

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE GOMA XANTANA
SINTETIZADA A PARTIR DE RESÍDUOS AQUÍCOLAS E
DE GLICEROL COMO FONTE DE CARBONO**

MAYRA SANTOS ALMEIDA

ARACAJU

Julho – 2010

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE GOMA XANTANA
SINTETIZADA A PARTIR DE RESÍDUOS AQUÍCOLAS E
DE GLICEROL COMO FONTE DE CARBONO**

Dissertação submetida à banca
examinadora como parte dos
requisitos para a obtenção do título
de Mestre em Saúde e Ambiente, na
área de concentração em Saúde e
Ambiente.

MAYRA SANTOS ALMEIDA

Orientadoras: Francine Padilha, D.Sc.

Juliana Cordeiro Cardoso, D.Sc.

ARACAJU

Julho – 2010

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me abençoado sempre.

Aos meus pais, Sodré e Helenita e aos meus irmãos pelo apoio e incentivo.

Ao meu esposo André pela paciência, compreensão, apoio e insistência nas horas de cansaço.

A minha filha Luara pela compreensão.

As amigas, Edilene, Cleide, Lindaura e Luanda, pela força e perseverança que me estimulou a continuar a caminhada.

Ao pessoal do Instituto de Tecnologia e Pesquisa pela contribui o na constru o deste trabalho.

 s minhas orientadoras Francine e Juliana pela dedica o, confiança, incentivo, persistência, ensino e ajuda, sem ela nada seria possível.

Ao Professor Ricardo Luiz Cavalcante de Albuquerque pelas palavras de conforto e apoio nos momentos mais difíceis desta jornada.

Em especial Yzila, Elisiane e Luiz pela participa o fundamental na constru o e desenvolvimento desse trabalho.

Sumário

LISTA DE TABELAS	6
LISTA DE FIGURAS	7
RESUMO	8
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO.....	10
CAPÍTULO 1 – REVISÃO DA LITERATURA	13
1.1. Resíduos Urbanos e Industriais e os Impactos Ambientais.....	14
1.1.1. Alternativa de Uso dos Resíduos.....	15
1.2. Polímeros Biológicos.....	17
1.3 Goma Xantana	19
1.3.1. Xanthomonas, a bactéria sintetizadora da goma xantana	19
1.3.2. Produção de Goma Xantana	22
1.3.3. Caracterização da Goma Xantana.....	26
1.4. Aplicação da Goma	32
1.5. Referências	37
DAWES, W.; SUTHERLAND, W. Microbial Physiology Book Description. Blackwell Science. 2nd Edition, p. 394, 1992.	38
CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA A PARTIR DE RESÍDUOS DA OSTRÁ E DO CARANGUEJO.....	44
2.1. Introduction	46
2.2. Materials and methods.....	47
2.2.1. Materials	47
2.3. Results and discussion.....	49
2.4. Conclusion.....	55
2.5. References	56

CAPÍTULO 3 – CARACTERIZAÇÃO DE GOMA XANTANA PRODUZIDA COM GLICEROL	59
3.1. Introduction	61
3.2. Materials and Methods	62
3.2.1. Microorganism, Fermentation and Biopolymer recovery	62
3.2.2. Rheological measurements	63
3.2.3. Thermal analysis.....	63
3.2.4. FTIR analysis.....	64
3.3. Results and discussion.....	64
3.3.1. Xanthan gum production	64
3.3.2. Viscosity Measurements.....	65
3.3.3. Thermal analysis.....	66
3.3.4. Infrared Analysis	67
3.4. Conclusions	68
3.5. References	69
4. CONCLUSÃO.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais polímeros usados	18
Tabela 2.1 - Production of Xanthan Gum with the strain of <i>Xanthomonas campestris</i> 629...	49
Tabela 3.1 - Productivity of xanthan gum in conventional (XS) and alternative medium (XGS).....	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> - cultivada em meio NSCAA, A2 - mesmo meio com adição de lugol.....	22
Figura 2 – Biosíntesis de goma xantana	23
Figura 3 - Produção de diferentes cepas da bactéria <i>X. axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>	24
Figura 4 - Estrutura química genérica da xantana. (a) unidade de glicose não substituída, (b) glicose substituída, (c) manose interna com substituinte acetil, (d) ácido glucurônico, (e) manose externa com substituição pelo piruvato	26
Figura 5 - Classificação do comportamento reológico de diferentes tipos de suspensões	29
Figura 6 - Modelo de placas paralelas usada por Newton para explicar a viscosidade de líquidos	29
Figura 2.1- Apparent viscosity of xanthan gum obtained from aquaculture	52
Figura 2.2 - Differential Scanning Calorimetry of samples of xanthan gum.....	54
Figura 2.3- Thermal gravimetric analysis of xanthan gum samples obtained from (A) sucrose, (B) oyster and (C) crab.....	55
Figura 3.1- Apparent viscosity of the aqueous dispersion at 3% of the xanthan.....	65
Figura 3.2- DTA (a) and TG (b) curves of XS and XGS in dynamic nitrogen (50 mL.min ⁻¹).67	
Figura 3.3- Infrared spectroscopy (FTIR) of XGS and XS.....	71

RESUMO

AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE GOMA XANTANA SINTETIZADA A PARTIR DE RESÍDUOS AQUÍCOLAS E DE GLICEROL COMO FONTE DE CARBONO

Mayra Santos Almeida

Polímeros biológicos são usados por vários setores industriais no mundo. Dentre estes, a goma xantana produzida através da via fermentativa pela bactéria *Xanthomonas* tem sido um dos mais explorados pelas indústrias de alimentos, farmacêuticas e petrolíferas. As propriedades reológicas da xantana e a capacidade de produzir soluções viscosas em baixas concentrações, aliadas a outras características de interesse do setor produtivo, como estabilidade em altas temperaturas, propriedade pseudoplástica, entre outras, fazem com que a goma seja almejada nestas e em muitas áreas tecnológicas. No Brasil, alguns estados do Nordeste possuem vantagens para a implantação deste tipo de processo, visto que são grandes produtores de sacarose e álcool que são insumos para a produção e recuperação da goma. Visando o desenvolvimento regional, o objetivo deste trabalho foi avaliar a goma obtida a partir de diferentes resíduos aquícolas e de glicerol através da produtividade, viscosidade aparente (avaliada em solução aquosa a 3% dos polímeros) e análise térmica. As 2 linhagens de *Xanthomonas* sp estudadas foram mantidas em meio Agar Yest Malt (YM). O meio de fermentação foi constituído de (g.L⁻¹): NH₄H₂PO₄ – 2,5; K₂HPO₄ – 5,0; H₃BO₃ – 0,006; (NH₄)₂SO₄ – 2,0; FeCl₃ – 0,0024; CaCl₂.2H₂O – 0,002; ZnSO₄ – 0,002; fonte de carbono – 50,0, pH 7.0. As fontes de carbono investigadas foram: caranguejo, ostra, glicerol e sacarose. O inoculo (14 mL) foi adicionado no meio de fermentação (86 mL) e incubado a 28°C sobre agitação por 96 h. Posteriormente, o caldo foi centrifugado e o polímero precipitado com etanol, e seco em estufa por 24 h. Os experimentos foram realizados em triplicata. Os resultados obtidos comprovaram a possibilidade de produzir xantana utilizando os resíduos propostos. A produção com resíduos aquícolas foi superior à sacarose, bem como a viscosidade. O glicerol obteve rendimento inferior em relação à sacarose.

Palavras-chaves: xantana, resíduo industrial, *Xanthomonas*

ABSTRACT

EVALUATION AND CHARACTERIZATION OF GUM XANTANA SYNTHESIZED FROM RESIDUES AQUÍCOLAS AND OF GLICEROL AS CARBON SOURCE

Mayra Santos Almeida

Biological polymers are used for some industrial sectors in the world. Amongst these, xanthan gum produced through the fermentative way by *Xanthomonas* bacterium has been one of the most explored by food, pharmaceutical and petroliferous industries. The unique rheological properties of the xanthan gum and the capacity to produce viscous solutions in low concentrations, together with other characteristics like stability in high temperatures, pseudoplastic property, among others, make it desired in many technological areas. In Brazil, some states in the Northeastern region possess advantages for the implantation of this type of process, since they are great producers of sucrose and alcohol that are raw materials for the production and recovery of the gum. Aiming the regional development, the objective of this work was to evaluate the gum obtained from different industrial residues through the productivity, apparent viscosity (evaluated in aqueous solution 3% of polymers) and thermal analysis. The 2 strains of *Xanthomonas* sp studied were kept in Agar Yest Malt (YM). The medium of fermentation was constituted of (g.L⁻¹): NH₄H₂PO₄ - 2,5; K₂HPO₄ - 5,0; H₃BO₃ - 0,006; (NH₄)₂SO₄ - 2,0; FeCl₃ - 0,0024; CaCl₂.2H₂O - 0,002; ZnSO₄ - 0,002; carbon source - 50,0, pH 7.0. The investigated carbon sources were: crab, oyster, glycerol, sucrose. The inoculum (14 mL) was added in the medium of fermentation (86 mL) and incubated at 28°C at 200 rpm for 96 h. Later, the broth was centrifugated and the polymer precipitated with ethanol (1: 3) and dried at 45°C for 24 h. The experiments were performed in triplicate. The obtained results have proven the possibility to produce xanthan gum using all the residues considered in this study. The production with aqueous residues was higher than with sucrose, as well as the viscosity. Glycerol substrate has a minor yield compared to sucrose.

Keywords: xanthan, industrial residue, *Xanthomonas*

INTRODUÇÃO

Os resíduos urbanos e industriais são considerados um problema de saúde pública. Com o crescimento demográfico da população e dos processos industriais houve aumento significativo na produção e diversidade dos resíduos. A preocupação com a destinação final inadequada destes é um fator impactante para saúde humana e o meio ambiente. Os lixões, localizados em terrenos abertos, são os locais onde estes resíduos são comumente descartados sem nenhuma segregação, contamina o solo, conseqüentemente lençóis freáticos, pessoas e animais da região em que estão dispostos.

A disposição final destes resíduos em aterros sanitários ou através do tratamento pelo método da incineração, não representa garantia satisfatória à saúde da população. Além disso, a emissão de gases oriundos das cinzas da incineração pode ocasionar problemas respiratórios para o homem e tóxicos o ambiente. Neste contexto, o estudo de como viabilizar a redução deles na fonte geradora tornou-se uma necessidade importante.

A região nordeste tem estimulado o desenvolvimento da produção do biodiesel. E a cidade de Candeias no estado da Bahia foi pioneira na construção de usina destinada para este fim. A Bahia é classificada como o segundo estado brasileiro que mais produz o biocombustível. O cenário do estado favorece a produção, pois detêm conhecimentos tecnológicos por partes dos pesquisadores e empresas estatais, agrega importantes matérias-primas oleaginosas e favorece o crescimento econômico e social dos agricultores familiares. O estado de Sergipe também apresenta um grande potencial para produção do combustível, fato este atribuído pela vasta plantação de grãos e sementes de vegetais oleaginosos. Outros dois atributos importantes são a parceria de empresas públicas e privadas envolvidas no planejamento da planta piloto de uma usina exclusiva para produzir biodiesel e a proximidade da usina do porto, o que facilitaria rotas de navegações. A produção do biodiesel gera como subproduto o glicerol, também aproveitado em vários setores indústrias, principalmente o de cosméticos. Este produto da reação final é sintetizado em proporções maiores que a

demanda de mercado. Neste patamar, a produção do citado combustível em larga escala pode se tornar um problema em relação ao subproduto gerado.

Outro setor que gera uma elevada quantidade de resíduos é o de recursos pesqueiros. O consumo destas iguarias no nordeste tornou-se uma tradição, principalmente no estado de Sergipe, onde o caranguejo é considerado um dos pratos mais requisitados pelos turistas e moradores, bem como, a ostra, que apresenta um consumo crescente no referido estado.

Geralmente quem vive da pesca e da catação de crustáceos tende a residir próximo as regiões de coletas como, regiões estuários e encostas de rios, ali quase todo material residual proveniente desta atividade apresenta como destinação final o meio ambiente, o que representa perigo para o ecossistema, a saúde da população principalmente para as pessoas que utilizam a atividade para subsistência.

Como os resíduos pesqueiros e o glicerol oriundo do biodiesel são fontes ricas em carbono, são considerados produtos para reaproveitamento, principalmente na utilização destes em processos fermentativos, o que diminuirá o volume descartado no meio ambiente, bem como, os custos de produção dos bioprodutos.

Dentre estes bioprodutos, o país tem interesse na produção de goma xantana. A produção e a aplicação do polissacarídeo produzido pela *Xanthomonas* apresentam inúmeras utilizações benéficas. Como por exemplo, na indústria farmacêutica a utilização como sistema matricial para controlar a liberação de fármacos, no setor petroquímico reduzindo o fator de atrito no momento do escoamento de combustíveis fosseis e, devido a esta aplicação, representa um dos aditivos mais investigados no entendimento do comportamento nas funções de perfuração e remoção do petróleo. Em alimentos enlatados a goma está sendo estudada para reduzir o efeito de geleificação e aumentar a estabilidade em condições de oscilações de temperatura.

O processo produtivo da goma xantana tem beneficiado o reaproveitamento de resíduos provenientes da finalização e elaboração de outros produtos industrializados, como o soro de queijo, o glicerol, o suco de palma, resíduos de sucos, os quais geralmente seriam descartados, são reutilizados como substratos. No entanto, toda

goma usada na indústria brasileira ainda é importada e, para produção ser efetivada no país é necessário viabilizar o processo de síntese.

Deste modo o objetivo deste trabalho foi avaliar a goma obtida a partir de diferentes resíduos aquícolas e de glicerol através da produtividade, viscosidade aparente e análise térmica.

O trabalho foi dividido em três capítulos, o primeiro dispõe da revisão da literatura sobre o assunto proposto, o segundo um artigo sobre produção e caracterização de goma xantana a partir de resíduos de ostra e caranguejo e o terceiro trata-se da produção e caracterização da xantana obtida a partir do glicerol.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Resíduos Urbanos e Industriais e os Impactos Ambientais

Os resíduos urbanos e industriais são considerados um problema de saúde pública. O crescimento demográfico da população e dos processos industriais estimulou um aumento significativo na produção e diversidade dos resíduos. A preocupação com a destinação final deste lixo inadequadamente é um fator preocupante para o equilíbrio do planeta. O descarte de resíduos provenientes de residências e empresas são realizados em lixões, geralmente dispostos em terrenos abertos sem nenhuma segregação, contaminando o solo, conseqüentemente lençóis freáticos, pessoas e na sua grande maioria animais da região em que está disposto (FRANÇA & RUARO, 2009).

A disposição final destes resíduos em aterros sanitários é um método pouco utilizado pelo seu custo elevado. E o tratamento pelo método da incineração, não representa garantia satisfatória à saúde da população. A combustão ocorrida na incineração elimina fumaça e gases podendo ocasionar problemas respiratórios para o homem e tóxicos para o meio ambiente (FRANÇA & RUARO, 2009).

Por outro lado, os resíduos aquícola contribuem de forma significativa para o acúmulo do lixo no meio ambiente. Grande parte dos maricultores destina de forma inadequada os resíduos da pesca, com isto, problemas ambientais são favorecidos rapidamente, como, assoreamento da orla, cheiro fétido e acúmulo destes resíduos em áreas praianas (BOICKO, 2004).

Outra preocupação tratando-se de resíduos são os gases poluentes oriundos da combustão de combustíveis fósseis advindos de veículos automotores e algumas máquinas industriais. Neste contexto, a invenção do biodiesel obtido de fontes renováveis representa uma expectativa convincente do ponto de vista ambiental. Seu uso como fonte energética apresenta benefícios como, redução dos gases de efeito estufa, desenvolvimento regional, social, agrícola e garante a sustentabilidade (GONÇALVES & PEREZ, 2009).

A obtenção do combustível acontece através da reação de transesterificação de diferentes tipos de óleos na presença de um catalisador e um álcool. Após a reação além do biodiesel há também formação do glicerol. No entanto, a produção do biodiesel no Brasil está em ascendência preocupante, pois o combustível tem seu uso garantido, mas o glicerol excedente não. Fator que impacta na economia, uma vez que, a cada tonelada de biodiesel produzido são gerados 100 Kg de glicerol (GONÇALVES & PEREZ, 2009).

