

Estudo da produção da goma xantana por *Xanthomonas campestris* ATCC 13951

Study of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* ATCC 13951

Naara Stefane Costa Menezes¹, Maria Giovana Binder Pagnoncelli²

RESUMO

O presente artigo tem como objetivo analisar o estudo da produção da goma xantana produzida por bactérias de linhagem da *Xanthomonas campestris*. Para isso, a cepa utilizada foi *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 para ser produzida no laboratório. O primeiro desafio foi estabelecer os protocolos de produção, armazenamento e purificação da bactéria e do seu produto. A partir disso, fez-se necessário experimentar os métodos convencionais. Assim, apresentamos brevemente as metodologias, conceitos e adaptações necessárias para o estudo. O resultado obtido foi a proporção de células e goma de acordo com o caldo fermentativo disponível para crescimento celular. Assim, conclui-se que houve significativo crescimento celular com produção de goma mas dificuldades em sua purificação.

PALAVRAS-CHAVE: goma xantana; purificação; *Xanthomonas campestris*.

ABSTRACT

This article aims to analyze the study of the production of xanthan gum produced by bacteria from the *Xanthomonas campestris* lineage. For this, the strain used was *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 to be produced in the laboratory. The first challenge was to establish the protocols for production, storage and purification of the bacteria and its product. From then on, it became necessary to try conventional methods. Therefore, we briefly present the methodologies, concepts and adaptations necessary for the study. The result obtained was the proportion of cells and gum according to the fermentative broth available for cell growth. Thus, it is concluded that there was significant cell growth with gum production but difficulties in its purification.

KEYWORDS: xanthan gum; purification; *Xanthomonas campestris*.

INTRODUÇÃO

A bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* se reproduz por divisão binária, é gram-negativa, possui morfologia de bastonetes, tem em média de 0,4 a 0,7 µm de largura por 0,7 a 1,8 µm de comprimento e as colônias são geralmente lisas, viscosas e amarelas, (FARIA, 2005).

A *Xanthomonas* produz a partir da fermentação aeróbica a goma xantana, um exopolissacarídeo de alto peso molecular com aparência de um pó branco/amarelo claro (GARCIA-OCHOA et al., 2000), ela é de grande interesse no mercado, pois possui propriedades reológicas únicas, sendo muito utilizada como espessante, estabilizante, gelificante, agente de suspensão e de floculação nas indústrias alimentícia, petrolífera, farmacêutica, cosmética, de tintas, têxtil e de produtos agrícolas (NASRABADI et al., 2016).

¹ Bolsista do(a) CNPq. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: naaramenezes@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes:2998985194195544.

² Docente no Departamento de Química e Biologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: mpagnoncelli@utfpr.edu.br. ID Lattes: 1360308643397232.

A goma xantana se constitui de uma unidade pentassacarídeo composta por glicose, manose e ácido glucurônico na proporção de 2:2:1, também possui grupamentos substituintes acetila e piruvato. A cadeia principal desta goma é formada por unidades de β -D-glicose, ligadas através das posições 1 e 4, (FARIA, 2005).

A bactéria *Xanthomonas campestris* utiliza como fonte de carbono geralmente carboidratos como amido, glicose e sacarose para produzir a goma xantana. E suas rotas metabólicas envolvem a via de Entner-Doudoroff, que cataboliza cerca de 80% da glicose disponível até piruvato, o qual segue para o ciclo do ácido tricarbóxico e a via da pentose-fosfato que metaboliza a glicose remanescente, (FARIA, 2005).

