



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE AGRONOMIA “ELISEU MACIEL”  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL

# **INFLUÊNCIA DE PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS E DA ADIÇÃO DE ÍONS NO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE GOMAS XANTANA**

**PATRÍCIA SILVA DIAZ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pelotas, sob orientação da Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Claire Tondo Vendruscolo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

PELOTAS

Rio Grande do Sul – Brasil

Março de 2002



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE AGRONOMIA “ELISEU MACIEL”  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL

# **INFLUÊNCIA DE PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS E DA ADIÇÃO DE ÍONS NO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE GOMAS XANTANA**

**PATRÍCIA SILVA DIAZ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pelotas, sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Claire Tondo Vendruscolo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

PELOTAS

Rio Grande do Sul – Brasil

Março de 2002

Dedico este trabalho, com amor,

À Deus

Aos meus pais

Aos meus irmãos.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que me permitiu e capacitou para a realização deste trabalho.

Aos meus pais, José Sopeña Diaz Filho (*in memoriam*) e Ana Glades Silva Diaz, pelo amor, carinho, apoio e dedicação de sempre, especialmente neste período.

A meus irmãos, José, Marcelo e Hector, e cunhada Viviani, pela amizade, incentivo e carinho.

A Dr<sup>a</sup>. Claire Tondo Vendruscolo pela orientação e ao Dr. João Luiz Silva Vendruscolo pela co-orientação neste trabalho.

A Dr<sup>a</sup>. Angelita Silveira Moreira, pelos ensinamentos transmitidos, apoio e amizade, sem os quais não teria realizado este trabalho.

Aos amigos do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela oportunidade de realizar o curso de Pós-Graduação e pela amizade, em especial ao Prof. Dr. Wladimir Padilha, ao secretário e amigo Fábio, e aos colegas Alejandro, Márcia e Leandro.

Aos amigos do Centro de Biotecnologia, pelo incentivo diário, amizade e carinho, em especial a Ângela, Kika, Patrícia, Adriana, Kelly, Fabrício, Miltinho, Otávio, Murilo, Ciça e Alegani.

Aos professores Albino Guimarães e Carlos Gil Turnes, pela valiosa colaboração nos experimentos e ensinamentos transmitidos.

Aos colegas do Centro Federal de Educação Tecnológica, Coordenadoria de Química, pelo incentivo, compreensão e carinho.

A Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

## ÍNDICE

LISTA DE TABELAS .....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	viii
SUMÁRIO .....	xi
ABSTRACT .....	xiii
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Solubilidade .....	3
2.1.1 Eletrólitos .....	4
2.1.2 Solubilização de polímeros .....	6
2.2 Estrutura e conformação da xantana .....	7
2.3 Reologia .....	10
2.3.1 Reologia de polímeros .....	13
2.3.2 Reologia da xantana .....	15
2.4 Objetivos Gerais .....	22
3. AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE SOLUBILIDADE DA XANTANA COMERCIAL	
RESUMO .....	23
ABSTRACT .....	24
3.1 INTRODUÇÃO .....	25
3.2 MATERIAL E MÉTODOS .....	26
3.2.1 Material .....	26
3.2.2 Métodos .....	26
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	27
3.4 CONCLUSÃO .....	32

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	32
4. ESTUDO REOLÓGICO DAS SOLUÇÕES AQUOSAS DA XANTANA COMERCIAL E PRODUZIDA POR <i>Xanthomonas campestris</i> PV PRUNI CEPA 24 COM ADIÇÃO DE SAIS, ALTERAÇÃO DE TEMPERATURA E pH	
RESUMO .....	36
ABSTRACT .....	37
4.1 INTRODUÇÃO .....	38
4.2 MATERIAL E MÉTODOS .....	39
4.2.1 Material .....	39
4.2.2 Métodos .....	40
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
4.3.1 Determinação da viscosidade aparente da xantana comercial e da produzida pelo pv pruni cepa 24 .....	41
4.3.2 Efeitos da adição de sais na viscosidade aparente .....	45
4.3.2.1 Adição de sais na xantana comercial .....	45
4.3.2.2 Adição de sais na xantana pv pruni cepa 24 .....	48
4.3.3 Efeitos da alteração da temperatura na viscosidade aparente .....	50
4.3.4 Efeitos da alteração de pH na viscosidade aparente das soluções de xantana pv pruni cepa 24 .....	51
4.4 CONCLUSÕES .....	53
4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	53
5. CONCLUSÕES GERAIS .....	58
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	59

## LISTA DE TABELAS

### 4. ESTUDO REOLÓGICO DAS SOLUÇÕES AQUOSAS DA XANTANA COMERCIAL E PRODUZIDA POR *Xanthomonas campestris* PV PRUNI CEPA 24 COM ADIÇÃO DE SAIS, ALTERAÇÃO DE TEMPERATURA E pH

TABELA 1 Concentração de íons presentes na composição da xantana comercial e da xantana produzida pelo pv pruni cepa 24..... 42

TABELA 2 Concentração de íons presentes na composição da xantana comercial e da xantana produzida pelo pv pruni cepa 24, após o processo de diálise..... 43

TABELA 3 – Valores das viscosidades (mPa.s) das soluções de xantana comercial e acrescidas de sais a 25°C, na taxa de deformação de  $12s^{-1}$ ..... 48

## LISTA DE FIGURAS

### 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- FIGURA 1 Estrutura da xantana. Fonte: Jansson et al., 1975 ..... 8
- FIGURA 2 Modelo da xantana em solução com  $0,01\text{mol L}^{-1}$  de NaCl a  $25^{\circ}\text{C}$ , parcialmente dissolvida, dupla hélice. Fonte: Liu et al., 1988..... 10
- FIGURA 3 Curvas de fluxos dos fluidos Newtoniano e de Bringham Fonte: Navarro, 1997..... 11
- FIGURA 4 Orientação de uma cadeia polimérica sob cisalhamento a partir do repouso. Fonte: Navarro, 1997..... 11

### 3. AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE SOLUBILIDADE DA XANTANA COMERCIAL

- FIGURA 1 Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v), a  $25^{\circ}\text{C}$ , após 24 horas ..... 29
- FIGURA 2 Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v), a  $25^{\circ}\text{C}$ , após 48 horas ..... 30
- FIGURA 3 Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v), a  $25^{\circ}\text{C}$ , após 72 horas ..... 30
- FIGURA 4 Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v), a  $25^{\circ}\text{C}$ , após 96 horas ..... 31

#### 4. ESTUDO REOLÓGICO DAS SOLUÇÕES AQUOSAS DA XANTANA COMERCIAL E PRODUZIDA POR *Xanthomonas campestris* PV PRUNI CEPA 24 COM ADIÇÃO DE SAIS E ALTERAÇÃO DE TEMPERATURA E pH

- FIGURA 1 Equipamentos utilizados para o preparo do inóculo e para fermentação. A) Incubador agitador orbital; B) Fermentador Biostat B com cuba de 5L ..... 40
- FIGURA 2 Equipamento utilizado para as análises reológicas, Reômetro Haake RS 150 ..... 40
- FIGURA 3 Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial e xantana pv pruni cepa 24, 1% (m/v), a 25°C ..... 43
- FIGURA 4 Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação das soluções aquosas da xantana comercial e xantana produzida pelo pv pruni cepa 24 dialisadas, 1% (m/v), a 25°C ..... 44
- FIGURA 5 Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v), e acrescida de KCl, a 25°C ..... 46
- FIGURA 6 Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v), acrescida de NaCl, a 25°C ..... 46
- FIGURA 7 Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v) acrescidas de KCl e NaCl, na concentração de  $0,1\text{mol L}^{-1}$ , a 25°C ..... 47
- FIGURA 8 Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana pv pruni cepa 24, 1% (m/v)

acrescidas de KCl nas concentrações de  $0,01\text{mol L}^{-1}$ ;  $0,1\text{mol L}^{-1}$  e  $1\text{mol L}^{-1}$ , a  $25^\circ\text{C}$  ..... 49

FIGURA 9 Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial e pv pruni cepa 24, 1% (m/v), a  $25^\circ\text{C}$  e  $45^\circ\text{C}$  ..... 50

FIGURA 10 Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial e pv pruni cepa 24, com pH de 3,0; 4,0 e 5,0; 1% (m/v), a  $25^\circ\text{C}$  ..... 52

## SUMÁRIO

DIAZ, PATRÍCIA SILVA. M. C. Universidade Federal de Pelotas, Março de 2002. **INFLUÊNCIA DE PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS E DA ADIÇÃO DE ÍONS NO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE GOMAS XANTANA.** Professora Orientadora: Claire Tondo Vendruscolo. Co-orientador: João Luiz Silva Vendruscolo.

Diversas cepas de *Xanthomonas campestris* são capazes de produzir um biopolímero bacteriano denominado xantana, o qual é amplamente utilizado na indústria alimentícia. Para uma efetiva aplicação da xantana na indústria, além dos estudos relacionados às propriedades das soluções, estudos relacionados a sua solubilidade, a adição de eletrólitos, e suas características frente a variações na temperatura e pH devem ser considerados. Não existe uma metodologia oficial única que estabeleça o preparo de soluções aquosas de xantana para avaliação do comportamento reológico. A cada novo biopolímero bacteriano sintetizado, surgem novos comportamentos reológicos, assim se faz necessário conhecer as metodologias existentes para aplicá-las ou adaptá-las como uma rotina laboratorial. O objetivo deste trabalho é avaliar a solubilidade da xantana comercial utilizando diferentes métodos, avaliar o comportamento reológico da xantana comercial e da produzida por *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24, frente a adição de sais na solução aquosa e variação de temperatura e pH, utilizando como parâmetro a viscosidade aparente das diferentes soluções. As amostras para a análise reológica foram preparadas a 1% (m/v). Foram testadas concentrações de 0,01mol L<sup>-1</sup>, 0,1mol L<sup>-1</sup> e 1mol L<sup>-1</sup> de cloreto de potássio e de sódio, variando a temperatura em 25°C e 45°C, e pH em 3,0; 4,0 e 5,0, utilizando Reômetro Haake RS 150. Pelos resultados, o melhor método de solubilização de amostras de xantana para análise do comportamento reológico é o método proposto Zhang Xuewu et al. (1996), e o tempo de solubilização adequado para análise reológica comparativa é de 24 horas em temperatura ambiente. Determinou-se também que a composição química da xantana comercial e a produzida pelo pv pruni cepa 24 afeta

diretamente a viscosidade da solução aquosa, e que, após dialisadas, a maior viscosidade foi alcançada com a adição de cloreto de potássio na concentração de  $0,1\text{mol L}^{-1}$ , que a temperatura influencia na viscosidade aparente das soluções, diminuindo a viscosidade com o aumento de temperatura, e que o pH também exerce influencia sobre a viscosidade aparente, aumentando a viscosidade com o aumento do pH, sendo que, a solução de xantana pv pruni cepa 24 apresentou maior viscosidade aparente de sua solução aquosa em pH igual a 5,0.

