002)
18	14,6	MP I	-	18500	-	Antunes (2003)
19	4,1	MP II	-	-	2350	Borges (2007)
20	14,4	MP I	-	15000	-	Antunes (2003)
22	2,0	MP II	44600	-	-	Tessmann (2002)
25	6,5	MP II	-	-	2390	Borges (2007)
26	7,0	MP II	-	-	8930	Borges (2007)
27	6,6	MP II	-	-	7600	Borges (2007)
29	2,7	MP II	39500	-	-	Tessmann (2002)
30	6,6	MP II	-	-	6120	Borges (2007)
34	2,4	MP II	8020	-	-	Tessmann (2002)
36	18,3	MP I	-	1050	-	Antunes (2003)
37	13,7	MP I	-	1000	-	Antunes (2003)
38	4,4	MP II	-	-	7660	Borges (2007)
39	18,1	MP I	-	800	-	Antunes (2003)
40	21,4	MP I	-	825	-	Antunes (2003)
41	5,9	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
42	5,0	MP II	-	-	2530	Borges (2007)
43	2,4	MP II	23100	-	-	Tessmann (2002)

44	2,3	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
45	5,5	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
47	2,2	MP II	30000	-	-	Tessmann (2002)
48	3,1	MP II	31000	-	-	Tessmann (2002)
50	4,5	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
51	3,6	MP II	-	-	2050	Borges (2007)
53	4,6	MP II	-	-	2270	Borges (2007)
54	4,7	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
55	7,4	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
58	21,3	MP I	-	225	-	Antunes (2003)
60	4,8	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
61	4,0	MP II	-	-	2110	Borges (2007)
68	3,2	MP II	19000	-	-	Tessmann (2002)
70	7,0	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
71	6,3	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
72	4,5	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
75	6,4	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
76	7,6	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
77	6,9	MP II	-	-	1810	Borges (2007)
78	6,3	MP II	-	-	2390	Borges (2007)
80	5,8	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
81	5,0	MP II	-	-	2040	Borges (2007)
82	4,2	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
83	9,2	MP II	-	-	1370	Borges (2007)
85	2,4	MP II	73400	-	-	Tessmann (2002)
86	3,6	MP II	69400	-	-	Tessmann (2002)
87	5,7	MP II	-	-	-	Moreira (2001)
90	4,3	MP II	24000	-	-	Tessmann (2002)
91	4,3	MP II	49200	-	-	Tessmann (2002)
100	6,4	MP II	-	-	7010	Borges (2007)
101	6,1	MP II	-	-	12700	Borges (2007)
102	7,4	MP II	-	-	7210	Borges (2007)
103	7,8	MP II	-	-	2590	Borges (2007)
104	5,8	MP II	-	-	12100	Borges (2007)
105	5,8	MP II	-	-	7920	Borges (2007)
106	6,8	MP II	-	-	9930	Borges (2007)
107	0	MP II	-	-	-	Borges (2007)
108	5,2	MP II	-	-	11200	Borges (2007)
109	4,8	MP II	-	-	9600	Borges (2007)
112	4,7	MP II	-	-	7830	Borges (2007)

113	5,0	MP II	-	-	8100	Borges (2007)
114	4,8	MP II	-	-	7270	Borges (2007)
115	5,5	MP II	-	-	10300	Borges (2007)

3.3.2 Meios de produção

Os efeitos do meio de cultura sobre o crescimento e a produção de biopolímeros é um consenso na literatura. Em geral, vários estudos tentam otimizar o processo para fornecer os nutrientes necessários e ideais ao crescimento e a produção de bioprodutos. Como regra, o meio deve ter carboidratos como fonte de carbono, sais de amônio ou aminoácidos e um número de sais inorgânicos que servem também como fonte de íons e atuam como cofatores enzimáticos nas sínteses de bioprodutos (FARIA, 2009).

Os pioneiros no estudo de meios de cultivo de *Xanthomonas*, Davidson (1978) e Souw & Demain (1979) chegaram à conclusão de que as melhores fontes de carbono para produção são glicose e sacarose, sendo que quando empregado ácidos orgânicos, ocorreu um aumento na produção de xantana por *Xanthomonas campestris* NRRLB-1459.

GARCÍA-OCHOA et al. (2000) realizaram uma grande revisão bibliográfica. No estudo em questão mostrou que um dos meios ótimos de produção de xantana inclui: sacarose, ácido cítrico, potássio, zinco, ferro, sódio, ácidos bórico e clorídrico, com pH ajustado para 7 no início da produção.

Fosfato de potássio, ácidos orgânicos como alfa-cetoglutarato, succinato e piruvato podem ter efeitos que estimulam o crescimento e a produção de xantana, porém quando utilizadas concentrações superiores a 0,3% de piruvato, 0,6% de succinato e 0,4% de alfa-cetoglutarato podem mostrar efeitos inibitórios (MESOMO, 2007).

Alguns trabalhos sugerem que concentrações maiores de xantana podem ser obtidas controlando a razão carbono:nitrogênio (C:N) nas fases de crescimento e produção. Uma vez que o nitrogênio é essencial para o crescimento celular e não para a produção de goma, é possível limitar sua disponibilidade na fase de produção e como resultado aumentar o fluxo metabólico rumo à produção de xantana em vez da síntese celular. É geralmente considerado que baixa razão C:N é necessária na fase de crescimento celular, para alcançar tanto alta concentração de células assim como altas taxas de crescimento específico, que pode resultar em altas taxas de produção de xantana. Por outro lado, a biossíntese de xantana é favorecida por alta razão C:N (MUSTAFE, 2009).

Se modificarmos o meio de cultivo produzindo um efeito de estresse alcalino, pode-se acarretar num melhor desempenho produtivo, aumentando 40,76% a produção de xantana. O aumento da alcalinidade do meio desequilibra o meio acarretando na ruptura das células, e consequentemente aumentando a produção direta da goma. Ainda segundo o mesmo autor, a associação do caldo da cana com outros nutrientes como a ureia e fosfato deixa a

característica pseudoplástica e a viscosidade aparente inferior ao da goma produzida no meio tradicional que utiliza a sacarose (ALMEIDA, 2010).

3.4 Biorrecuperação de Xantana

Após o cultivo microbiano de produção da goma xantana, esta é recuperada e purificada. A etapa de recuperação da goma xantana envolve remoção de células microbianas, precipitação do biopolímero, secagem e moagem. O método específico de purificação a ser utilizado também é determinado pelo uso final do polissacarídeo (GARCÍA-OCHOA, 2000; GOMES, 2014).

A goma xantana é recuperada através da precipitação com a utilização de solventes (isopropanol, etanol, cetona, entre outros) que podem ser adicionados no caldo após o cultivo, diminuindo a solubilidade dos exopolissacarídeos, mas também para lavar as impurezas como componentes celulares, sais e coloridos. A quantidade de solvente utilizado para completa precipitação depende da força iônica e da composição do polímero, não dependendo de sua concentração (GARCIA-OCHOA, 2000).

Segundo Pace (1991), a quantidade de solvente requerida para a precipitação completa também é em função da composição do polímero. Por exemplo, a medida que a concentração de piruvato em xantana aumenta, a quantidade de álcool requerida para precipitar o polímero aumenta.

4 CAPÍTULO 1 - ALTA PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA UTILIZANDO 10 ISOLADOS DE XANTHOMONAS ARBORICOLA PV. PRUNI PROVENIENTE DA REGIÃO SUL DO BRASIL

Adriel Penha Munhoz^a, Bianca de Oliveira Molon^a, Bruna de Oliveira Molon^b, Patrícia Silva Diaz^{ab}

^aPrograma de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos; Universidade Federal de Pelotas; Pelotas; Rio Grande do Sul; Brasil; adrielmunhoz@hotmail.com; EMAIL DA BIANCA

^bPrograma de Pós-Graduação em Biotecnologia; Universidade Federal de Pelotas; Pelotas; Rio Grande do Sul; Brasil; bbruna_molon@hotmail.com; bilicadiaz@yahoo.com.br

Autor correspondente: adrielmunhoz@hotmail.com; Universidade Federal de Pelotas; Campus do Capão do Leão; Prédio 19; Laboratório 1; CEP 96010-900; +55 53 999792616.

RESUMO - Os micro-organismos são capazes de sintetizar ampla diversidade de estruturas químicas, como a produção de biopolímeros hidrossolúveis com diferentes propriedades. A produção de biopolímeros bacterianos pode ser induzida pelo excesso de macronutrientes, juntamente com limitação de outros micronutrientes, além de fatores, como a espécie de microrganismo, condições do cultivo e o solvente aplicado para precipitação da goma. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho, foi avaliar a produção de xantana, conteúdo de acetil e piruvato e o perfil de viscosidade das gomas oriundas de bactérias isoladas em pessegueiros da cidade de Pelotas-RS em dois meios de produção distintos, comparando com a bactéria *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. Foram utilizadas 10 isolados de bactérias *Xanthomonas arboricola* pv pruni e *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. Para a produção de biopolímeros xantana foram utilizados os meios MPI+II (meio A) e o meio de produção MP II (meio B). As análises reológicas foram conduzidas em reômetro Rheostress (HAAKE RS 150). As determinações dos ácidos acético e pirúvico foram realizadas através dos métodos do ácido hidroxâmico e do 2,4-dinitrofenilhidrazina, sendo que os valores de concentração de xantana e biomassa foram obtidos por análise gravimétrica. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Os valores médios e desvios-padrão e submetidos à Análise de Variância e teste de Tukey. Todos isolados de *Xanthomonas arboricola* pv pruni demonstraram um grande potencial de produção de xantana em comparação com o micro-organismo *Xanthomonas campestris* NRRL B – 1459 que é utilizado industrialmente. Valores de concentração de goma xantana em meio A variaram de $4,54 \pm 0,44 \text{ g L}^{-1}$ a $17,68 \pm 2,14 \text{ g L}^{-1}$ e em meio B de $8,12 \pm 1,17 \text{ g L}^{-1}$ a $26,02 \pm 0,18 \text{ g L}^{-1}$. Já os valores de piruvato variaram de $0,33 \pm 0,09\%$ a $2,91 \pm 0,49\%$ em meio A e $0,37 \pm 0,09\%$ a $6,74 \pm 0,63\%$ em meio B, enquanto que os valores de acetil variaram de $0,30 \pm 0,2\%$ a $3,11 \pm 0,10\%$ em meio A e em meio B de $0,33 \pm 0,06\%$ a $3,31 \pm 0,05\%$. O perfil de viscosidade das xantanas em solução aquosa apresentou um comportamento de fluido não newtoniano, pseudoplástico, o que é característico para este tipo de goma.

Palavras-Chaves: Goma bacteriana; biopolímeros; fitopatogênicos; alta concentração.

1 INTRODUÇÃO

Os micro-organismos são capazes de sintetizar ampla diversidade de estruturas químicas, como, por exemplo, a produção de biopolímeros hidrossolúveis com diferentes propriedades. Esse grupo de polissacarídeos solúveis em água, de origem vegetal, animal ou microbiana, foi designado de gomas industriais (LUVIELMO & SCAMPARINI, 2009).

A goma xantana é um heteropolissacarídeo extracelular produzido por bactérias do gênero *Xanthomonas* através de cultivo aeróbico, constituída de glicose, manose e ácido glicurônico, na relação de 2:2:1. Esse biopolímero é amplamente aplicado nas indústrias de alimentos, cosmética, na perfuração de poços de petróleo, farmacêutica e agrícola devido às suas propriedades reológicas, como por exemplo sua capacidade de pseudoplasticidade, espessamento e estabilizante, além de ser termoresistente e resistente a uma ampla faixa de pH (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; TRINDADE, 2014; MIRANDA, 2019).

A aplicação mais importante da xantana é na indústria de alimentos como aditivo, pois em pequenas quantidades confere aos produtos a estabilidade durante o armazenamento, atua como um emulsificante para sistemas óleo-água e pode ter o papel de espessante para soluções aquosas (BRUNCHI, 2019).

Nas formulações em indústrias farmacêuticas é utilizada para formar emulsão ou suspensão que impede a separação dos componentes insolúveis em água. É frequentemente usada na indústria de petróleo como aditivo para fluidos de perfuração ou na limpeza de tubulações, operações de completação, etc. A adição de xantana nas formulações utilizadas na indústria agrícola leva à uniformidade do componente sólido no sistema de suspensão, melhorando sua capacidade de fluxo (ROSALAM, 2006; BRUNCHI, 2019).

A xantana destaca-se pela relevância na aplicação em vários setores industriais, chegando a movimentar cerca de US\$ 722 milhões em 2016. Espera-se que a movimentação do mercado mundial de xantana cresça a 5,9% de CAGR (taxa de crescimento anual composta) entre 2017-2023, até atingir cerca de US\$ 1.076 bilhões ao final do período (SAHU, 2017).

A produção de biopolímeros bacterianos pode ser induzida pelo excesso de macronutrientes como carbono e nitrogênio, juntamente com limitação de outros micronutrientes (FREITAS et al., 2011; DONOT et al., 2012; TRINDADE, 2014). Além desses fatores, para a espécie *Xanthomonas*, as condições de cultivo, o agente de precipitação da goma, assim como a quantidade utilizada, também pode afetar a concentração de goma xantana (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a produção de xantana e o perfil de viscosidade das gomas oriundas de bactérias isoladas de pessegueiros da cidade de Pelotas-RS em dois meios de produção distintos, comparando com a bactéria *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459, que é utilizada industrialmente para obtenção da goma.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Micro-organismo

Foram utilizados 10 isolados de bactérias *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*. As bactérias foram isoladas dos pessegueiros da cidade de Pelotas (Rio Grande do Sul, Brasil) pelo Centro de Pesquisa Agropecuária Clima Temperado (CPACT-EMBRAPA), e mantidas na bacterioteca do Laboratório de Tecnologia de Bioprocessos do CDTec (Centro de Desenvolvimento Tecnológico) da Universidade Federal de Pelotas. Neste trabalho os micro-organismos foram identificados como isolados: 03, 15, 24, 31, 33, 46, 49, 66, 73, 76, e para controle do processo foi utilizada a cepa padrão *Xanthomonas campestris* NRRLB-1459.

2.2 Meios de cultura

Inicialmente preparou-se o inóculo, para esse foi utilizado meio líquido YM (*Yeast Malt*) contendo (g L⁻¹): 3,0 extrato de levedura; 3,0 extrato de malte; 5,0 peptona; 10,0 glicose (HAYNES et al., 1955).

Para a produção de biopolímeros foram utilizados os meios MPI+II (meio A), que é composto por (g L⁻¹): 50,0 sacarose; 1,5 NH₄H₂PO₄; 2,5 K₂HPO₄; 5,0 KH₂PO₄; 2,0 (NH₄)₂SO₄; 0,3 MgSO₄; 2,0 C₆H₈O₇; 0,006 H₃BO₃; 0,0024 FeCl₃; 0,002 CaCl₂.2H₂O; 0,012 ZnSO₄; e o meio de produção MPPII (meio B), contendo (g L⁻¹): 50,0 sacarose; 1,5 (NH₄)₂HPO₄; 2,5 K₂HPO₄; 5,0 KH₂PO₄; 2,0 (NH₄)₂SO₄; 0,3 MgSO₄ (SOW & DEMAINE, 1979; CADMUS et al., 1978, modificado por Vendruscolo et al., 2000). Para ambos os meios o pH inicial foi ajustado para 7.

