

Área: Engenharia de Alimentos

EFEITO DOS DILUENTES SOLUÇÃO SALINA E TAMPÃO CITRATO NA ATIVIDADE CELULOLÍTICA DE *Xanthomonas arboricola* PV PRUNI

**Fernanda Germano Alves, Karine Laste Macagnan, Dóris Sippel Dörr, Angelita da
Silveira Moreira, Claire Tondo Vendruscolo***

*Laboratório de Biopolímeros, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de
Pelotas*

**E-mail: claire.vendruscolo@pq.cnpq.br*

RESUMO

Xanthomonas são bactérias fitopatogênicas que fermentam aerobicamente açúcares, como sacarose e glicose, produzindo um heteropolissacarídeo denominado xantana. Este possui elevado interesse industrial nas indústrias alimentícia, farmacêutica, de tintas e petrolífera por sua capacidade de formar soluções viscosas pseudoplásticas e estáveis; isto se deve às suas propriedades reológicas, que superam as de outros polissacarídeos comercializados. Variações nas condições operacionais, como temperatura, pH, agitação, aeração, entre outros, utilizados durante a produção da xantana podem influenciar no rendimento do processo fermentativo, na qualidade do polímero obtido, bem como na produção de enzimas envolvidas na síntese e degradação do biopolímero. O acúmulo de xantana no caldo durante a fermentação eleva a viscosidade do mesmo; assim é necessário o emprego de diluentes que possibilitem a remoção das células e posterior estudo de enzimas extracelulares no caldo fermentado. Como base no exposto, este trabalho objetivou avaliar a influência de diluentes na atividade celulolítica em caldo fermentado por *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa EDE. Como diluentes do caldo fermentado empregou-se solução salina ou tampão citrato, respectivamente, na proporção 1:1. A atividade enzimática foi determinada em três temperaturas (28, 35 e 45°C) empregando como substrato carboximetilcelulose. Os resultados foram tratados por Análise de Variância e Teste de Tukey. Em solução salina e a 45°C a atividade celulolítica foi mais elevada. A solução salina empregada como diluente do caldo fermentado de *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa EDE apresentou maior eficiência para posterior determinação da atividade celulolítica, alcançando-se maiores valores de atividade a 45°C.

Palavras-chave: *Xanthomonas*, caldo fermentado, celulase, solução salina, tampão citrato.

1 INTRODUÇÃO

Xanthomonas são bactérias fitopatogênicas que fermentam aerobicamente açúcares, como sacarose e glicose, produzindo um heteropolissacarídeo denominado xantana (LILLY, 1958; SUTHERLAND, 1996). A goma xantana é amplamente empregada industrialmente nos setores alimentícios, petrolífero e farmacêutico devido as suas propriedades viscosificante, suspensiva, estabilizante, emulsificante, entre outras (BECKER et al., 1998; SUTHERLAND, 1996; KATZBAUER, 1998; VUYST; LOO; VANDAMME, 1987). É o único polímero que pode apresentar, simultaneamente, alta viscosidade e pseudoplasticidade mesmo em baixas concentrações (SUTHERLAND, 1996; GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

As condições utilizadas no processo fermentativo podem influenciar a produção e as propriedades da xantana (GARCÍA-OCHOA et al., 2000) e essas são dependentes das enzimas atuantes durante o processo de síntese. Cepas produtoras de xantana sintetizam inúmeras enzimas extracelulares que podem degradar o biopolímero, como as celulases. Existem também enzimas intracelulares, localizadas no periplasma; caso ocorra a lise celular durante a cultura, estas enzimas podem ser liberadas ao meio extracelular e provocarem a degradação do polímero (SUTHERLAND, 2001).

Na produção de xantana, a viscosidade do caldo aumenta pelo acúmulo do polímero. Assim, para separar as células do restante do caldo e estudar as enzimas extracelulares, torna-se necessário o uso de diluentes para possibilitar esta operação. Este trabalho objetivou avaliar a influência dos diluentes solução salina e tampão citrato na atividade celulolítica, em caldo fermentado por *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa EDE.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

A fermentação foi conduzida em fermentador Biostat B de 5L, segundo WO/2006047845 (VENDRUSCOLO et al., 2006). Utilizou-se como diluente do caldo fermentado solução salina 0,89% (S) e tampão citrato pH 7,0 (T), conforme Tabela 1. A atividade celulolítica foi determinada pelo método DNS empregando como substrato

carboximetilcelulose (Miller, 1959; modificado), sendo determinada em três temperaturas 28, 35 e 45°C (Tabela 1). Os resultados foram tratados por Análise de Variância e Teste de Tukey

Tabela 1: Combinações entre diluentes do caldo fermentado e temperaturas na determinação da atividade enzimática.