**Palavras-chave:** xantana, viscosidade, solubilização, eletrólito, pH, temperatura.

## SUMMARY

DIAZ, PATRÍCIA SILVA. M. C. Federal University of Pelotas, March 2002. **THE INFLUENCE OF PHYSICAL AND CHEMICAL PARAMETERS AND OF THE ADDITION OF IONS ON THE RHOLOGICAL BEHAVIOUR OF XANTHAN GUMS.**

Several strains of *Xanthomonas campestris* are able to produce a bacterial biopolymer called xanthan which is widely used in the food industry. In order to have an effective use of the xanthan in the industry, not only the studies concerning the properties of the solutions should be considered, but also the studies related to its solubility, the addition of electrolytes, and its characteristics related to temperature variations and pH. There is not a unique official methodology that establishes the preparation of aqueous solutions of xanthan to evaluate the rheological behaviour. When a new bacterial biopolymer is synthesized, new rheological behaviours appear, so it is necessary to know the existing methodologies in order to apply or adopt them as laboratorial procedure. This study aims at evaluating the commercial xanthan solubility by using different methods, as well as the rheological behaviour of the commercial xanthan and of the one produced by *Xanthomonas campestris* pv pruni strain 24 when facing the addition of salts to the aqueous solution and temperature variation and pH, by using as a parameter the apparent viscosity of the different solutions. The samples for the rheological analysis were prepared at 1% (m/v); the concentrations of 0.01mol L<sup>-1</sup>, 0.1mol L<sup>-1</sup> and 1mol L<sup>-1</sup> of potassium and sodium chloride were tested with a temperature variation of 25°C and 45°C and pH at 3.0, 4.0 and 5.0 by using Haake rheometer RS 150. According to the results, the best xanthan samples solubilization method for the analysis of the rheological behaviour is the one proposed by Zhang Xuewu et al. (1996), and the adequate solubilization time for the comparative rheological analysis is of 24 hours at room temperature. It was also determined that the chemical composition of the commercial xanthan and of the one produced by pv pruni strain 24 affects directly the viscosity of the aqueous solution. After being dialyzed, the highest viscosity was reached with the addition of potassium chloride at 0.1 molL<sup>-1</sup> showing that the temperature influences the apparent

viscosity of the solutions decreasing the viscosity with the increase of the temperature, and that the pH also has influence on the apparent viscosity, increasing the viscosity with the increase of the pH. However, the solution of xanthan pv pruni strain 24 presented higher apparent viscosity of its aqueous solution in pH equal to 5.0

**Key words:** xanthan, viscosity, solubilization, electrolyte, pH, temperature.

## SUMÁRIO

DIAZ, PATRÍCIA SILVA. M. C. Universidade Federal de Pelotas, Março de 2002. **INFLUÊNCIA DE PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS E DA ADIÇÃO DE ÍONS NO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE GOMAS XANTANA.** Professora Orientadora: Claire Tondo Vendruscolo. Co-orientador: João Luiz Silva Vendruscolo.

Diversas cepas de *Xanthomonas campestris* são capazes de produzir um biopolímero bacteriano denominado xantana, o qual é amplamente utilizado na indústria alimentícia. Para uma efetiva aplicação da xantana na indústria, além dos estudos relacionados às propriedades das soluções, estudos relacionados a sua solubilidade, a adição de eletrólitos, e suas características frente a variações na temperatura e pH devem ser considerados. Não existe uma metodologia oficial única que estabeleça o preparo de soluções aquosas de xantana para avaliação do comportamento reológico. A cada novo biopolímero bacteriano sintetizado, surgem novos comportamentos reológicos, assim se faz necessário conhecer as metodologias existentes para aplicá-las ou adaptá-las como uma rotina laboratorial. O objetivo deste trabalho é avaliar a solubilidade da xantana comercial utilizando diferentes métodos, avaliar o comportamento reológico da xantana comercial e da produzida por *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24, frente a adição de sais na solução aquosa e variação de temperatura e pH, utilizando como parâmetro a viscosidade aparente das diferentes soluções. As amostras para a análise reológica foram preparadas a

1% (m/v). Foram testadas concentrações de  $0,01\text{mol L}^{-1}$ ,  $0,1\text{mol L}^{-1}$  e  $1\text{mol L}^{-1}$  de cloreto de potássio e de sódio, variando a temperatura em  $25^{\circ}\text{C}$  e  $45^{\circ}\text{C}$ , e pH em 3,0; 4,0 e 5,0, utilizando Reômetro Haake RS 150. Pelos resultados, o melhor método de solubilização de amostras de xantana para análise do comportamento reológico é o método proposto Zhang Xuewu et al. (1996), e o tempo de solubilização adequado para análise reológica comparativa é de 24 horas em temperatura ambiente. Determinou-se também que a composição química da xantana comercial e a produzida pelo pv pruni cepa 24 afeta diretamente a viscosidade da solução aquosa, e que, após dialisadas, a maior viscosidade foi alcançada com a adição de cloreto de potássio na concentração de  $0,1\text{mol L}^{-1}$ , que a temperatura influencia na viscosidade aparente das soluções, diminuindo a viscosidade com o aumento de temperatura, e que o pH também exerce influencia sobre a viscosidade aparente, aumentando a viscosidade com o aumento do pH, sendo que, a solução de xantana pv pruni cepa 24 apresentou maior viscosidade aparente de sua solução aquosa em pH igual a 5,0.

**Palavras-chave:** xantana, viscosidade, solubilização, eletrólito, pH, temperatura.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Tradicionalmente os polissacarídeos usados no preparo e processamento de alimentos, têm sido obtidos a partir de plantas terrestres e aquáticas. Outra fonte possível de polissacarídeos para uso em alimentos é dada pela capacidade biossintética de alguns microrganismos não patogênicos. O interesse por essa fonte de hidrocolóides reside nas características diferenciadas que apresentam, como adaptação para ingestão sem efeitos adversos, independência de produção com relação às condições climáticas e instabilidade política de países produtores, o que gera estabilidade em sua produção e alto rendimento a partir de substratos de baixo custo. Os polissacarídeos produzidos comercialmente em larga escala são atualmente a xantana e a dextrana (Jeanes, 1974; Sutherland, 1993; Garcia-Ochoa et al., 2000). O biopolímero bacteriano xantana foi o segundo a ser comercializado e o primeiro utilizado na indústria de alimentos (Kang et al, 1983). É o único produto aprovado internacionalmente para o uso em alimentos desde 1969, mas somente em 1990 ocorreu sua grande utilização como espessante. Como estabilizante a concentração utilizada é em torno de 0,03%, enquanto que como espessante varia de 0,5% a 6%. Porém nessas últimas concentrações a sua solubilização pode estar dificultada, tornando-se um problema para a indústria alimentícia. Algumas das aplicações da xantana na indústria de alimentos são em molhos, coberturas para saladas, alimentos enlatados,

catchup, recheios, produtos de confeitarias, produtos dietéticos, sucos de frutas, sopas e caldos, laticínios, sorvetes, alimentos congelados, entre outros.

A dificuldade na solubilização da xantana pode ocasionar presença de grumos, que afetam diretamente a textura e palatabilidade de um produto alimentício. O fenômeno ocorre pelo não conhecimento de uma metodologia adequada de solubilização ou por negligência na execução desta metodologia.

Atualmente, os maiores produtores de xantana são as empresas Merck e Pfizer nos Estados Unidos da América, Rhône Poulenc e Sanofi-Elf na França e Jungbunzlauer na Áustria. Estas empresas produzem a goma tanto para uso em alimentos como para usos industriais (Garcia-Ochoa et al., 2000).

Devido a grande aplicabilidade industrial da goma xantana, pesquisas vêm sendo desenvolvidas para otimizar as condições de crescimento celular, de produção, de recuperação, e de purificação deste biopolímero bacteriano (Kennedy et al., 1982; Funahashi et al., 1987; Ahlgren, 1993). A xantana é um polissacarídeo aniônico, extracelular, de alto peso molecular, produzido durante o processo de fermentação aeróbia de culturas puras em meio líquido (Lilly et al., 1958). O crescimento destas bactérias em meio YM ágar é caracterizado por colônias de aspecto mucóide, com ou sem pigmentação (Bradbury, 1984).

Vários patovares de *Xanthomonas campestris*, bactérias essencialmente fitopatogênicas, produzem o polissacarídeo extracelular denominado “goma xantana”. No entanto, as empresas produtoras deste biopolímero têm utilizado, tradicionalmente, o patovar *campestris*, mais especificamente a cepa NRRL B-1459 (Sutherland, 1993). O patovar *pruni* é o agente causador da mancha bacteriana em espécies do gênero *Prunus*, “*Prunus Bacterial Spot*” (PBS), afetando o desenvolvimento de plantas cultivadas comercialmente, como o pêssego, ameixa, damasco, entre outros (Civerolo e Hattingh, 1993). Por mais de vinte anos os fitopatologistas do centro de pesquisa EMBRAPA – Clima Temperado, Pelotas-RS, têm isolado e identificado cepas de *Xanthomonas campestris* pv *pruni* que infestam os pomares do Estado.

As aplicações de polissacarídeos, como a xantana, estão relacionadas às propriedades físico-químicas do polímero. As técnicas aplicadas para determinar os atributos físicos, junto com o conhecimento da estrutura química do exopolissacarídeo, têm dado muita informação na relação estrutura/função pertencente especificamente a xantana. A potencialidade do uso de

biopolímeros nos mais diversos ramos industriais é um consenso na literatura existente. Observa-se uma contínua substituição dos polissacarídeos convencionais por produtos de origem microbiana (Scamparini et al., 1992). Sutherland (1983) e Morris (1976 e 1992) afirmam que as maiores vantagens dos biopolímeros microbianos sobre os polissacarídeos convencionais são as propriedades físico-químicas reprodutíveis, além do custo e de suprimento estáveis.

A xantana é utilizada como agente espessante, estabilizante, suspensivo e auxiliar de emulsificação, possibilitando a criação de novos produtos de diferentes texturas (Sutherland, 1993; Nitschke et al., 1995; Quinn, 1999), portanto se faz necessário avaliar o seu comportamento frente a variações na temperatura, pH e presença de eletrólitos.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Solubilidade**

A solubilidade é o processo pelo qual ocorre a desintegração da macroestrutura, as moléculas do solvente atacam a superfície do soluto, removendo as partículas e envolvendo-as e finalmente dispersando-as. A facilidade com que isso ocorre depende das intensidades relativas de três forças atrativas: entre o soluto-soluto; entre solvente-solvente e entre soluto-solvente. Quando a dissolução se realiza, forças soluto-soluto e solvente-solvente são substituídas por forças soluto-solvente. Em geral, a alta solubilidade de um sólido em um líquido é favorecida pelas fracas forças soluto-soluto e pelas fortes forças soluto-solvente (Russel, 1994).

O efeito da temperatura sobre a solubilidade dos sólidos depende do efeito térmico observado no processo da dissolução. A dissolução da maioria dos sólidos ocorre com absorção de calor. A solubilidade dos eletrólitos pouco solúveis aumenta com a elevação da temperatura; correspondentemente, os respectivos valores do produto de solubilidade termodinâmico costumam ser maiores para temperaturas mais altas (Russel, 1994).

O tamanho da partícula do sólido pouco solúvel em equilíbrio com o soluto dissolvido afeta a solubilidade e a constante do produto de

solubilidade. Em geral, a solubilidade aumenta apreciavelmente quando o tamanho das partículas é menor do que 1 a 2  $\mu\text{m}$ . O efeito torna-se praticamente negligenciável quando o tamanho das partículas é maior do que 10  $\mu\text{m}$ . Quando o tamanho da partícula é suficientemente pequeno, a área superficial por mol torna-se bastante grande para que a energia superficial deva ser levada em conta na descrição do equilíbrio. A extensão da influência do tamanho das partículas sobre a solubilidade varia com a natureza das substâncias. (Atkins, 2001).