1.1.1. Alternativa de Uso dos Resíduos

O reaproveitamento dos resíduos para a reciclagem ou outras áreas de produção contribui significativamente para economia do país, diminui a utilização dos recursos naturais, além de minimizar a quantidade de dejetos jogados constantemente no meio ambiente, conseqüentemente beneficia a saúde da comunidade. As indústrias podem se organizar no redimensionamento dos resíduos gerados, o lixo originado por uma indústria pode ser reaproveitado por outra, mantendo a construção de grupos de produtores ecologicamente corretos (CAPRA, 2002).

O incentivo para o reaproveitamento de resíduos é objetivo de um modelo de desenvolvimento sustentável, por este motivo, é estimulada a diminuição da quantidade de resíduos gerados, a valorização destes e a minimização dos riscos provenientes do seu descarte. Neste contexto, o estudo de como viabilizar a redução deles na fonte geradora tornou-se uma alternativa imprescindível (NUNESMAIA, 2002).

Um exemplo é o reaproveitamento da concha de ostra, que tem agregado valor a este subproduto e contribuído para diminuir os resíduos dispostos de forma inadequada. As conchas de ostras desprezadas nas áreas das praias pelos pescadores têm contribuído para assoreamento do mar e alteração no território praiano. Além disso, o consumo crescente em restaurantes tem sido um fator preocupante no acúmulo destas conchas. Por outro lado, por ser uma fonte rica em carbonato de cálcio, este resíduo vem sendo empregado em mistura para pessoas com deficiência de cálcio, na

produção de mármore compactos, incremento para adubos, rações e suplemento para o solo (BOICKO *et al.*, 2004).

Outra perspectiva no aproveitamento dos resíduos é o seu uso em processos fermentativos para a produção de polímeros biológicos, utilizando microrganismos capazes de converter diferentes substratos em polímeros (BERWANGER *et al.*, 2007).

A utilização do glicerol como substrato pela *Xanthomonas* está sendo explorado. O glicerol é um subproduto originado da fabricação do sabão (AZEVEDO *et al.*, 2009) ou do biodiesel (GONÇALVES & PEREZ, 2009) que pode ser inserido de forma líquida ou sólida no meio reacional de forma suplementada com nitrogênio ou outros nutrientes. A intenção do processo é diminuir custos de produção utilizando meios de conversão diferenciado do meio tradicional (DRUZIAN, GOMES & BRANDÃO, 2009). Por este motivo, o investimento em pesquisa para reaproveitamento do produto secundário ocasionado da reação de transesterificação é uma realidade promissora (GONÇALVES & PEREZ, 2009).

A utilidade dos biopolímeros obtidos de vias fermentativas através de uma fonte de carbono apresenta um futuro promissor na síntese de outros produtos mais elaborados, que poderão ser usados como fonte energética alternativa. Esse fato torna o processo de obtenção mais investigado cientificamente (FERREIRA, ROCHA E CARVALHO, 2009).

Dentre os polímeros mais usados em processos industriais no mundo encontra-se a goma xantana que ainda é um produto importado (BORGES & VENDRUSCOLO, 2008).

O processo produtivo da goma xantana tem beneficiado as indústrias principalmente no aproveitamento de resíduos, como na utilização do soro proveniente da fabricação do queijo como substrato para síntese de goma xantana (MESOMO, 2007). O resíduo de suco da maçã é considerado um ótimo suplemento na produção da goma (PAGLIARINI & DRUZIAN, 2007). O uso do suco da palma, outro subproduto

gerado da utilização industrial da Tâmara (*Phoenix dactylifera L.*), tem sido considerado promissor na produção da goma xantana. A tâmara é uma espécie de palmeira conhecida popularmente como palma, é utilizada na fabricação de vinagre e seu subproduto fonte rica em carbono geralmente é descartado ou dependendo da viabilidade é transformado em torta para alimentar gado (SALAH *et al.*, 2010).

A inclusão destes subprodutos industriais como substratos para síntese de biopolímeros reduz a quantidade de resíduos descartados no meio ambiente e minimiza custos no tratamento de efluentes (MESOMO, 2007). Além de permitir uma diversificação na produção do setor industrial e o aumento da receita, representado uma economia viável através da obtenção de novos produtos provenientes de “resíduos” (PAGLIARINI & DRUZIAN, 2007).

1.2. Polímeros Biológicos

Os biopolímeros podem ser polissacarídeos sintetizados por microrganismos ou vegetais. Devido sua ampla utilização, atualmente eles contemplam um importante papel na pesquisa de vários setores, industriais, científicos e tecnológicos (NEWMAN E CRAGG, 2007, CASALINI, 2008). Estas macromoléculas sintetizadas por algumas bactérias, fungos ou plantas representam um futuro promissor para saúde humana, neste contexto, os estudos conduzidos na expectativa de melhorar a produção, extração e caracterização tem crescido exponencialmente nos últimos anos (GERN *et al.*, 2008). A tabela 1 mostra os polímeros mais usados nas indústrias e números de patentes registradas. Dentre os biopolímeros, a dextrana, gelana e xantana são os mais investigados, embora esta última por apresentar maior estabilidade, demonstra interesse industrial mais representativo (ASHTAPUTRE E SHAH, 1995, FORESTI, 2003).

Tabela 1 – Polímeros mais usados nas indústrias

Polímeros	Número de patentes
Colágeno	9
Chitosana	5
Chitin	3
Ácido hialurônico	3
Amido	2
Poliuretano	2
Goma Xantana	2
Elastin	2
Keratin	2

Fonte: BORSCHIVER *et. al*, (2008).

Os polímeros biológicos são considerados alternativa plausível para substituição dos polímeros sintéticos, em especial aqueles originados de fontes naturais renováveis. Tal fato pode ser justificado por sua alta disponibilidade, baixo custo e características biodegradáveis (TEXEIRA, 2005). O preço médio de mercado destes biopolímeros é de US\$ 4/kg, representando um mercado anual de US\$ 2 bilhões, com crescimento econômico de 20% ao ano e estimativa comercial na ordem de 1.000.000 t/ano para o ano de 2015 (BORSCHIVER, ALMEIDA & ROITMAN, 2008).

Os polissacarídeos microbianos podem ter origem intracelular, da parede celular ou extracelular. Os extracelulares estão ligados a célula como cápsula ou livres, sendo este último de maior interesse industrial, pois tem maior facilidade de obtenção (MESOMO, 2007). Normalmente, a formação do exopolissacarídeo bacteriano pode ocorrer durante todo o crescimento celular ou somente em uma das fases de crescimento (logarítmica ou estacionária). A síntese polimérica ocorre por dois mecanismos que podem ser diferenciados pela classe de bactérias. Para as gram-positivas o processo de síntese envolve enzimas lipoprotéicas extracelulares secretadas na superfície da célula. No caso dos microrganismos gram-negativos os exopolissacarídeos são sintetizados de forma intracelular, onde os açúcares nucleotídeos fornecem a célula os monossacarídeos juntamente com o processo de interconversão, processo este que acontece através de reações de epimerização,

desidrogenação e descarboxilação (HARDING *et al.*, 1993). Posteriormente as unidades formadoras do polissacarídeo são excretadas e este é polimerizado fora da célula (SUTHERLAND, 1982).

1.3 Goma Xantana

A goma xantana é um heteropolissacarídeo sintetizado pela bactéria do gênero *Xanthomonas*, através do processo fermentativo aeróbico que utiliza a glicose ou sacarose como principal substrato (BRANDÃO *et al.*, 2008). Para elaboração da xantana, o substrato mais requisitado pela bactéria é a sacarose, e no processo final de separação da goma do microrganismo, o álcool etílico torna-se indispensável, dois produtos provenientes da cana de açúcar, de fácil acesso, baixo custo e disponibilidade praticamente em todo território brasileiro. Sendo assim, torna-se competitivo para produção visto que os custos do processo serão inferiores em relação a outros países, que utilizam a sacarose oriunda da beterraba branca, assim viabilizando o processo e abrindo campo para uma concorrência com países detentores de maior poder tecnológico (PADILHA 2003, BRANDÃO *et al.*, 2008).

A goma dispõe de características imprescindíveis para ser empregada no preparo de alimentos, medicamentos e extração de petróleo, como, elevada viscosidade, pseudoplasticidade, estabilidade em: ampla faixa de pH, variações de altas temperatura, altas concentrações de sais e, apresenta-se muito resistente a degradação enzimática (GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000). Neste contexto, tratando-se de síntese, o gênero *Xanthomonas* é o que mais se destaca no setor industrial por ser produtor deste polímero (MATTA JUNIOR, 2009).

1.3.1. *Xanthomonas*, a bactéria sintetizadora da goma xantana

Originada do grego, a palavra *Xanthomonas* significa “xanthos” = amarelo e “monas” = unidade (MAC FADDIN, 2000; KRIEG & HOLT, 1994). O gênero

Xanthomonas está distribuído em 1470 famílias, apresentam 3636 genes únicos. Dentre estes genes, merecem atenção os receptores de ferro, os sintetizadores de flagelo, aqueles envolvidos com metabolismo energético, sistema secretório tipo II, sistema secretório tipo III e os envolvidos com quimiotaxia (MOREIRA *et al.*, 2005). As *Xanthomonas* normalmente apresentam flagelo único, conseqüentemente dispõem de motilidade, apresentam-se dispostas isoladamente em forma de bastonetes retos, facilmente visíveis ao microscópio ótico. Se caracterizam Gram-negativa, oxidase negativa, catalase positiva, não redutoras de nitrito, teste positivo para esculina e negativo para hidrolise da gelatina. Apresentam um bom crescimento na faixa de temperatura entre 35-37°C e ausência de crescimento a 40°C (MAC FADDIN, 2000; KRIEG & HOLT, 1994). Embora temperaturas de crescimento entre 25°C e 30°C também são referenciadas. Apresentam tempo médio de crescimento de 2-3 dias. Normalmente as espécies do gênero são aeróbicas ou microaerofílicas o que facilita o cultivo em laboratório (PAGLIARINI & DRUZIAN, 2007).

Grande parte das *Xanthomonas* são consideradas fitopatogênicas por causarem infecções em plantas hospedeiras, exceto a *Xanthomonas maltophila* (SUTHERLAND 1982). Das espécies do gênero *Xanthomonas*, a *X. campestris* é bactéria fitopatogênica de grande importância na área agrícola por infectar vegetais como, pimentão, tomate, alcachofra, algodão, ameixa, berinjela, brócolis, couve, couve-flor, couve de Bruxelas, maracujá, mostarda, a nectarina e o pêssego (NCPPB, 2009).

Dentre as doenças mais citadas, estão a podridão negra e a mancha bacteriana, consideradas enfermidades importantes economicamente para o setor agroindustrial (CÂNDIDO 2007). Facilmente notória, a infecção é marcante nas folhas e caules, caracterizado por pigmentos amarelos denominados xantomonadinas (CHUN, 2002).

A mancha angular outra doença muito estudada, compromete a cultura do algodão. A espécie isolada do algodoeiro é a *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (*Xam*), uma bactéria que sobrevive em solo, sementes e resíduo de cultivo, locais também considerado como via de disseminação (SOARES, 2006). A bactéria consegue sobreviver em baixa umidade e em folhas secas por um período de

30 a 60 dias (CANDIDO, 2007). As sementes quando contaminadas apresentam o processo germinativo comprometido em média 20% (GALLI, 2001).

Comprometendo a cana-de-açúcar a falsa estria vermelha (FEV) também é causada por *Xanthomonas* sp. A infestação é comum nos canaviais do centro sul do país, porém pode ser diagnosticada em outras regiões e em espécies de gramíneas como o sorgo, o milho e a aveia. Os sintomas característicos da doença são manchas avermelhadas, longas, paralelas com nervuras semelhantes a estrias, as quais podem evoluir para necrose total da planta (MANTOVANI, MARINI & GIGLIOTI, 2006).

O cancro cítrico é uma infecção causada pela *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* em frutas cítricas como a laranja, o limão e a tangerina. A doença caracterizada por lesões semelhantes a verrugas de coloração amarela nas folhas, ramos e frutos é disseminada facilmente pela lavoura acarretando perdas econômicas extensas. Quando a contaminação se espalha pela plantação não existe controle e esta pode atingir toda lavoura, neste caso, medidas de erradicação deverão ser adotadas tanto para as plantas contaminadas, como para plantas vizinhas fixadas em um raio de 30 metros (NETO *et al.*, 2006).

Geralmente estes microrganismos fitopatogênicos comprometem a lavoura, a qualidade dos produtos e ocasiona perdas (BAIKER, 1970 apud: SOARES, 2006). O diagnóstico da contaminação em vegetais pode ser feito pela identificação de um pigmento amarelo característico do gênero *Xanthomonas* denominado de xantomonadinas (CANDIDO, 2007). No entanto, diagnósticos mais precisos e confirmatórios são requisitados na confirmação concreta da contaminação, como o cultivo do material contaminado em meios seletivos, sorologia, inoculação do vegetal hospedeiro e sondas de DNA (SOARES, 2006).

O exame de DNA, PCR-RFLP ("Restriction Fragment Length Polymorphism") e RAPD ("Random Amplified Polymorphic DNA") são muito requisitados para confirmar ou diferenciar a variedade genética da *Xanthomonas* (NUNES *et al.*, 2009).

A análise das proteínas secretada pelas *Xanthomonas* atualmente é um método explorado no diagnóstico e, almejado no desenvolvimento de fármacos que poderão ser usados no tratamento da infecção originada pela bactéria (FERREIRA, 2009).

Os meios de cultivos NSCAA (nutrient starch cycloheximide antibiotic agar), BSCAA (basal starch cycloheximide antibiotic agar) e SX-agar (starch for xanthomonads) são considerados semi-seletivos, enquanto que o meio NA (Agar nutriente) é não seletivo para *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, mas pode ser usado (GALLI *et al.*, 2001). Para Galli *et al.*, (2001), o melhor meio para o cultivo é NSCAA, pois as colônias apresentam-se mais visíveis, com a coloração amarelo mais intensa em três dias de inoculação. Existem também outras variedades de meios de cultivos, como o meio YM (Yeast Malt) citado por Borges (2004) e MPII por Cadmus *et al.*, (1978).

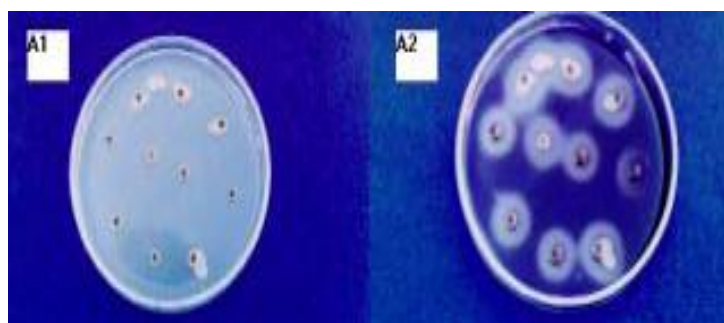


Figura 1 – *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* - cultivada em meio NSCAA, A2 - mesmo meio com adição de lugol

Fonte: GALLI *et al.*, (2001).

1.3.2. Produção de Goma Xantana

As diferentes espécies de *Xantomonas* produtores de goma xantana, podem sintetizar polímeros com características diferenciadas, como, viscosidades, texturas, quantidade e estabilidade. Diante desta afirmativa, quando há conhecimento 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, busca-se estudar diferentes processos de aquisição e diferentes tipos de microrganismos produtores. Contexto este, aplicado em pesquisas onde o principal foco é a seleção de linhagens e aumento da produtividade (LUVIELMO, VENDRUSCOLO & SCAMPARINI, 2007).