2.3 Processo

2.3.1 Preparo do Inóculo

O inóculo foi preparado partindo-se de placas de Petri contendo repiques multiplicativos da cultura microbiana reativada atingindo-se concentração microbiana conforme recomendado por Pan, Moreira e Vendruscolo (2000). A suspensão bacteriana foi obtida por raspagem da cultura sólida com adição de 10 mL de meio YM líquido. Esta foi transferida para frasco Erlenmeyer de 250 mL contendo 40 mL de meio YM líquido. Os frascos foram mantidos em incubadora agitadora orbital (New Brunswick, Scientific, modelo Innova 4230) a 28 °C e 150 rpm por 24 h.

2.3.2 Produção de xantana em frascos agitados

Foram realizados cultivos em frascos Erlenmeyer de 500 mL, com 200 mL de meio de produção e 50 mL de inóculo. Os frascos foram mantidos em incubadora agitadora orbital (New Brunswick, Scientific, modelo Innova 4230) na temperatura de 28°C e 200 rpm durante 72 h (Souza & Vendruscolo, 1999). Nesta etapa, foram utilizados dois meios de produção (meio A e meio B), sendo retiradas amostras nos tempos de cultivo de 0, 24, 48 e 72 h.

2.4 Determinações analíticas

2.4.1 Determinações reológicas

Para as análises reológicas foram preparadas soluções a 1 % (m/v) por dissolução em água destilada, a 60 °C por 20 min sob agitação (OLIVEIRA, 2013) e após mantidas em temperatura ambiente por 16 h. Foram conduzidas em reômetro Rheostress (HAAKE RS 150) com controlador de temperatura de banho térmico (HAAKE DC 50), sendo a análise de viscosidade realizada variando-se a taxa de deformação entre 0,1 e 1000 s⁻¹, por 300 s, a 25 °C, utilizando sensor tipo placa-cone com inclinação de 2° (C60) e gap de 0,104 mm.

2.4.2 Determinação da biomassa

A concentração de biomassa foi determinada pela retirada de 15 mL de caldo nos tempos de 0, 24, 48 e 72 h, sendo esta avaliada pela massa do produto seco em relação ao volume de caldo (g L⁻¹) (VENDRUSCOLO et al., 2000).

2.4.3 Recuperação do biopolímero xantana

Para realizar a recuperação da xantana, o caldo foi centrifugado (Sorvall Instruments RC-5C) a 16.000 x g durante 15 min para remoção das células (VENDRUSCOLO et al., 2000). Ao caldo centrifugado foi adicionado etanol 96°GL na proporção de 4:1 (v.v⁻¹), para precipitação do biopolímero (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). O material obtido foi seco em estufa a 56°C e triturado.

2.4.4 Conteúdo de Acetil e Piruvato

As determinações dos ácidos acético e pirúvico foram realizadas através dos métodos do ácido hidroxâmico descritos por McComb e McCreedy (1957) e do 2,4-dinitrofenilhidrazina (SLONEKER e ORENTAS, 1962).

2.5 Análise estatística

Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Os valores médios e desvios-padrão foram calculados através do software Statistica 12.0 (StatSoft Inc., EUA) e submetidos à Análise de Variância e teste de Tukey (MONTGOMERY, 2004), a fim de verificar a existência de diferenças significativas (p≤0,05), sendo que para a construção dos gráficos foi utilizado o software OriginPro 2016 (OriginLab, EUA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Produção de xantana

As Figuras 1 e 2 apresentam o acompanhamento da biomassa e produção nos diferentes isolados de *Xanthomonas*.

Para todos os isolados o meio de produção B apresentou maiores valores de produção de xantana nos tempos de 0, 24, 48 e 72 h. Os valores de xantana em meio A variaram de $4,54 \pm 0,44 \text{ g L}^{-1}$ no isolado 03, enquanto no isolado 66 foi de $17,68 \pm 2,14 \text{ g L}^{-1}$. Já em meio B, o isolado 78 apresentou concentração máxima de $8,12 \pm 1,17 \text{ g L}^{-1}$ e o isolado 66 foi de $26,02 \pm 0,18 \text{ g L}^{-1}$. Os isolados 66, 49 e 46 resultaram em meio B os maiores valores de concentração de goma xantana, de $26,02 \pm 0,18 \text{ g L}^{-1}$, $24,18 \pm 0,45 \text{ g L}^{-1}$ e $21,80 \pm 1,62 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente.

Todos isolados de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* obtiveram desempenho de produção igual ou superior comparado com a bactéria *Xanthomonas campestris* NRRL B – 1459 nos dois meios de cultivo sem a utilização de uma metodologia de otimização multivariada, o que demonstra o grande potencial dos micro-organismos isolados comparado com o utilizado industrialmente para obter goma xantana.

Ao longo de mais de 20 anos a equipe do Laboratório 1 do CDTec da UFPEL estudou a produção de xantana por diversas variedades de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*.

Moreira (2001) estudou 18 isolados e encontrou valores de produção de goma xantana entre 2,3 a 8,3 (g L^{-1}). Utilizando como parâmetros de fermentação temperatura de 28°C e agitação de 200 rpm por 72h. O meio de produção utilizado foi o MP11.

Tessmann (2002) estudou 20 isolados e encontrou valores de produção de goma xantana, entre 2,0 a 4,8 (g L^{-1}). Como parâmetros de cultivo foram utilizadas temperatura de 28°C e agitação de 200 rpm por 72h. O meio de produção utilizado foi o MP11.

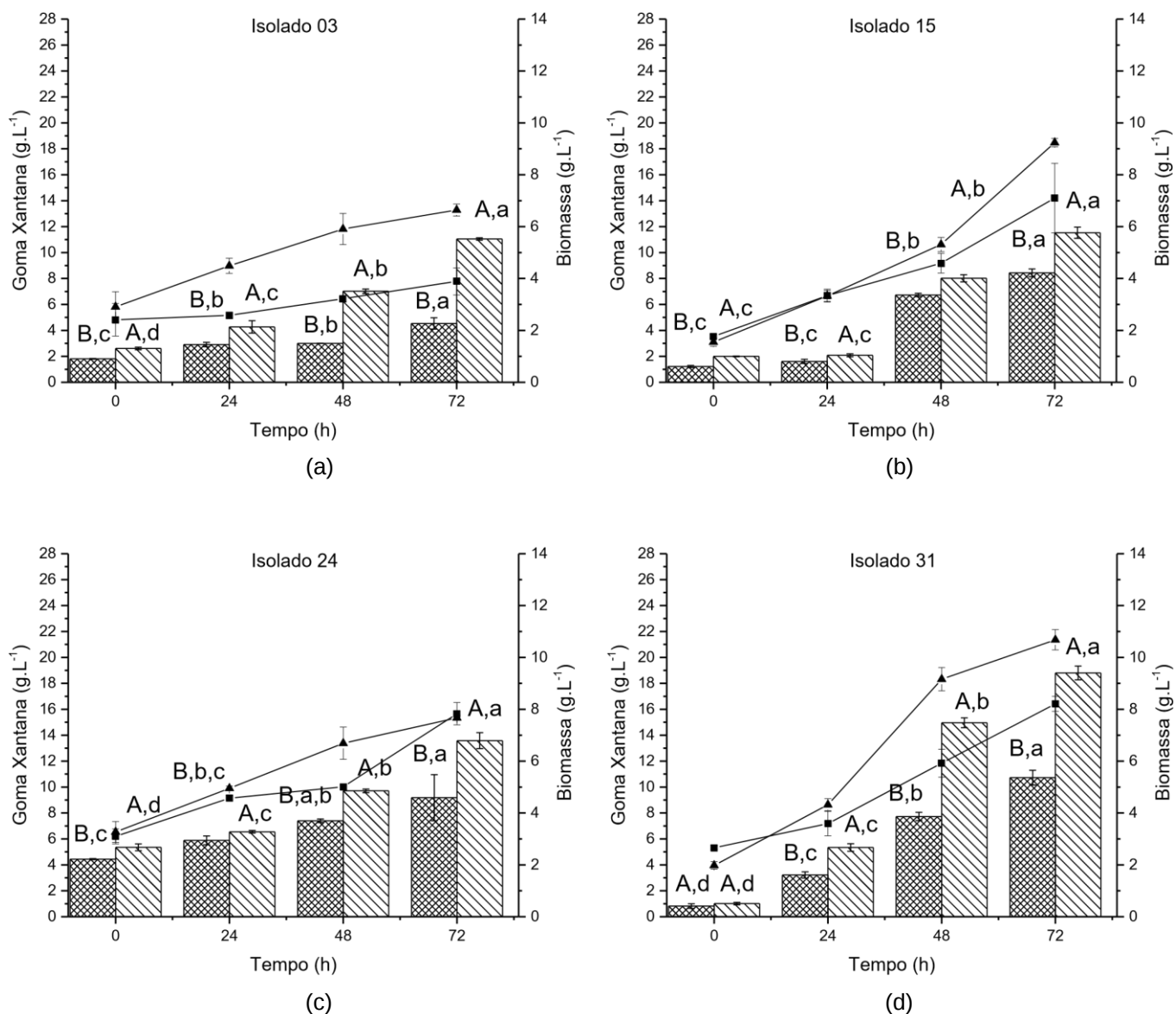
Antunes (2003) estudou 13 isolados, determinando valores de produção de goma xantana em dois meios distintos de produção (MP1 e MP11). Em meio MP1 foram encontrados valores entre 11,7 a 21,4 (g L^{-1}) e em meio MP11 entre 4,1 a 20,1 (g L^{-1}). Como parâmetros de cultivo foram utilizadas temperatura de 28 °C e agitação de 200 rpm por 72 h.

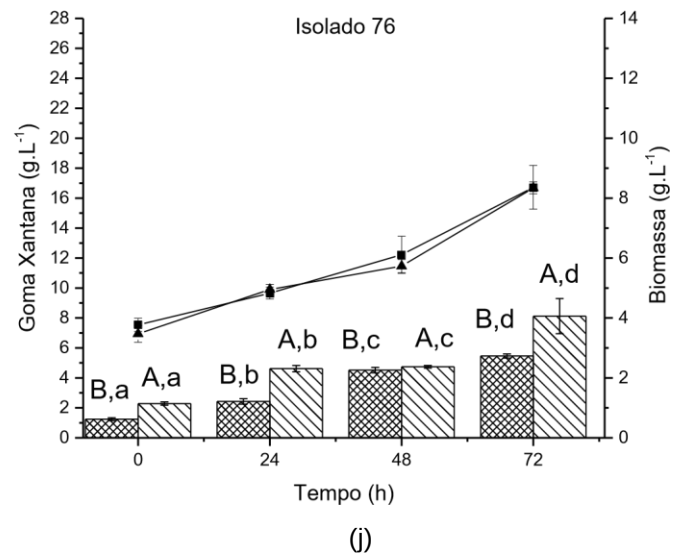
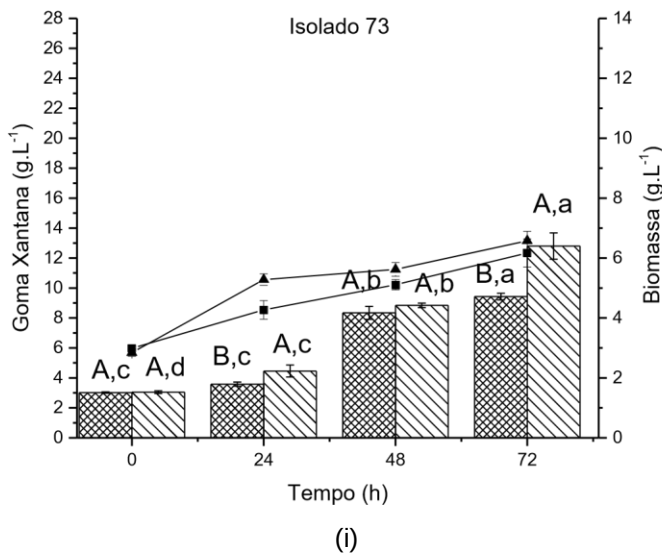
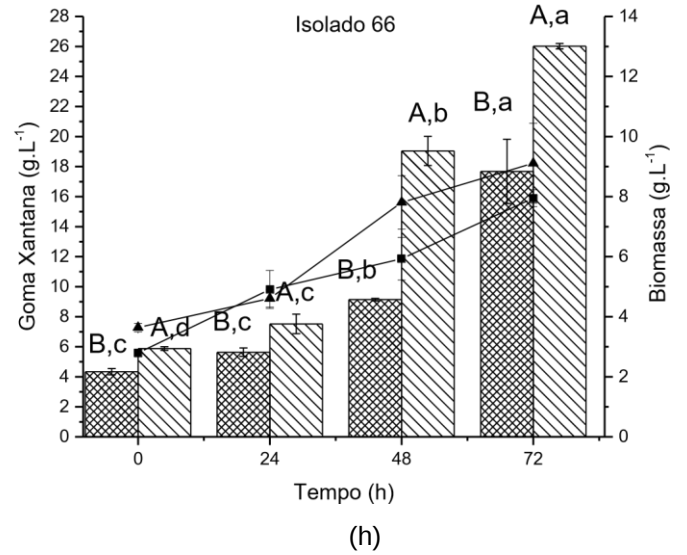
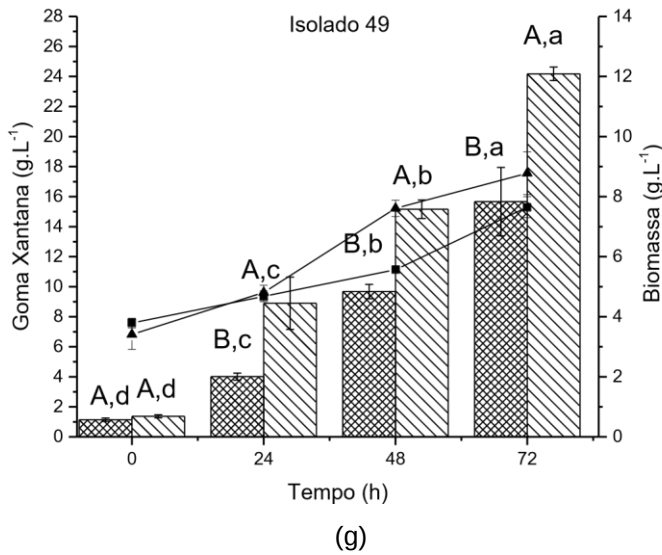
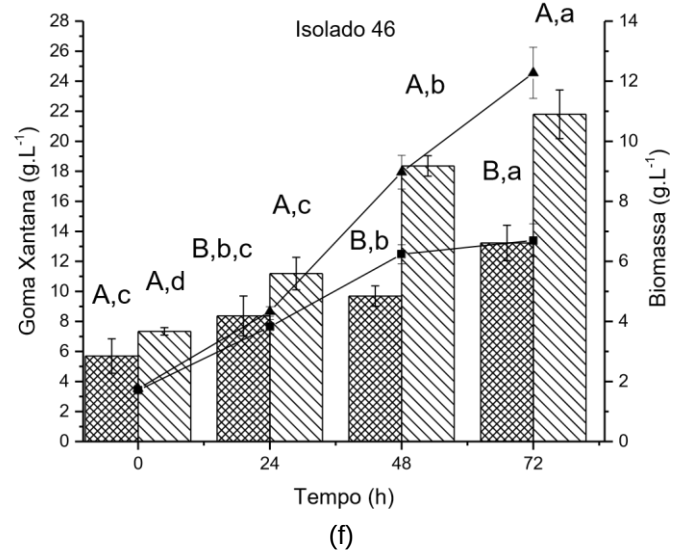
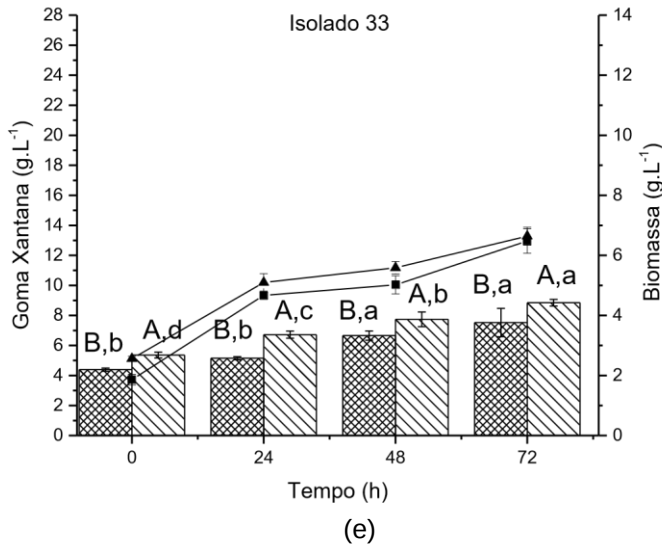
Borges (2007) estudou 30 isolados e encontrou valores de produção de goma xantana, entre 3,8 a 9,2 (g L^{-1}). Como parâmetros de cultivo foram utilizadas temperatura de 28°C e agitação de 200 rpm por 72 h. O meio de produção utilizado foi o MP11.