### 2.1.1 Eletrólitos

Eletrólitos são substâncias que conduzem eletricidade e quando se dissolvem liberam íons. Podem ser classificados como ácidos, que se dissociam para liberar íons  $\text{H}^+$ , bases, que se dissociam para liberar íons  $\text{OH}^-$  ou sais, os quais dissociam-se para liberar ânions e cátions diferentes de  $\text{H}^+$  ou  $\text{OH}^-$  (Lee, 1980). Um exemplo de um eletrólito iônico é o KCl. Quando se dissolve, os íons  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$  são retirados do retículo cristalino pelos dipolos da água. A solução resultante contém íons  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$  cada um rodeado por um aglomerado de moléculas de água hidratantes (Russel, 1994; Atkins, 2001).

Os fatores que afetam direta ou indiretamente os equilíbrios iônicos heterogêneos afetam também a solubilidade dos eletrólitos pouco solúveis. Os fatores que afetam diretamente são aqueles que influem na magnitude da constante do produto de solubilidade, como a temperatura, a natureza do solvente, o tamanho das partículas e a força iônica. Posto que o equilíbrio iônico em uma solução saturada em contato com a fase sólida é regido pelo princípio do produto de solubilidade, um excesso de íon comum reprime a solubilidade do eletrólito. A solubilidade também pode ser afetada pela competição exercida por reações ácido-básicas ou de complexação que envolvem o cátion ou o ânion do eletrólito pouco solúvel. (Lee, 1980)

A dissolução de um composto iônico em água é um processo de separação de íons existentes no soluto. Esta dissolução é acompanhada de solubilização dos íons; a atração eletrostática entre os íons e as moléculas dipolares da água facilita a passagem dos íons para a solução (Atkins, 2001).

A solubilidade de um eletrólito pouco solúvel é maior em água pura do que em presença de um dos íons comuns do eletrólito. Quando se tem um dos íons em maior concentração, haverá uma diminuição na concentração do outro íon, formando novamente o sólido, para manter o produto de solubilidade constante, logo há uma diminuição da solubilidade (Russel, 1994).

A formação dos íons se dá quando um elétron da camada mais externa é removido, conseqüentemente ocorre à formação de um íon positivo. Com relação ao tamanho do átomo, este fica menor, pois a carga do núcleo é maior que a carga negativa dos elétrons, o que faz com que os elétrons sejam atraídos pelo núcleo, assim o íon será menor que o átomo correspondente. Os maiores átomos de cada período da tabela periódica são os correspondentes aos metais alcalinos, estando neste grupo o sódio e o potássio, Ainda assim estes íons possuem tamanho muito grande, e por causa disto possuem densidades baixas. O átomo de sódio possui um tamanho de  $1,57 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}$ , enquanto que o íon sódio possui um tamanho de  $0,95 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}$ . O átomo de potássio possui um tamanho de  $2,03 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}$ , enquanto que o íon potássio possui um tamanho de  $1,33 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}$  (Lee, 1980; Ohlweiler, 1982).

Todos os sais simples dos metais alcalinos são solúveis em água. Quanto mais solvatado for o íon, menor será a velocidade de sua movimentação. A primeira camada de moléculas de água que solubiliza um íon metálico forma um complexo com quatro ou mais moléculas de água ao redor do íon. Depois, são novamente solubilizados com uma segunda camada de moléculas de água, a qual é atraída somente por forças de interação fracas do tipo íon-dipolo. A intensidade dessas forças é inversamente proporcional à distância, isto é, ao tamanho do íon metálico. O íon de sódio possui um tamanho de  $0,95 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}$ , quando está hidratado seu tamanho é de  $2,76 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}$ . O íon de potássio possui um tamanho de  $1,33 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}$ , e quando está hidratado seu tamanho é de  $2,32 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}$ . Assim, quanto maior for o tamanho do íon, menor será sua solubilização. Para que uma substância seja solúvel é necessário que sua energia de hidratação seja maior que sua energia reticular (Lee, 1980; Atkins, 2001). A solubilidade dos respectivos cloretos varia com a temperatura de dissolução. A solubilidade aumenta pouco com a temperatura, por exemplo para o cloreto de sódio: 35,8g/100g de água a 20°C e 39,1g/100g

de água a 100°C. A dissolução do cloreto de sódio se dá com absorção de calor, 1,2kcal por mol (Ohlweiler, 1982).

### **2.1.2 Solubilização de Polímeros**

As soluções de polímeros têm importância tanto pelo aspecto científico quanto tecnológico. Portanto é essencial o conhecimento dos parâmetros de solubilidade de polímeros e das propriedades de suas soluções. Inúmeras aplicações de soluções de polímeros são encontradas na indústria de alimentos, farmacêutica, de cosméticos, de tintas e vernizes, de processamento de petróleo e de mineração (Krevelen, 1990).

Para a solubilização de polímeros não só o tipo de solvente influi no processo como outras variáveis inerentes à estrutura do polímero contribuem significativamente na solubilidade do mesmo. A alta cristalinidade e altas massas moleculares tem efeito negativo. Para dissolver um polímero é necessário que as interações entre os segmentos da cadeia polimérica e o solvente sejam maiores do que as interações solvente-solvente e polímero-polímero. Estando o polímero no estado sólido, suas cadeias estão entrelaçadas, e os movimentos brownianos moleculares estão confinados a pequenos segmentos. Em solução, as cadeias se expandem e ganham liberdade para movimentos translacionais regidos pelas diferentes conformações que possam assumir. As possíveis conformações da cadeia polimérica estão também relacionadas com o peso molecular, para polímeros com baixo peso molecular a probabilidade de preenchimento por uma outra molécula de soluto ou por uma molécula de solvente é maior do que em moléculas poliméricas com alto peso molecular (Young, 1981).

Na solubilização da xantana utiliza-se adição de sais e/ou aquecimento, com o objetivo de facilitar o processo, como é o caso das xantanas que são comercializadas já adicionadas de sais, predominantemente sais de potássio, mas com significantes quantidades de sais de cálcio e sódio, usados na forma de cloretos (Morris, 1996). Os íons são mais hidrofílicos que a xantana, assim se compararmos a solubilização da xantana com e sem a adição de íons percebemos que, na ausência de íons as moléculas de xantana ficam completamente rodeadas de moléculas de água formando uma camada que

impede a penetração de outras moléculas de água, o que chamamos de grumos, enquanto que, na presença de íons a água primeiro liga-se a estes, não formando a camada tão rapidamente em torno das moléculas de xantana, o que permite a penetração de outras moléculas de água, solubilizando mais facilmente a xantana.

## 2.2 Estrutura e Conformação da Xantana

A composição química da xantana produzida pelo patovar *Xanthomonas campestris* pv *campestris* foi determinada por Jeanes et al. (1961), sendo composta por *D*-manose, *D*-glicose e ácido *D*-glicurônico, na proporção 2:3:2, apresentando ainda os grupos acetila e pirúvico.

Jansson et al. (1975) determinaram a estrutura do biopolímero xantana produzido pelo patovar *Xanthomonas campestris* pv *campestris*. A xantana é um heteropolissacarídeo com uma estrutura primária composta de repetidas unidades pentassacarídicas, formada por duas unidades de glicose, três unidades de manose e duas unidades de ácido glicurônico. A cadeia principal consiste de unidades de  $\beta$ -D-glicose ligadas na posição 1 e 4. A estrutura química da cadeia principal é idêntica a da celulose. Os trissacarídeos ligados lateralmente à cadeia principal são compostos por uma unidade de ácido D-glicurônico ( $\beta$  1-2) e duas unidades de manose ligadas na posição do O-3 e por resíduos de glicose ligados ( $\alpha$  1-3) na cadeia principal. As ramificações trissacarídicas aparecem aderidas a cadeia principal do polímero, resultando em uma estrutura rígida, podendo existir na forma geométrica de simples, dupla ou tripla hélice (Jansson et al. 1975, Morris, 1976, Milas et al. e Rinaudo, 1979; Vergelati e Perez, 1987; Sutherland, 2001), que interagem com outras moléculas de polímero para formar um complexo (Garcia-Ochoa et al., 2000), conforme Figura 1. As cadeias trissacarídicas laterais conferem solubilidade em meio aquoso, e juntamente com os ácidos glicurônico, pirúvico e acético conferem ionicidade a xantana, que além de aumentar a solubilidade também estão relacionadas à conformação molecular (Misaki, 1993).

A molécula de xantana parece ter duas conformações: hélice e espiral aleatória, dependendo da temperatura de dissolução. (Morris, 1976; Galindo,

1994). Possui caráter aniônico marcante, devido à presença dos ácidos D-glicurônico, pirúvico e grupamentos acetila em sua estrutura molecular. Nos produtos comerciais estas funções ácidas encontram-se neutralizadas por cátions como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^{+2}$  (Morris, 1996).

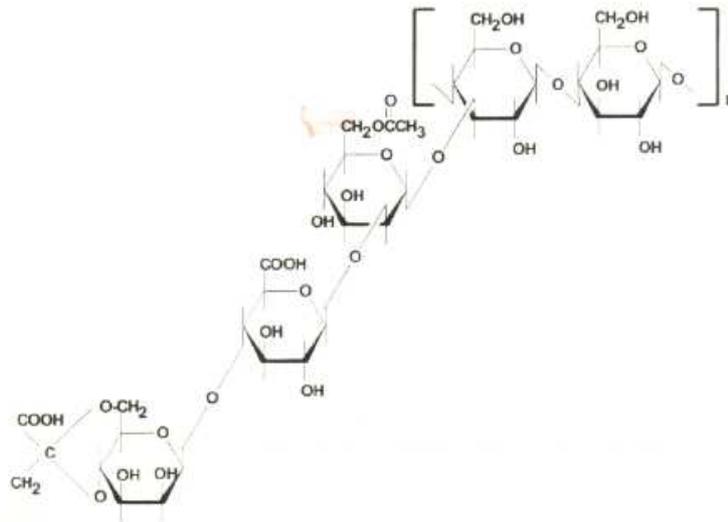


FIGURA 1 – Estrutura da xantana. Fonte: Jansson et al., 1975

A distribuição do peso molecular da xantana varia de  $2 \cdot 10^6$  a  $20 \cdot 10^6$  Da. Esta distribuição de peso molecular depende da associação entre cadeias formando agregados de algumas cadeias individuais. As variações nas condições de fermentação usadas na produção são fatores que podem influenciar no peso molecular da xantana (Garcia-Ochoa et al. 2000).

O peso molecular e o volume dos substituintes ácido pirúvico e acetila da xantana dependem da cepa de *Xanthomonas* (Cadmus et al., 1978; Kennedy et al., 1982), da composição do meio, e das condições operacionais usadas na produção (Cadmus et al., 1978; Souw e Demain, 1979).