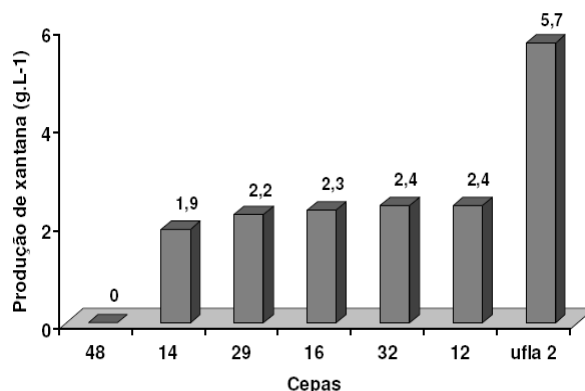


Figura 3 - Produção de diferentes cepas da bactéria *X. axonopodis* pv. *phaseoli*.

Fonte: MAYER *et al.*, (2008).

É importante estabelecer uma concentração inicial de microrganismos para o inóculo para que este seja um parâmetro mensurável e padronizado. Se o inóculo apresenta um número de colônias superior a 10^9 UFC/mL a produção é eficaz (PAN, MOREIRA & VENDRUSCOLO, 2000). Quando utilizado menor número de células para iniciar o inóculo, a multiplicação destes aumenta rapidamente e a produção da goma final é diminuída de forma antagônica, quando no início do inóculo há bastantes células, a produção da goma aumenta consideravelmente.

A multiplicação celular do microrganismo é influenciada pela concentração de açúcar no meio (BAIOCCO, 1997). A composição inicial do meio é capaz de interferir diretamente na produção e qualidade do biopolímero, (PAN, MOREIRA & VENDRUSCOLO, 2000). Para produção do inóculo de goma geralmente utiliza-se uma fonte rica em carbono, por exemplo, a sacarose, ácidos orgânicos, como o ácido cítrico e sais inorgânicos, NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , MgCl , Na_2SO_4 , H_3BO_3 , ZnO , FeCl e CaCO_3 (PAGLIARINI & DRUZIAN, 2007). Outra opção é utilizar no meio de produção, a sacarose ou glicose como fonte de carbono, uréia como fonte de nitrogênio e K_2HPO_4 para tamponar (NERY *et al.*, 2008)

A biossíntese da goma xantana a partir do caldo de cana no Brasil é uma alternativa viável e, pode ser realizada em escala industrial (BRANDÃO *et al.*, 2008). Ainda assim, a maior parte da goma utilizada no setor produtivo brasileiro é adquirida através de importações, portanto, o país apresenta subsídios e matérias-primas suficientes para produção do polímero em grande escala. A cana de açúcar e o álcool

são considerados insumos essenciais para produção de xantana, são abundantes e podem ser testados nas mais variadas vias de fermentação. Neste contexto, é importante uma avaliação qualitativa dos polímeros produzidos utilizando-se diferentes patovares bacterianas e diversos processos fermentativos (LUVIELMO, VENDRUSCOLO & SCAMPARINI, 2007). O rendimento da goma obtido com a adição do caldo pode chegar a 10 vezes mais do que com a inserção da sacarose, portanto é necessário aperfeiçoar o estudo das condições usadas na produção e das propriedades reológicas deste polissacarídeo mais minuciosamente (BRANDÃO *et al.*, 2008).

Em meio fermentativo com estresse alcalino, estudos concluíram que a *X. campestris* pv. *manihotis* 280-95 apresentou melhor desempenho produtivo, aumentando 40,76% a produção em relação as cepas *X. campestris* pv. *begoniae* 1138-95 e *X. campestris* pv. *dieffenbachiae* 1429-00, o aumento da alcalinidade do meio desequilibrou o meio produtivo acarretando ruptura das células, conseqüentemente aumentando a produção direta da goma (LUVIELMO, VENDRUSCOLO & SCAMPARINI, 2007).

No estudo conduzido com as cepas de *Xanthomonas campestris manihotis* 1182, *Xanthomonas campestris campestris* 1866 e *Xanthomonas campestris* pv *campestris* 2149, a associação do caldo da cana com outros nutrientes como a uréia e fosfato fermentado através de shaker (28 °C, 250 rpm, 120 horas) deixou a característica pseudoplástica e a viscosidade aparente inferior ao da goma fermentada no meio tradicional que utiliza a sacarose (BRANDÃO *et al.*, 2008). Outros substratos podem melhorar a síntese, como o resíduo de suco da maçã, considerado um ótimo suplemento na produção da goma, onde aumenta 10 vezes o rendimento desta em relação ao meio enriquecido com a sacarose (PAGLIARINI & DRUZIAN, 2007).

O soro de leite proveniente da fabricação do queijo mussarela utilizado como suplemento na produção da goma xantana, aumenta 3 vezes mais a produção da goma em relação a produção convencional utilizando a sacarose como fonte de carbono (NERY *et al.*, 2008). O soro residual da fabricação do queijo é considerado eficiente na produção de xantana e relevante por aproveitar resíduos da produção agro-industrial cujo descarte é abundante. A pesquisa da produção de xantana a partir do soro de queijo viabiliza a possibilidade do reaproveitamento do resíduo gerado pela indústria ser

reutilizado na própria indústria, para fabricação de outros alimentos, uma vez que a goma sintetizada a partir do soro de queijo pode ser empregada como emulsificante, estabilizantes e agentes de suspensões (SILVA *et al.*, 2009)

1.3.3. Caracterização da Goma Xantana

A composição química da goma xantana identificada através de Cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), tem revelado a presença de glicose, manose, ácido glicurônico e ramnose, este ultimo monossacarídeo não é encontrado em goma comercial produzida por *X. campestris* pv. *Campestris*. A ramnose é muito relevante, por estar presente em todos os polímeros que apresentam capacidade de formar géis (MAYER *et al.*, 2008). A formação de gel do biopolímero é diferente do gel de polímero sintético, este último envolve ligações químicas cruzadas, em pontos específicos da cadeia polimérica. O gel de fonte natural faz ligações não em pontos especiais, mas em segmentos ordenados das macromoléculas, compondo interações químicas fracas e reversíveis (ANDRADE, GARCIA & LOBÃO, 1996).

A funcionalidade da xantana está diretamente ligada a sua estrutura química, a qual pode ser facilmente modificada. Estas diferenciações estruturais dependem do microrganismo usado na produção e condições utilizadas no processo de fermentação (BORGES & VENDRUSCOLO 2008).

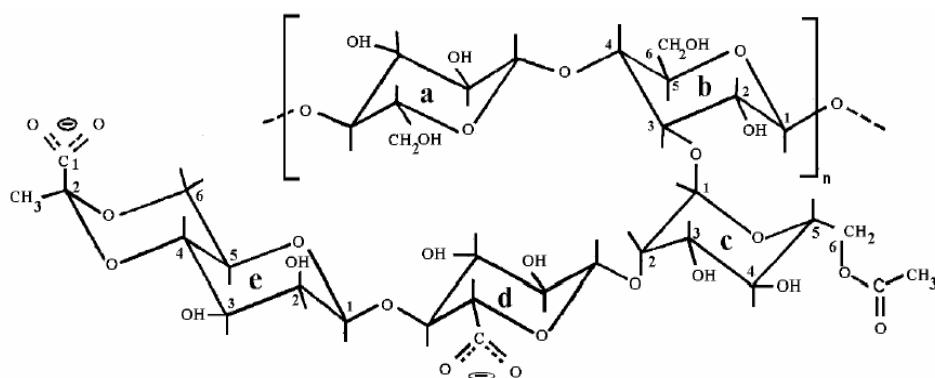


Figura 4 - Estrutura química genérica da xantana. (a) unidade de glicose não substituída, (b) glicose substituída, (c) manose interna com substituinte acetil, (d) ácido glicurônico, (e) manose externa com substituição pelo piruvato

Fonte: VENDRUSCOLO (2005).

A goma é classificada como uma molécula aniônica de alto peso molecular cerca de $1,5-5,0 \times 10^4$ KDa (PORTELA *et al.*, 2008). Onde a cadeia principal é estruturalmente igual a celulose, apresentando ramificações de β -D-glicose ligadas nas posições 1 e 4 (SANDFORD & BAIRD, 1983).

A molécula da xantana é classificada como regular, obedecendo a uma ordem de uma molécula de glicose para cada duas ramificações, exceto nas cadeias laterais, pois nem todas se apresentam acetiladas ou piruvatadas. Normalmente as cadeias sofrem alterações na posição do piruvato, dependendo da cepa inoculada e das condições de cultivo (LINDEN & LORIENT, 1996).

O alto grau de acetilação e o baixo grau de piruvatação aumentam a viscosidade, evento atribuído as agregações intermoleculares (MAUGERI, 2001). O tempo de fermentação pode ser considerado um fator influenciador para o aumento ou diminuição destes radicais, bem como o conteúdo de glicose e a interação entre estes monômeros influenciam diretamente na viscosidade. A presença dos monossacarídeos e derivados pode ser determinada através de cromatografia de camada delgada comparativa (CCDC) utilizados padrões comparativos de glicose, ramnose, manose e ácido glicurônico (SILVEIRA *et al.*, 2008). A determinação do grau de acetilação pode ser realizada através de análise colorimétrica, método quantitativo sugerido por McComb & McCready (1957).

A estrutura secundária da goma pode apresentar-se em dupla ou alfa hélice e está correlacionada com as condições em que a molécula é caracterizada. Esta ainda pode apresenta-se em conformação ordenada ou desordenada (BORN, LANGENDORFF & BOULENGUER, 2002).

1.3.3.1 – REOLOGIA DA GOMA

A ampla procura da goma xantana é justificada pelas propriedades reológicas que lhes conferem capacidade única de emulsificação, espessamento, gelificação e suspensão na presença da água como solvente (MAUGERI, 2001) .

Propriedades reológicas são um conjunto de medidas analíticas que facilitam a compreensão da organização estrutural e comportamento de um composto (VITALI & RAO, 1984). Para compreensão da reologia, os conceitos da matéria sólida descrito por Robert Hooke e as propriedades da matéria líquida relatada por Isaac Newton precisam ser entendidas. Para explicar a teoria da elasticidade Hooke propôs o modelo da mola, ou seja, quando a mola sofre uma tensão dobrada a extensão dela também dobra. Em outras palavras, um sólido quando sofre uma tensão maior que habitual ele se deforma. Os líquidos segundo Newton, sofrem uma resistência ao escoar em uma superfície, esta resistência é proporcional a velocidade de deslizamento. A dificuldade de escoamento é denominada viscosidade, que também pode ser referenciada como resistência do fluido ao deslizar. O cálculo da viscosidade pode ser feito usando o registro da força aplicada no deslocamento do fluido, sobre a área que a matéria está sendo deslocada, a este calculo dar-se o nome de pressão de cisalhamento (BIRD, STEWART & LIGHTFOOT, 1960).

Em 1687 Isaac Newton descreveu a viscosidade de um fluido como a resistência ao deslizamento deste fluido causado por um atrito interno da superfície deslizante, quanto maior o grau do atrito de um fluido, maior é a sua viscosidade (BARNES, HUTTON & WALTERS, 1989). Para explicar sua teoria Newton demonstrou o modelo de duas placas de áreas A separadas por uma distância h, movimentadas devido a aplicação de uma força F. Diante do modelo proposto, a força exercida por unidade de área (F/A) para manter uma diferença de velocidade entre as placas (dv/dx) é diretamente proporcional ao gradiente de velocidade através do líquido. Portanto, o coeficiente de proporcionalidade é igual à viscosidade (η). A força por unidade de área é conhecida como tensão de cisalhamento (σ) e o gradiente de velocidade é conhecido como taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$). Substituindo (F/A) por (σ) e (dv/dx) por ($\dot{\gamma}$), tem-se a equação de Newton para determinação da viscosidade de um fluido (BIRD *et al.*, 1960).

$$\frac{F}{A} = \eta \frac{dv}{dx} \quad \text{Equação 1}$$

$$\eta = \frac{\sigma}{\dot{\gamma}} \quad \text{Equação 2}$$

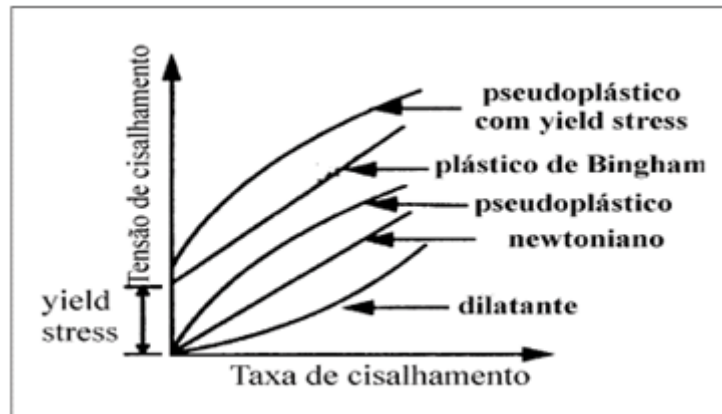


Figura 5 - Classificação do comportamento reológico de diferentes tipos de suspensões

Fonte: KAWATRA & BAKSHI (1996)

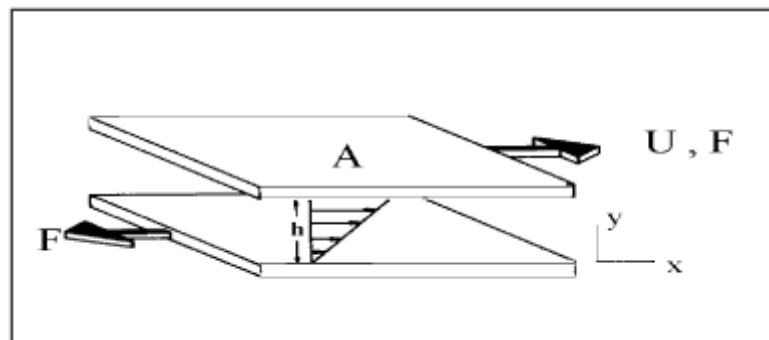


Figura 6 - Modelo de placas paralelas usada por Newton para explicar a viscosidade de líquidos

Fonte: BARNES, HUTTON & WALTERS (1989)

Dentre as medidas usadas na reologia estão, tensão de cisalhamento, taxa de deformação, coeficiente de consistência e viscosidade (HAMINIUK *et al.*, 2006). Estes parâmetros mensuráveis fornecem dados de como uma determinada substância se comporta quando submetida a uma força externa que causa deformidade, bem como, o grau de variação contínuo desta deformação em função do tempo, conhecido também como escoamento (STEFFE, 1996).

O comportamento reológico dos materiais poliméricos em estado líquido pode ser definido pela Lei das Potências: onde τ e $\dot{\gamma}$ representam a tensão e a taxa de cisalhamento, κ é a consistência do material e n é o índice de potência. Para análise, quando o n é igual a 1, o produto analisado apresenta comportamento Newtoniano, se este resultado apresenta-se maior que 1 e tratado como material dilatante, porém se o n

for menor que 1, o comportamento é classificado como pseudoplástico. Geralmente os polímeros são rotulados como pseudoplásticos (CRUZ *et al.*, 2008) . A reologia é uma ciência usada para deduzir o nível qualitativo de um determinado produto (QUEIROZ *et al.*, 1998), sendo que alguns fatores como a temperatura e o tamanho das partículas podem afetar estas propriedades (VITALI & RAO, 1984).

Elasticidade, taxa de deformação e viscosidade são propriedades detalhadas em alguns estudos realizados com o objetivo de obter um polímero de boa qualidade. São utilizadas cepas bacterianas diferentes e condições de produção distintas, o que dificulta a comparação entre pesquisas semelhantes e por mais que as linhagens bacterianas sejam iguais, às condições utilizadas no processo de obtenção podem ser diferentes (LUVIELMO, VENDRUSCOLO E SCAMPARINI, 2007).

A viscosidade é um exemplo de parâmetro muito influenciado pela composição química da goma xantana e pode apresentar variações quantitativas e/ou qualitativas dependendo da composição desta (MOREIRA, 2002).

A xantana produzida pela cepa *X. campestris mangiferaeindicae* 2103 a partir do soro de leite como substrato apresentou resultados entre 10.000 e 15.000 mPa.s quando utilizado a solução de xantana a 3% (NERY *et al.*, 2008). Em outro estudo foi evidenciado em soluções aquosas a 1%, viscosidade entre 2030 a 6161 mPa.s (NITSCHKE, RODRIGUES & SCHINATTO, 2001).