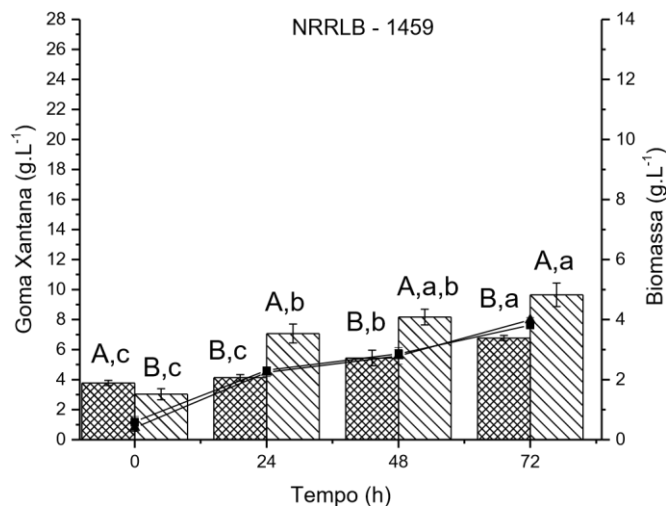
Como observado na Figura 1, foram obtidos valores de produção de goma xantana iguais e superiores para todos valores já registrado pelo grupo de pesquisa do laboratório 1 durante o período de 20 anos, tendo destaque para os isolados 46, 49 e 66, que possuem até o momento os maiores valores de produção de xantana já relatados para este patovar, produzido durante 72 h de cultivo em agitador orbital.

Almeida de lima (2001) relatam a dificuldade relacionada à produção de xantana e a sua instabilidade entre linhagens e patovares, o que resulta numa variação de massa molar, produção, piruvatização e acetilação.

Figura 1: Acompanhamento da biomassa em meio A (-■-) e meio B (-▲-), produção de goma xantana em meio A (▨) e meio B (▧), nos tempos de 0, 24, 48 e 72h.



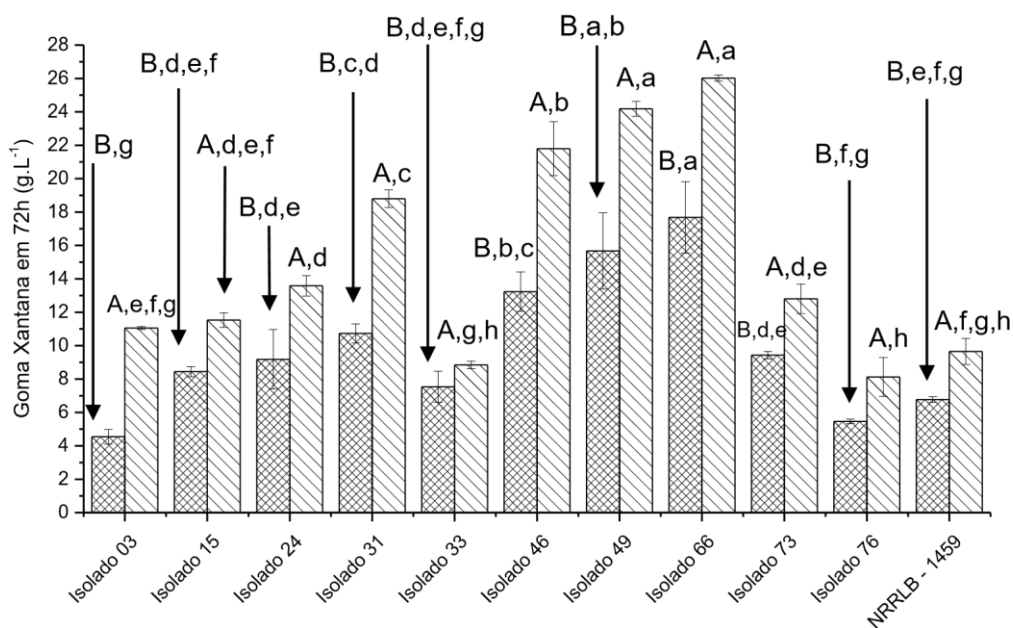




(k)

*Letras maiúsculas diferentes no mesmo tempo indicam que há diferença significativa ($p < 0,05$) entre os meios A e B. Letras minúsculas diferentes no mesmo meio de cultivo indicam que há diferença significativa ($p < 0,05$) ao longo do tempo.

Figura 2: Concentração de goma xantana em 72h em meio A (▨) e meio B (▧) de cada isolado.



*Letras maiúsculas diferentes no mesmo isolado indicam que há diferença significativa ($p < 0,05$) entre os meios A e B. Letras minúsculas diferentes no mesmo meio de cultivo indicam que há diferença significativa ($p < 0,05$) entre os isolados do mesmo meio.

O meio de cultivo mais complexo (meio A) demonstrou pouco potencial em comparação ao meio B (menos complexo), o que de fato surpreende, por ser um meio mais complexo e de possuir um custo mais oneroso. Uma hipótese, pelo fato do meio A não ser tão eficiente, é a presença de micronutrientes na sua composição, como cálcio, ferro e zinco que são conhecidos como cofatores enzimáticos, o que poderia ocasionar um desvio na rota de produção de goma xantana.

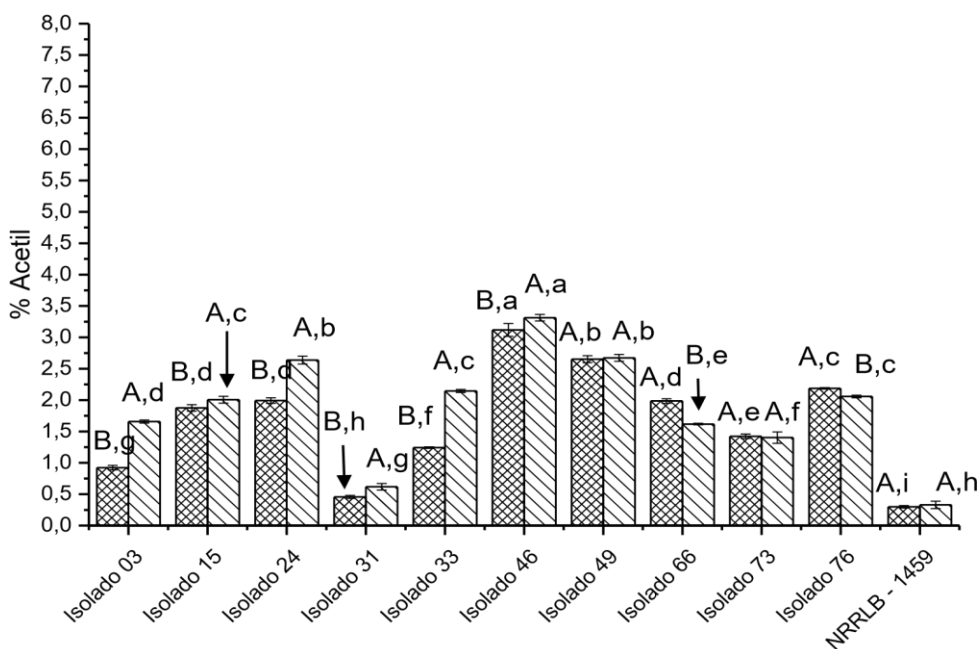
Borges (2009) cita que diversos trabalhos que mostram a relação entre meio de cultivo com a produção de xantana, composição química e comportamento reológico. Mas vale ressaltar que além das condições operacionais, a diferença entre os patovares e até mesmo dentro de patovares são muito significativas, como no presente trabalho por exemplo, onde observou-se variações de concentração de xantana superior a 10 g L^{-1} no mesmo meio de cultivo.

De acordo com o acima exposto, pode-se verificar que a composição do meio e os diferentes tipos de variação dos patovares são variáveis importantes que influenciam diretamente o crescimento do micro-organismo.

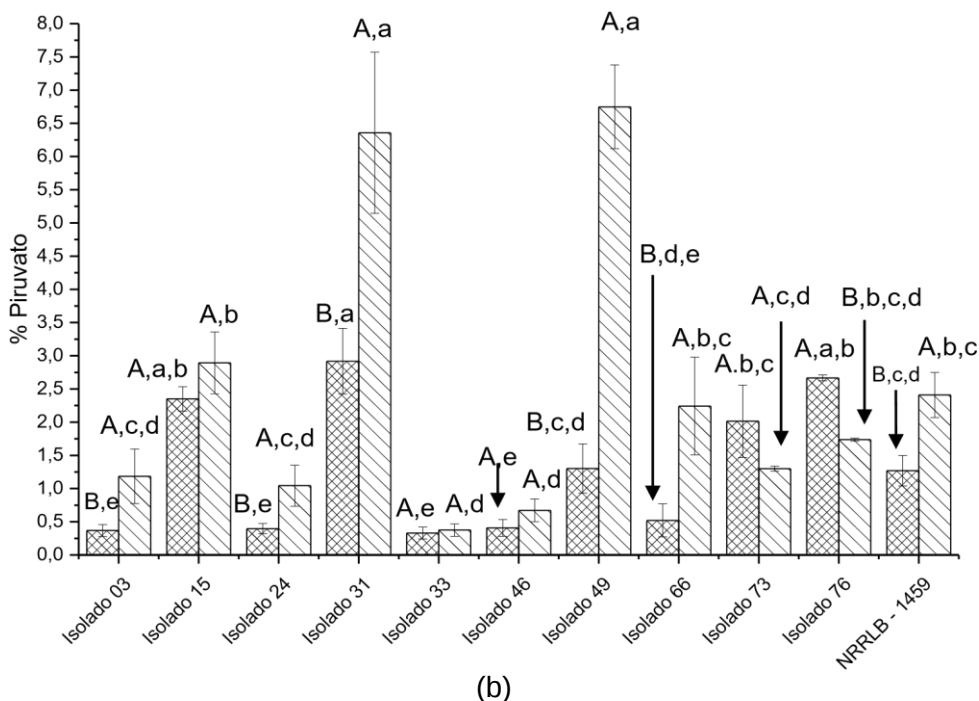
3.2 Teores de acetil e piruvato

As Figuras 3 e 4 apresentam os teores de acetil e piruvato em goma xantana de 72 h de cultivo.

Figura 3: Teor de acetil e de piruvato em meio A (▨) e meio B (▩).



(a)



*Letras maiúsculas diferentes no mesmo isolado indicam que há diferença significativa ($p < 0,05$) entre os meios A e B. Letras minúsculas diferentes no mesmo meio de cultivo indicam que há diferença significativa ($p < 0,05$) entre os isolados do mesmo meio.

No presente trabalho foi verificado que a utilização do meio B conferiu valores iguais ou superiores de quantidade de acetil e piruvato (com exceção do isolado 66 e 76 para acetil e isolado 76 para piruvato que obtiveram valores maiores em meio A).

Com relação aos substituintes acetil e piruvato, estudos têm mostrado que ocorrem variações em xantanas produzidas por diferentes espécies as quais possuem piruvato em sua composição, variando de 1,00 a 7,40%. A grande variação nas quantidades dos substituintes acetil e piruvato que estão ligados na cadeia lateral depende particularmente da cepa utilizada para produção da xantana. Para *X. campestris* pv *campestris* estima-se um conteúdo médio de 4,7% de acetil, sendo que dependendo da espécie de *Xanthomonas* pode chegar até a 10% (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; KLAIC, 2010).

Segundo alguns autores, a presença de acetil confere estabilidade para a conformação helicoidal da estrutura, enquanto os grupos piruvato desestabilizam a conformação helicoidal. A xantana possui característica polieletrólítica aniônica devido à presença de grupos acetil e piruvato (RICHARDSON e ROSS-MURPHY, 1987; RENOU et. al, 2013; MOLON, 2019).

Pace (1991) cita que a quantidade de álcool necessário para a precipitação de xantana depende da força iônica, mas é independente da concentração do biopolímero e sim da composição do biopolímero. À medida que a concentração de piruvato em xantana aumenta, a quantidade de álcool requerido para precipitar o biopolímero aumenta.