Um polissacarídeo somente apresenta propriedades de interesse comercial se for capaz de formar, de modo ordenado, estruturas secundárias, terciárias e, às vezes, quaternárias em meio aquoso. Para isto, a estrutura primária não pode constituir-se num impedimento para as associações intermoleculares e intramoleculares. A xantana é capaz de formar estas estruturas (Morris, 1984). Entretanto, apenas pela sua composição química não é possível prever o tipo de estrutura secundária e terciária possíveis de serem

formadas. Polissacarídeos altamente solúveis e flexíveis normalmente funcionam apenas como espessantes (Morris, 1984; Rinaudo, 1993). A rigidez da cadeia principal da xantana, aliada à solubilidade induzida pelas cadeias laterais, e demais características da sua estrutura química conferem as características únicas que tornaram a xantana tão importante para a indústria de alimentos e outras.

A xantana passa por uma mudança na conformação de ordem para desordem quando em solução salina, de baixa força iônica e aquecida (Morris, 1996; Pelletier et al., 2001). Apesar de muitos pesquisadores terem feito vários estudos sobre a mudança conformacional, a explanação sobre a estrutura molecular não é razoável ainda. Uma tentativa de determinar a conformação de ordem e desordem foi realizada com o estudo da adição de sódio na xantana. Uma solução de  $0,01\text{mol L}^{-1}$  de cloreto de sódio confere a xantana uma conformação ordenada, a  $25^{\circ}\text{C}$ , de dupla hélice, como foi proposto por Morris (1996). A altas concentrações de NaCl,  $0,1\text{mol L}^{-1}$  a  $80^{\circ}\text{C}$ , a conformação de desordem, na forma de uma espiral estendida, contendo um pequeno número de duplas hélices, o que é provocado pelas repulsões eletrostáticas. A conformação de ordem-desordem pode ser considerada um processo parcial de junção de dupla hélice. Liu et al. (1988) têm sugerido que a dupla hélice fundida do final da cadeia é obtida pelo aquecimento e que o completo desenrolamento pode somente ser obtido com aquecimento a altas temperaturas, conforme Figura 2. Na conformação ordenada, a cadeia lateral é dobrada em uma associação com a cadeia principal, enquanto que na estrutura desordenada a cadeia lateral não está associada e sim projetada distante da cadeia principal.

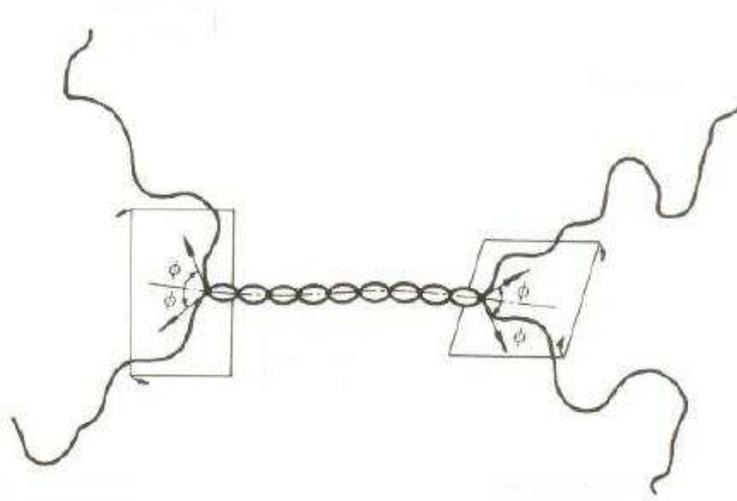


FIGURA 2 - Modelo da xantana em solução com  $0,01\text{mol L}^{-1}$  de NaCl a  $25^{\circ}\text{C}$ , parcialmente dissolvida, dupla hélice. Fonte: Liu et al., 1988.

### 2.3 Reologia

A reologia é o estudo da deformação e do escoamento da matéria, sendo a deformação aplicada no caso da matéria estar no estado sólido e o escoamento quando a matéria está no estado líquido. A propriedade reológica de interesse no caso dos sólidos é a elasticidade e no caso dos líquidos é a sua viscosidade. No entanto, os materiais não podem ser diferenciados em sólidos ou líquidos com clareza, de modo que a propriedade reológica de interesse nestes casos é a viscoelasticidade (Shaw, 1975; Navarro, 1997; Pasquel, 1999).

A viscoplasticidade foi idealizada por Bingham (1922, citado por Navarro, 1997), é um fenômeno caracterizado pela existência de um valor residual para a tensão de cisalhamento, o qual deve ser excedido para que o material apresente um comportamento viscoso. Este comportamento está associado a composições que possuem interações partícula-partícula acentuadas, sistemas que são considerados líquidos como lamas, polpas de frutas e suspensões concentradas, quando tem uma concentração de sólidos elevada, acima do valor crítico. Estes fluidos antes de escoarem como um fluido Newtoniano

comporta-se como um sólido plástico, possuem tensão residual, conforme é demonstrado na Figura 3. São chamados de fluidos viscoplásticos ideais.

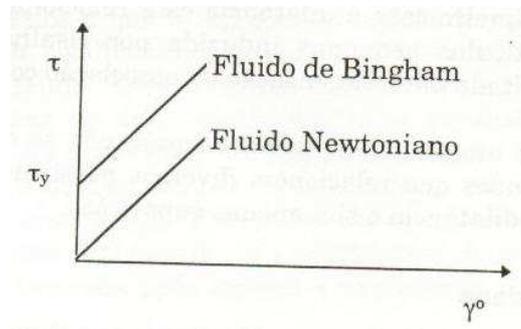


FIGURA 3 - Curvas de fluxos dos fluidos Newtonianos e de Bringham Fonte: Navarro, 1997.

A viscoplasticidade é um fenômeno dependente do tempo que só ocorre em sistemas poliméricos. Os líquidos poliméricos apresentam comportamento não-newtoniano nas soluções diluídas, sendo que é possível verificar que em repouso, as moléculas do polímero podem assumir uma posição equilibrada de formas (conformação) e, aleatória de orientações (configurações). Sob cisalhamento estas moléculas mudam de forma e se afastam da posição de equilíbrio, de uma forma equivalente à mostrada na Figura 4. As várias moléculas se alinham junto com as suas vizinhas, reduzindo a aleatoriedade do sistema molecular, tomando uma orientação global típica de sólidos, originando o comportamento viscoelástico (Navarro, 1997).

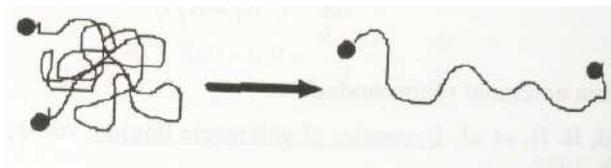


FIGURA 4 - Orientação de uma cadeia polimérica sob cisalhamento a partir do repouso. Fonte: Navarro, 1997.

Ainda deve-se considerar as interações intermoleculares ou pontos de junção que se movem ao longo da molécula sob deformação. A possibilidade da formação de uma rede temporária torna possível estabelecer uma deformação permanente, reduzindo a “memória” elástica do material. O

cisalhamento irá aumentar a velocidade de redução de junções já existentes e diminuir a formação de novas junções. Assim o comportamento é dependente do tempo devido ao tempo necessário para que o equilíbrio dos pontos de junção seja novamente alcançado (Shaw, 1975).

Se um material é um sólido hookeano, uma dada tensão aplicada corresponde a uma deformação, independente do tempo, sendo que a energia aplicada é recuperada com o corpo voltando à sua forma original. Para um fluido perfeitamente viscoso, não há recuperação de energia, sendo esta dissipada com a deformação permanente do material. Sistemas reais comportam-se como sólidos e líquidos. Logo, para um material viscoelástico, uma parcela da tensão aplicada poderá ser parcialmente recuperada, devido às propriedades elásticas, enquanto parte poderá ser dissipada devido às propriedades viscosas. (Navarro, 1997)

A pseudoplasticidade é caracterizada pela diminuição da viscosidade à medida que aumenta a taxa de deformação aplicada no sistema (Navarro, 1997).

A tixotropia é um fenômeno caracterizado pelo decréscimo da viscosidade aparente do líquido com o tempo de aplicação de uma dada taxa de deformação. Este fenômeno isotérmico e reversível é fruto da destruição gradual da estrutura construída pelas partículas da fase dispersa, cuja força de ligação não resiste à ação do cisalhamento imposto. O fenômeno é considerado reversível porque após a retirada do esforço externo, as ligações quebradas são reconstituídas formando novamente as estruturas internas. Diferentemente ao processo de quebra de ligações, a reconstrução é por vezes muito lenta sendo necessário um tempo maior de repouso para que o mesmo se complete (Shaw, 1975; Navarro, 1997).

A tensão residual de um fluido é definida como sendo a tensão de cisalhamento que deve ser excedida para que o material apresente um fluxo viscoso. O fenômeno é comum nos casos em que a interação partícula-partícula desempenha um papel importante (Navarro, 1997)

A viscosidade de um líquido mede a resistência interna oferecida ao movimento relativo das diferentes partes desse líquido, assim o conhecimento do comportamento reológico das soluções é essencial para o seu processamento, avaliação, controle de qualidade e aceitabilidade do

consumidor. Além de ser medida direta da qualidade do fluido, a viscosidade pode fornecer importantes informações sobre mudanças fundamentais em sua estrutura durante um determinado processo, como polimerização, emulsificação e homogeneização. Para se avaliar as características de uma solução ou mesmo realizar o controle de qualidade de um produto deve-se fazer testes reológicos a baixa tensão de cisalhamento simulando as condições de utilização deste produto. As altas tensões de cisalhamento são utilizadas para realizar estudos reológicos das condições do processamento de determinadas soluções ou produtos. (Shaw, 1975; Scamparini, 1991). A viscosidade era expressa em centipoise (cP), atualmente a unidade utilizada é milipascal por segundo ( $\text{mPa}\cdot\text{s}^{-1}$ ), porém ambas são equivalentes nas dimensões expressas, sendo 1cP igual a  $1\text{mPa}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Para se obter informação sobre a capacidade “espessante” de um material pode-se realizar análise dos componentes elástico e viscoso do material. Para estes ensaios é necessário realizar medidas dinâmicas, onde uma tensão ou deformação oscilatória é aplicada sobre o material, medindo-se sua resposta com relação à tensão ou deformação aplicada em uma dada frequência. Quando se efetua este tipo de análise o componente elástico é defasado em  $90^\circ$  do componente viscoso, assim a tensão de resposta de um corpo elástico é proporcional à deformação ou tensão aplicada (Navarro, 1997).

### **2.3.1. Reologia de Polímeros**

Soluções de biopolímeros bacterianos com propriedades reológicas interessantes do ponto de vista industrial geralmente exibem propriedades pseudoplásticas, viscoelásticas e tensão residual elevada. Entretanto a determinação da viscosidade aparente, em solução de baixa concentração, é o parâmetro mais simples para se avaliar o potencial de aplicação de um biopolímero bacteriano (Silva e Rao, 1999). Os biopolímeros bacterianos são capazes de formar soluções viscosas e géis em meio aquoso, mesmo em

baixas concentrações. Segundo Stading (1988) não existe outra categoria de substâncias que exiba esse comportamento.

Segundo Nitschke e Thomas (1995), o comportamento reológico é o indicador da qualidade das gomas, sendo apropriado para triagem de cepas de *Xanthomonas campestris*, e para utilização industrial.