Em um estudo com a solução de xantana a 2% sintetizada a partir do caldo de cana como fonte de carbono, foram apresentados valores de viscosidade aparente de 99,36 mPa.s, resultado este considerado cinco vezes menor para viscosidade aparente da solução de xantana proveniente da fermentação com a sacarose (BRANDÃO *et al.*, 2008).

Diversas áreas de aplicações da xantana necessitam dela com o teor de viscosidade bastante elevado. Porém, algumas indústrias exigem uma goma de baixa viscosidade (MAYER *et al.*, 2008). Exemplo, na indústria alimentícia (GRISEL *et al.*, 2008), preparo de produtos de panificação (ZAMBRANO *et al.*, 2005) e extração de petróleo (MAYER *et al.*, 2008).

1.3.3.2 – ANÁLISE TÉRMICA.

As técnicas de análise térmica são utilizadas para definir algumas propriedades do material analisado, como por exemplo, variação da forma física em função da temperatura e a absorção ou liberação de calor (PIMENTEL & ARBILLA, 1998). Estas análises acontecem através dos métodos da termogravimetria (TG) onde uma termobalança registra de forma contínua a variação de peso de uma determinada substância em função da variação da temperatura ou, pelo método da análise térmica diferencial (ATD), onde há registro contínuo da diferença de temperatura entre a amostra analisada e, a comparação desta amostra com uma substância inerte de referência. Por este motivo, o segundo método é tido como mais preciso (FIGUEIREDO *et al.*, 1989).

A termogravimetria aplicada em um composto pode interpretar os efeitos térmicos resultantes da libertação de componentes voláteis, da fusão ou até mesmo da mudança de fase (FIGUEIREDO *et al.*, 1989).

Na análise de polimorfismo a calorimetria diferencial de varredura é considerada muito útil na obtenção de informações sobre modificações estruturais que acontecem durante o aquecimento e arrefecimento das substancias estudadas. A matéria em estudo passa por transições durante o processo térmico que é explicado a partir de conceitos termodinâmicos denominados de temperatura de transição, variação de entalpia ou capacidade calorífica (MARIA *et al.*, 2009).

O método da termomicroscopia consiste em observar através de um microscópio de luz polarizada, alterações ocorridas em uma matéria, é considerado um bom método para distinção entre meios anisotrópicos e isotrópicos, hábitos cristalinos e tipos de transformação de fase (MARIA *et al.*, 2009) .

Os resultados obtidos na análise térmica geralmente são expressos pela fração decomposta do sólido ou pela conversão do material em função da temperatura (PIMENTEL & ARBILLA, 1998).

Maior parte dos trabalhos utiliza a termogravimetria para elucidar o comportamento térmico da goma xantana. Como por exemplo, A análise termogravimétrica discutida no trabalho de Horn (2008) sobre polímeros, onde a xantana comercial apresentou resultados de decomposição da goma analisada em função do tempo em três estágios de temperatura, onde o primeiro entre 25 a 150 °C mostra a perda de água da estrutura polimérica, o segundo entre 150 a 400 °C visualiza a decomposição da matéria e, 400 a 550 °C faixa de aquecimento que refere-se ao estágio de carbonização.

A análise térmica realizada em temperatura muito alta é necessária para avaliar se o material polimérico depois de liofilizado é capaz de reter água em sua estrutura. O estudo termogravimétrico concluído em diferentes razões de temperatura pode fornecer a energia de ativação do estágio de perda de água dos polímeros. Métodos térmicos como espectroscopia no infravermelho, espectroscopia de RMN e calorimetria exploratória diferencial também podem ser usados para verificar a água presente em hidrogéis de xantana (HORN 2008).

1.4. Aplicação da Goma

A goma xantana constitui um produto com diferentes utilidades e sua aplicação foi expandida para indústria farmacêutica, química e petroquímica (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000). Em 1969 a FDA (Food and Drug Administration) aprovou seu uso na indústria de alimentos (FONTANIELLA *et al.*, 2002). Desde a inclusão na produção em larga escala alimentícia a goma é utilizada como substituto de gordura em bolos, na condição de reduzir o teor gorduroso (de 50% a 60%), sem denegrir o aspecto e características organolépticas, manter a estabilidade e atividade de água, diminuir 20% o teor de umidade e proporcionar um produto final com maior volume em relação ao convencional (ZAMBRANO *et al.*, 2005).

A goma xantana adicionada ao amido e ao glicerol tem sido aplicada na indústria alimentícia para melhorar as propriedades mecânicas dos filmes de revestimento de

alimento, na intenção de substituir os filmes não biodegradáveis (MATTA JUNIOR, 2009). Neste âmbito, a citada goma incorporada em suspensões de amido ajuda a manter a estabilidade, acelera o processo de gelatinização, reduz a umidade e custos (CHAIZAWANG & SUPHANTHAKIRA, 2005). No caso de filmes para embalagens as exigências para classificação de um bom filme dependem de qual tipo de alimento será embalado. Para carnes vermelhas, por exemplo, faz-se necessário uma alta permeabilidade ao oxigênio, pois este quando interage com o alimento permite a formação de um pigmento denominado oximioglobina, responsável pela cor vermelho característica. Quando utilizada para alimentos ricos em lipídios, este filme deve ser impermeável ao oxigênio, ao contrário, os lipídios oxidam facilmente originando o ranço oxidativo (MATTA JUNIOR, 2009).

A junção da goma com amidos e agentes plastificantes tem sido aplicada no melhoramento da estabilidade, gelatinização e retogradção de filmes, propriedades de grande importância na obtenção que interferem diretamente na formação da película. Com a associação do amido, xantana e glicerol foram obtidos bons resultados em relação ao aumento da resistência a perfuração, a rupturas, aos valores de tonalidades, diferenciado as propriedades mecânicas destes filmes (MATTA JUNIOR, 2009). Os agentes plastificantes inseridos em filmes têm como papel principal alterar a flexibilidade. Isso ocorre, devido as interferências causadas pelas moléculas que estes agentes dispõem, reduzindo as pontes de hidrogênio existentes entre as cadeias poliméricas da estrutura, conseqüentemente, provocando modificações química, física e mecânica (MALI & GROSSMAN, 2003).

Em alimentos enlatados a goma está sendo estudada para reduzir o efeito de geleificação e aumentar a estabilidade quando este é submetido a oscilações de temperatura. Em molhos de diferentes tipos, as propriedades viscoelásticas foram aumentadas sem prejudicar o aspecto físico e químico do produto. Sua adição ainda reduziu a retorgradação do amido e melhorou a estabilidade significativamente (AROCAS, SANZ & FISZMAN, 2009).

Em alimentos congelados a goma é utilizada para melhorar um fenômeno conhecido como sinérese, que significa a liberação de água durante o processo de congelamento e descongelamento de géis de amidos de milho usados na indústria

alimentícia para melhorar a consistência e a textura de muitos alimentos. A sinérese muda a característica física do produto, ou seja, diminui a massa do gel após ciclos de gelo – degelo. Estudos concluíram que a xantana associada ao amido em concentração de 1% reduz a sinérese dos géis em 15,27%, neste caso, a goma é considerada muito eficiente na função crioprotetora (WEBER, QUEIROZ & CHANG, 2008).

Adicionada à massa de pães refrigerados, a goma modificou as propriedades reológicas da massa armazenada em baixas temperaturas, diminuindo o desenvolvimento de um fenômeno de degradação caracterizado pela formação de um líquido no interior do produto denominado xarope. Este xarope extravasa para superfície do produto conferindo uma aparência de deteriorado, comprometendo a qualidade (SIMSEK, 2009).

Para a ciência experimental a xantana representa uma importante aliada no desenvolvimento futuro de pesquisas que envolvem a cura de doenças humanas crônicas. Em estudos envolvendo a administração via oral da xantana em ratos com tumores induzidos de bexiga, a citada goma inibiu significativamente o crescimento do tumor e melhorou o sistema de defesa linfocitário. O resultado da experimentação oral sustenta ainda mais a tese de que a goma é um produto para aplicação em diferentes tratamentos deste nível, pois ela se adapta perfeitamente a alterações buscas de pH estomacal e mostra-se totalmente resistente a degradação enzimática (TAKEUCHI *et al.*, 2009).

Na indústria farmacêutica os biopolímeros são utilizados como sistema matricial para controlar a liberação de fármacos. Eles podem ser associados ou não a outros polímeros dependendo da consistência da matriz em que se almeja, no caso dos comprimidos de teofilina a combinação da goma xantana com galactomanana apresentou um perfil de dissolução excelente e uma dinâmica de liberação *in vitro* de aproximadamente 90% do medicamento em 8 horas. Em outro aspecto, as matrizes testadas com concentração superior a 25% dos biopolímeros exibiram resultados semelhantes ao da xantana isolada, retenção do fármaco na matriz, já a galactomanana isolada mostrou liberação muito rápida (VENDRUSCOLO, 2005).

A goma xantana tem sido de grande importância no setor petroquímico e apresenta como principal finalidade, à redução do fator de atrito no momento do escoamento do óleo ou gás e, devido a esta aplicação, representa um dos aditivos mais investigados no entendimento do comportamento das funções de perfuração e remoção de petróleo (LOUREIRO, LARGES & SILVA, 2009). As propriedades químicas e físicas conferidas aos fluidos de perfuração são essenciais no momento da extração, como por exemplo, função adjuvante, capacidade de limpeza do cascalho do fundo do poço, transporte do óleo até a superfície do poço, desempenho da estabilidade nas paredes do poço e a manutenção da pressão hidrostática, evitando assim, o transporte de outros fluidos que não seja de interesse. Além disso, lubrifica a coluna de perfuração e a broca melhorando o processo de extração (THOMAS, 2002).

A perfuração de poços é um processo complexo qual pode atingir regiões de extrema profundidade. No momento da perfuração, o fluido de perfuração é conduzido através de uma bomba até o interior do poço por uma coluna de duas regiões, uma de condução e a outra de resgate. Então, o fluido entra no poço pela parte de condução de um lado da coluna e retorna do poço pelo outro lado da coluna e, neste retorno conduz os sólidos arrastados do poço até a peneira vibratória responsável pela separação do material, por esta razão o comportamento de escoamento de um fluido deve ser conhecido (LOUREIRO, LARGES & SILVA, 2009).

Quando há escoamento de um líquido em uma coluna geralmente tem-se perda de energia, esta perda é denominada perda de pressão ou de carga. A perda de pressão acontece devido ao atrito na parede da coluna e da viscosidade do fluido exercida no escoamento. Além das barreiras físicas que podem diminuir a viscosidade como a existência de rugosidade na superfície de escoamento (LOUREIRO, LARGES & SILVA, 2009), o processo produtivo destes biopolímeros também pode contribuir na diminuição da viscosidade, incluindo o meio de inoculação, agitação, aeração, temperatura, entre outros (MAYER *et al.*, 2008). Neste contexto, a análise da viscosidade e das propriedades reológicas da goma xantana torna-se indispensável (LOUREIRO, LARGES & SILVA, 2009).

Com a crescente versatilidade e aplicabilidade da goma xantana em diferentes setores, justifica-se a pesquisa que disponibilize mais dados para que estes

contemplem as áreas industriais, medicamentosas e petrolíferas. Assim, favorecer ao Brasil maior poder competitivo internacionalmente na produção de uma goma diferenciada e extração de petróleo mais eficaz (LUVIELMO & SCAMPARINI 2009).

O estudo da produtividade, viscosidade aparente e análise térmica da goma xantana é de grande relevância para definir as infinitudes de aplicações em que ela poderá ser inserida, como o desenvolvimento de uma nova tecnologia para remoção do petróleo, no aperfeiçoamento da construção de filmes mais resistentes que contemplem diferentes áreas de utilização na indústria de alimentos, na produção de novos fármacos que apresentem sistemas de liberações mais dinâmicos e de maior controle que detenham de um sistema matricial diferenciada para serem empregados em doenças crônicas de difícil acesso medicamentoso, além disso, a produção da xantana é muito importante para a saúde e o meio ambiente, uma vez que os resíduos orgânicos oriundos de vários seguimentos indústrias, como químicos, alimentícios e aquícolas poderão ser reaproveitados no processo de síntese, diminuindo significativamente resíduos que seriam descartados no meio ambiente.

1.5. Referências

- ANDRADE, C. T.; GARCIA, R. B.; LOBAO, MARCOS W. N. Aplicação de modelo matemático às propriedades reológicas de géis mistos de agarose e de goma guar. *Quím. Nova*. v.20, n.2, p. 132-136. 1997.
- AROCAS A.; SANZ, T.; FISZMAN, S.M. Improving effect of xanthan and locust bean gums on the freeze-thaw stability of white sauces made with different native starches. *Food Hydrocolloids*. v. 23, p. 2478–2484. 2009.
- ASHTAPUTRE, A. A.; SHAH, A. K. Studies on a viscous, gel-forming exopolysaccharide from *Sphingomonas paucimobilis* GS1. *Applied and Environmental Microbiology*. v.61, n.3, p.1159-1162. 1995.
- AZEVEDO, O. A.; RABBI, M. A.; COELHO NETO, D. M.; HARTUIQ, H. Fabricação de Sabão a Partir do Óleo Comestível Residual: Conscientização e Educação Científica. XVIII Simpósio Nacional de Ensino de Física – SNEF . Vitória, ES. 2009.
- BAIOCCO, L. M. **Estudo de Parâmetros para a Produção de Inóculos Liofilizados de *Xantomonas Campestris* pv. *manihotis***. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP. 1997.
- BAKER, F. J. *Manual de técnica bacteriológica*. Zaragoza, Acribia, 510p. 1970. Apud: SOARES, J. Desenvolvimento De Meio Semi-Seletivo para Detecção de *Xanthomonas Axonopodis* Pv. *Malvacearum* em Sementes de Algodoeiro. Dissertação De Mestrado, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo-RS. 2006.
- BARNES, H, A.; HUTTON, J. F.; WALTERS, K. ***An introduction to rheology***. 1. ed. New York: Elsevier, p.199 (Rheology Series, 3), 1989.
- BERWANGER, A. L. S.; SCAMPARINI, A. R. P.; DOMINGUES, N. M.; VANZO, L. T.; TREICHEL, H.; PADILHA, F. F. Produção de biopolímero sintetizado por *Sphingomonas capsulata* a partir de meios industriais. *Ciênc. agrotec*. v.31, n.1, p. 177-183. 2007.
- BIRD, B.; STEWART, W.; LIGHTFOOT E. N. ***Transport Phenomena***. Ed. Wiley international, p.3-11, 1960.
- BOICKO, A. L.; HOTZA, D.; SANT'ANNA, F. S. P. Utilização de Conchas da Ostra *Crassostrea Gigas* como Carga para Produtos de Policloreto de Vinila (PVC). Anais IV Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental. Porto Alegre, 2004.
- BORGES, C. D. Caracterização da goma xantana em função da cepa de *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* e das condições operacionais. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas-RS. 2004.

BORGES, C. D.; VENDRUSCOLO, C. T. Goma Xantana: características e condições operacionais de produção. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*. v. 29, n. 2, p. 171-188. 2008.

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

BORSCHIVER, S.; ALMEIDA, L. F. M.; ROITMAN, T. Monitoramento tecnológico e mercadológico de biopolímeros. *Polímeros*. v.18, n.3, p. 256-261. 2008.

BRANDÃO, L. V.; NERY, T. B. R.; MACHADO, B. A. S.; ESPERIDIÃO, M. C. A.; DRUZIAN, J. I.; *et al.* Produção de goma xantana obtida a partir do caldo de cana. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* v. 28, p. 217-222. 2008.

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, p. 1003 -1014. 1978.

CÂNDIDO, E. S. Caracterização de *Xantamonoas gardeneri* e Análise Protômica da Interação Entre *Xantomonas Campestris* Pv. *Campestris* e *Arabidopsis Thaliana*. Dissertação de Mestrado, Universidade Católica de Brasília. Distrito Federal-Brasília. 2007.

CAPRA F. **As conexões ocultas: Ciências para a vida sustentável**. São Paulo: Cultrix, p. 24-30, 2002.

CASALINI J. Biofilmes Microbianos na Indústria de Alimentos. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), Universidade Federal de Pelotas. Pelotas- RS. 2008.