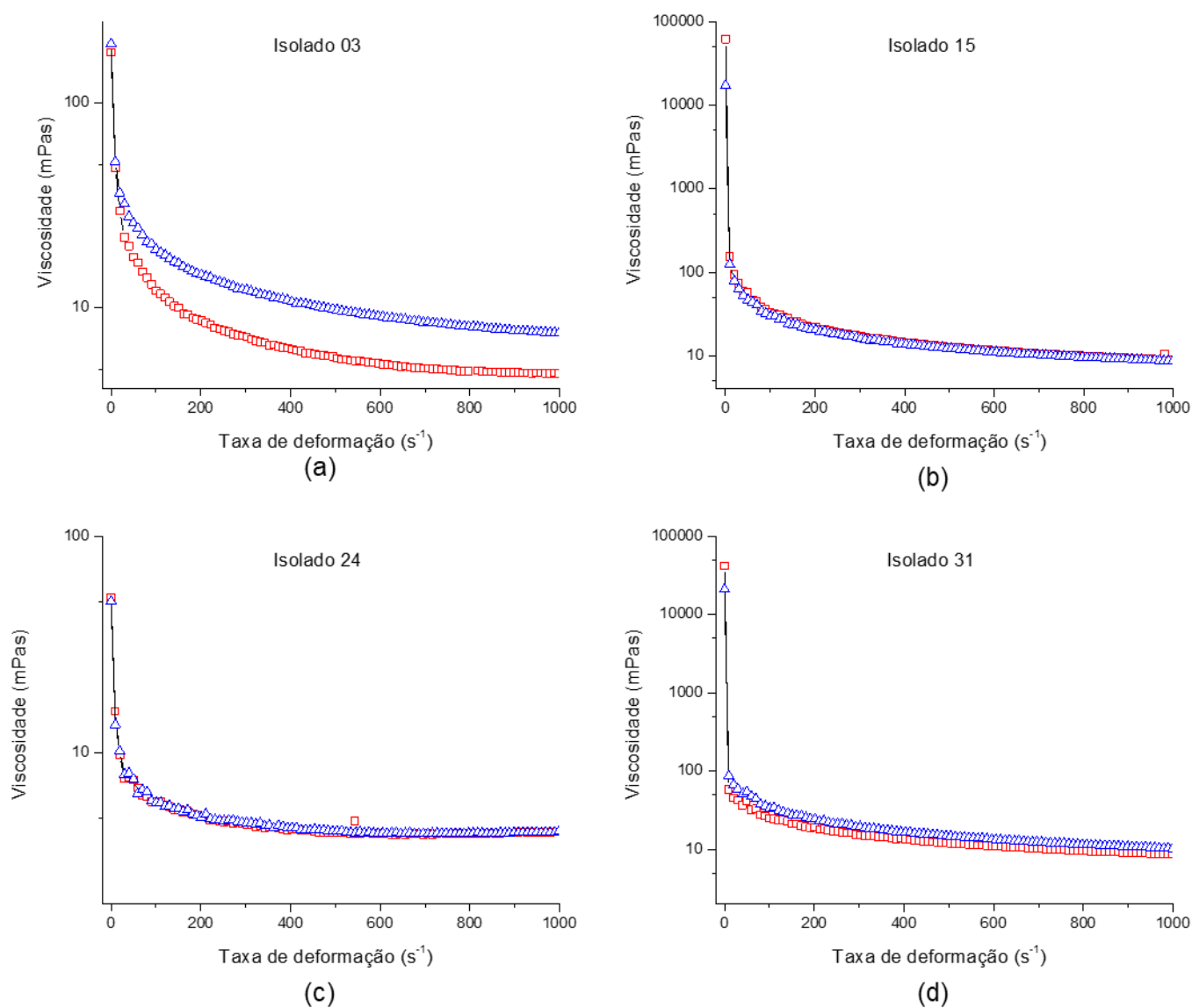
3.3 Viscosidade

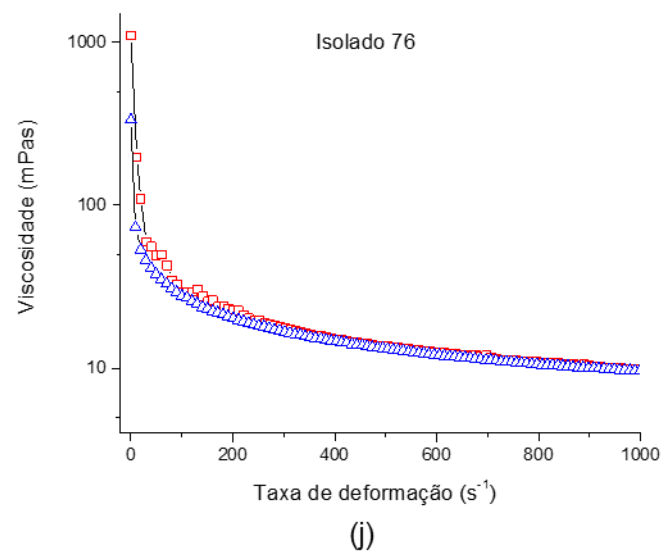
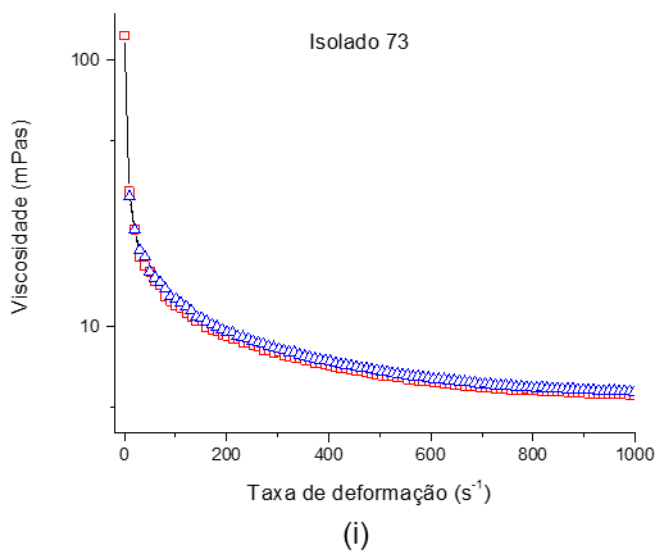
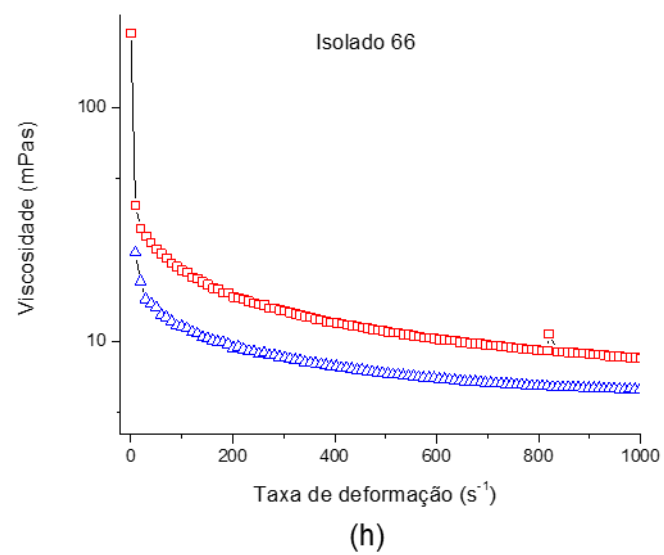
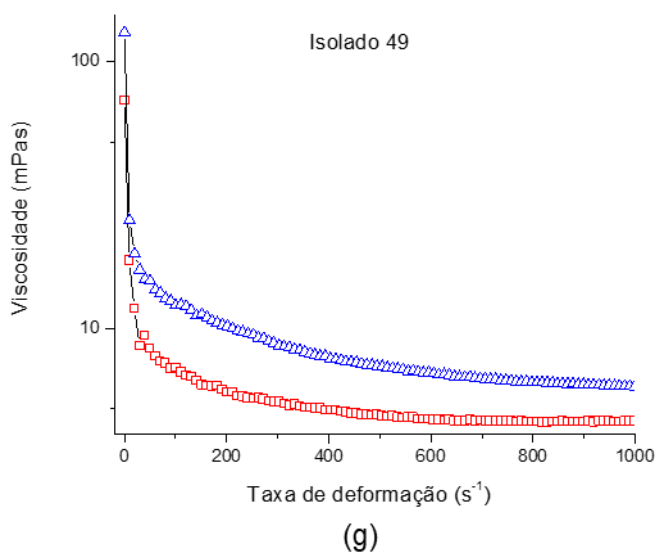
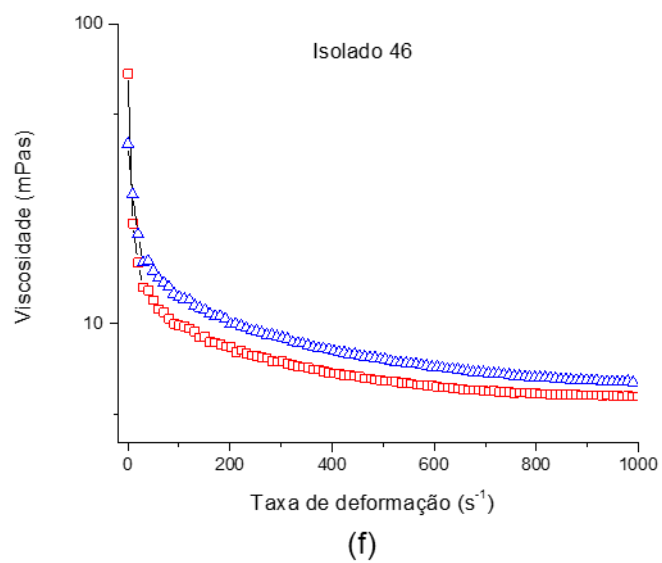
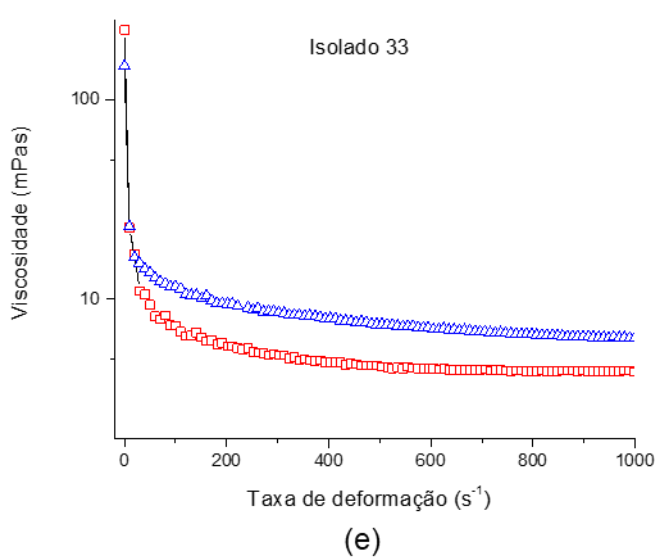
As curvas de viscosidade das xantanas (Figura 4) foram verificadas quanto ao ajuste ao modelo de Ostwald-de-Waele (modelo da potência) e todas apresentaram correlação superior a 0,97.

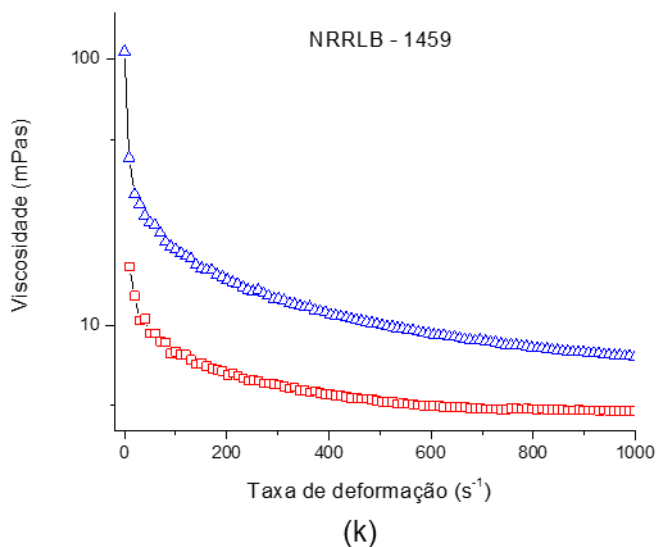
Tabela 1: Coeficientes do modelo de Ostwald-de-Waele

Meio	R ² das xantanas										
	03	15	24	31	33	46	49	66	73	76	NRRLB 1459
A	0,99	0,99	0,98	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
B	0,99	0,98	0,99	0,99	0,99	0,98	0,99	0,98	0,98	0,99	0,98

Figura 4: Perfil de viscosidade das xantanas em meio A (-□-) e meio B (-△-).







Com a exceção do isolado 66, quando aplicado o meio B tem-se um perfil de viscosidade igual ou superior ao meio A. Mas mesmo assim, todos os isolados, tanto em meio A quanto em meio B, apresentaram baixa viscosidade.

No presente trabalho não foi possível definir uma relação entre viscosidade e teores de acetil e piruvato. Klaic (2016) cita que não foram observados correlação entre o teor de piruvato do polímero e sua viscosidade.

A viscosidade da xantana pruni pode variar de acordo com o isolado utilizado e as condições do cultivo microbiano, como pode ser observado nos trabalhos desenvolvidos por Oliveira et al. (2013), que verificaram viscosidade de 70,0 mPa s para cepa 06, 45,0 mPa s para a cepa 82 e 57,0 mPa s para a cepa 106; por Borges et al. (2009), que verificaram valor de 45,0 mPa s para a cepa 106, sendo estes valores inferiores ao determinado no presente estudo de 121,0 mPa s, entretanto Klaic, (2016) obteve viscosidade de 208 mPa s (MOLON, 2019).

4 CONCLUSÃO

Todos isolados de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* provenientes dos pessegueiros da cidade de Pelotas-RS possuem um grande potencial de produção de xantana em comparação com o micro-organismo *Xanthomonas campestris* NRRL B – 1459 que é utilizado industrialmente. Valores de concentração de goma xantana em meio A variaram de $4,54 \pm 0,44 \text{ g L}^{-1}$ a $17,68 \pm 2,14 \text{ g L}^{-1}$ e em meio B de $8,12 \pm 1,17 \text{ g L}^{-1}$ a $26,02 \pm 0,18 \text{ g L}^{-1}$. Já os valores de piruvato variaram de $0,33 \pm 0,09\%$ a $2,91 \pm 0,49\%$ em meio A e $0,37 \pm 0,09\%$ a $6,74 \pm 0,63\%$ em meio B, enquanto que os valores de acetil variaram de $0,30 \pm 0,2\%$ a $3,11 \pm 0,10\%$ em meio A e em meio B de $0,33 \pm 0,06\%$ a $3,31 \pm 0,05$. O perfil de viscosidade das xantanas em solução aquosa mostrou um comportamento de fluido não newtoniano, pseudoplástico, o que é característico para este tipo de goma.

Financiamento

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, A.E.C., MOREIRA, A.S., VENDRUSCOLO, J.L.S. & VENDRUSCOLO, C.T. Screening of *Xanthomonas campestris* pv *pruni* strains according to their production of xanthan and its viscosity and chemical composition. **Brazilian Journal of Food Technology**. 6(2). p. 317-322. 2003.

BORGES, C. D.; VENDRUSCOLO, C. T. Xanthan synthesized by strains of *Xanthomonas campestris* pv *pruni*: production, viscosity and chemical composition. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 4, p. 67-73, 2007.

BORGES, C.D., PAULA, R.C.M., FEITOSA, J.P.A. & VENDRUSCOLO, C.T. The influence of thermal treatment and operational conditions on xanthan produced by *X. arboricola* pv. *pruni* strain 106. **Carbohydrate Polymers**. 75. p. 262-268. 2009.

BRUNCHI, C. E.; MORARIU, S. Strategies to improve the xanthan properties for specific applications. In: **Smart Materials Integrated design, engineering approaches and potencial applications**, Editora Anca Filimon, Capitulo 3, 2019.

CADMUS, M. C.; KNUTSON, C. A.; LAGODA, A. A.; PITTSLEY, J. E.; BURTON, K. A. Synthetic media for production of quality xanthan gum in 20 liter fermentors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 20, n. 7, p. 1003 -1014, 1978.

DONOT, F.; FONTANA, A.; BACCOU, J.C.; SCHORR-GALINDO, S. Microbial exopolysaccharides: main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 951–962, 2012.

FREITAS, F.; ALVES, V.D.; REIS, M.A.M. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. **Trends in Biotechnology**, v. 29, n. 8, p. 388-398, 2011.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, n.7, p. 549-579, 2000.

HAYNES, W. C., WICKERHAM, L. J., HESSELTINE, C. W. Maintenance of cultures of industrially important microorganisms. **Applied Microbiology**, v. 3, n. 6, p. 361 - 368, 1955.

HABIBI, H., & KHOSRAVI-DARANI, K. Effective variables on production and structure of xanthan gum and its food applications: A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 10, p. 130–140. 2017.