Dos parâmetros que interferem na viscosidade dos polímeros, pode-se citar o peso molecular da estrutura, tipo de estrutura molecular e concentração de polímero. A viscosidade da solução aquosa de um polissacarídeo está diretamente relacionada com a rigidez de sua molécula que, por sua vez, depende da sua estrutura, principalmente primária e secundária, a qual está diretamente relacionada à bactéria utilizada e as condições operacionais do processo.

A viscosidade de uma solução é dependente do peso molecular da estrutura. Para líquidos de baixo peso molecular o aumento é devido basicamente ao aumento da população de átomos e/ou moléculas na composição química do líquido, onde o líquido é constituído de inúmeras moléculas de mesmo tamanho e forma, dispersas ao longo da estrutura do líquido. Quando o líquido em questão é um polímero, na região de baixo peso molecular o comportamento é essencialmente o mesmo, porém coexistem moléculas de diferentes tamanhos e formas dispersas ao longo da estrutura. Assim como um polímero pode apresentar vários pesos moleculares diferentes, dependendo da forma como o mesmo é calculado. Como a ação primária do cisalhamento é quebrar o máximo de interações moleculares presentes, a viscosidade dos polímeros líquidos depende também da distribuição de peso molecular (Navarro, 1997).

A viscosidade das soluções aumenta com o aumento da concentração do polímero. Este comportamento pode ser atribuído às interações intermoleculares e entrelaçamentos, aumentando efetivamente as dimensões da macromolécula e o peso molecular (Garcia-Ochoa et al., 2000). A concentração crítica ( $c^*$ ), que em termos reológicos é o ponto divisor entre uma suspensão diluída e concentrada, é produto da formação de aglomerados de partículas, assim o movimento de uma partícula passa a ser dependente do movimento da partícula vizinha. Estes efeitos surgem com maior intensidade

quando a concentração de polímero ultrapassa a concentração crítica (Navarro, 1997).

A viscosidade pode ser afetada pela presença das ramificações. Os estudos preliminares preconizam que a introdução de ramificações reduz o grau de enrolamento de uma cadeia linear, sendo a viscosidade de um polímero ramificado menor que a de um linear de mesma composição química e peso molecular. A queda da viscosidade com o aumento de ramificação sempre ocorre quando os ramos não excedem a um dado comprimento, o aumento da viscosidade com o peso molecular é especialmente lento na medida em que o número de ramos é aumentado, o decréscimo da viscosidade com o grau de ramificação está relacionado com a alteração no movimento cooperativo dos segmentos da cadeia. Porém alguns pesquisadores relatam que o aumento das ramificações aumenta a viscosidade, isto pode ocorrer quando os ramos são longos e engaja-se no enrolamento entre as cadeias, com comprimento maior que o crítico da cadeia, ou quando a estrutura da cadeia possibilita que seus elementos se transformem em enrolamentos. (Navarro, 1997)

O desenvolvimento da viscosidade ocorre somente quando a concentração é alta o suficiente para forçar as espirais individuais a se interpenetrar formando um emaranhado, uma rede. A concentração crítica ( $c^*$ ) no começo da superposição das espirais é inversamente proporcional ao tamanho das espirais individuais, o que pode ser caracterizado experimentalmente pela viscosidade intrínseca  $[\eta]$ . A concentrações abaixo de  $c^*$ , onde as cadeias estão livres para se movimentarem independentemente através do solvente, a viscosidade é virtualmente independente da taxa de deformação. A altas concentrações, onde o fluxo pode somente ocorrer pela dificuldade das moléculas no “zigue-zague” através do emaranhado das cadeias vizinhas, a viscosidade também permanece constante a baixas taxas de deformação, onde o tempo é suficiente para existir um emaranhado separado pelo fluxo a ser restituído por um novo emaranhado entre diferentes cadeias (Morris, 1996).

Segundo Minard (1959, citado por Navarro, 1997), a viscosidade de vários dos materiais pode variar em aproximadamente 10% para uma simples variação de 1°C na temperatura de ensaio. Enquanto para os gases, a

viscosidade aumenta com o aumento de temperatura, para os líquidos a viscosidade cai exponencialmente com o aumento de temperatura. Uma das formas de representar a dependência da viscosidade com a temperatura é através de uma equação do tipo Arrhenius.

### 2.3.2 Reologia da Xantana

As soluções aquosas do biopolímero produzido por *Xanthomonas campestris* apresentam características reológicas diferenciadas dos demais polímeros como a alta viscosidade em baixa concentração, enquanto que, a altas concentrações suas propriedades de interação moleculares e fracas gelatinização são manifestados (Jeanes, 1974), altos níveis de pseudoplasticidade e estabilidade em relação a variações de temperatura, pH, e presença de sais (Sutherland, 1983). Ainda dissolve-se rapidamente em água quente ou fria (Rocks, 1971).

Segundo Cottrell (1979) a xantana é o polissacarídeo atualmente existente no mercado com a mais ampla estabilidade, induz à formação de soluções aquosas de alta viscosidade, são extremamente pseudoplásticas, apresentam tensão residual e uma certa tixotropia. Nenhum outro polissacarídeo atualmente comercializado apresenta esta formidável combinação de características (Challen, 1993). Devido a isto, vem sendo amplamente utilizada em vários setores industriais (Marques et al., 1986; Rao, 1986). Pode ser utilizada como agente espessante, estabilizante e emulsificante, possibilitando a criação de novos produtos com texturas únicas (Sanderson, 1990).

Sob o ponto de vista prático, a mais importante característica da xantana é sua capacidade espessante, que pode ser definida como a viscosidade gerada por unidade de concentração do produto. Esta pode ser tomada como um índice de qualidade que é usado para correlações entre diferentes xantanas (Torrestiana et al., 1990).

A formação de gel é observada quando a xantana está em associação com outros polímeros, sinergismo, como as galactomananas, em meio aquoso (Cottrell, 1979). É insolúvel na maioria dos solventes orgânicos, exceto em

solventes polihidroxilais tais como glicerol e o polietileno glicol. Suas soluções permanecem estáveis ao congelamento e descongelamento (Rocks, 1971).

As propriedades reológicas das soluções de xantana podem ser diferentes dependendo das diferentes cepas, variação das colônias e dos processos utilizados para obtenção do biopolímero (Torres et al., 1993; Souza et al., 1999; Antunes et al., 2000; Moreira et al., 2001).

A natureza do polímero pode modificar as propriedades reológicas das soluções de xantana (Milas et al., 1985). O conteúdo de piruvato e acetato na xantana afeta as interações entre as moléculas de xantana e entre a xantana e outros polímeros (Kang e Pettitt, 1993; Garcia-Ochoa et al., 2000).

A viscosidade apresentada por soluções de xantana pode variar de acordo com algumas modificações na composição química tanto qualitativas como quantitativas (Moreira et al., 2001). As mudanças qualitativas estão relacionadas a variações na proporção entre glicose, manose e ácido glicurônico, as quais são decorrentes de cepas de diferentes espécies relacionada à genética do microrganismo (Sutherland, 1981, Antunes et al., 2000; Moreira et al., 2001). Ainda a presença de outros monossacarídeos, como galactose e ramnose podem ocorrer (Sutherland, 1993). As mudanças quantitativas podem ser ocasionadas pelo processo de obtenção do biopolímero bacteriano como o meio de cultura, aeração, agitação, pH, temperatura e tempo (Torres et al., 1993; Souza et al., 1999; Moreira et al., 2001). O peso molecular e o comprimento dos substituintes ácido pirúvico e acetila da xantana dependem da cepa de *Xanthomonas* (Cadmus et al., 1978, Kennedy, 1982), da composição do meio, e das condições operacionais usadas (Cadmus et al., 1978; Garcia-Ochoa et al., 2000).

Um fator importante no comportamento reológico das soluções de xantana é a concentração, justamente por esta apresentar viscosidade elevada mesmo em baixíssimas concentrações; entretanto, ao aumentar-se a concentração, a taxa de crescimento da viscosidade começa a diminuir (Misaki, 1993). Em taxas de cisalhamento reduzidas, o efeito do aumento da concentração sobre o aumento da viscosidade da xantana é mais percebido. Entretanto concentrações mais elevadas apresentam maior pseudoplasticidade (Zhang Xuewu et al., 1994; García-Ochoa et al., 2000). A baixas concentrações de xantana a viscosidade diminui pouco quando pequenas quantidades de sais

são adicionadas a solução. Este efeito tem sido atribuído a redução das dimensões molecular resultado da diminuição das forças eletrostáticas intermoleculares (Garcia-Ochoa et al., 2000). A viscosidade aumenta a altas concentrações de polímero ou quando uma larga quantidade de sais é adicionada. Este efeito ocorre provavelmente pelas interações entre as moléculas de polímero (Milas et al., 1985). A viscosidade das soluções de xantana é dependente da concentração dos sais quando o conteúdo de sais ultrapassa  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (m/v) (Kang e Pettitt, 1993).

As propriedades reológicas das soluções de xantana são altamente dependentes da concentração de polímero e de qualquer eletrólito adicionado; abaixo da concentração crítica ( $c^*$ ) de polímero, onde as soluções de xantana ainda exibem comportamento típico de soluções semidiluídas. A adição de eletrólito reduz o valor do módulo elástico comparando com medidas de solução de xantana em água destilada. Este comportamento é típico de polieletrólitos e pode ser atribuído ao resultado de mudança na conformação causando decréscimo no volume hidrodinâmico, decrescendo assim os valores dos parâmetros reológicos. Acima da concentração crítica, a adição de eletrólito pode induzir a um aumento nos valores dos parâmetros reológicos por associações intermoleculares, facilitadas pela redução das repulsões eletrostáticas e ordenação das cadeias, conduzindo a uma rede tridimensional. Em uma solução 1% (m/v) a  $25^\circ\text{C}$ , a xantana adquiriu uma conformação ordenada igual na ausência de eletrólito. Contudo a concentração do eletrólito presente influenciará a temperatura da transição ordem-desordem da xantana, uma vez no estado ordenado, as características estruturais e propriedades reológicas da solução de xantana são basicamente insensíveis à concentração do eletrólito (Pelletier et al., 2001).

A conformação em forma de hélice da xantana causa a aparente “rigidez” da molécula de polissacarídeo a baixas temperaturas ou em alta energia iônica. O aumento da temperatura em soluções aquosas de xantana eventualmente produz uma parcial fusão da dupla hélice. Íons também têm um significativo efeito na conformação; sais têm mostrado aumentar a temperatura de fusão.

A xantana, por ser um polieletrólito, apresenta uma queda na viscosidade durante a adição de sais inorgânicos, porque a conformação

altamente expandida, que ocorre a baixa força iônica, transforma-se no tipo enrolamento ao acaso, que é mais compacta devido à separação das cargas (Morris, 1984). Soluções de xantana não somente mostram uma boa compatibilidade com sais como também apresentam um incremento na viscosidade com a adição de 0,1% de NaCl ou KCl, para concentrações de polímero entre 0,2% e 0,5% (Jeanes et al., 1961). Isto é resultado da estabilização da estrutura ordenada da xantana, gerando um aumento na associação intermolecular (por estabilização das cargas negativas da xantana).

Liu et al. (1998), estudando a mudança conformacional da estrutura da xantana por indução térmica em solução  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  de NaCl, concluiu que as mudanças na viscosidade acompanham a mudança na conformação da estrutura entre um estado de ordem e desordem, e é extremamente dependente da concentração, observando que a viscosidade da xantana a  $80^\circ\text{C}$  em estado desordenado é muito maior que a viscosidade da xantana a  $25^\circ\text{C}$  em estado ordenado.