CHAIZAWANG, M.; SUPHANTHAKIRA, M. Effects of guar gum and xanthan gum additions on physical and rheological properties of cationic tapioca starches. *Carbohydrate Polymers*, v.61, p. 1-9. 2005.

CHUN, W.W. C. Xanthomonadins, Unique Yellow, pigments of the Genus *Xanthomona*. *The Plant Heath Instructor*.v.10, p. 1094-2000. 2002.

CRUZ, S. A.; FARAH, M.; ZANIN, M.; BRETAS, R. E. S. Avaliação das propriedades reológicas de blendas de PEAD virgem/PEAD reciclado. *Polímeros*. v.18, n.2, p. 144-151.2008.

DAWES, W.; SUTHERLAND, W. **Microbial Physiology** Book Description. **Blackwell Science**. 2nd Edition, p. 394, 1992.

DRUZIAN, I.; GOMES, G. V. P.; BRANDÃO, L. V. Uso da biomassa de levedura como substrato, suplementado ou não, para produção de biopolímero tipo goma xantana. Disponível em:<http://www.patentesonline.com.br/uso-da-biomassa-de-levedura-como-substrato-suplementado-ou-nao-para-producao-de-biopolimero-216943.html>. arquivo capturado em 15 de abril 2010.

FERREIRA, R. M.; Secretoma da Bactéria Fitopatogênica *Xanthomonas citri subsp. Citri*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de São Paulo-Unesp, Jaboticabal. Jaboticabal-SP. 2009.

FERREIRA, V. F.; ROCHA, D. R. S.; CARVALHO, F. Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. *Quím. Nova*. v.32, n.3, p. 623-638. 2009.

FIGUEIREDO, J. L.; RIBEIRO, F. R. **Catálise Heterogênea**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, p. 351, 1989.

FONTANIELLA, B.; RODRÍGUES, C.W.; PIÑÓN, D.; VICENTE, C.; LEGAZ, M.-E. Identification of xanthans isolated from sugarcane juices obtained from scalded plants infected by *Xanthomonas albilineans*. *Journal of Chromatography B*, v. 81, p. 270-275. 2002.

FORESTI, A. P. Produção e qualidade reológica da xantana sintetizada por diferentes cepas de *Xanthomonas campestris* em meios modificados. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas- RS. 2003.

FRANCA, R. G.; RUARO, E. C. R. Diagnóstico da disposição final dos resíduos sólidos urbanos na região da Associação dos Municípios do Alto Irani (AMAI), Santa Catarina. *Ciênc. saúde coletiva*. v.14, n.6, p. 2191-2197. 2009.

GALLI, J. A.; PANIZZI, R. C.; SADER, R.; CAMARGO, M. Efeito de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* na Germinação de Sementes de Couve-Flor e Eficiência de Meios de Cultura na Detecção do Patógeno em Sementes de Repolho. *Rev. Brasileira de Sementes*, v. 23, n. 2, p.171-176. 2001.

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

GERN, R. M. M.; WISBECK, E.; RAMPINELI, J. R.; NINOW, J. L.; FURLAN, S. A. Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. *Bioresource Technology*. v. 99, n. 1, p. 76-82, 2008.

GONÇALVES, B. R. L.; PEREZ, L.; ÂNGELO, A. C. D. Glicerol: Uma Inovadora Fonte de Energia Proveniente da Produção de Biodiesel. International Workshop Advances in Cleaner Production São Paulo – Brazil. 2009.

GRISEL, M.; JOUQUAND, C.; AGUNI, Y.; MALHIAC, C. Influence of chemical composition of polysaccharides on aroma retention. *Food Hydrocolloids*, v.22, p.1097-1104, 2008.

HAMINIUK, C. W. I.; SIERAKOWSKI, M. R.; VIDAL, J. R. M. B.; MASSON, M. L. Influence of temperature on rheological behavior of whole Araçá pulp (*Psidium cattleianum* sabine). *Lebensmittel-Wissenschaft und Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie -Food Science and Technology*, v. 39, n. 4, p. 427-431.2006.

HARDING, N. E.; RAFFO, S.; RAIMONDI, A.; CLEARY, J. M.; IELPI, L. Identification, genetic and biochemical analysis of genes involved in synthesis of sugar nucleotide precursors of xanthan gum. *Journal of General Microbiology*, v.139, p.447-457. 1993.

HORN, M. M. Obtenção e Caracterização de hidrogéis de Xantana, Quitosa e Colageno. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo. São Carlos-SP. 2008.

KAWATRA, S. K.; BAKSHI, A. K. On-line measurement of viscosity and determination of flow types for mineral suspensions. *International Journal of Mineral Processing*. v. 47, p.275-283.1996.

LETISSE, F.; CHEVALLEREAU, P.; SIMON, J-L.; LINDLEY, N. D. Kinetic analysis of growth and xanthan gum production with *Xanthomonas campestris* on sucrose, using sequentially consumed nitrogen sources. *Appl Microbiol Biotechnol*. v. 55, p. 417-422. 2001.

LINDEN, G.; LORIENT, D. **Bioquímica agroindustrial revalorización alimentaria de la producción agrícola**. Espanha: Acríbia, 1996.

LOUREIRO, B. V. B.; LAGARES, F.; SILVA, L. A. S. Avaliação Do Desempenho Da Goma Xantana Na Redução De Fator De Atrito. III Encontro Nacional de Hidráulica de Poços. Campos do Jordão – SP, 2009.

LUVIELMO, M. M.; VENDRUSCOLO, C. T.; SCAMPARINI, A. R. P. Seleção de linhagens de *Xanthomonas campestris* para a produção de goma xantana. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológica*, v. 28, n.2, p. 161-172. 2007.

LUVIELMO, M. M.; SCAMPARINI, A. R. P. Goma Xantana: Produção e Recuperação, propriedades e aplicações. *Estudos tecnológicos*, v. 5, n.1, p. 50-67. 2009.

KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's Manual of determinative bacteriology**. 9a. Edição. Editora Williams & Wilkins, p. 787, 1994.

MALI, S.; GROSSMAN, M V. E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 24, p.7055-7011, 2003.

MANTOVANI, E. S.; MARINI, D. C.; GIGLIOTI, E. A. Gramíneas hospedeiras de *Xanthomonas sp.*, agente causal da falsa estria vermelha da cana-de-açúcar. *Summa phytopathol*. v.32, n.2, p. 124-130. 2006.

MARIA, T. M. R.; NUNES, R. M. D.; PEREIRA, M. M.; EUSEBIO, M.; ERMELINDA S. Argilas como catalisadores verdes na esterificação do colesterol: caracterização espectroscópica e identificação de polimorfos por métodos de análise térmica. Uma proposta laboratorial interdisciplinar para o 1º ciclo universitário. *Quím. Nova*. v.32, n.8, p. 2225-2229. 2009.

MATTA JUNIOR M. D. Caracterização de Biofilmes Obtidos a partir de Amido de Ervilha Associado à Goma Xantana e Glicerol. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo. Piracicaba- São Paulo. 2009.

MAUGERI, F. Produção de Biopolímeros. In: Lima, U.A., Aquarone, E., Borzani, W., Schmidell, W., Biotecnologia Industrial. v. 3. E. Blucher, 2001.

MAC FADDIN, J. S. *Biochemical test for identification of medical bacteria*. Lippincott Williams & Wilkins, 3th ed, 2000.

MAYER, L.; VENDRUSCOLO, C. T.; SILVA, W. P.; MOURA, A. B. Produção, Propriedades Reológicas e Composição Química da Xantana Produzida por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial* .v. 02, n. 02, p. 87-95, 2008.

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

MESOMO, M. C. Produção de Goma Xantana em Biorreator Utilizando Meio à Base de Soro de Queijo. Tese de Mestrado, URI, Erechim- RS. 2007.

MOREIRA, A. S. Produção, caracterização e aplicação de biopolímero sintetizado por cepas de *Xanthomonas campestris* pv *pruni*.. Tese de, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas-RS. 2002.

MOREIRA, L. M.; SOUZA, R. F.; DIGIAMPIETRI, L. A.; SILVA, A. C. R.; SETUBAL, J. C. Análise comparativo entre os genomas completos de *Xanthomonas* e *Xylella*. *A Journal of Integrative Biology*; v. 9, n. 1, p. 43-76. 2005.

NCPPB. 2009. National Collection of Plant Pathogenic Bacteria. disponível em: www.ncppb.com. . capturado em: 29/03/2009.

NERY, T. B. R.; BRANDAO, L. V.; ESPERIDIAO, M. C. A. DRUZIAN, J. I. Biossíntese de goma xantana a partir da fermentação de soro de leite: rendimento e viscosidade. *Quím. Nova*. v.31, n.8, p. 1937-1941. 2008.

NETO, E. F.; LOPES, M. P. C.; PALHARIN, L. H. C.; SAMBUGARO, R. Revisão Literária Sobre Cancro Cítrico (*Xanthomonas Axonopodis* Pv. *Citri*). *Revista Científica Eletônica de Agronomia*. v. 10 p.1677-0293. 2006.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. *J. Nat. Prod.* v.70, p. 461-477. 2007.

NITSCHKE, M.; RODRIGUES, V.; SCHINATTO, L. F. Formulação de meios de cultivo à base de soro de leite para a produção de goma xantana por *X. Campestris* . *Ciênc. Tecnol. Aliment.* v.21, n.1, p. 82-85. 2001.

NUNES, M. PAULA.; MEHTA A.; AGUIAR, P. H. CIA, E.; *et al.* Análise da diversidade genética de isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* do algodoeiro. *Summa phytopathol.* v.35, n.2, p. 105-109. 2009.

NUNESMAIA, M. F. A Gestão de Resíduos Urbanos e Suas Limitações. *TECBAHIA Revista Baiana de Tecnologia*, v.17, n.1, p.120-129. 2002.

PADILHA, F. F. Produção de biopolímeros por microrganismo modificados geneticamente. Tese de Doutorado, UNICAMP, São Paulo- SP. 2003.

PAGLIARINI, A. P.; DRUZIAN, J. I. Produção de goma xantana por fermentação do resíduo de suco de maçã. *Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment*, v.27, p. 26-31. 2007.

PAN, A.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, C. T. Efeito da Concentração Inicial do Inóculo no Crescimento Celular e Qualidade de Biopolímeros de *Xanthomonas Campestris* pv. *Pruni* Cepa 06. *Rev. Bras. de Agrociência*, v.6 n.3, 273-277. 2000.

PIMENTEL, A. S.; ARBILLA, G.; Cinética Não-Isotérmica na Análise Térmica de Sólidos. *Química Nova*. v.21, n.3, p. 263 -266 .1998.

PORTELA, R. B.; FARIA, S.; RESENDE, M. M.; CARDOSO, V. L. Modelagem da Produção de Goma Xantana por *Xanthomonas*. *Horizonte científico*. v. 1, n. 8, p.1-6. 2008.

QUEIROZ, A. J. M. Estudo do comportamento reológico dos sucos de abacaxi e o manga. Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas-SP. 1998.

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, p.627–633. 2010.

SANDFORD P.A., BAIRD J. In: Aspinall GO, editor. **The polysaccharides**. Prague: Academia Press, p.470, 1983.

SILVA, M. F.; FORNARI, R. C. G.; MAZUTTI, M. A.; OLIVEIRA, D.; PADILHA, F. F.; CICHOSKI, A J.; CANSIAN, R. L.; *et al.* Production and characterization of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. *Journal of Food Engineering*. v.90, p.119–123. 2009.

SILVEIRA, C. F.; PREICHARDT, L. D.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, C. T. Modificações Químicas em Xantana Produzida por *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* Promovidas por Tratamento Térmico. *Rev. Bras. de Tecnol. Agroindustrial*. v. 02, n. 02, p. 32-41. 2008.

SIMSEK, S. Application of xanthan gum for reducing syruing in refrigerated doughs. *Food Hydrocolloids*. v. 23, p. 2354–2358. 2009.

SOARES, J. Desenvolvimento De Meio Semi-Seletivo para Detecção de *Xanthomonas Axonopodis* Pv. *Malvacearum* em Sementes de Algodoeiro. Dissertação De Mestrado, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo-RS. 2006.

STEFFE, J. F.. **Rheological Methods in Food Process Engineering**. USA: Freeman Press, 1996.

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

TAKEUCHI, A.; KAMIRYOU, Y.; YAMADA, H.; ETO, M.; *et al.* Oral administration of xanthan gum enhances antitumor activity through Toll-like receptor. *International Immunopharmacology*. V. 9, p.1562–1567. 2009.

TEIXEIRA, R. A. Reologia e teste de deslocamento de soluções poliméricas com potencial de uso em recuperação avançada de petróleo. Dissertação de Mestrado. Universidade de Salvador, Salvador-BA. 2005.

THOMAS, J. E. **Fundamentos de Engenharia de Petróleo**. Ed. Interciência. p. 81-87. Rio de Janeiro, 2002.

VENDRUSCOLO, C. W. Goma Xantana e Galactomanana (M. scabrella): Desenvolvimento de Matrizes Hidrofílicas para liberação Modificada de Teofilina. Dissertação de mestrado, Universidade do Vale do Itajaí, Vale do Itajaí-SC. 2005.

VITALI, A. A.; RAO, M. A. Flow properties of low-pulp concentrated orange juice: effect of temperature and concentration. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 49, p. 882-888. 1984.

WEBER, F. H.; QUEIROZ, F. P. C.; CHANG, Y. K. Estabilidade de géis de amido de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose adicionados de gomas guar e xantana durante os processos de congelamento e descongelamento. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* v.28, n.2, p. 413-417. 2008.

ZAMBRANO, F.; HIKAGE, A.; ORMENESE, R.C.C.; MONTENEGRO, F.M.; RAUEN-MIGUEL, A.M. Efeito das gomas guar e xantana em bolos como substitutos de gordura. *Brazilian Journal of Food Technology*. n.1, v.8, p.63-71, 2005.

**CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE GOMA
XANTANA A PARTIR DE RESÍDUOS DA OSTRÁ E DO
CARANGUEJO**

Characterization of xanthan gum obtained using chitin from crabs and oysters as carbon source

Authors: Elisiane Cristina Andrade Reis^{1,2}, Yzila Liziane Farias Maia-Araújo¹, Janice Izabel Druzian³, Luiz Pereira da Costa, Mayra Santos Almeida, Maria José Vieira Fonseca⁴, Ricardo Luiz Cavalcanti de Albuquerque-Júnior^{1,2}, Francine Ferreira Padilha^{1,2*}, Juliana Cordeiro Cardoso^{1,2}

Address: ¹Instituto de Tecnologia e Pesquisa, Aracaju, SE, Brazil; ²Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brazil; ³Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brazil; ⁴Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil. *Correspondence to Francine Ferreira Padilha, Av. Murilo Dantas, 300, Campus Farolandia, Aracaju, 49032-490, Sergipe, Brazil, e-mail: fpadilha@yahoo.com

Abstract: Chitin waste is a carbon source and can be used as substrate for the production of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. The aim of this work was the evaluation of thermal properties of xanthan gum using chitin waste from crabs (XCRA) and oyster (XOYST) shell as substrate. The conventional culture media were supplemented with powder of crabs or oyster shell. The obtained biopolymers were characterized using differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA). The xanthan obtained using chitin wastes (XCRA and XOYST) showed a thermodegradation profile with single step, diverse from the xanthan using sucrose (XSUCR) as substrate that present two steps of weight loss. The temperature of exothermic event of XCRA and XOYST was higher than XSUCR. The thermal weight loss of XCRA and XOYST occurred with a single step, while XSUCR presented two steps. The gum obtained with chitin waste presented higher thermal stability suggesting a higher interaction between the polysaccharides chains.

Keywords: Thermal analysis, chitin, xanthan gum, biodegradable polymer

2.1. Introduction

Xanthan gum is an extracellular hetero-polysaccharide, which is produced by the aerobic fermentation of *Xanthomonas sp.* This biopolymer is composed of saccharide repeating units, containing d-glucose, d-mannose, d-glucuronic acid, acetal-linked pyruvic acid and d-acetyl groups (MARTINEZ-RUVALCABA & RODRIGUES, 2007; PSOMAS, LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES & KYRIAKIDIS, 2007). The production and the properties of xanthan gum are influenced by bacterial strain, culture medium (substrate), temperature, pH, time of fermentation, agitation rate, impeller type and oxygenation (PSOMAS, LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES & KYRIAKIDIS, 2007; SCHULTHEIS *et al.*, 2009). The carbon sources used for xanthan production are sugars, such as glucose and sucrose. The high cost of these substrates has an impact on production costs. The search for less expensive carbon sources, like industrial wastes or industrial by-product, to decrease the production costs is important (ROSALAM & ENGLAND, 2006; HILLIOU, OLIVEIRA & REIS, 2007).