Combinações	Diluentes*	Temperaturas (°C) **
S28	Solução salina	28
S35		35
S45		45
T28	Tampão citrato	28
T35		35
T45		45

* diluentes do caldo fermentado

** utilizados na determinação da atividade enzimática

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra os resultados de atividade celulolítica em função do diluente do caldo fermentado e da temperatura na reação enzimática. Analisando separadamente cada tratamento, pôde-se observar um incremento significativo, na atividade celulolítica, com o aumento da temperatura, para os dois diluentes estudados. Comparando os dois diluentes, observou-se os maiores atividades enzimáticas quando empregou-se solução salina. Os resultados indicaram não houve diferença significativa quando utilizou-se as combinações solução salina/28°C e tampão citrato/35°C.

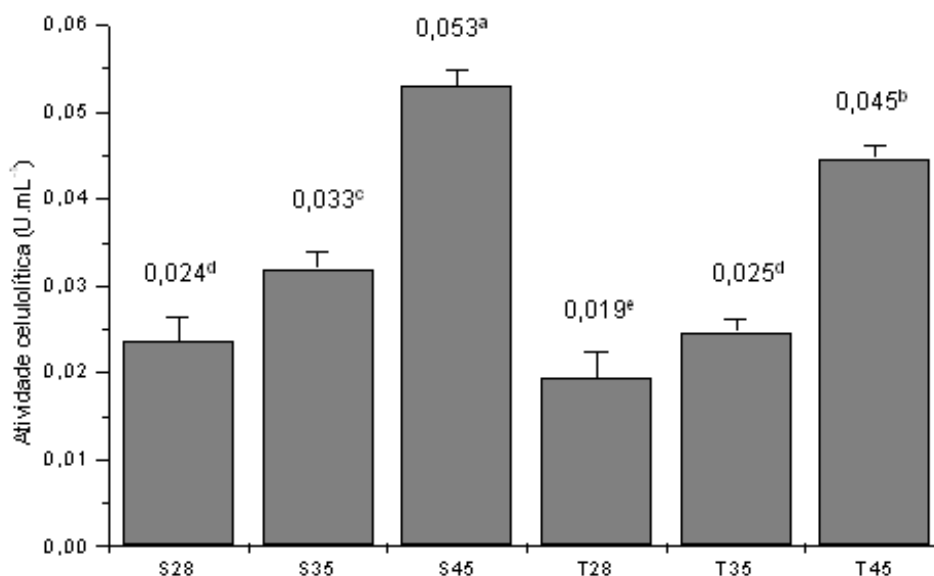


Figura 1: Avaliação da atividade celulolítica de caldo fermentado, diluído com solução salina (S) ou tampão citrato (T), em diferentes temperaturas (28, 35 e 45°C). Letras distintas, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$.

3 CONCLUSÃO

A solução salina, empregada como diluente do caldo fermentado de *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa EDE, apresentou maior eficiência para posterior determinação da atividade celulolítica, alcançando-se maiores valores de atividade a 45°C.

REFERÊNCIAS

BECKER, A.; KATZEN, F.; PÜHLER, A.; IELPI, L. Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 50, p. 145-152, 1998.

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.

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

LILLY, V.G.; WILSON, H.A.; LEARCH, J.G. Bacterial polysaccharides II. Laboratory-scale production of xanthan gum. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 6, p. 105-112, 1958.

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, v. 31, p. 426-428, 1959.

SUTHERLAND, I. Biofilm Exopolysaccharides: a Strong and Sticky Framework. *Microbiology*, v.147, p. 3-9, 2001.

SUTHERLAND, I. W. Microbial biopolymers from agricultural products: production and potencial. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 38, n. 3-4, p. 249-261, 1996.

VENDRUSCOLO, C. T.; VENDRUSCOLO, J. L.S.; MOREIRA, A. S. WO/2006047845. Universidade Federal de Pelotas, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2006.

VUYST, L. De.; LOO, J. V.; VANDAMME, E. J. Two-step fermentation process for improved xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL-B-1459. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 39, p. 263-273, 1987.