Para Morris (1984) o efeito de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  KCl na viscosidade da solução de xantana depende da concentração da goma, pois para uma concentração menor que 0,25%, a viscosidade da solução aquosa de xantana sem adição de sais é maior que da solução adicionada de sais.

O estado de transição da estrutura da xantana depende do nível e da natureza dos sais na solução e do conteúdo de piruvato e acetato das cadeias laterais (Capron et al., 1997).

Segundo Sutherland (2001) as soluções de xantana são muito mais estáveis na presença de sais, provavelmente devido à manutenção de alguns graus de ordem e ainda faz com que diminua a temperatura de transição da conformação da estrutura. O mesmo autor no estudo da estabilidade térmica de soluções de xantana, concluiu que a  $100^\circ\text{C}$  ou acima toda xantana é destruída.

Hatakenaka et al. (1987), determinaram a viscosidade em função do tempo de soluções aquosas de xantana e NaCl, com concentração de NaCl de 0,005, 0,01 e  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , que foram expostas a  $80^\circ\text{C}$  por diferentes períodos de tempos. Este estudo mostrou que a viscosidade relativa diminuiu marcadamente com o passar do tempo, sugerindo que a solução de xantana e

NaCl desnaturada a 80°C sofre uma mudança conformacional ou degradação. Para diferentes concentrações de xantana com 0,01; 0,005 e 0,1mol L<sup>-1</sup> de NaCl, o comportamento da viscosidade relativa diminui gradualmente com o tempo. Entretanto, o valor da viscosidade relativa para solução de xantana com 0,005mol L<sup>-1</sup> NaCl é maior que com 0,01mol L<sup>-1</sup>, sugerindo que no tempo zero a estrutura desordenada da solução de xantana é mais expandida a baixas concentrações de NaCl pela repulsão eletrostática entre os grupos ionizados. Concluiu que a partir de 5 horas a viscosidade começou a decrescer.

Liu et al. (1988) sugerem que a concentração de sais maior que 0,01mol L<sup>-1</sup> é necessária se a total transição da conformação de ordem para desordem é desejada e isto ocorre à temperatura de 80°C, ou menor.

Os estudos da adição de sais nas soluções de xantana e os efeitos na viscosidade apresentam resultados contraditórios. Em alguns casos a viscosidade de soluções diluídas de xantana aumenta na presença de cloreto de sódio, em outros a viscosidade tem uma moderada diminuição.

Enquanto a maioria das soluções de polissacarídeos mostram um acentuado decréscimo na viscosidade com o incremento da temperatura, a xantana, adicionada de sais (NaCl 0,1mol L<sup>-1</sup>) pode manter sua estrutura ordenada (dupla hélice) e, dessa maneira, sua viscosidade até cerca de 100°C. As soluções preparadas sem a adição de sais apresentam um comportamento mais próximo dos demais polímeros, entretanto, mostram um aumento na viscosidade durante o aquecimento, antes do esperado decréscimo (Jeanes et al., 1961). Este comportamento é indicativo da passagem de uma conformação ordenada, como a hélice, para a conformação desordenada do tipo enrolamento ao acaso, com subsequente aumento no volume hidrodinâmico efetivo e, assim, da viscosidade (Morris, 1977; Milas e Rinaudo, 1979). Simultaneamente, ocorre a liberação das cadeias laterais seguidas do progressivo decréscimo da rigidez da cadeia principal, nas temperaturas entre 40° e 60°C (Milas e Rinaudo, 1979). Segundo García-Ochoa et al. (2000), a temperatura de dissolução da amostra pode influenciar a faixa de temperatura em que ocorre a mudança conformacional. Também influencia a concentração de sais, independentemente da concentração do polímero (Milas e Rinaudo, 1979). A estabilidade da xantana frente a variações na temperatura é uma, se não a mais, importante característica, que a diferencia da grande maioria dos

polissacarídeos. Segundo Moreira et al. (2001), várias cepas do pv pruni apresentam comportamentos reológicos distintos frente à mudança de temperatura, podendo aumentar a viscosidade aparente das soluções aquosas, diminuir e manter, evidenciando que a viscosidade varia de acordo com a cepa utilizada na produção.

As viscosidades das soluções de xantana não são afetadas drasticamente por mudanças no pH entre 1 e 13, mantendo maior estabilidade na faixa entre 3 e 9, porém quando o pH é igual a 9 ou superior, a xantana é gradualmente desacetilada (Tako e Nakamura, 1984), enquanto que com o pH abaixo de 3 perde-se o grupo de ácido pirúvico e acetilas (Bradshaw et al., 1983) e, em ambos os casos, as viscosidades das soluções aquosas diminuem (Kang e Pettit, 1993). Muitos polímeros apresentam importantes mudanças na viscosidade de suas soluções em função de mudanças no pH, que alteram sua conformação. Entretanto, quando adicionadas de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de NaCl, as soluções da xantana são essencialmente independentes do pH (Morris, 1984).

Durante as medidas reológicas ainda se podem detectar alguns efeitos na viscosidade da xantana ocasionados pelo cisalhamento provocado na estrutura como: a orientação das moléculas, o estiramento, a deformação das estruturas, efeitos que fazem com que a viscosidade diminua, dependendo da taxa de cisalhamento aplicada. Ainda pode ocorrer a destruição dos agregados, o que faz aumentar a viscosidade pelo aumento da superfície de contato. Quando a taxa de deformação aplicada é elevada, além de ocorrer o alinhamento das moléculas, as ligações entre estas podem se desfazer, pois as forças aplicadas são mais fortes que as ligações entre as moléculas, assim a estrutura se rompe, tendo-se a destruição do biopolímero bacteriano. O cisalhamento, portanto, leva muitas vezes a um rompimento irreversível (reodestruição) das ligações entre os elementos estruturais de um material (Shaw, 1975). A xantana é extremamente pseudoplástica, e esta é uma característica muito desejada em diversas situações. Efetivamente, do ponto de vista sensorial, os polissacarídeos que possuem comportamento pseudoplástico provocam menor sensação de gomosidade na boca do que aqueles com comportamento newtoniano (Morris, 1984). A taxa de cisalhamento da mastigação é considerada como entre  $50\text{-}200 \text{ s}^{-1}$  (Morris, 1984). A xantana exhibe viscosidades muito baixas nesta faixa de taxa de

cisalhamento, fazendo com que o produto alimentício no qual foi utilizada pareça menos viscoso ao paladar e o sabor seja mais bem percebido (Challen, 1993). Sua associação com hidrocolóides como proteínas e outros biopolímeros pode potencializar o efeito pseudoplástico (Laneuville et al., 2000; Garcia-Ochoa et al., 2000).

Como a xantana apresenta uma extraordinária combinação de características, torna-se muito polivalente. É atualmente o biopolímero com a maior taxa de crescimento nas aplicações industriais (Katzbauer, 1998). Conseqüentemente, faz-se necessária sua produção em larga escala, ser economicamente viável, possuir métodos de solubilização adequados e quando adicionada em produtos que contenham eletrólitos exibi altas viscosidades.

## 2.4 Objetivos Gerais

- Avaliar a solubilidade da xantana comercial utilizando diferentes métodos;
- Avaliar o comportamento reológico das soluções de xantana comercial e da produzida pela *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24 frente à adição de sais e variação de temperatura;
- Avaliar o comportamento reológico das soluções da xantana produzida pela *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24 frente a variações no pH das soluções.

### 3. AVALIAÇÃO DA SOLUBILIDADE DA XANTANA COMERCIAL ATRAVÉS DO USO DE DIFERENTES MÉTODOS

Patrícia Silva DIAZ, Claire Tondo VENDRUSCOLO, João Luíz Silva VENDRUSCOLO

#### *RESUMO*

Para uma efetiva aplicação da xantana na indústria, além dos estudos relacionados às propriedades das soluções, a sua solubilidade deve ser considerada, pois mesmo sendo um hidrocolóide, a solubilização merece especial atenção. Não existe uma metodologia oficial única que estabeleça o preparo de soluções aquosas de xantana para avaliação do comportamento reológico. O objetivo deste trabalho é avaliar a solubilidade da xantana comercial utilizando diferentes métodos, tendo como parâmetro a viscosidade apresentada pelas diferentes soluções. Foram utilizadas quatro metodologias de solubilização de xantana comercial, visando verificar qual apresenta maior influência sobre a viscosidade da solução 1% (m/v), a 25°C, em diferentes tempos. Os resultados mostraram que a maior viscosidade da solução de xantana comercial, independente do tempo, foi obtida utilizando-se o método com aquecimento da amostra, utilizado por Zhang Xuewu et al. (1996), e que após 24 horas a temperatura ambiente resulta em viscosidade aparente maior.

**Palavras-chave:** biopolímero, solubilidade, viscosidade.

### **3. EVALUATION OF THE COMMERCIAL XANTHAN WITH THE DIFFERENT SOLUBILITY METHODS**

Patrícia Silva DIAZ, Claire Tondo VENDRUSCOLO, João Luíz Silva VENDRUSCOLO

#### **ABSTRACT**

In order to have an effective use of the xanthan in the industry, not only the studies concerning the properties of the solutions, but also its solubility should be considered due to the fact that even being an hydrocolloid, the solubilization deserves special attention. There is not a unique oficial methodology that establishes the preparation of aqueous solutions of xanthan to evaluate the rheological behaviour. This study aims at evaluating the solubility of the commercial xanthan by using different methods and having as a parameter the viscosity presented by the different solutions. Four solubilization methodologies of the commercial xanthan were used with the objective of checking which one had more influence on the viscosity of the solution 1% (m/v), at 25°C, at different times. The results showed that the highest viscosity of the commercial xanthan, independently of the time, was obtained using the method with sample heating used by Zhang Xuewu et al. (1996), and that after 24 hours the room temperature results in higher apparent viscosity.

**Key words:** biopolymer, solubility, viscosity.

### 3.1 INTRODUÇÃO

Para uma efetiva aplicação da xantana na indústria, além dos estudos relacionados às propriedades das soluções, estudos relacionados a sua solubilidade devem ser considerados, pois mesmo sendo um hidrocolóide, sua solubilização merece especial atenção.

Não existe uma metodologia oficial única que estabeleça o preparo de soluções aquosas de xantana para avaliação do comportamento reológico. Ainda é necessário ressaltar que nenhum dos métodos é descrito por completo, com todas as informações necessárias para o preparo das soluções aquosas de xantana para análise.

Os métodos de solubilização de xantana utilizados por Torres (1993), Oviatt (1994), Pettitt (1995) e por Casas (2000), acrescentam NaCl no preparo, sem ressaltar se é adicionado na forma sólida ou em solução. Os métodos oficiais descritos no Code of Federal Regulation (2002) e no Food Chemicals Codex (1972) utilizam 1% de KCl. O método utilizado por Pastor et al. (1994) dispersa os sólidos por agitação magnética e mantém por 24 horas a solução em temperatura ambiente. A solubilização realizada por Zhang Xuewu et al. (1996), dissolve os sólidos com agitação a 60°C por 20 minutos. Rood et al. (2000) prepara as amostras com agitação e aquecimento a 80°C e Zirnsak et al. (1999) com aquecimento a 90°C.