Chitin waste is an example of low cost carbon source that can be used for the production of microbial polysaccharides. Generally, chitin is obtained from a variety of crustaceans, like crabs and oyster shells, which represent a vast amount of chitin waste from the aquatic food industry. Chitin is very difficult to biodegrade and this characteristic creates an environmental problem (SONGSIRIRITTHIGUL *et al.*, 2010).

The carbon source influences on the final characteristics of obtained biopolymer (ROSALAM & ENGLAND, 2006; SCHULTHEIS *et al.*, 2009). Then, the knowledge of the thermal properties of the xanthan produced using different carbon sources can improve the understanding of chemistry mechanism of xanthan production and shows the possibility of the use of these polysaccharides. In addition, the thermal characterization of biopolymer is essential to evidence the industrial use of the (HONMA, SENDA & INOUE, 2007).

The goal of this study was investigate the changes of thermal properties of the xanthan obtained from substrates chitin-rich from crabs (*Ucides cordatus*) and oyster shells (*Crassotea brasiliiana*) using differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetry/derivative thermogravimetry (TG/DTG).

2.2. Materials and methods

2.2.1. Materials

The crab and oyster shells collected from a marine food processing industry were washed thoroughly with tap water and then steamed. The material was dried at 50°C, 12h, milled and sieved, obtaining powder with particles diameters <0.053 mm.

2.2.2.1. Microorganism

Xanthomonas campestris IBSBF 629 from the collection of culture of phytobacteria (Laboratory of Vegetal Bacteriology – Biologic Institute/ Campinas, SP, Brazil). The strain was maintained at 4°C, in YM (Yeast Malt) medium containing (g.L⁻¹) yeast extract 3.0, malt extract 3.0, peptone 5.0, glucose 10.0, and agar 20.0.

2.2.2.2. Fermentation

The production of cells was carried out in 14 mL liquid YM medium in 300 mL erlenmeyers, in two steps. Firstly a pre-inoculum was prepared, inoculating a loopful of stock culture in 50 mL of YM medium and incubating at 120 rpm, 28°C, for 24 h. The inoculum was prepared by the addition of 1 mL of pre-inoculum culture to 14 mL of YM medium incubated in an orbital shaker, at 120 rpm, 28°C, for 24 h, when cell concentration reached 10¹¹ CFU.mL⁻¹.

The medium production contained the following concentrations (g.L⁻¹): NH₄H₂PO₄ – 2.5; K₂HPO₄ – 5.0; H₃BO₃ – 0.006; (NH₄)₂SO₄ – 2.0; FeCl₃ – 0.0024; CaCl₂.2H₂O – 0.002; ZnSO₄ – 0.002; carbon source – 50.0, pH 7.0. The media were supplemented with the various carbon sources to be investigated. The carbon sources being investigated included crab powder (XCRAB), oyster powder (XOYST) and sucrose (XSUCR).

The production medium was added to the medium containing cells (inocula) and incubated in an orbital shaker at 28°C, 96 h, 200 rpm. After inoculation, work volume was 100 mL.

Biopolymer recovery

After fermentation, the broth was centrifuged at 10000 x g for 15 minutes at 4°C, for cell separation. The polysaccharide was precipitated from the supernatant with the addition of ethanol 95% (1:4). The precipitate was dried at constant weight at 50°C ± 5°C, dialyzed for 48 h against sterile Milli-Q[®] water, lyophilized, and stored in hermetical flasks until further analyses.

Experimental runs were performed in triplicate, the productivity and apparent viscosity were used as the response. Results were statistically evaluated using ANOVA and Tukey's test. The productivity represents the total yield of the production, extraction and purification processes of xanthan gum and was calculated dividing the mass of lyophilized xanthan (g) by the medium volume (L).

2.2.2.3 Rheological measurements

Rheological measurements of the aqueous dispersions (3 % w/v) of the xanthan gum were carried out using a controlled stress rheometer (MCR 301, Anton Paar Physica, Austria) calibrated and certificated, with a parallel plate fixture (diameter 25 mm with gap of 1 mm) at 25 °C ± 0.01°C controlled by means of a Peltier system. Flow curves were plotted from the corresponding transient tests (apparent viscosity, η (Pa.s), vs. time at constant shear rate, $\dot{\gamma}$ (s⁻¹) at different shear

rates in a wide range from 0.01 to 300 s⁻¹.

2.2.2.4 *Thermal analysis*

Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Thermogravimetric Analysis (TGA) thermograms were recorded on a TA-50WSI Shimadzu. Each sample, under dynamic nitrogen atmosphere (100 mL.min⁻¹), was packed in an aluminum pan and heated from 25 to 500°C at a rate of 10°C.min⁻¹.

2.3. Results and discussion

2.3.1 *Xanthan gum production*

The table 1 shows the results of the production of xanthan gum using sucrose (standard medium) and crab and oyster residues as carbon source in the fermentative medium for *Xanthomonas campestris* 629. The use of chitin residues instead sucrose increased significantly the gum production ($p > 0.05$). The residue from oyster presented the highest productivity.

Table 1. Production of Xanthan Gum with the strain of *Xanthomonas campestris* 629.

Residues	Production (g.L ⁻¹)*	Productivity (g.L ⁻¹ .h ⁻¹)*
Oyster	4.70± 0.07 ^a	0.049
Crab	3.15± 0.16 ^b	0.033
Sucrose	1.32± 0.04 ^c	0.014

* same letters in the column represent statistically identical values ($p < 0.05$).

The production of the gum is influenced by the composition of the carbon source as fermentation substratum, strains of microorganism and conditions of process (MAYER *et al.*, 2008). The high carbon concentration in the fermentation

medium improves the xanthan gum production (PAGLIARINI & DRUZIAN, 2007). Moreover, the nitrogen sources as the urea, peptone and extract of leavening and some micronutrients as potassium, iron and calcium also influence in the polymeric production (LUVIELMO & SCAMPARINI, 2009). The use of alternative material like aquacultures residues, carbon-rich and micronutrients as calcium, magnesium, iron and potassium presented in oysters shells (AGRIPINO, 2009), as well as, the Zn, Fe and Cu in the crab residues (PEDROSA *et al.*, 2001) can influenced positively in the xanthan production.

The influence of the concentration and the source of the carbon in the yield and quality of obtained polymer can be observed in works that had used alternatives substratum. BRANDÃO *et al.*, (2008), using the *Xanthomonas campestris manihotis*, had studied the addition of the broth of sugar cane for bioproduction of the gum and obtained 33.54 g.L⁻¹. Pagliarini & Druzian (2007), using the *Xanthomonas maniothis* strain 280 used as substratum apple juice residues supplemented with 0.05% of urea and 0.5% of KH₂PO₄ and reached yield around 45 g.L⁻¹. These findings showed that the broth of sugar cane and the apple juice residues increased over than ten times the gum production compared to the use of sucrose as substratum (PAGLIARINI & DRUZIAN, 2007, BRANDÃO *et al.*, 2008). The xanthan synthesis from residues of oyster shells was of 3.5 times higher than the production using sucrose. These results were similar to the Nery *et al.*, (2008), that used the *Xanthomonas campestris* 1866 and 2103 *Xanthomonas mangiferaeindicae* and milk serum as carbon source to fermentation process.

The amount of gum production is also associated the strain of *Xanthomonas* used in the fermentation process (LUVIELMO *et al.*, 2007). CANUTO (2006) observed that the xanthan biosynthesis using cassava residues presented for strain CCT5677 1.19 g/L⁻¹ of production and for LPB01 5.77 g/L⁻¹. The citric pulps as carbon source presented for strain CCT5677 presented yield of 0.98 g/L⁻¹ and for strain LPB01 of 4.65 g/L⁻¹. These results were similar to finds in the present work.

The results obtained for chitin rich-residues for production of gum using *Xanthomonas campestris* IBSBF 629, mainly with residues from oyster shells presented a great potential for biosynthesis of high productivity. There is no evidence

in the literature about the use of aquaculture residues for the xanthan production and these results show this possibility. It was evident that it is possible and the residues from oyster and crab seem to be convenient. Therefore, Brazil, in special the Brazilian Northeast, presents enough subsidies and raw materials for large-scale xanthan bioconversion.

2.3.2 Rheological properties

The rheological properties influence in the processing and application of the xanthan gum. The analysis of this parameter is very important to define the use of this biopolymer. The data of rheology were show in Figure 1. The gum obtained with strain *Xanthomonas campestris* 629 from crab and oyster waste presented initial apparent viscosity higher than that obtained with sucrose. The gums showed pseudoplastic behavior, that it is characteristic of these polymers, where the viscosity decreases with increasing shear rate. Similar result was observed by Padilha, 2003.

The apparent viscosity of the aqueous solutions 3% of gums of the XCRAB (about 480 mPa.s⁻¹) and of the XOYST (about 410 mPa.s⁻¹) showed better rheological characteristic as for example food thickener than XSUCR.

According to Brandão *et al.*, (2008), the apparent viscosity of xanthan gum from sugar cane residue was 99.36 mPa.s⁻¹ (2.0% solution and 25 s⁻¹). It was higher than that the XOYST viscosity, which showed a value of 50.6 mPa.s⁻¹ (3.0% solution and 29 s⁻¹).

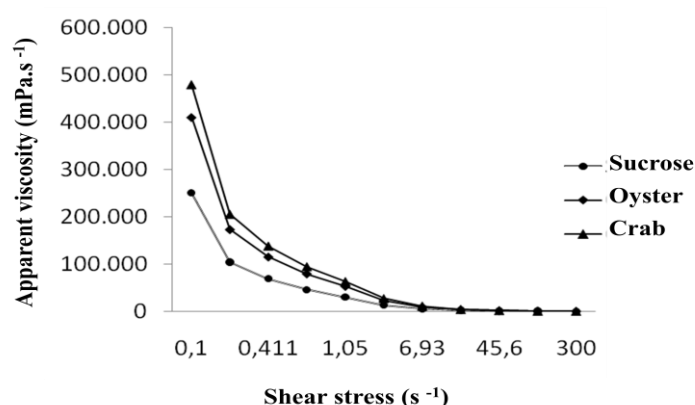


Figure 1 - Apparent viscosity of xanthan gum obtained from aquaculture waste and sucrose

Viscosity parameter is very influenced by the chemical composition of the xanthan gum and can present quantitative and/or qualitative variations depending on the composition of this polymer (MOREIRA, 2002). Viscosity is influenced by pH, temperature and presence of ions. Generally, pH between 3.0 and 7.0 decreases the apparent viscosity polymer solution. However, when pH is kept around 5.0, no alterations are observed. The addition of CaCO₃ in the xanthan solution can change the pH, and consequently modifies the viscosity values. The presence of KCl 1% (w/V) in polymer solution decreases the viscosity, independently of the pH of xanthan solution.

The composition of the crab and oyster residues had increased the viscosity of the xanthan solutions 3%. These chitin residues contains high concentration of calcium (approximately 95% of the total of minerals) and other minerals like Mg, Fe and K in oysters shells (AGRIPINO, 2009), and Zn, Fe and Cu in the crab residues (PEDROSA *et al.*, 2001). The high concentration of minerals probably can contribute for the increase of the apparent viscosity.

Therefore, for a specific polymer application, the study of the interference of the electrolyte addition and its influence are important. The process conditions and the substratum for polysaccharide biosynthesis can modify the rheological behavior of gum solution (DIAZ *et al.*, 2004). This interaction is different depending on the ion valence. The selectivity of xanthan will be higher for bivalent than for monovalent

cation (LOPEZ *et al.*, 2004). Fernandes-Silva *et al.*, (2009) added calcium chloride (1.0%) in xanthan solutions 3% and observed the significant increase of apparent viscosity. However, for sodium chloride addition (1.0%) in xanthan solution 3% the effect was reversed. The discussion and knowledge about the effect of ionic strength on the polymer viscosity is very important and the characterization of qualitative and quantitative influence of polyelectrolytes composition must be studied.

Tako and Nakamura (1984) showed that the rheological characteristics of xanthan gum are also dependent of the molecular weight and the acetate group content in the polymer structure. Therefore, the production conditions, strain and substratum can modify the ramifications of biopolymer and the molecular weight. The low available acetyl group in the xanthan molecule influence directly the viscosity of gum solution, producing a more viscous, firm and flexible solution (SLONEKER & JEANES, 1962 APUD: BORGES & VENDRUSCOLO 2008).

Garcia-Ochoa *et al.*, (2000) showed that, at reduced shear rate, the increase of viscosity is evident. The high viscosity found in this study for the xanthan solutions, can be associated with low shear rate used during the analysis. The results of viscosity in the present work were different than one found by Nery *et al.* (2008). They used gum solution 2% obtained from milk serum and obtained apparent viscosity of 57.30 mPa.s⁻¹ with shear rate from 25 to 1000 s⁻¹.

2.3.3 Thermal analysis of xanthan gum

The thermal curves (DSC and TGA) of samples obtained from chitin media showed similar profile (Figure 2 and 3). These samples did not present an endothermic peak around 200°C, like XSUCR, produced using sucrose as carbon source (Figure 2). The exothermic event of XCRAB and XOYST showed a displacement to higher temperature when compared with XSUCR. The first endothermic curve refers to dehydration step and appears for all polymers. The XSUCR presented an endothermic double peak around 200°C, absent in DSC of XCRAB and XOYST. This thermal event observed on DSC curve is reflected on TGA curve, with weight loss at 200°C. This polymer, obtained from sucrose as carbon

source, presented a lower initial temperature of degradation than XCRAB and XOYST (Figure 3).

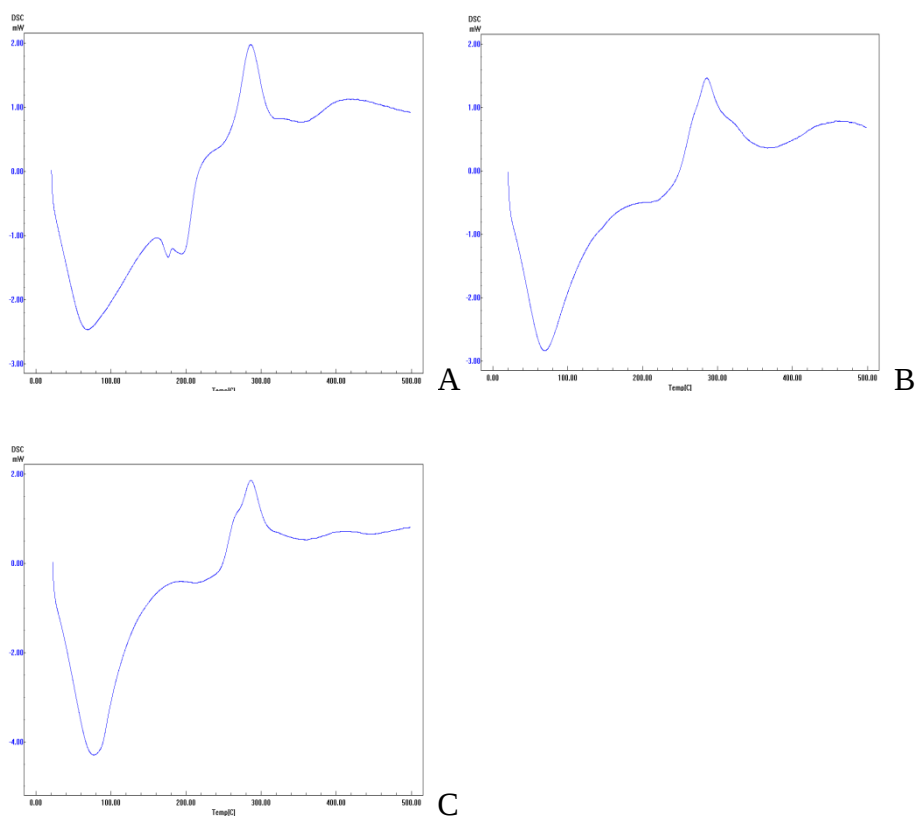


Figure 2. Differential Scanning Calorimetry of samples of xanthan gum obtained from (A) sucrose, (B) oyster and (C) crab as carbon source.