Considerando o exposto, este trabalho teve como objetivo estudar a produção, purificação e armazenamento da goma xantana obtida a partir da cepa *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 de acordo com os parâmetros físicos disponíveis no Laboratório de Pesquisa Relacionada a Biomassa e Bioenergia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Curitiba utilizando como meio de fermentação o Caldo Nutriente.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a produção da Goma Xantana é preciso um meio de cultura para a bactéria produtora *xanthomonas campestris*. Inicialmente, foi feito o repique da bactéria *Xanthomonas campestris* em meio de cultura líquido caldo nutriente, garantindo a manutenção da cepa. Em seguida, foi realizada a fermentação da bactéria em uma escala maior, utilizando mais de dois Erlenmeyer e condições de cultivo ideais, como pH, temperatura e agitação controlados, (Figura 1). Durante a fermentação, houve bom crescimento da bactéria e a produção da goma xantana. Em seguida foi feito crescimento da bactéria em meio caldo nutriente com agar. Foi transferido a colônia da *xanthomonas campestris* para as placas de petri traçando listras no meio sólido com auxílio de uma alça de madeira. As placas foram para a estufa bacteriológica a 30°C.

Figura 1- Erlenmeyer com caldo nutriente e *xanthomonas campestris*.



Fonte: O próprio autor

Foram feitos experimentos de purificação da Goma Xantana utilizando o caldo fermentado de meio líquido contendo caldo nutriente, a bactéria *xanthomonas campestris* e goma xantana produzida. As soluções foram adicionadas a um béquer de 1L e para 200mL de solução foi adicionado 400 mL de solução de etanol. Foi possível observar a separação da goma da solução. Com um bastão de vidro foi necessário pescar a parte da goma do restante do sobrenadante e adicionado a uma placa de Petri, (Figura 2). Em

seguida este produto foi posto na estufa bacteriológica para a secagem da goma, por 1 dia, (Figura 3). Após a secagem foi retirado o sólido da placa e adicionado a um almofariz para transformá-lo em pó, (Figura 4). A goma foi retirada e colocada em um saco plástico e armazenada na geladeira.

Figura 2 - Separação da Goma



Fonte: O próprio autor

Figura 3- Secagem da goma xantana



Fonte: O próprio autor

Figura 4 - goma xantana após secar e moer



Fonte: O próprio autor

No entanto, percebeu-se que era necessário separar as células da bactéria *Xanthomonas campestris* da goma produzida dentro do caldo fermentado no processo de purificação. Neste caso foi feito outro experimento de purificação de acordo com a instrução de que é necessário diluir em água na proporção de 1:1 e lavar o sobrenadante que sobrar da primeira centrifugação com etanol absoluto por 10 minutos. (FARIA; PETKOWICZ; MORAIS; TERRONES; RESENDE; FRANÇA; CARDOSO, 2011)

De forma que foi utilizado um Erlenmeyer, com solução fermentada já contendo uma quantidade de goma xantana produzida pela bactéria, para diluir em água destilada na relação de 1:1. Esta diluição serve para separar a goma das células do microorganismos. As soluções foram centrifugadas por 30 minutos por 3000 rpm. Para o sobrenadante foram adicionados 30 ml de etanol para cada 10 ml de solução. Os tubos

contendo a solução com goma xantana foram centrifugados por uma hora e meia em 3000 rpm. Em seguida o precipitado foi colocado numa placa de petri com plástico filme perfurado para secar na estufa a 30 °C por 24 horas.

Para continuar a cultura da bactéria foi utilizado o método de criopreservação. A criopreservação foi feita em glicerol com 10% de concentração. As amostras ficaram na geladeira por 20 minutos, para ambientação. Então os microtubos, contendo a bactéria em glicerol, foram transferidos para um recipiente de congelamento a -80°C para armazenamento a longo prazo, (Figura 5). (PÔRTO; MOREIRA; OLIVEIRA; MACAGNAN; GONÇALVES; FIORAVANTE, 2023)

Figura 5- Microtubo para criogenia da bactéria



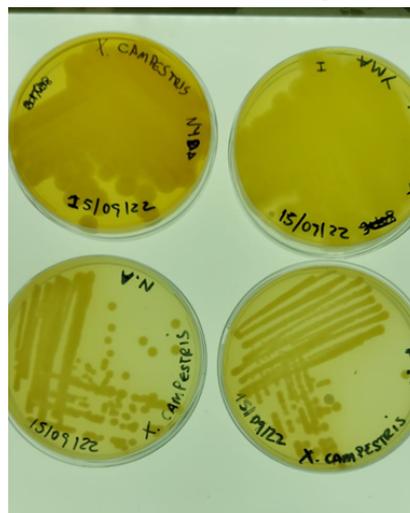
Fonte: O próprio autor

Ao realizar a reativação da cultura bacteriana foi necessário retirar o microtubo para um recipiente a 25°C e descongelar rapidamente. Em seguida foi transferida a suspensão descongelada para meio de cultura fresca e incubada em condições ideais de crescimento.