Para a conservação das amostras Moreno et al. (2000), Torres (1993) e Zirnsak et al. (1999) adicionaram azida sódica, na concentração de 0,04 g L<sup>-1</sup>, para prevenir a contaminação microbológica. Rood et al. (2000) armazenou as amostras a 4°C. Nenhum dos métodos descreve sobre suas influências sobre a solubilidade da xantana, especialmente quando se trata de diminuição da temperatura, a qual afeta diretamente a cinética da reação.

Não há um consenso entre os métodos propostos para a solubilização da xantana com relação a adição de sais, no que se refere ao tipo de sal adicionado (cloreto de sódio ou cloreto de potássio) e em que concentração. Também não se tem um consenso com relação a velocidade da agitação que deve ser usada no preparo, com relação a temperatura e por quanto tempo.

A cada novo biopolímero sintetizado, surgem novos comportamentos reológicos, assim se faz necessário conhecer as metodologias existentes para

aplicá-las ou adaptá-las como uma rotina laboratorial. O conhecimento do comportamento reológico é fundamental para determinar a aplicabilidade da xantana (Rao, 1986; Nitschke e Thomas, 1995). Este, no entanto, depende da metodologia de preparo da amostra.

O objetivo deste trabalho é avaliar a solubilidade da xantana comercial utilizando diferentes métodos, sendo dois oficiais e dois não oficiais, utilizando como parâmetro comparativo as viscosidades apresentadas pelas diferentes soluções. Para o preparo das amostras de soluções de xantana para análise reológica existem muitos métodos propostos, sugeridos por vários autores. Assim, neste trabalho foram utilizadas quatro metodologias diferentes de solubilização da xantana comercial visando verificar qual apresenta maior influência sobre a viscosidade da solução 1% (m/v), a 25°C, em diferentes tempos.

## **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1 MATERIAL**

A xantana utilizada foi a xantana comercial Kelgum 87, Kelco, fornecida pela empresa Oderich.

As análises reológicas foram realizadas em Reômetro Haake, modelo RS 150, sendo usado como aparato de medida o sensor tipo copo, modelo DG 41.

### **3.2.2 MÉTODOS**

Na determinação da viscosidade da xantana comercial as medidas foram realizadas a 25°C. As soluções aquosas foram preparadas na concentração de 1% (m/v), por dissolução em água destilada e a xantana dispersa através de agitação magnética por 2h. As análises foram realizadas com 24h, 48h, 72h e 96h para o estudo do tempo de solubilização das moléculas. As amostras foram mantidas por 24h em repouso à temperatura ambiente. Os parâmetros das análises reológicas foram: taxa de deformação aplicada entre  $0,01s^{-1}$  a  $50,0s^{-1}$ , tempo de 600 segundos. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Para o preparo das amostras, seguiu-se três metodologias distintas:

A) Adição da xantana na água destilada sob agitação magnética durante 2 horas (Pastor et al., 1994).

B) Adição da xantana na água destilada sob agitação magnética durante 2 horas, seguida de aquecimento a 60°C por 20 minutos (Zhang Xuewu et al., 1996).

C1) Adição da xantana mais cloreto de potássio (1%) na água destilada sob agitação magnética durante 2 horas (Code of Federal Regulation, 2002; Food Chemicals Codex, 1972).

C2) Adição da xantana em uma solução de cloreto de potássio (1%) sob agitação magnética durante 2 horas (Code of Federal Regulation, 2002; Food Chemicals Codex, 1972).

### **3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados da determinação de viscosidade das soluções de xantana comercial solubilizadas pelos diferentes métodos mostraram que a melhor solubilização foi alcançada preparando a solução através do método proposto por Zhang Xuewu et al. (1996), método B, conforme Figura 1, o qual apresentou a maior viscosidade aparente. Isso pode ser explicado pela diminuição da presença de aglomerados sólidos formados com a adição da água. Também o aquecimento aumentou o grau de solvatação das moléculas, provocando conseqüentemente elevação na cinética da reação, resultando em maior viscosidade aparente. A destruição dos agregados pode elevar a viscosidade pela maior superfície de contato. A diminuição da presença dos aglomerados aumenta as interações intermoleculares e entrelaçamentos, elevando efetivamente as dimensões da macromolécula, conforme descrito por Garcia-Ochoa et al. (2000). Também ocorre, como conseqüência do entrelaçamento das moléculas, uma dependência com relação ao movimento de uma partícula, a qual passa a ser dependente do movimento da partícula vizinha (Navarro, 1997). Por causa destes efeitos, as soluções que foram preparadas com aquecimento mostraram-se mais viscosas que as demais. Este resultado está de acordo com a afirmação de que as propriedades

reológicas das soluções de xantana são afetadas pela temperatura de dissolução (Garcia-Ochoa et al., 2000).

Provavelmente a conformação de ordem da estrutura foi alcançada, pois Liu et al. (1988) relatam que a dupla hélice fundida do final da cadeia é obtida pelo aquecimento e que a conformação ordenada apresenta a cadeia lateral dobrada em uma associação com a cadeia principal; estando a estrutura com essa conformação a viscosidade é maior.

Estes efeitos não foram observados nas amostras em que foram adicionados sais, métodos propostos pelo Code of Federal Regulation (2002) e Food Chemicals Codex (1972), métodos C1 e C2, tanto na forma de solução quanto adicionada juntamente com a xantana, devido à alta concentração de eletrólitos, maior que a concentração crítica ( $c^*$ ). Conforme descrito anteriormente, a xantana comercial é vendida adicionada de íons, sendo cloreto de potássio o sal presente em maior concentração na xantana utilizada. Quando a concentração de íons na solução é alta pode ocorrer a desordem na conformação da estrutura, onde a cadeia lateral não está associada com as demais cadeias e sim projetada distante da cadeia principal (Liu et al., 1988). Também ocorre o efeito da diminuição do volume hidrodinâmico causado pelo aumento das repulsões eletrostáticas (Pelletier et al., 2001). A adição de uma concentração maior afetou a estrutura, certamente provocando um estiramento das cadeias, ocasionado também pelo cisalhamento aplicado, causando o desordenamento ou modificação da estrutura, o que levou a uma diminuição da viscosidade. Os métodos oficiais para solubilização de xantana não se mostraram os mais adequados.

Com relação ao método A, utilizado por Pastor et al. (1994), no qual a xantana somente é adicionada na água sob agitação, a viscosidade da solução se apresenta menor, devido à presença de aglomerados sólidos, os quais não são destruídos somente com a agitação. Conseqüentemente a concentração de xantana solubilizada é menor, se compararmos com a solução preparada com aquecimento. Como a viscosidade é dependente da concentração de polímero, quanto maior a concentração de xantana dissolvida na solução aquosa maior será sua viscosidade (Garcia-Ochoa et al., 2000). Como a xantana não estava completamente solubilizada as

interações intermoleculares e os entrelaçamentos possíveis de ocorrer, não foram suficientes, assim o aumento das dimensões da macromolécula é menor, conseqüentemente a viscosidade da solução é menor (Garcia-Ochoa et al., 2000).

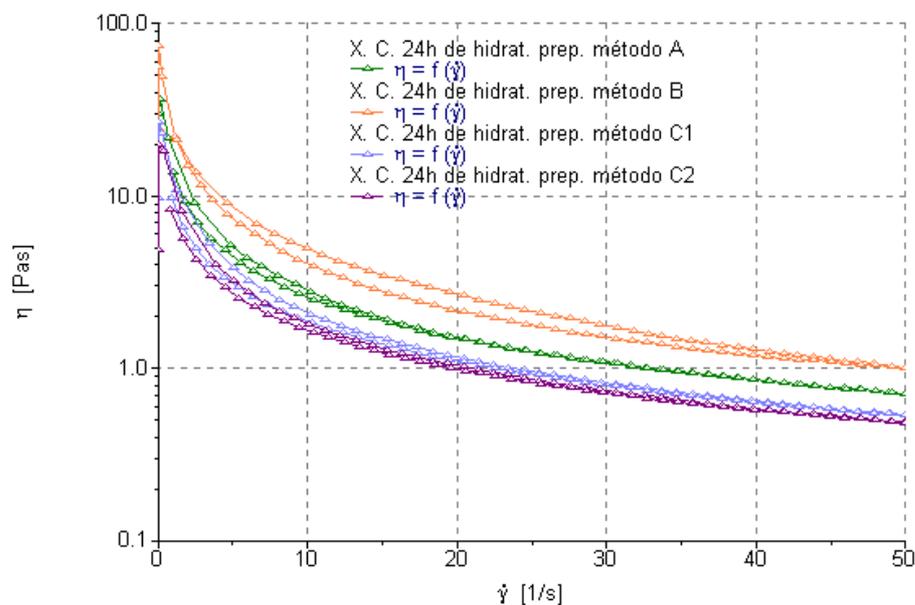


FIGURA 1 – Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v), a 25°C, após 24 horas.

Para a medida de viscosidade aparente das amostras após 24 horas, o método de solubilização com aquecimento mostrou ser o mais adequado apresentando uma viscosidade maior que os demais métodos de solubilização.

Para a viscosidade aparente das amostras após 48 horas, o método de solubilização com aquecimento se mostra o mais adequado apresentando viscosidade maior que os demais métodos de solubilização, conforme Figura 2, porém a viscosidade apresentada por todas as amostras é menor do que a viscosidade apresentada em 24 horas. Ainda podemos observar que, para 48 horas a viscosidade aparente é independente da forma com que adicionamos sal à amostra, pois a viscosidade apresentada pelos dois métodos de solubilização é a mesma.

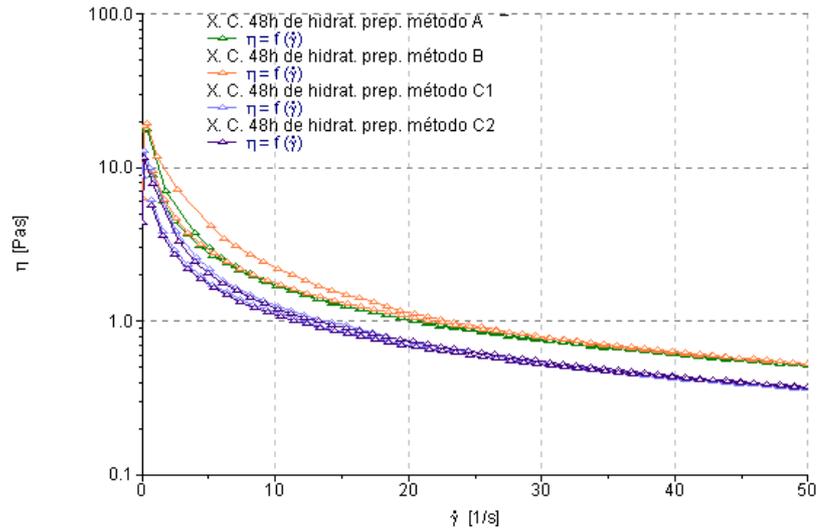


FIGURA 2 – Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v), a 25°C, após 48 horas.

Segundo os resultados da análise de viscosidade aparente das amostras após 72 horas, conforme Figura 3, as soluções preparadas pelos métodos com e sem aquecimento mantém a viscosidade apresentada em 48 horas e as soluções preparadas com adição de sais uma viscosidade menor que a apresentada no período de 24 e 48 horas.