KLAIC, P.M.A. (2010). **Desenvolvimento de método de digestão ácida para determinação de sais em xantana e potencialização reológica de xantana de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* por troca iônica**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

KLAIC, P.M.A. (2016). **Parâmetros reológicos e resistência térmica de xantana de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*: potencialização por desacetilação, reticulação e troca iônica**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

LUVIELMO, M. M; SCAMPARINI, A. R. P. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos Tecnológicos**, v. 5, n. 1, p. 50 – 67, 2009.

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

MIRANDA, L. A.; COSTA, S, S. Influence of strain and fermentation time on the production, composition, and properties of xanthan gum. **J. APPL. POLYM. SCI.** 2019

MOLON, B. O. **Caracterização durante o tempo de armazenamento da xantana sintetizada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* modificada quimicamente por desacetilação e reticulação**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; GILTUNES, C.; VENDRUSCOLO, C. T. Screening among 18 novel strains of *Xanthomonas campestris* pv *pruni*. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 4-6, p. 469-474, jul./nov. 2001.

MONTGOMERY, D.C. **Introdução ao controle estatístico de qualidade**. 4º Edição. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2004.

OLIVEIRA, P. D.; BORGES, C. D.; MICHEL, R. C.; LOMBA, R. F. T.; VENDRUSCOLO, C. T.. Avaliação omparativa das propriedades de xantanas produzidas pelo patovar pruni e clairana com xantana comercial para predição de uso. **Polímeros**, v. 27, p. 1-20, 2013.

PACE, G. W. Polímeros microbianos. In: BU'LOCK, J.; KRISTIANSEN, B. **Biotecnología básica**. Zaragoza: Acribia, 1991. p. 449-462.

PAN, A., MOREIRA, A. S., VENDRUSCOLO, C.T. Efeito da concentração inicial do inóculo no crescimento celular e qualidade de biopolímeros de *Xantomonas campestris* pv. *pruni* cepa 06. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 6, n. 3, p. 273 -277, 2000.

RENOU, F., PETIBON, O., MALHIAC, C. & GRISEL, M. Effect of xanthan structure on its interaction with locust bean gum: Toward prediction of rheological properties. **Food Hydrocolloids**. 32(2). p. 331340. 2013.

RICHARDSON, R.K. & ROSS-MURPHY, S.B. Non-linear viscoelasticity of polysaccharide solutions. 2: Xanthan polysaccharide solutions. **International Journal of Biological Macromolecules**. 9. p. 257-264. 1987.

ROSALAM, S. & ENGLAND, R. Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas campestris* sp. **Enzyme and Microbial Technology**. 39(2). p. 197-207. 2006.

SAHU, Y. Allied Market Research. Xanthan Gum Market by Application (Food & Beverages, Medical, Personal Care & Cosmetics, Oil & Gas, and Others) and Function (Thickening Agent, Stabilizing Agent, Suspending Agent, Fat Replacer, and Others): Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2017-2023. Mai. 2017. Acessado em 27 out. 2019. Online. Disponível em: <https://www.alliedmarketresearch.com/xanthan-gum-market>

SLONEKER, J. H., ORENTAS, D. G. Pyruvic acid, a unique component of an exocellular bacterial polysaccharide. **Nature**, v. 194, p. 478-479, 1962.

SOUW, P.; DEMAİN, A. L. Nutritional studies on xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B1459. **Appl Environ. Microbiol.** 37: 1186-1192, 1979.

SOUZA, A. 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.

TESSMANN, C. **Caracterização molecular de *Xanthomonas campestris* pv *pruni* pela técnica de RAPD e relação com a planta hospedeira e com a produção, viscosidade e composição química da xantana.** 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2002.

TRINDADE, R, A. **Produção de exopolissacarídeos bacterianos a partir de glicerol residual gerado na síntese de biodiesel.** 2014. 68 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal de Rio Grande (FURG), Rio Grande, 2014.

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.187191, 2000.

5 CAPITULO 2 - OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE RECUPERAÇÃO DE XANTANA OBTIDA POR *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* ISOLADO 66

Adriel Penha Munhoz^a, Rosana Basso Kraus^b, Adriana Dillenburg Meinhart^a, Patrícia Silva Diaz,^{a,c}

^aDepartamento de Ciência e Tecnologia de alimentos; Universidade Federal de Pelotas;
Universidade Federal de Pelotas; Pelotas; Rio Grande do Sul; Brasil;
adrielmunhoz@hotmail.com; adrianadille@gmail.com

^bCentro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos; Universidade Federal de Pelotas; Pelotas; Rio Grande do Sul; Brasil; rosana_basso_kraus@hotmail.com

^cCentro de Desenvolvimento Tecnológico; Universidade Federal de Pelotas; Pelotas; Rio Grande do Sul; Brasil; bilicadiaz@yahoo.com.br

Autor correspondente: adrielmunhoz@hotmail.com; Universidade Federal de Pelotas; Campus do Capão do Leão; Prédio 19; Laboratório 1; CEP 96010-900; +55 53 999792616.

RESUMO - Este trabalho apresenta dados inéditos sobre a otimização multivariada do processo de obtenção de goma xantana através da bactéria *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* isolado 66, isolada de pessegueiros da cidade de Pelotas, RS. Foi utilizado um planejamento multivariado completo com três variáveis (2^3) três pontos centrais e seis axiais para investigar a quantidade de etanol, tempo de contato do etanol com caldo e tempo de cultivo. As variáveis foram estudadas nos seguintes níveis: 10 a 70 mL, 1 a 24 h e 0 a 72 h, respectivamente. Através do uso dos modelos matemáticos é possível prever que a condição ótima para obter o máximo de rendimento foi de 10 mL de etanol, 24 h de tempo de contato entre o etanol e caldo e 72 h de cultivo, resultando na produção média de $56,55 \pm 2,36$ g L⁻¹ de goma.

Palavras-Chave: Pessegueiros. Produção de goma xantana. Quantidade de etanol. Tempo de

1 INTRODUÇÃO

Os micro-organismos são capazes de sintetizar ampla diversidade de estruturas químicas, como, por exemplo, a produção de biopolímeros hidrossolúveis com diferentes propriedades hidrológicas. Dentre os biopolímeros, os polissacarídeos solúveis em água, de origem vegetal, animal ou microbiana, são denominados de gomas industriais (BUENO, 2014; HABIBI, 2017; OLIVEIRA et al., 2013). As bactérias do gênero *Xanthomonas*, destacam-se por serem micro-organismos reconhecidos como produtores de goma xantana (BRUNCHI, 2019; TRINDADE, 2018).

A goma xantana é constituída de glicose, manose e ácido glicurônico, na relação de 2:2:1, destacando-se por apresentar propriedades reológicas distintas das outras gomas microbianas, bem como elevado comportamento pseudoplástico, viscosidade elevada mesmo em baixas concentrações, solubilidade e estabilidade em soluções ácidas e alcalinas, resistência à degradação em elevadas temperaturas e em diferentes níveis de pH (BRUNCHI, 2019; ERTEN, 2014; TRINDADE, 2015).

A produção de biopolímeros bacterianos pode ser induzida pelo excesso de macronutrientes como carbono e nitrogênio, juntamente com limitação de outros micronutrientes (DONOT et al., 2012; FREITAS et al., 2011; TRINDADE, 2015). Além desses fatores, a espécie de *Xanthomonas*, as condições de cultivo, o reagente aplicado para precipitação da goma, assim como a quantidade utilizada, também pode afetar a concentração de goma xantana (KLAIC, 2016; PREICHARDT, 2016).

Otimizações multivariadas são ferramentas muito úteis para avaliar diversas variáveis simultaneamente visto que permitem o estudo do efeito individual e das interações entre as variáveis, empregam baixo número de experimentos e permitem realizar o modelamento matemático para prever as condições ótimas. Ao que consta aos autores, não foram encontrados estudos de otimização multivariada para a obtenção de goma xantana a partir de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* isolado 66.

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do tempo de cultivo, da quantidade de etanol para precipitação da goma xantana e o tempo de contato com o etanol sobre o caldo fermentado obtido por *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* isolado 66 e otimizar as condições ótimas de recuperação para obter o máximo de rendimento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Micro-organismo

O micro-organismo utilizado foi a bactéria *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* isolado 66 de pessegueiros, provenientes da cidade de Pelotas, RS. Esses microrganismos encontram-se na bacterioteca do laboratório de tecnologia de bioprocessos da Universidade Federal de Pelotas.

2.2 Meios de cultura

Inicialmente preparou-se o inóculo, para esse foi utilizado meio líquido YM (*Yeast Malt*) contendo (g L⁻¹): 3,0 extrato de levedura; 3,0 extrato de malte; 5,0 peptona; 10,0 glicose (HAYNES et al., 1955).

Logo após, deu-se início a produção do biopolímero seguindo a metodologia descrita por Vendruscolo et al. (2004). Para tanto foi utilizado o Meio de Produção II (MPII) constituído por (g L⁻¹): 50,0 sacarose; 1,5 (NH₄)₂HPO₄; 2,5 K₂HPO₄; 5,0 KH₂PO₄; 2,0 (NH₄)₂SO₄; 0,3 MgSO₄. O pH inicial foi ajustado para 7.

2.3 Processo

2.3.1 Preparo do Inóculo

O inóculo foi preparado partindo-se de placas de Petri contendo repiques multiplicativos da cultura microbiana reativada até atingir concentração microbiana conforme recomendado por Pan, Moreira e Vendruscolo (2000). A suspensão bacteriana foi obtida por raspagem da cultura sólida com adição de 10 mL de meio YM líquido. Esta foi transferida para um *Erlenmeyer* de 250 mL contendo 40 mL de meio YM líquido. Os frascos foram mantidos em incubadora agitadora orbital (New Brunswick, Scientific, modelo Innova 4230) a 28 °C e 150 rpm por 24 h.

2.3.2 Produção de xantana em frascos agitados

Foram realizados cultivos em frascos Erlenmeyers de 1 L, com 400 mL de meio de cultivo e 100 mL de inóculo. Os frascos foram mantidos em incubadora agitadora orbital (New Brunswick, Scientific, modelo Innova 4230) na temperatura de 28 °C e 200 rpm de agitação durante 72 h (SOUZA & VENDRUSCOLO, 1999). Nesta etapa, foi utilizado o meio de produção MPII e foram retiradas amostras nos tempos de acordo com o planejamento descrito na matriz experimental (Tabela 1).

2.3.3 Recuperação do biopolímero xantana

Para realizar a recuperação da xantana, o caldo foi centrifugado (Sorvall Instruments RC-5C) para remoção das células (VENDRUSCOLO et al., 2000). Em seguida, foi adicionado etanol 96 °GL nas proporções descritas na matriz experimental. O material obtido foi seco em estufa a 56 °C até massa constante.

2.4 Delineamento experimental

Para a otimização dos parâmetros de recuperação da goma xantana utilizou-se um planejamento composto central rotacional 2³, com pontos centrais e pontos axiais. As variáveis estudadas foram: quantidade de etanol (mL) adicionada ao caldo (avaliada entre 10 e 70 mL, valores correspondentes aos níveis -1,68 e +1,68 da matriz experimental), tempo de contato do etanol com o caldo (entre 1 e 24 h, valores correspondentes aos níveis -1,68 e +1,68 da matriz

experimental) e tempo de cultivo (entre 0 e 72 h, valores correspondentes aos níveis -1,68 e +1,68 da matriz experimental).

Utilizou-se um delineamento experimental fatorial 2^3 , com seis pontos axiais ($\alpha = \sqrt{3}$) e três repetições nos pontos centrais ($n_0 = 3$), totalizando 17 condições experimentais (Tabela 1) para otimização dos parâmetros. Os experimentos foram conduzidos em triplicata e em ordem aleatória. A resposta investigada foi a concentração de goma xantana recuperada. Os dados foram avaliados quanto à possibilidade de descrever as variáveis através de modelos matemáticos com ajuste, dispersão de resíduos aleatória e significância das regressões (95% de confiança). Os polinômios de segundo grau representados pela Equação 1 (Apêndice) foram calculados através do software *Statistica 7.0* para explicar o comportamento das variáveis e prever a condição ótima experimental, onde Y_i é a resposta preditiva, X_1 , X_2 , X_3 são as variáveis independentes, b_0 é o termo da média, b_1 , b_2 , b_3 são os efeitos lineares, b_{11} , b_{22} , b_{33} são os efeitos quadráticos e b_{12} , b_{13} , b_{23} são as interações entre os termos.

$$Y_i = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{12}X_1X_2 + b_{23}X_2X_3 + b_{13}X_1X_3 \quad (1)$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1 é apresentada a matriz experimental e as respostas obtidas. Com base nos resultados dos experimentos, obteve-se a equação polinomial que forneceu o valor preditivo da concentração de xantana em função da quantidade de etanol linear (X_1 , v v⁻¹), do tempo de contato em etanol linear e quadrático (X_2 e X_2^2 , h) e do tempo de cultivo linear e quadrático (X_3 e X_3^2 , h), como mostra a Equação 2:

$$\text{Xantana (g L}^{-1}\text{)} = 6,01 - 1,01 X_1 + 1,2 X_2^2 + 3,65 X_3 + 1,74 X_3^2 - 3,40 X_2 X_3 \quad (2)$$

Tabela 1 - Matriz do delineamento experimental 2^3 e respostas obtidas para a concentração de goma xantana

Variáveis codificadas (Variáveis Decodificadas)				
Ensaio	Quantidade (mL) de etanol para 10 mL de caldo fermentado (v v ⁻¹)	Tempo de contato com etanol (h)	Tempo de cultivo (h)	Goma xantana (g L ⁻¹) *
1	-1 (22,1)	-1 (5,7)	-1 (14,6)	3,4 ± 1,1
2	1 (57,9)	-1 (5,7)	-1 (14,6)	5,4 ± 0,4
3	-1 (22,1)	1 (19,3)	-1 (14,6)	10,3 ± 1,7
4	1 (57,9)	1 (19,3)	-1 (14,6)	5,8 ± 0,6
5	-1 (22,1)	-1 (5,7)	1 (57,4)	8,5 ± 1,6
6	1 (57,9)	-1 (5,7)	1 (57,4)	14,0 ± 3,4
7	-1 (22,1)	1 (19,3)	1 (57,4)	22,4 ± 1,9
8	1 (57,9)	1 (19,3)	1 (57,4)	7,3 ± 0,7
9	-1,68 (10)	0 (12,5)	0 (36)	7,5 ± 1,9
10	1,68 (70)	0 (12,5)	0 (36)	6,5 ± 0,4
11	0 (40)	-1,68 (1)	0 (36)	11,6 ± 3,9
12	0 (40)	1,68 (24)	0 (36)	6,9 ± 1,5
13	0 (40)	0 (12,5)	-1,68 (0)	3,9 ± 0,0
14	0 (40)	0 (12,5)	1,68 (72)	17,4 ± 4,8
15	0 (40)	0 (12,5)	0 (36)	5,3 ± 0,8
16	0 (40)	0 (12,5)	0 (36)	6,7 ± 1,2
17	0 (40)	0 (12,5)	0 (36)	6,2 ± 1,1

*Valores médios provenientes de triplicata experimental

Na Tabela 2 estão apresentados a análise de variância (ANOVA) do modelo obtido, onde pode-se observar que a regressão quadrática foi significativa. Os parâmetros do modelo linear (quantidade de etanol e tempo de cultivo) do modelo quadrático (tempo de contato com etanol e tempo de cultivo) e a interação entre quantidade de etanol e tempo de contato, foram significativas, todos com 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