RESULTADOS

A produção da goma xantana por *xanthomonas campestris* ATCC 13951 foi bastante satisfatória tanto em meio líquido quanto em meio sólido. Pode-se observar a seguir que a cultura bacteriana se reproduz com facilidade em temperatura de 30° C.

Figura 6 - Cultura *xanthomonas campestris* ATCC 13951



Fonte: O próprio autor.

De acordo com Faria, Petkowicz, Moraes, Terrones, Resende, França e Cardoso (2011) seria necessário ter uma centrífuga com capacidade de $18,900 \times g$ por 40 min para remover as células e fazendo a conversão seria 11000 rpm para precipitar a goma xantana da solução. (INC, 2023)

Porém no laboratório havia apenas centrífuga com capacidade de 3000 rpm. Então no processo de purificação, no tubo 1 foi precipitado 1,15g de células para 50,49 g de caldo fermentado. Já no frasco 2 precipitou 1,12 g de células para 50,64 g de solução. Porém após o tempo esperado de secagem dos últimos precipitados não foi possível observar massa de goma xantana nas placas de petri.

CONCLUSÃO

Este artigo teve como objetivo apresentar uma análise sobre a trajetória do estudo da produção, armazenamento, purificação e continuação da cepa de *Xanthomonas campestris* ATCC 13951. A partir da pesquisa bibliográfica, percebe-se primeiramente que foi obtido ótimos resultados em crescimento celular bacteriano com produção de goma xantana. Devido a questões tecnológicas do laboratório, o estudo poderia ter sido mais explorado. Entretanto, a prática e entendimento dos processos microbiológicos foram efetivos para o aproveitamento acadêmico.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Pesquisa de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a UTFPR, por proporcionar recursos para o desenvolvimento deste trabalho.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

FARIA, Sandra; PETKOWICZ, Carmen Lúcia de Oliveira; MORAIS, Sérgio Antônio Lemos de; TERRONES, Manuel Gonzalo Hernandez; RESENDE, Miriam Maria de; FRANÇA, Francisca Pessoa de; CARDOSO, Vicelma Luiz. Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861711003419>. Acesso em: 20 set. 2023.

FARIA, Sandra. Produção de Goma Xantana empregando Caldo de Cana por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* NRRL B-1459. 2005. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/15112/1/SAFariaDISSPRT.pdf>. Acesso em: 20 set. 2023.



INC, Thermo Fisher Scientific. Convert between times gravity ($\times g$) and centrifuge rotor speed (RPM). Disponível em: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/Application-Notes/TR0040-Centrifuge-speed.pdf>. Acesso em: 20 set. 2023.

PÔRTO, Ana Cláudia da Silva; MOREIRA, Angelita da Silveira; OLIVEIRA, Patrícia Diaz de; MACAGNAN, Karine Laste; GONÇALVES, Victoria de Moraes; FIORAVANTE, Júlia Borin. PRESERVAÇÃO DE Xanthomonas POR LIOFILIZAÇÃO E CRIOPRESERVAÇÃO. Disponível em: https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2016/CA_04353.pdf. Acesso em: 20 set. 2023.

GARCÍA-OCHOA, F. et al. Oxygen transfer and uptake rates during xanthan gum production. *Enzym. Microb. Technol.*, v.27, p.680–690, 2000.

NASRABADI, M. N. et al. Stability assessment of conjugated linoleic acid (CLA) oil-in-water beverage emulsion formulated with acacia and xanthan gums. *Food Chem.*, v.199, p.258–264, 2016.