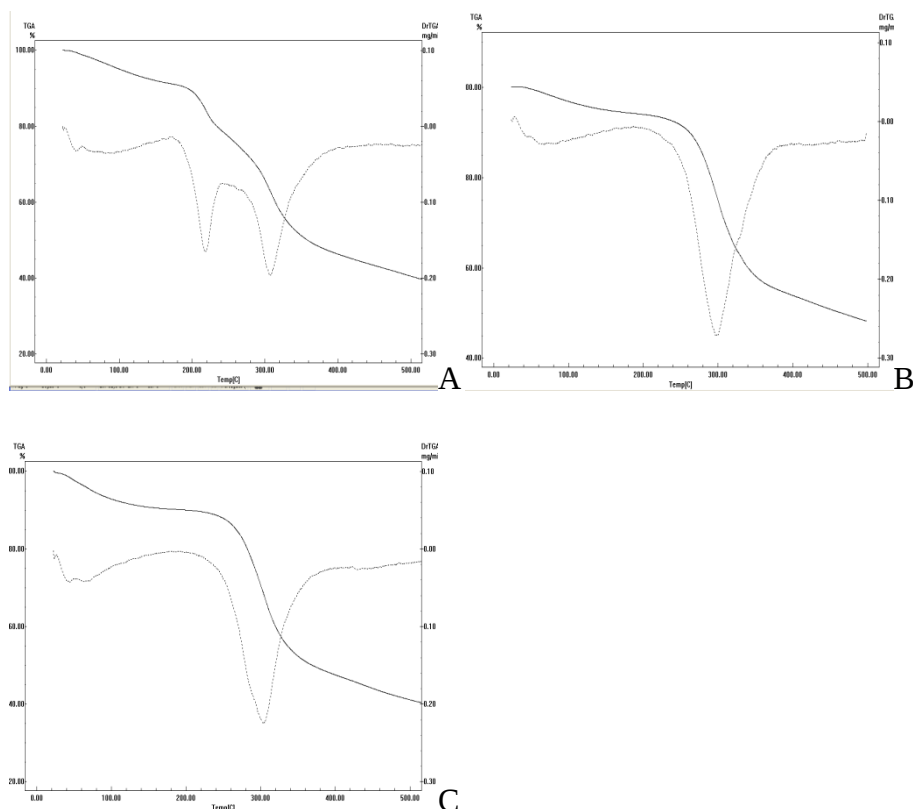


Figure 3. Thermal gravimetric analysis of xanthan gum samples obtained from (A) sucrose, (B) oyster and (C) crab as carbon source.

The figure 3 showed the steps of thermal degradation of obtained polymers. It is possible observed that the XSUCR present three steps of weight loss. The first one, is quite similar for the three polymers and represent the lost of volatile compounds, included water. The second event of weight loss for XSUCR occurs around 200°C absent in XCRAB and XOYST. The third one occurs for all polymers around 300°C.

The results suggest that the polymer obtained from chitin residues presents more thermal stability than XSUCR.

2.4. Conclusion

It was possible to obtained xanthan gum with high productivity, suitable apparent viscosity and superior thermal stability from aquiculture residues as substrate for

xanthan gum production by *X. campestris* IBSBF 629. The results allow to affirm that it is possible to produce xanthan gum from crab and oyster residues.

2.5. References

AGRIPINO, A. A. Contributo para a Valorização da Concha de Ostra como Suplemento Alimentar: Caracterização Química da Concha. Dissertação de Mestrado da Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade nova de Lisboa – Portugal. 2009.

BRANDAO L.V.; NERY T.B.R., ESPERIDIAO, M.C.A., DRUZIAN, J.I. (2008). *Ciencia e tecnologia de alimentos*. v. **28**, p. 217-222. 2008.

CANUTO, A. P. Desenvolvimento De Bioprocesso Para Produção De Goma Xantana Por Fermentação no Estado Sólido a Partir de Resíduos e Subprodutos Agroindustriais. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná. Curitiba-PR . 2006.

DIAZ, P. S.; VENDRUSCOLO, C. T.; VENDRUSCOLO, J. L. S. Reologia de Xantana: uma revisão sobre a influência de eletrólitos na viscosidade de soluções aquosas de gomas xantana. ***Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas***. v.25, n 1, 15-28. 2004.

FERNANDES-SILVA, M. F.; FORNARI, R. C. G.; MAZZUTI, M. A.; OLIVEIRA D., PADILHA, F. F.; *et al.* Production and characterization of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. *Journal of Food Engineering*. v. 90, p. 119-123. 2009.

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

HILLIOU, L.; FREITAS, F.; OLIVEIRA, R.; REIS, M.A.M.; LESPINEUX, D.; GRANDFILS, C.; ALVES, V.D. Solution properties of an exopolysaccharide from a *Pseudomonas* strain obtained using glycerol as sole carbon source. *Carbohydrate Polymers*. v. 78, p. 526–532. 2009.

HONMA, T.; SENDA, T.; INOUE, Y. Thermal properties and crystallization behavior of blends of poly (ϵ -caprolactone) with chitin and chitosan. *Polymer International*. v.52, p.1839-1846. 2003.

LOPEZ, M.J., VARGAS-GARCÍA, M.C., SUAREZ-ESTRELLA, F., MORENO, J. Properties of xanthan obtained from agricultural wastes acid hydrolysates. *Journal of Food Engineering*. v. 63, p.111–115. 2004.

LUVIELMO, M. M.; VENDRUSCOLO, C. T.; SCAMPARINI, A. R. P. Seleção de linhagens de *Xanthomonas campestris* para a produção de goma xantana. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológica*, v. 28, n.2, p. 161-172. 2007.

LUVIELMO, M. M.; SCAMPARINI, A. R. P. Goma Xantana: Produção e Recuperação, propriedades e aplicações. *Estudos tecnológicos*, v. 5, n.1, p. 50-67. 2009.

MARTINEZ-RUVALCABA, A.; CHORNET, E.; RODRIGUES, D. *Carbohydrate Polymers*. v. 67, p. 586–595. 2007.

MAYER, L.; VENDRUSCOLO, C. T.; SILVA, W. P.; MOURA, A. B. Produção, Propriedades Reológicas E Composição Química Da Xantana Produzida Por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*. v. 02, n. 02, 87-95. 2008.

MOREIRA, A. S. Produção, caracterização e aplicação de biopolímero sintetizado por cepas de *Xanthomonas campestris* pv *pruni*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2002.

NERY, T. B. R.; BRANDAO, L. V.; ESPERIDIAO, M. C. A.; DRUZIAN, J. I. Biossíntese de goma xantana a partir da fermentação de soro de leite: rendimento e viscosidade. *Quím. Nova*. v.31, n.8, p.1937-1941. 2008.

PADILHA, F. F. Produção de biopolímeros por microrganismo modificados geneticamente. Tese de Doutorado, UNICAMP, São Paulo- SP. 2003.

PAGLIARINI, A. P.; DRUZIAN, J. I. Produção de goma xantana por fermentação do resíduo de suco de maçã. *Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment*, v.27, p. 26-31. 2007.

PEDROSA, L F C.; COZZOLINO, S M F. Composição Centesimal de Minerais e de Mariscos Crus e Cozidos Da Cidade De Natal/Rn. *Ciênc. Tecnol. Aliment*. v.21 n.2 Campinas. 2001.

PSOMAS S. K.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES M.; KYRIAKIDIS D.A. Optimization study of xanthan gum production using response surface methodology *Biochemical Engineering Journal* .v.35, p. 273–280. 2007.

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

SLONEKER, J. H. & JEANES, A. (1962).Exocellular bacterial polysaccharide from *Xanthomonas campestris* NRRL B – 1459. *Canadian Journal of Chemistry*, 40, n. 11, 2066-2071. Apud: Borges, C. D., Vendruscolo, C. T. Goma Xantana: características e condições operacionais de produção. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*. v. 29, n. 2, p.171-188. 2008.

SCHULTHEIS, E.; DREGER, M. A.; MUNOZ-VILLEGAS, J. M.; ESCALANTE, J. I.; FRANCO-LARA, E.; NÖRTEMANN B. **Rheological characterization of culture broth containing the exopolysaccharide PS-EDIV from *Sphingomonas pituitosa*** *Biochemical Engineering Journal*. v. 47, p. 116-121. 2009.

SONGSIRIRITTHIGUL, C.; LAPBOONRUENG, S.; PECHSRICHUANG, P.; PESATCHA, P.; YAMABHAI, M. *Bioresource Technology*. v.101, p.4096–4103 2010.

TAKO, M.; NAKAMURA, S. Rheological properties of deacetylated xanthan in aqueous media. *Agricultural Biology Chemical* v. 48, p.2987-2993. 1984.

CAPÍTULO 3 – CARACTERIZAÇÃO DE GOMA XANTANA PRODUZIDA COM GLICEROL

THERMAL CHARACTERIZATION OF XANTHAN GUM OBTAINED FROM BIODIESEL BY-PRODUCT AS CARBON SOURCE

Elisiane Cristina A. Reis¹; Yzila L.F. Maia-Araújo¹, Luiz P. Costa²; Ricardo Luiz C. Albuquerque-Júnior¹; Adriano Antunes S. Araújo², Mayra Santos Almeida¹, Maria José V. Fonseca³, Juliana Cordeiro Cardoso¹, Paula S. Nunes¹, Francine Ferreira Padilha¹

¹ Instituto de Tecnologia e Pesquisa/Universidade Tiradentes, Aracaju, Brasil,
juaracaju@yahoo.com.br

² Departamento de Fisiologia/Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, Brasil,
adriasa2001@yahoo.com.br

³ Departamento de Ciências Farmacêuticas/FCFRP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil, magika@fcrfp.usp.br

ABSTRACT

The use of the glycerol, by-product formed by the biodiesel production, is a challenge of the biofuel industry, since each ton of biodiesel produced 100 Kg of glycerol. This by-product can be used in other areas as “ecofriend stuff” and substitute material for expensive raw material. The glycerol alternative use have been investigated as substrates in the fermentation process or the production of biosurfactants, fatty acids, biopolymers, and others products. This aim of this work was the characterization of xanthan gum produced using fermentative medium with glycerol carbon source. The medium were prepared with sucrose (XS) and with sucrose: glycerol 1:1 (XG). The obtained biopolymers were characterized using analysis (DTA/TGA), infrared spectroscopy and rheology. The thermal profile of the obtained polymers was different, showing changes of the enthalpy value at 311°C in the DTA curve. The thermal decomposition of the XS gum presented four steps of degradation and the XS only three. The xanthan gum productivity for XGS was lower than XS. The viscosity of both the polysaccharides (XS and XGS) was similar. The use of glycerol as carbon source in order to xanthan gum production can alter some characteristic of polymer.

Keywords: glycerol, xanthan gum, thermal analysis

3.1. Introduction

Xanthan gum is hetero-polysaccharide, produced by fermentation process using *Xanthomonas sp* (PSOMAS, LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES & KYRIAKIDIS, 2007; MIKA IIJIMA *et al.*, 2007). The structure of the polysaccharide is composed of a cellulose backbone, with trisaccharide side chains on alternating anhydroglucose units (SERENO, HILL & MITCHELL, 2007).

This biopolymer is used in a wide variety of food and pharmaceutical formulations as thickener, dispersing agent and stabilizer of emulsions and suspensions (Rosalam and England, 2006). However, this product is relatively expensive due to carbon source used for production (sucrose or glucose). The cost of these substrates has an impact on production costs. The search for less expensive carbon sources, like industrial wastes or industrial by-product, to decrease the production costs is important (KURBANOGLU & KURBANOGLU, 2007; ROSALAM & ENGLAND, 2006).

The incentive for the utilization of residues is objective of a model of sustainable development, for this reason, is stimulated the reduction of the amount of generated residues, the valuation of these and the to lessen of the risks proceeding from its discarding. In this context, the study of as to make possible the reduction of them in the generating source an essential alternative became (NUNESMAIA, 2002).

The productive process of the xanthan gum has benefited the industries mainly in the exploitation of residues, as in the use of the serum proceeding from the manufacture of the cheese as substratum for synthesis of xantana gum (MESOMO, 2007). The juice residue of the apple is considered an excellent supplement in the production of gum (PAGLIARINI & DRUZIAN, 2007). The use of the juice of the palm Date, another generated by-product of the industrial use of the Date (*dactylifera Phoenix L.*), has been considered promising in the production of the xanthan gum. The date is a known palm popularly as palm, is used in the manufacture of vinegar and its by-product generally is discarded or depending on the viability it is transformed into pie to feed cattle (SALAH *et al.*, 2010).

Glycerol is a by-product of industrial process, mainly from biodiesel production and has been generated in large quantities. The production of microbial polysaccharide using glycerol as carbon source has been studied recently (HILLIOU *et al.*, 2009; GILS, RAY & SAHOO, 2009). The carbon source can influence on the final characteristics of obtained biopolymer (PSOMAS, LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES & KYRIAKIDIS, 2007). Then, the knowledge of the characterization of the xanthan produced with different carbon source can shows the possibility of the use of a by-product as stuff to decrease a cost production. In addition, the thermal characterization and the viscosity of biopolymer are essential to evidence the industrial use of the polymer. The goal of this study was characterize the xanthan gum obtained from substrate containing glycerol using thermal analysis (DTA and TGA), rheology and infrared spectroscopy.

3.2. Materials and Methods

3.2.1. Microorganism, Fermentation and Biopolymer recovery

Xanthomonas campestris IBSBF 356 from the collection of culture of phytobacteria (Laboratory of Vegetal Bacteriology – Biologic Institute/ Campinas, SP, Brazil). The strain was maintained at 4°C, in YM (Yeast Malt) medium containing (g.L⁻¹) yeast extract 3.0, malt extract 3.0, peptone 5.0, glucose 10.0, and agar 20.0. The production of cells was carried out in liquid YM medium in two steps. Firstly a pre-inoculum was prepared, inoculating a loopful of stock culture (YM medium/120 rpm/28°C/24 h). The inoculum was prepared by the addition of pre-inoculum culture to 14 mL of YM medium incubated in an orbital shaker (120 rpm/28°C/24 h), when cell concentration reached 10¹¹ CFU.mL⁻¹.

The medium production contained the following concentrations (g.L⁻¹): NH₄H₂PO₄ – 2.5; K₂HPO₄ – 5.0; H₃BO₃ – 0.006; (NH₄)₂SO₄– 2.0; FeCl₃ – 0.0024; CaCl₂.2H₂O – 0.002; ZnSO₄ – 0.002; carbon source – 50.0, pH 7.0. The carbon sources investigated were glycerol:sucrose 1:1 (XGS) and sucrose (XS). The production

medium was added to the medium containing cells (inocula) and incubated in an orbital shaker (28°C/96 h/200 rpm/100 mL). After fermentation, the broth was centrifuged at 10000 x g for 15 min at 4°C, for cell separation. The polysaccharide was precipitated from the supernatant with the addition of ethanol 95% (1:4). The precipitate was dried at 50°C $\pm$ 5°C, dialyzed for 48 h against sterile Milli-Q[®] water, lyophilized, and stored until further analyses.

Experimental runs were performed in triplicate, the productivity were determined. The results were statistically evaluated using ANOVA and Tukey's test. The productivity represents the total yield of the production, extraction and purification processes of xanthan gum and was calculated dividing the mass of lyophilized xanthan (g) by the medium volume (L).

3.2.2. Rheological measurements

Rheological measurements of the aqueous dispersions (3% w/v) of the xanthan gum (XS and XGS) were carried out using a controlled stress rheometer (MCR 301, Anton Paar Physica, Austria) calibrated and certificated, with a parallel plate fixture (diameter 25 mm with gap of 1 mm) at 25 °C $\pm$ 0.01°C controlled by means of a Peltier system. Flow curves were plotted from the corresponding transient tests (apparent viscosity, η Pa.s), vs. time at constant shear rate, $\dot{\gamma}$ (s⁻¹) at different shear rates in a wide range from 0.01 to 300 s⁻¹.