O modelo apresentou leve falta de ajuste para teste F da falta de ajuste, já que o F calculado foi 26,16 superior ao F tabelado_(6;2) de 19,30. A partir da análise de variância, observa-se que o modelo explicou 62,3% das variâncias dos dados, enquanto a variância explicável total foi de 83,5%. Isto implica que o modelo pode apresentar algumas variações entre a resposta ótima predita e a observada. No entanto, vários estudos (ALMEIDA, 2005; CAMPOS JUNIOR,

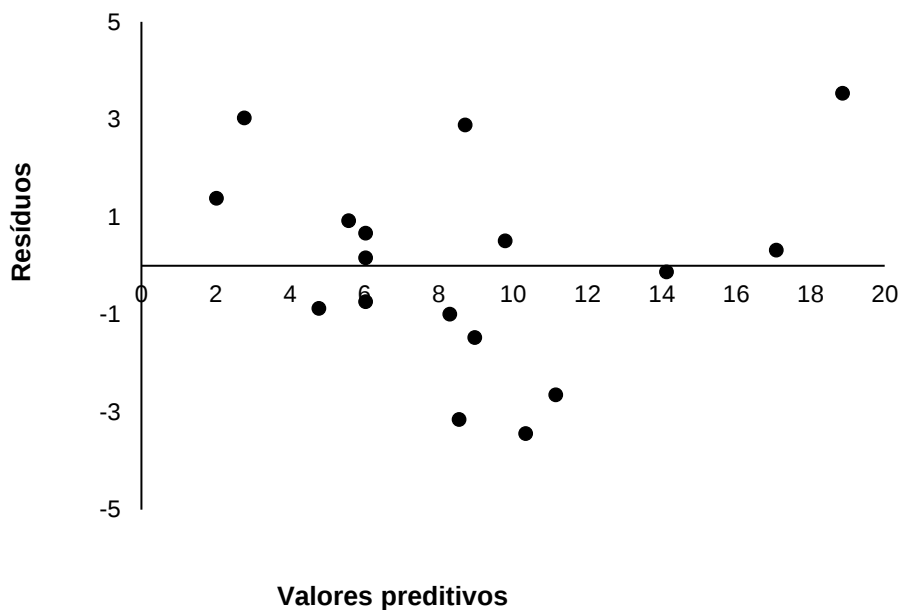
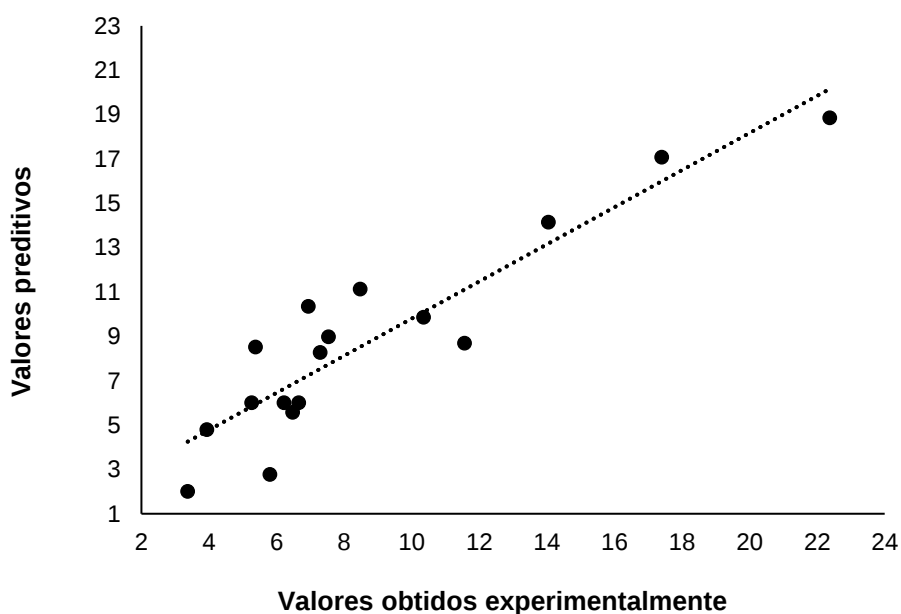
2019) evidenciaram que modelos com leve falta de ajuste, embora possam apresentar variações, foram úteis para prever condições otimizadas do sistema em estudo.

A Figura 1 (a) está apresentada a dispersão de resíduos e valores preditos enquanto na Figura 1 (b) pode-se observar a correlação entre os valores preditos e valores experimentais. A dispersão dos resíduos como pode ser observado é aleatória.

Tabela 2 – Análise de Variância dos dados

	Soma Quadrática	GL	Média Quadrática	Valor F	Valor P
Modelo	339,27	9	37,70	3,95	0,042
Quantidade de etanol (L)	13,92	1	13,92	1,46	0,036
Tempo de contato em etanol (L)	3,20	1	3,20	0,33	0,128
Tempo de fermentação (L)	183,07	1	183,07	19,17	0,003
Quantidade de etanol (Q)	2,17	1	2,17	0,23	0,180
Tempo de contato com etanol (Q)	17,20	1	17,20	1,80	0,029
Tempo de cultivo (Q)	33,76	1	33,76	3,54	0,015
Proporção de etanol x Tempo de contato em etanol	91,80	1	91,80	9,61	0,005
Proporção de etanol x Tempo de cultivo	6,30	1	6,30	0,66	0,077
Tempo de contato em etanol x Tempo de cultivo	0,001,25	1	0,001,25	0,0001,309	0,911
Resíduos	66,84	7	9,55		
Falta de Ajuste	65,84	5	13,17	26,16	0,039
Erro Puro	1,01	2	0,50		
Total	406,12	16			

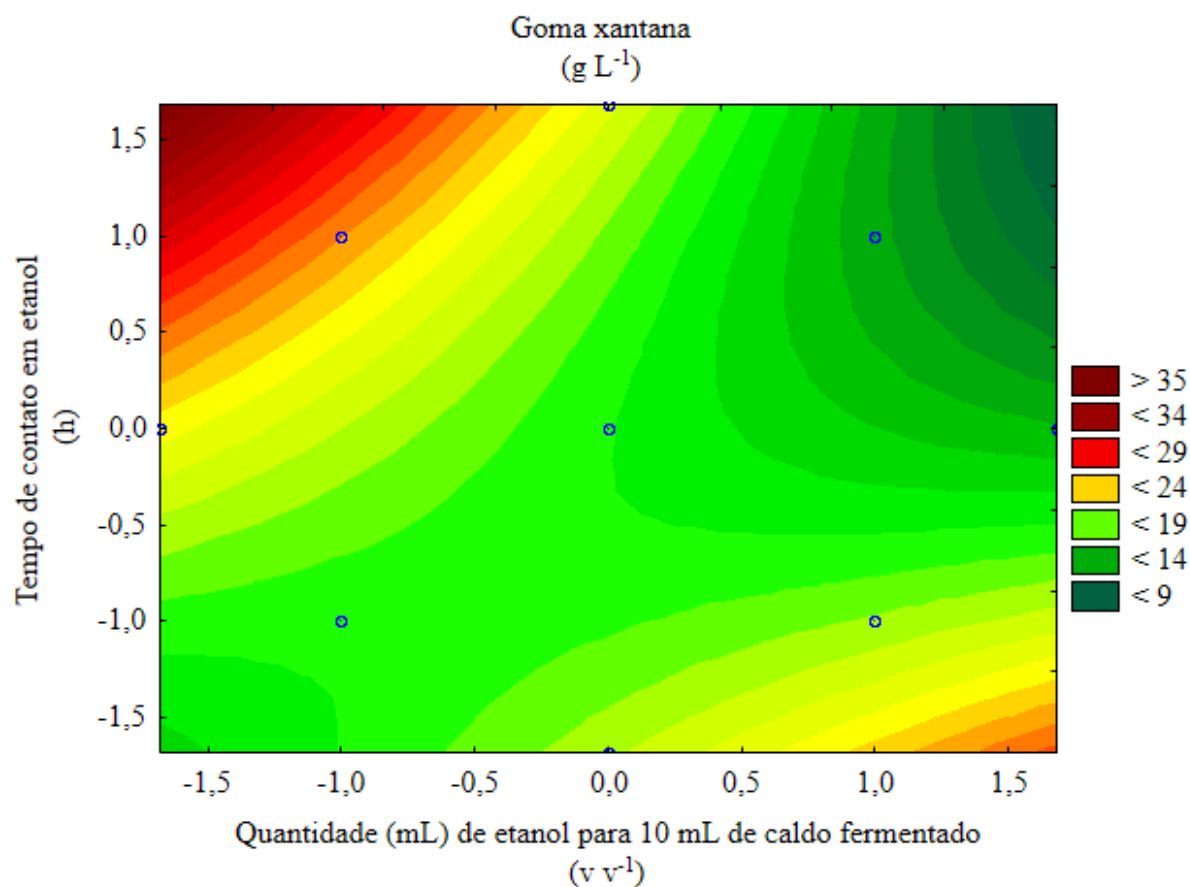
L = Linear, Q= Quadrático

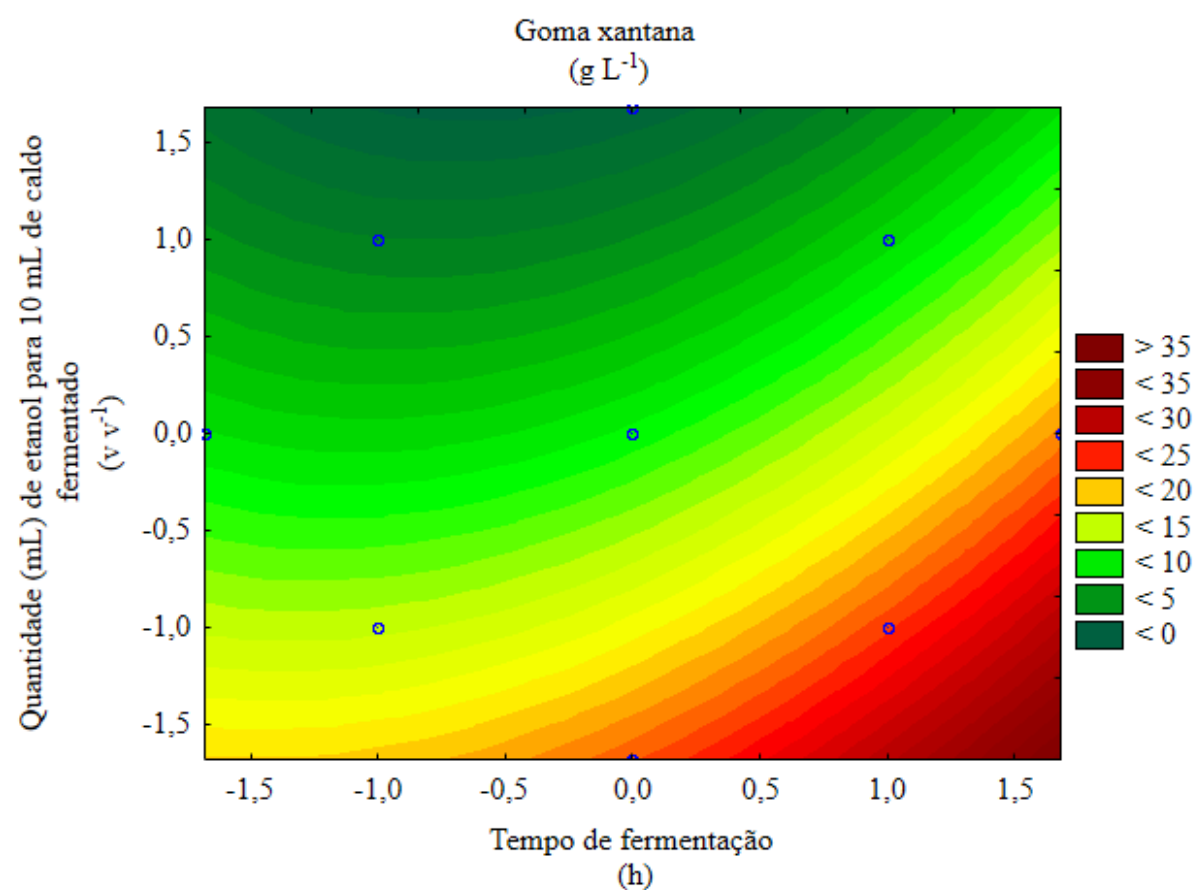
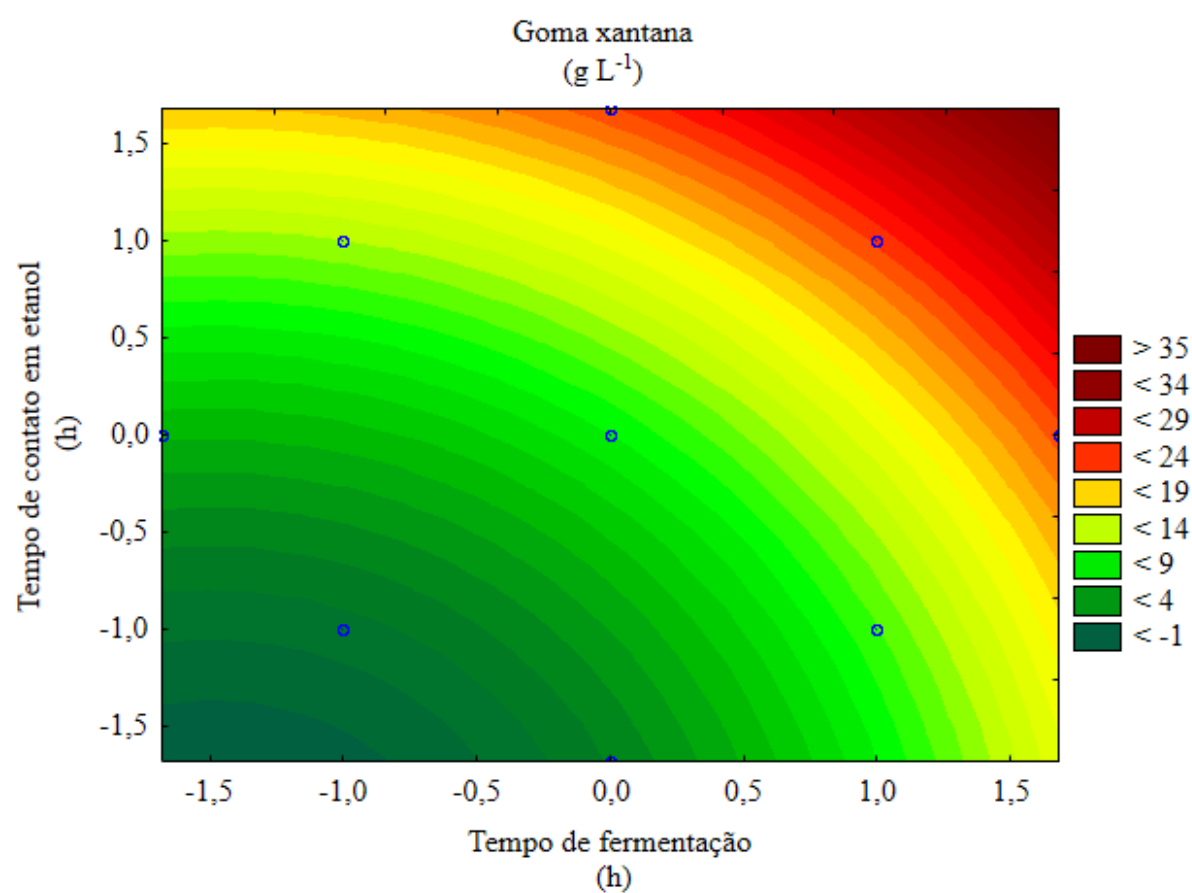
Figura 1(a) - Dispersão de resíduos e valores preditos**Figura 1(b)** - Correlação entre os valores preditivos e experimentais

A Figura 2 apresenta as superfícies de resposta para a otimização das condições de recuperação de xantana. Na Figura 2 (a) está apresentado o efeito da quantidade de etanol e do tempo de contato (quando o tempo de cultivo foi fixado no nível +1,68), enquanto que na Figura 2(b), está apresentado o efeito do tempo de cultivo e o tempo de contato (quando a quantidade de etanol foi fixada no nível -1,68). Já na Figura 2 (C) está apresentado o efeito do tempo de cultivo e a quantidade de etanol (quando o tempo de contato foi fixado no nível +1,68), evidenciando que pode-se obter rendimentos acima de 35 g L⁻¹.

Figura 2- Superfícies de resposta das variáveis estudadas e respostas previstas pelos modelos para recuperação de goma xantana

- (a) Superfície de resposta da quantidade de etanol *versus* tempo de contato em etanol,
 (b) Superfície de resposta do tempo de contato em etanol *versus* tempo de fermentação,
 (c) Superfície de resposta da proporção de etanol *versus* tempo de fermentação.





Conforme as superfícies de respostas e os coeficientes do modelo foi observado que as variáveis que mais exerceram influência na obtenção de goma xantana foram: quantidade de etanol e tempo de cultivo (lineares), tempo de contato com etanol e tempo de cultivo (quadráticos) e a interação quantidade de etanol e tempo de contato com etanol (lineares) que obtiveram resultados significativos.

A variável quantidade de etanol (linear) afetou negativamente o rendimento de xantana quando empregada em nível superior. As variáveis quantidade de etanol e tempo de contato com etanol (lineares) em interação, quando empregadas simultaneamente nos níveis superiores, também reduziram o rendimento.

Já as variáveis tempo de cultivo (linear), tempo de cultivo (quadrática) e tempo de contato com etanol (quadrática) resultaram um aumento no rendimento de xantana quando passados do nível inferior para superior, sendo que os maiores rendimentos foram dos efeitos tempo de cultivo (linear) seguidos por tempo de cultivo (quadrático) e tempo de contato em etanol (quadrático).

Através do modelo matemático foi possível observar que a melhor condição para obtenção do máximo rendimento ocorreu quando é empregado 10 mL (-1,68) de etanol, 24 h (+1,68) de tempo de contato em etanol (24 h) e tempo de cultivo de 72 h (+1,68).

Segundo o modelo, o emprego destas condições pode resultar no valor predito de 35 a 40 g L⁻¹. Estas condições foram executadas experimentalmente onde foi observado o rendimento de 56,55 ± 2,36 g L⁻¹. Tal variação pode ser explicada pela leve falta de ajuste do modelo. Ainda assim, o modelo permitiu obter elevado rendimento.

Os isolados de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*, proveniente dos pessegueiros da cidade de Pelotas – RS, possuem um histórico de alta produtividade de goma xantana, com valores já relatados de 21,4 g L⁻¹, o que demonstra um grande potencial de produção e para aplicação industrial (ANTUNES, 2003; BORGES, 2007). Porém, até presente momento, não há estudos de otimização de variáveis (quantidade de solvente para recuperação, tempo de contato com solvente e tempo de cultivo) utilizando este patovar, o que torna os resultados deste estudo muito importante para processo de *downstream*.

Em estudos futuros sugere-se a aplicação da variação de quantidade de outros solventes para precipitação da goma, assim como a temperatura do álcool para precipitação da mesma.

4. CONCLUSÃO

A utilização do planejamento multivariado foi muito importante para avaliar variáveis do processo de recuperação de goma xantana, do qual não há registro de estudo de otimização na literatura. Os resultados obtidos neste estudo indicam que a otimização dos parâmetros do processo de recuperação quantidade de etanol (mL) para 10 mL de caldo fermentado, tempo de contato do caldo com etanol e do tempo de cultivo para obter xantana por *Xanthomonas*

arboricola pv *pruni* isolado 66 foram de 10 mL (-1,68), 24 h (+1,68) e 72 h (+1,68), respectivamente, para obter resultando de produção média de $56,55 \pm 2,36 \text{ g L}^{-1}$ de goma.

5. Financiamento

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

6. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. A. C. I; RIBEIRO, C. F. A.; TOBINAGALL, I; GOMES, J. Optimization of the osmotic drying process to obtain dry products of Tommy Atkins mango. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, v.9 n.4, 2005.

ANTUNES, A. E. C.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L.; VENDRUSCOLO, C. T. Screening of *Xanthomonas campestris* pv *pruni* strains according to their production of xanthan and its viscosity and chemical composition. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 317-322, 2003.

BORGES, C. D.; VENDRUSCOLO, C. T. Xanthan synthesized by strains of *Xanthomonas campestris* pv *pruni*: production, viscosity and chemical composition. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 4, p. 67-73, 2007.

BRUNCHI, C. E.; MORARIU, S.; Strategies to improve the xanthan properties for specific applications. In: **Smart Materials Integrated design, engineering approaches and potencial applications**, Editora Anca Filimon, Capítulo 3, 2019.

BUENO, V.B.; & PETRI, D.F.S. Xanthan hydrogel films: Molecular conformation, charge density and protein carriers. **Carbohydrate Polymers** v. 101. p. 897-904, 2014.

CAMPOS JUNIOR, F. A. S.; PETRARCA, M. H.; MEINHART, A. D.; JESUS FILHO, M.; GODOY, H. T. Multivariate optimization of extraction and validation of phenolic acids in edible mushrooms by capillary electrophoresis. **Food Research International**, v. 126, 2019.

DONOT, F.; FONTANA, A.; BACCOU, J.C.; SCHORR-GALINDO, S. Microbial exopolysaccharides: main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 951–962, 2012.

ERTEN, T.; ADAMS, G.G.; FOSTER, T.J.; & HARDING, S.E. Comparative heterogeneity, molecular weights and viscosities of xanthans of different pyruvate and acetate content. **Food Hydrocolloids**, 42(3), p. 335- 341. 2014.

FREITAS, F.; ALVES, V.D.; REIS, M.A.M. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. **Trends in Biotechnology**, v. 29, n. 8, p. 388-398, 2011.

HABIBI, H.; & KHOSRAVI-DARANI, K. Effective variables on production and structure of xanthan gum and its food applications: A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 10, p. 130–140. 2017.

HAYNES, W. C.; WICKERHAM, L. J.; HESSELTINE, C. W. Maintenance of cultures of industrially important microorganisms. **Applied Microbiology**, v. 3, n. 6, p.361 - 368, 1955.

KLAIC, P. M. A.; VENDRUSCOLO, C. T.; FURLAN, L.; MOREIRA, A. S. Ion exchange as post-fermentative process enhancer of viscosity of xanthan produced by *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*. **Food Hydrocolloids** , v. 56, p. 118-126, 2016.

OLIVEIRA, P. D.; BORGES, C. D.; MICHEL, R. C.; LOMBA, R. F. T.; VENDRUSCOLO, C. T. Avaliação comparativa das propriedades de xantanas produzidas pelo patovar *pruni* e clairana com xantana comercial para predição de uso. **Polímeros**, v. 23, n. 3, p. 417- 424, 2013.

PAN, A., MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, C.T. Efeito da concentração inicial do inóculo no crescimento celular e qualidade de biopolímeros de *Xantomonas campestris* pv. *pruni* cepa 06. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 6, n. 3, p. 273 -277, 2000.

PREICHARDT, L.D.; KLAIC, P. M. A. **Xanthan gum application in food**. In: BUTLER, M. Xanthan gum appications and research studies. New York: Nova Science Publisher's. Inc. **1**. p. 1-32, 2016.

SOUZA, A. 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.

TRINDADE, R. A.; MUNHOZ, A. P.; BURKERT, C. A. V. Raw glycerol as an alternative carbon source for cultivation of exopolysaccharide-producing bacteria. **Journal of Applied Biotechnology**, v. 3, n. 2, 2015.

TRINDADE, R. A.; MUNHOZ, A. P.; BURKERT, C. A. V. Impact of a carbon source and stress conditions on some properties of xanthan gum produced by *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*, **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 15, p. 167–172, 2018.

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.

VENDRUSCOLO, C. T.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. S. **Processo de produção de biopolímero tipo xantana, biopolímero obtido, seus usos, meio de cultura para crescimento de *Xanthomonas* e uso da mesma para produção de biopolímero**. Ano: 2004, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: PI 0406309-0, título “Processo de produção de biopolímero tipo xantana, biopolímero obtido, seus usos, meio de cultura para crescimento de *Xanthomonas* e uso da mesma para produção de biopolímero”; Instituição de registro: Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI); Depositante: Universidade Federal de Pelotas; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Clima Temperado; Depósito: 05/11/2004, Concessão: 25/07/2017; Instituição financiadora: Universidade Federal de Pelotas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No artigo 1, todos os isolados de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* provenientes dos pessegueiros da cidade de Pelotas-RS possuem um grande potencial de produção de xantana em comparação com o micro-organismo *Xanthomonas campestris* NRRL B – 1459 que é utilizado industrialmente. Valores de concentração de goma xantana em meio A variaram de $4,54 \pm 0,44 \text{ g L}^{-1}$ a $17,68 \pm 2,14 \text{ g L}^{-1}$ e em meio B de $8,12 \pm 1,17 \text{ g L}^{-1}$ a $26,02 \pm 0,18 \text{ g L}^{-1}$. Já os valores de piruvato variaram de $0,33 \pm 0,09\%$ a $2,91 \pm 0,49\%$ em meio A e $0,37 \pm 0,09\%$ a $6,74 \pm 0,63\%$ em meio B, enquanto que os valores de acetil variaram de $0,30 \pm 0,2 \%$ a $3,11 \pm 0,10\%$ em meio A e em meio B de $0,33 \pm 0,06\%$ a $3,31 \pm 0,05\%$. O perfil de viscosidade das xantanas em solução aquosa demonstrou um comportamento de fluido não newtoniano, pseudoplástico, o que é característico para este tipo de goma.

Já no artigo 2, a utilização do planejamento multivariado foi muito importante para avaliar variáveis do processo de recuperação de goma xantana, do qual não há registro de estudo de otimização na literatura. Os resultados obtidos neste estudo indicam que a otimização dos parâmetros do processo de recuperação quantidade de etanol (mL) para 10 mL de caldo, tempo de contato do caldo com etanol e do tempo de cultivo para obter xantana por *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* isolado 66 foram de 10 mL (-1,68), 24 h (+1,68) e 72 h (+1,68) respectivamente, para obter resultando de produção média de $56,55 \pm 2,36 \text{ g L}^{-1}$ de goma.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acessado em 27 out. 2019. Online. Disponível em: <http://ensaio.org/determinaco-do-peso-molecular-da-goma-xantana-utilizando-mtodo.html>

ALMEIDA, M. S. **AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE GOMA XANTANA SINTETIZADA A PARTIR DE RESÍDUOS AQUÍCOLAS E DE GLICEROL COMO FONTE DE CARBONO.** Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) Universidade Tiradentes, Aracaju, 2010.

ALMEIDA, I. M. G.; RODRIGUES, L. M. R., BERIAM, L. O. S. *Xanthomonas fuscans* subsp. *fuscans* causing wilt symptoms in bean plants (*Phaseolus vulgaris*) in Brazil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.XX, n.X, p. 1-3, 2014

ANTUNES, A.E.C.; MOREIRA, A.S.; VENDRUSCOLO, J.L.S. & VENDRUSCOLO, C.T. Síntese de biopolímero xantana em meios convencionais e alternativos: viscosidade x composição. **Revista Brasileira de Agrociência**, 6(2). p. 83-87, 2000.

ANTUNES, A.E.C., MOREIRA, A.S., VENDRUSCOLO, J.L.S. & VENDRUSCOLO, C.T. Screening of *Xanthomonas campestris* pv *pruni* strains according to their production of xanthan

and its viscosity and chemical composition. **Brazilian Journal of Food Technology**, 6(2). p. 317-322. 2003.

BONINI, M.; RODRIGUES NETO, J.; MARINGONI, A.C. Produção e sensibilidade de isolados brasileiros de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* à bacteriocinas. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 3, p. 232-234, 2012.

BORGES, C. D.; VENDRUSCOLO, C. T. Xanthan synthesized by strains of *Xanthomonas campestris* pv *pruni*: production, viscosity and chemical composition. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 4, p. 67-73, 2007.

BORGES, C.D., PAULA, R.C.M., FEITOSA, J.P.A. & VENDRUSCOLO, C.T. The influence of thermal treatment and operational conditions on xanthan produced by *X. arboricola* pv. *pruni* strain 106. **Carbohydrate Polymers**. 75. p. 262-268. 2009.

BOROWSKI, J. M. **Influência de métodos clássicos e alternativos de preservação de cepas de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* na produção, viscosidade e composição química da xantana**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2011.

BRUNCHI, C. E.; MORARIU, S. Strategies to improve the xanthan properties for specific applications. In: **Smart Materials Integrated design, engineering approaches and potencial applications**, Editora Anca Filimon, Capítulo 3, 2019

BUENO, V.B.; & PETRI, D.F.S. Xanthan hydrogel films: Molecular conformation, charge density and protein carriers. **Carbohydrate Polymers**, v. 101. p. 897-904, 2014.

CASAS, J.; SANTOS, V.; GARCIA-OCHOA, F. Xanthan gum production under several operational conditions: molecular structure and rheological properties. **Enzyme Microb. Tech.** 26(2):282-291, 2000.

CIVEROLO, E.L.; SWINGS, J.G. **Xanthomonas**. Chapman & Hall, London. 1993

COMEXSTAT, Portal para acesso gratuito às estatísticas de comércio exterior do Brasil, Acessado em 27 out. 2019. Online. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/home>

DAVIDSON, I. H.; Production of polysaccharide by *Xanthomonas campestris* in continuous culture. **FEMS Microbiology Letters**, v. 3, p. 347 – 349, 1978.

DIAZ, P. (2002). **Influência de parâmetros físicos e químicos e da adição de íons no comportamento reológico de gomas xantana**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

DONOT, F.; FONTANA, A.; BACCOU, J.C.; SCHORR-GALINDO, S. Microbial exopolysaccharides: main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 951–962, 2012.

EL ENSHASY, H.; THEN, C.; OTHMAN, N.; AL HOMOSANY, H.; SABRY, M.; SARMIDI, M. R.; AZIZ, R. Enhanced xanthan production process in shake flasks and pilot scale bioreactors using industrial semidefined medium. **Afr. J. Biotechnol.** 10(6):1029-1038. 2013.

ESGALHADO, M. E., ROSEIRO, J. C., COLLAÇO, M. A. Interactive effects of pH and temperature on cell growth and polymer production by *Xanthomonas campestris*. **Process Biochemistry**, v. 30, n. 7, p.667-671,1995.