3.2.3. Thermal analysis

The obtained polymers (XS and XGS) was submitted to the thermal analysis (TG/DTA) using a TA instruments model SDT 2960 Simultaneous using Pt crucibles with about 5 mg of samples. The curves were obtained under N₂ atmosphere (100 mL.min⁻¹) and the heating rate was 10°C.min⁻¹ in the temperature range from 25 to 500°C. The DTA cell was calibrated with In (m.p. 156.6°C; $\Delta H_{fus.}$ = 28.54 J.g⁻¹) and Zn (m.p.419.6°C). TG/DTG was calibrated using a CaC₂O₄.H₂O standard in conformity to ASTM.

3.2.4. FTIR analysis

The infrared absorption spectra of the XS and XGS were obtained in the range 4,000–400 cm^{-1} in KBr pellets using a FTIR-Bomen spectrophotometer model MB-120 at room temperature.

3.3. Results and discussion

3.3.1. Xanthan gum production

The extraction yield was measured for the polysaccharides production using glycerol:sucrose and only sucrose as carbon source for fermentation medium. The table 1 showed the mean of productivity of three fermentation process. The productivity obtained with XGS ($0.05 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) was significantly lower than that obtained with XS ($0.16 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) ($p < 0.05$). It can be verified that the production was higher using only sucrose (15.0 g.L^{-1}) as carbon source and the addition of glycerol decreased the production rate.

Rottava *et al.*, (2009) have used different strains of *Xanthomonas* sp. and showed productivities values between 0.06 and $0.1 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ using sucrose as carbon source. These results demonstrated that although the strain (*Xanthomonas campestris* IBSBF 356) presented high productivity using sucrose as carbon source, the alternative medium with glycerol presented productivity near the other strains using sucrose medium. The productivity is one of the most economically important aspects of polysaccharide extraction and purification (PONGJANYAKUL & PUTTIPIPATKHACHORN, 2007).

Table 1 – Productivity of xanthan gum in conventional (XS) and alternative medium (XGS)

Carbon Source	$\text{g.L}^{-1}.$	$\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$
XS	15.0 ± 0.9^a	0.16^a
XGS	4.3 ± 2.4^b	0.05^b

*Values in a column with the same letter were not significantly different at $p < 0.05$.

The productivity is influenced by the microbial strain, the process time and the fermentation medium. In the xanthan synthesis, the productivity must be considered. The composition of fermentation medium can change the production of the polysaccharide (MAYER *et al.*, 2008). Silva-Fernandes *et al.*, (2009) used cheese whey as carbon source in fermentation medium. The production of gum was approximately 25 g L⁻¹ after 72 h. Salah *et al.*, (2010), using palm juice by-products and two strains *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 reached the maximum value obtained will be biomass production was 3.35 g L⁻¹.

3.3.2. Viscosity Measurements

The apparent viscosity of XGS presents similar profile when compared to XS, however the initial viscosity was lower (Fig. 1).

In this sense and considering the low cost and high amounts of glycerol produced in biodiesel industry, this by-product can be used as supplement carbon source.

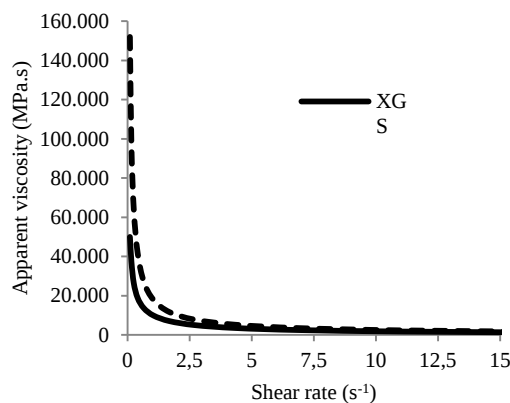


Fig 1. Apparent viscosity of the aqueous dispersion at 3% of the xanthan gum.

Apparent viscosities of the gums obtained from the fermentation of XGS and XS by *Xanthomonas campestris* IBSBF 356 strain were lower than the one found by Reis *et al.* (2009), where the aqueous solutions of xantana gum (3%) obtained from sucrose, glycerol: sucrose and glycerol mediums were 941, 143 and 140 mPa.s⁻¹,

respectively, when used *Xanthomonas* sp C1 for xanthan gum production. Apparent viscosity of xanthan gum is modified depending on the chemical composition, arrangement, intermolecular forces and molecular weight that it presents (SUTHERLAND, 1992).

According to Mayer *et al.* (2008), a low viscosity xanthan gum presents advantages in the fermentative process mainly by decreasing the energy cost of an aeration process, since the oxygen diffuses faster. In this way it can be used in the food industry for retention of flavors (GRISEL *et al.*, 2008), as well as in bakery since viscosity is not a property that interferes in the quality of breads (ZAMBRANO *et al.*, 2005).

Inorganic salts directly influence the viscosity of the xanthan gum. In this context, calcium, potassium, magnesium and sodium, common salts in the glycerin from biodiesel production (THOMPSON & HE, 2005) have not been enough to increase viscosity, since the viscosity found using glycerol+sucrose was lower than the one using sucrose.

3.3.3. Thermal analysis

The XS and XGS gums do not show any melting transition detectable by DTA. The DTA curve of XS (Fig. 2a) by itself had two endothermic transitions occurring at 311 and 476°C that was assigned to thermal decomposition. Similar profile was observed to XGS material. DTA curve of XGS showed an exothermic broad band between 200-350°C, corresponding to the first step of thermal degradation, and a broad band between 386-600°C, corresponding to the second step of thermal degradation (Fig. 2a). However, the band at 311°C was reduced when to compare with XGS sample. The changes in the ΔH are probably due to the formation of intermolecular hydrogen bonds (HONMA, SENDA & INOUE, 2003).

According to TG curve of XGS, three events of thermal decomposition of the drug can be evidenced. These events occur in the following temperature ranges and weight loss percentages: 25-160°C ($\Delta m = 8.59\%$), 160-370°C ($\Delta m = 40.66\%$) and 370-600°C ($\Delta m = 23.05\%$). From TG/DTG curves four steps of weight loss can be observed to XS: dehydration ($\Delta m_1 = 9.19\%$ and 25-161°C), thermal decomposition

($\Delta m_2 = 16.12\%$ and $161-232^\circ\text{C}$ and $\Delta m_3 = 22.69\%$ and $232-333^\circ\text{C}$), and carbonization initiating at about 333°C ($\Delta m_4 = 37.55\%$) (Fig. 2b).

The inset Fig. 2b shows the TG curves of the XGS and XS. It is noted that the XS (inset Fig. 2b) exhibits three events characteristics of the water molecules releasing and thermal decomposition. The TG curve of the XGS (inset Fig. 2b) showed a reduction of the event ($161-232^\circ\text{C}$) and has a different thermal decomposition profile as compared to XS suggesting a different species. According to Rosalam & England (2006), different substrate do not influence the primary backbone structure, but do affect the structure of side-chains, the molecular mass, and the yield of xanthan gum (ROSALAM & ENGLAND, 2006).

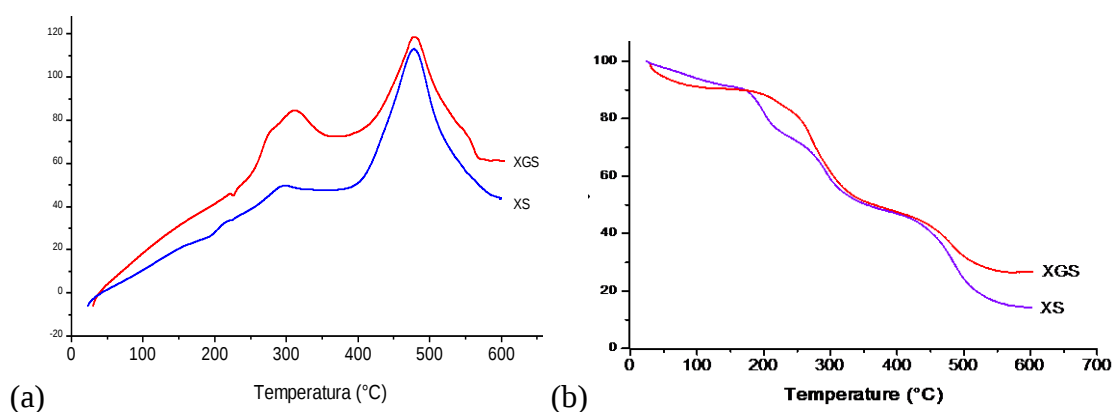


Fig. 2. DTA (a) and TG (b) curves of XS and XGS in dynamic nitrogen ($50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) and rate heat $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$.

3.3.4. Infrared Analysis

The FTIR spectra of XS and XGS are shown in Fig. 3. The characteristic IR absorption peaks of xanthan were observed at 3442 cm^{-1} (O–H symmetrical stretching), 1617 cm^{-1} (COO– asymmetrical stretching), 1407 cm^{-1} (COO– symmetrical stretching), 1053 cm^{-1} (C–O–C– symmetrical stretching) and 1024 cm^{-1} (COO– symmetrical stretching) in the both samples. However, the band around 1407 cm^{-1} was more intense in XGS than in XS spectrum. Around 3442 cm^{-1} , we can observe a broad band in the both samples, corresponding to the axial deformation of hydroxyl groups with

intramolecular and intermolecular hydrogen bonds. This band was more intense for XS suggesting higher hydration.

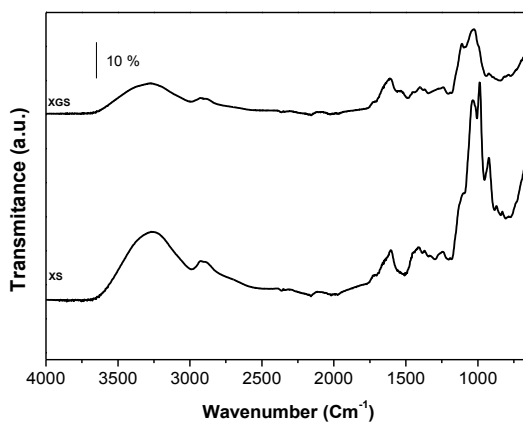


Fig. 3. Infrared spectroscopy (FTIR) of XGS and XS

3.4. Conclusions

This work investigated the possibility of using glycerol, obtained of biodiesel industry as substrate for xanthan gum production by *Xanthomonas* IBSBF 356. The results showed that the glycerol unique carbon source not is measured it adequate will be xanthan gum, therefore it presented minor production that sucrose.

The analyses of thermal viscosities apparent and of the gums had been similar between itself, however, the infra-red ray specters of the samples of XS and XGS, cm^{-1} showed around of 3442 bands wider, corresponding to the axial deformation of groups hidroxila in hydrogen linkings intermoleculares.

3.5. References

- GILS, P.S.; RAY, D.; SAHOO, P.K. Characteristics of xanthan gum-based biodegradable superporous hydrogel. *International Journal of Biological Macromolecules*. v.45, p. 364–371. 2009.
- GRISEL, M.; JOUQUAND, C.; AGUNI, Y.; MALHIAC, C. Influence of chemical composition of polysaccharides on aroma retention. *Food Hydrocolloids*, v.22, p.1097-1104, 2008.
- 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, p.1146–1149. 2007.
- MIKA IIJIMA, M.; SHINOZAKI, M.; HATAKEYAMA, T.; TAKAHASHI, M. HATAKEYAMA, H. AFM studies on gelation mechanism of xanthan gum hydrogels. *Carbohydrate Polymers*.v. 68, p.701–707. 2007.
- HILLIOU, L.; FREITAS, F.; OLIVEIRA, R.; REIS, M.A.M.; LESPINEUX, D.; GRANDFILS, C.; ALVES, V.D. Solution properties of an exopolysaccharide from a *Pseudomonas* strain obtained using glycerol as sole carbon source. *Carbohydrate Polymers*. v. 78,p. 526–532. 2009.
- HONMA, T.; SENDA, T.; INOUE, Y. Thermal propeties and crystallization behavior of blends of poly (ϵ -caprolactone) with chitin and chitosan. *Polymer International*. v.52, p.1839-1846. 2003.
- MAYER, L.; VENDRUSCOLO, C. T.; SILVA, W. P.; MOURA, A. B. Produção, Propriedades Reológicas E Composição Química Da Xantana Produzida Por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*. v. 02, n. 02, p. 87-95. 2008.
- MESOMO, M. C. Produção de Goma Xantana em Biorreator Utilizando Meio à Base de Soro de Queijo. Tese de Mestrado, URI, Erechim- RS. 2007.
- NUNESMAIA, M. F. A Gestão de Resíduos Urbanos e Suas Limitações. *TECBAHIA Revista Baiana de Tecnologia*, v.17, n.1, p.120-129. 2002.
- PAGLIARINI, A. P.; DRUZIAN, J. I. Produção de goma xantana por fermentação do resíduo de suco de maçã. *Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment*, v.27, p. 26-31. 2007.
- PONGJANYAKUL, T.; PUTTIPIPATKHACHORN, S. Xanthan–alginate composite gel beads: Molecular interaction and in vitro characterization. *International Journal of Pharmaceutics*. v. 331, p. 61–71. 2007.
- PSOMAS, S.K.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M.; KYRIAKIDIS, D.A. Optimization study of xanthan gum production using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal*. v.35, p. 273–280. 2007.

REIS, E. C.; ALMEIDA, M.; CARDOSO, J. C.; PEREIRA, M. A.; OLIVEIRA, C. B. Z.; VENCESLAU, M.A.; DRUZIAN, J. I.; PADILHA, F.F. Biopolymer synthesized by strains of *Xanthomonas* sp isolate from Brazil using biodiesel-wastee. *Artigo submetido em* 2010.

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

ROTTAVA, I.; BATESINI, G.; SILVA, M.F.; LERIN, M.; OLIVEIRA, D.; PADILHA, F.F.; TONIAZZO, G.; MOSSI, A.; CANSIAN, R.L.; LUCCIO, M.; TREICHEL, H. Xanthan gum production and rheological behavior using different strains of *Xanthomonas* sp. *Carbohydrate Polymers*.v. 77 p. 65–71. 2009.

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, p.627–633. 2010.

SERENO, M. N.; HILL, S. E.; MITCHELL, J.R. Impact of the Extrusion Process on Xanthan Gum Behaviour. *Carbohydrate Research*. V. 342, p. 1333-1342. 2007.

SUTHERLAND, I. W.; **Food Biotechnol.** v. 6, p.75.1992.

SILVA-FERNANDES, M.; FORNARI, R.C.G.; MAZUTTI, M. A.; OLIVEIRA D. D.; PADILHA F. F.; CICHOSKI, A. J.; CANSIAN, R. L.; *et al.* Production and characterization of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. *Journal of Food Engineering*. v.90, p. 119–123. 2009.

THOMPSON, J.C.; B.B. HE, B.B. Characterization of Crude Glycerol from Biodiesel Production from Multiple Feedstocks. Food and Process Engineering Institute Division of ASABE. 2005.

ZAMBRANO, F.; HIKAGE, A.; ORMENESE, R.C.C.; MONTENEGRO, F.M.; RAUEN-MIGUEL, A.M. Efeito das gomas guar e xantana em bolos como substitutos de gordura. *Brazilian Journal of Food Technology*. n.1, v.8, p.63-71, 2005.

4. CONCLUSÃO

Após o desenvolvimento do presente trabalho, conclui-se que a produção da goma xantana utilizando resíduos de ostra, de caranguejo e glicerol como fonte de carbono é possível. A produtividade com resíduos de ostra foi maior que os demais substratos, incluindo a sacarose. A produção da goma com o glicerol foi inferior a sacarose.

As viscosidades das soluções aquosas da goma a 3% oriundas dos resíduos aquícolas foram superiores a solução a 3% proveniente da sacarose.

As análises térmicas das gomas apresentaram perfis muito semelhantes, entre resíduos aquícolas e sacarose, bem como, glicerol e sacarose.

Diante dos resultados observados, torna-se viável do ponto de vista produtivo e econômico o remanejamento de resíduos de ostra e de caranguejo para biosíntese de xantana.