ERTEN, T.; ADAMS, G.G.; FOSTER, T.J.; & HARDING, S.E. Comparative heterogeneity, molecular weights and viscosities of xanthans of different pyruvate and acetate content. **Food Hydrocolloids**, v. 42, n. 3, p. 335- 341. 2014.

EUROPA. Blackwell Publishing Ltd European and Mediterranean Plant Protection Organization. *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. **Bulletin OEPP/EPPO** Bulletin 36, 129–133, 2005.

FARHADI, G. B.; KHOSRAVI-DARANI, K.; NASERNEJAD, B. Enhancement of xanthan production on date extract using response surface methodology. **Asian J. Chem.** v. 24, n. 9, p. 0000-0000, 2012.

FARIA, S.; VIEIRA, P.; RESENDE, M.; FRANÇA, F.; CARDOSO, V. A comparison between shaker and bioreactor performance based on the kinetic parameters of xanthan gum production. **Appl. Biochem. Biotech.** v. 156(1-3), p. 45-58, 2009.

FONSECA, C. F.; MARQUES, A. S. A. *Xilophilus ampelinus*: bactéria quarentenária com risco para a cultura da videira no Brasil. **Comunicado Técnico Embapa**, ISSN 9192-0099, Brasília, DF, 2005.

FREITAS, F.; ALVES, V.D.; REIS, M.A.M. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. **Trends in Biotechnology**, v. 29, n. 8, p. 388-398, 2011.

GARCÍA-OCHOA, F., SANTOS, V., FRITSCH, A. Nutritional study of *Xanthomonas campestris* in xanthan gum production by factorial design of experiments. **Enzyme Microb. Tech.** 14(12):991-996. (1992).

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 7, p. 549-579, 2000.

GARRIDO, L. R.; SÔNEGO, O. R. Sistema de Produção de Pêssego de Mesa na Região da Serra Gaúcha. Embrapa Uva e Vinho, **Sistema de Produção**, 3 ISSN 1678-8761 Versão Eletrônica Jan/2003.

GARRIDO, L. R. Manejo das doenças das prunoides (ameixa, nectarina e pêssego). **Circular Técnica 134 Embrapa**. Bento Gonçalves, RS Dezembro, 2016

GHASHGHAEE, T.; SOUDI, M. R.; HOSEINKHANI, S. Optimization of xanthan gum production from grape juice concentrate using Plackett-Burman design and response surface methodology. **Appl. Food Biotechnol.** 3(1):15-23. 2016.

GILANI, S.; NAJAFPOUR, G.; HEYDARZADEH, H.; ZARE, H. Kinetic models for xanthan gum production using *Xanthomonas campestris* from molasses. **Chem. Ind. Chem. Eng. Q.** 17(2):179-187. 2011.

GOMES, G. V. P. (2014). **Produção simultânea de goma xantana e microfibrilas de celulose pela bioconversão de bagaço de cana por *Xanthomonas***. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal da Bahia.

HABIBI, H.; & KHOSRAVI-DARANI, K. Effective variables on production and structure of xanthan gum and its food applications: A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 10, p. 130–140, 2017.

JÚNIOR, I. T. S.; SANTOS, M, O. S.; OLIVEIRA, A. M. R.; MORAES, M. G. Caracterização de isolados de *Xanthomonas* sp. associados a sementes de arroz e diferenciação de estirpes de *Xanthomonas oryzae*. **Ciência Rural**, v. 45, n. 12, p. 2099-2105, 2015

KALOGIANNIS, S.; IAKOVIDOU, G.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M.; KYRIAKIDIS, D. A.; SKARACIS, G. N. Optimization of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* grown in molasses. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 2, p. 249-256, 2003.

KATZBAUER, B. Properties and applications of xanthan gum. *Polymer Degradation and Stability*, v. 59, p. 81-84, 1998.

KLAIC, P.M.A. (2010). **Desenvolvimento de método de digestão ácida para determinação de sais em xantana e potencialização reológica de xantana de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* por troca iônica**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

KLAIC, P.M.A. (2016). **Parâmetros reológicos e resistência térmica de xantana de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*: potencialização por desacetilação, reticulação e troca iônica**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

KOOL, M.M.; SCHOLS, H.A.; DELAHAIJE, R.J.B.M.; SWORN, G.; WIERENGA, P.A.; GRUPPEN, H. The influence of the primary and secondary xanthan structure on the enzymatic hydrolysis of the xanthan backbone. **Carbohydrate Polymers**, v. 97, n.2, p. 368-375. 2013.

KURBANOGLU, E. B.; KURBANOGLU, N. I. Ram horn hydrolysate as enhancer of xanthan production in batch culture of *Xanthomonas campestris* EBK-4 isolate. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 7, p. 1146-1149, 2007.

KNOWLTON, J. L.; PEARCE, S. E. M. **Handbook of Cosmetic Science & Technology**, 1st ed.; Elsevier Advanced Technology: Amsterdam, Netherlands, ; p 20. 1993

LEELA, J. K.; SHARMA, G. Studies on xanthan production from *Xanthomonas campestris*. **Bioprocess Eng.** 23(6):687-689. 2000.

LI, P.; LI, T.; ZENG, Y.; LI, X.; JIANG, X.; WANG, Y.; ZHANG, Y. Biosynthesis of

xanthan gum by *Xanthomonas campestris* LRELP-1 using kitchen waste as the sole substrate. **Carbohydr. Polym.** 151:684-691. 2016.

LOPEZ, M.; MORENO, J.; RAMOS-CORMENZANA, A. *Xanthomonas campestris* strain selection for xanthan production from olive mill wastewaters. **Water Res.** 35(7):1828-1830, 2001.

LUVIELMO, M. M.; SCAMPARINI, A. R. P. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos Tecnológicos**, v. 5, n. 1, p. 50 – 67, 2009.

MARCUZZO, L. L.; Aspectos epidemiológicos de sobrevivência e de ambiente no gênero *Xanthomonas*. **Ágora: R. Divulg. Cient.**, ISSN 2237-9010, Mafra, v. 16, n. 1, 2009

MESOMO, M. C.; **Produção de goma xantana em biorreator utilizando meio a base de soro de queijo.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai, Erechim, RS, 2007.

MESOMO, M.; SILVA, M. F.; BONI, G.; PADILHA, F. F.; MAZUTTI, M.; MOSSI, A.; TREICHEL, H. Xanthan gum produced by *Xanthomonas campestris* from cheese whey: production optimisation and rheological characterisation. **J. Sci. Food Agr.** 89(14):2440-2445, 2009.

MIRIK, M.; DEMIRCI, A. S.; GUMUS, T.; ARICI, M. Xanthan gum production under different operational conditions by *Xanthomonas axonopodis* pv *vesicatoria* isolated from pepper plant. **Food Sci. Biotechnol.** 20(5):1243-1247. (2011).

MOLON, B. O.; **Caracterização durante o tempo de armazenamento da xantana sintetizada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* modificada quimicamente por desacetilação e reticulação.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

MONTEIRO, L.; **Produção de substâncias bioativas de bacillus spp. contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Pernambuco. 2002.

MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; GILTUNES, C.; VENDRUSCOLO, C. T. Screening among 18 novel strains of *Xanthomonas campestris* pv *pruni*. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 4-6, p. 469-474, 2001.

MOREIRA, A.S. **Produção, caracterização e aplicação de biopolímero sintetizado por cepas de *Xanthomonas campestris* pv *pruni***. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Centro de Biotecnologia, UFPel. 2002.

MOSHAF, S.; HAMIDI-ESFAHANI, Z.; AZIZI, M. Statistical optimization of xanthan gum production and influence of airflow rates in lab-scale fermentor. **Appl. Food Biotechnol.**, 2014, 1(1): 17-24, 2015.

MULATI, J. C.; **CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Xanthomonas axonopodis* pv. citri OBTIDAS DE CULTIVARES DE CITROS DA REGIÃO NOROESTE DO ESTADO DO PARANÁ**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual de Maringá, Paraná, 2004.

MURUGESAN, A.; DHEVAHI, B.; GOWDHAMAN, D.; BALA, A.; SATHESH, P. Production of xanthan employing *Xanthomonas campestris* using sugarcane molasses. **Am. J. Environ. Eng.** 2(2):31-34. 2012.

MUSTAFE, O. K. **Diferentes parâmetros de produção e extração de goma xantana pela fermentação de *Xanthomonas campestris* pv *campestris***. Dissertação (Mestrado em Biologia) Universidade Estadual Paulista Julio Mesquita Filho, Rio Claro, 2009.

NIKNEZHAD, S. V.; ASADOLLAHI, M. A.; ZAMANI, A.; BIRIA, D.; DOOSTMOHAMMADI, M. Optimization of xanthan gum production using cheese whey and response surface methodology. **Food Sci. Biotechnol.** 24(2):453-460. 2015.

PINTO, E.P. **Desacetilação de xantana: influência no comportamento reológico**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2005.

PREICHARDT, L.D. **Aplicação de xantana comercial e xantana sintetizada por *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* em bolos sem glúten**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2009.

PREICHARDT, L.D.; KLAIC, P.M.A.. **Xanthan Gum Application in Food**. In: BUTLER, M. Xanthan Gum Applications and Research Studies. New York Nova Science Publisher's. Inc. 1. p. 1-32. 2016.

PSOMAS, S.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M.; KYRIAKIDIS, D. Optimization study of xanthan gum production using response surface methodology. **Biochem. Eng. J.** 35(3):273-280. 2007.

OLIVEIRA, P. D.; BORGES, C. D.; MICHEL, R. C.; LOMBA, R. F. T.; VENDRUSCOLO, C. T. Avaliação comparativa das propriedades de xantanas produzidas pelo patovar *pruni* e clairana com xantana Ccomercial para predição de uso. **Polímeros**, v. 23, n. 3, p. 417- 424, 2013.

PACE, Garyw. **Polímeros microbianos**. In: BU'LOOCK, John; KRISTIANSEN, Bjorn. Biotecnologia Básica. Traducción: Paloma Liras Padín. Zaragoza: Acribia, p. 449-462, 1991

PETERS, H.-U.; HERBST, H.; HESSELINK, P. G.; LÜNSDORF, H.; SCHUMPE, A.; DECKWER, W.-D. The influence of agitation rate on xanthan production by *Xanthomonas campestris*. **Biotechnol. Bioeng.** 34(11):1393-1397, 1989.

RENOU, F.; PETIBON, O.; MALHIAC, C.; & GRISEL, M. Effect of xanthan structure on its interaction with locust bean gum: Toward prediction of rheological properties. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 2, p. 331340. 2013.

RICHARDSON, R.K.; ROSS-MURPHY, S.B. Non-linear viscoelasticity of polysaccharide solutions. 2: Xanthan polysaccharide solutions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 9, p. 257-264. 1987.

RODRIGUES, A.A. **Avaliação da genotoxicidade e caracterização de xantana produzida por *Xanthomonas arboricola* pv *pruni***. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2010.

ROTTAVA, I. **Seleção de linhagens de *Xanthomonas* sp. para produção de goma xantana**. Dissertação (Mestrado Engenharia de Alimentos). Universidade Regional Integrada – URI, Erechim, 2005.

ROSALAM, S.; ENGLAND, R. Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas campestris* sp. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, n. 2, p. 197-207, 2006.

SAHU, Y. Allied Market Research. Xanthan Gum Market by Application (Food & Beverages, Medical, Personal Care & Cosmetics, Oil & Gas, and Others) and Function (Thickening Agent, Stabilizing Agent, Suspending Agent, Fat Replacer, and Others): Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2017-2023. Mai. 2017. Acessado em 27 out. 2019. Online. Disponível em: <https://www.alliedmarketresearch.com/xanthan-gum-market>

SALAH, R. B.; CHAARI, K.; BESBES, S.; BLECKER, C.; ATTIA, H. Production of xanthan gum from *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 by fermentation of date juice palm by products (Phoenix Dactylifera L.). **J. Food Process Eng.** 34(2):457-474. 2011.

SALAH, R. B.; CHAARI, K.; BESBES, S.; KTARI, N.; BLECKER, C.; DEROANNE, C.; ATTIA, H. Optimisation of xanthan gum production by palm date (*Phoenix dactylifera* L.) juice by-products using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 121, n. 2, p. 627-633. 2010.

SANTOS, L. A.; BANDEIRA, D. A.; SILVA, J P.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A.; MARIANO, R. L. R. Caracterização de isolados de *Xanthomonas campestris* pv *campestris* de sistemas de produção orgânico e reação de brássicas à podridão-negra. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 486-491, 2008.

SILVA, M. F.; FORNARI, R. C.; MAZUTTI, M. A.; OLIVEIRA, D.; PADILHA, F. F.; CICHOSKI, A. J.; TREICHEL, H. Production and characterization of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. **J. Food Eng.** 90(1):119-123. 2009.

SHATWELL, K. P.; SUTHERLAND, I.W.; DEA, I.C.M.; & ROSS-MURPHY, S. B. The influence of acetyl and pyruvate substituents on the helix– coil transition behavior of xanthan. **Carbohydrate Research**, v. 206, n. 1, p. 87-103, 1990.

SOUZA, A. 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.

SOUW, P.; DEMAIN, A. L.; Nutritional studies on xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B1459. **Appl Environ. Microbiol.** v. 37, p. 1186-1192, 1979.

TAGLIARI, M.; **Influência de diferentes hidrocolóides no comportamento reológico de bebidas lácteas não fermentadas.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos) Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2011.

TEBALDI, N.D.; VIOLATTI, M.R. Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* em sementes de soja. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 3, p. 268-270, 2016.

TRINDADE, R, A. **Produção de exopolissacarídeos bacterianos a partir de glicerol residual gerado na síntese de biodiesel.** 2014. 68 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal de Rio Grande (FURG), Rio Grande, 2014.

TRINDADE, R. A.; MUNHOZ, A. P.; BURKERT, C. A. V.; Raw glycerol as an alternative carbon source for cultivation of exopolysaccharide-producing bacteria. **Journal of Applied Biotechnology**, v. 3, n. 2, 2015.

TRINDADE, R. A.; MUNHOZ, A. P.; BURKERT, C. A. V. Impact of a carbon source and stress conditions on some properties of xanthan gum produced by *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*, **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 15, p. 167–172, 2018

TESSMANN, C. **Caracterização molecular de *Xanthomonas campestris* pv *pruni* pela técnica de RAPD e relação com a planta hospedeira e com a produção, viscosidade e composição química da xantana.** 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2002.

UMASHANKAR, H.; ANNADURAI, G.; CHELLAPANDIAN, M.; KRISHNAN, M. Influence of nutrients on cell growth and xanthan production by *Xanthomonas campestris*. **Bioprocess Eng.** 14(6):307-309, 1996.

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.

VENDRUSCOLO, C. T.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Clima. **Process for preparing a xanthan biopolymer**. International Patent WO/2006/047845, 2006.

YARIPOUR Z.; TAGHAVI, S. M.; OSDAGHI, E.; LAMICHHANE, J. R. Host range and phylogenetic analysis of *Xanthomonas alfalfae* causing bacterial leaf spot of alfalfa in Iran. **Eur J Plant Pathol**, 2017.

Zavaglia, A. C.; Urashima, A. S. Comparação de dois métodos diagnósticos de escaldadura-das-folhas (*Xanthomonas albilineans*) da cana-de-açúcar. **Summa Phytopathol.**, v. 38, n. 2, p. 155-158, 2012