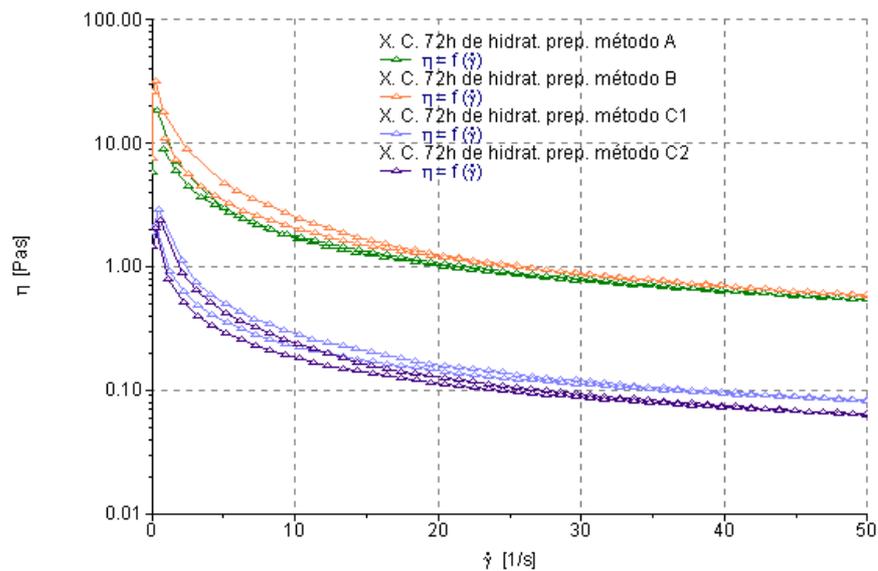


FIGURA 3 – Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v), a 25°C, após 72 horas.

Pelos resultados da determinação de viscosidade das amostras após 96 horas observa-se, conforme Figura 4, que as soluções preparadas pelos métodos com e sem aquecimento diminuem a viscosidade apresentada em 72 horas e as soluções preparadas com adição de sais mantém a viscosidade apresentada em 72 horas.

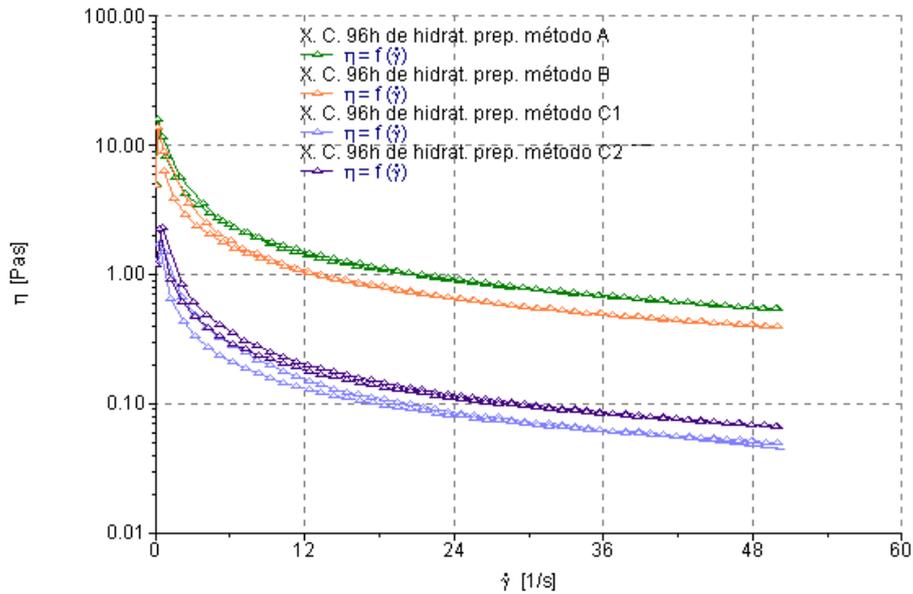


FIGURA 4 – Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v), a 25°C, após 96 horas.

Observa-se também que a viscosidade das amostras diminui com o tempo de solubilização, mostrando que o melhor tempo é de 24 horas, conforme foi descrito no experimento de Hatakenaka (1987), com xantana comercial, onde a viscosidade aparente das amostras diminui com o aumento do tempo. Esse fato sugere que pode ocorrer mudança conformacional na estrutura ou degradação do polímero, o que ocorre independentemente do método de solubilização utilizado, pois todas as amostras apresentaram decréscimo em sua viscosidade com o aumento do tempo. Pela análise dos resultados dos quatro métodos de solubilização nos diferentes tempos fica evidenciado que só é possível à comparação de resultados obtidos utilizando-se a mesma metodologia de preparo da amostra e no mesmo tempo de solubilização.

As amostras apresentaram efeito tixotrópico, pois ao diminuir a taxa de deformação as ligações se reconstituíram formando novamente as estruturas

internas, voltando a viscosidade original apresentada (Shaw, 1975; Morris, 1984). A amostra preparada pelo método B foi a que apresentou um grau mais elevado de tixotropia, entre os métodos de solubilização utilizados. Este efeito é muito desejável, pois quando a xantana é aplicada em alimentos, por exemplo, facilita a retirada do produto do interior das embalagens, sem o exagerado escorrimento e retorna a viscosidade quando cessa a força empregada para a retirada do produto.

Todas as amostras apresentaram o comportamento típico e esperado de pseudoplasticidade, o qual é caracterizado pela diminuição da viscosidade à medida que aumenta a taxa de deformação aplicada no sistema (Rocks, 1971; Sutherland, 1981).

### 3.4 CONCLUSÃO

Pelos resultados apresentados conclui-se que o melhor método de solubilização de amostras de xantana para análise do comportamento reológico é o método proposto Zhang Xuewu (1996), no qual se adiciona a xantana em água destilada sob agitação magnética durante 2 horas e, após, procede-se o aquecimento a 60°C por 20 minutos. O tempo de solubilização adequado para análise reológica comparativa é de 24 horas em temperatura ambiente.

Conclui-se também que os resultados de qualquer análise só são comparáveis para determinações que utilizam um mesmo método e tempo de solubilização.

### 3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASAS, J. A.; SANTOS, V. E.; GARCIA-OCHOA, F. Xanthan gum production under several operational conditions: molecular structure and rheological properties. **Enzyme and Microbial Technology**, v.26, p. 282-291, 2000.

CODE OF FEDERAL REGULATION. Food Additives Permitted for Direct Addition to Food for Human Consumption, Food and Drug Administration, Title 21, v. 3, 2002.

FOOD CHEMICALS CODEX. Additives, p. 856, 1972.

GARCIA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASA, A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, p. 549-579, 2000.

HATAKENAKA, K.; LIU, W.; NORISUYE, T. Stability of xanthan in aqueous sodium chloride at elevated temperature. **International Journal Biological Macromolecular**, v. 9, p. 346-348, 1987.

LIU, W.; NORISUYE, T. Order-disorder conformation change of xanthan in 0.01M aqueous sodium chloride: dimensional behavior. **Biopolymers**, v. 27, p. 1641-1654, 1988.

MORENO, J.; VARGAS, M. A.; MADIEDO, J. M.; MUÑOZ, J.; RIVAS, J.; GUERRERO, M. G. Chemical and rheological properties of an extracellular polysaccharide produced by the cyanobacterium *Anabaena* sp. ATCC 33047. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 67, p. 283-290, 2000.

MORRIS, E.R. Rheology of hydrocolloids. In: PHILLIPS, G.O.; WEDLOCK, D.J.; WILLIAMS, P.A. **Gums and stabilisers for the food industry**. Oxford: Pergamon Press, 1984, p. 57-78,.

NAVARRO, R. F. **Fundamentos de Reologia de Polímeros**. Caxias do sul, Editora da Universidade de Caxias do Sul, 1997, p. 300.

NITSCHKE, M.; THOMAS, R. W. S. P. Xanthan gum production by wild-type isolates of *Xanthomonas campestris*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 11, p. 502-504, 1995.

OVIATT, H. W. J.; BRANT, D. A. Viscoelastic behavior of thermally treated aqueous xanthan solutions in the semidilute concentration regime. **Macromolecules**, v. 27, p. 2402-2408, 1994.

- PASTOR, M. V.; COSTELL, E.; IZQUIERDO, L.; DURÁN, L. Effects of concentration, pH and salt content on flow characteristics of xanthan gum solutions. **Food Hydrocolloids**, v. 8, n. 3-4, p. 265-275, 1994.
- PELLETIER, E.; VIEBKE, C.; MEADOWS, J.; WILLIAMS, P. A. Archeological study of the order-disorder conformational transition of xanthan gum. **Biopolymers**, v. 59, p. 339-346, 2001.
- PETTITT, D. J.; WAYNE, J. E. B.; NANTZ, J. J. R.; SHOEMAKER, C. F. Rheological properties of solutions and emulsions stabilized with xanthan gum and propylene glycol alginate. **Journal of Food Science**, v. 60, p. 528-550, 1995.
- RAO, M. A. Rheological properties of foods. In: **Engineering Properties of Foods**. New York, Ed. Marcel Dekker, 1986, p. 1-47.
- ROCKS, J. K. Unusual rheological properties and heat, acid, and salt stabilities make glucose-derived hydrocolloid a versatile food additive. **Food Technology**, v. 25, p. 476-484, 1971.
- RODD, A. B.; DUNSTAN, D. E.; BOGER, D. V. Characterization of xanthan gum solutions using dynamic light scattering and rheology. **Carbohydrate Polymers**, v. 42, p.159-174, 2000.
- SHAW, D. J. **Introdução a química dos colóides e de superfícies**. São Paulo, Edgard Blucher, 1975, p. 180.
- SUTHERLAND, I. W. Xanthomonas polysaccharides improved methods for their comparison. **Carbohydrates and Polymer**, v. 1, p. 107-115, 1981.
- TORRES, L. G.; BRITO, E.; GALINDO, E.; CHOPIN, L. Viscous Behaviour of Xanthan Aqueous Solutions from a Variant of *Xanthomonas campestris*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. V. 75, p. 58-64, 1993.

ZHANG XUEWU; LIU XIN; GU DEXIANG; ZHOU WEI; XIE TONG; MO YONGHONG. Rheological models for xanthan gum. **Journal of Food Engineering**, v. 27, p. 203-209, 1996.

ZIRNSAK, M. A.; BOGER, D. V.; TIRTAATMADJA, V. Steady shear and dynamic rheological properties of xanthan gum solutions in viscous solvents. **Journal of Rheology**, v.43, p. 627-650, 1999.

#### **4. ESTUDO REOLÓGICO DAS SOLUÇÕES AQUOSAS DA XANTANA COMERCIAL E DA PRODUZIDA POR *Xanthomonas campestris* PV PRUNI CEPA 24 COM ADIÇÃO DE SAIS, ALTERAÇÃO DE TEMPERATURA E pH**

Patrícia Silva DIAZ, Claire Tondo VENDRUSCOLO, João Luiz Silva VENDRUSCOLO

##### *RESUMO*

A aplicação industrial da xantana prevê a adição de eletrólitos, os quais tem por finalidade aumentar a viscosidade e sua capacidade de solubilização. Dentre os eletrólitos, os mais usados são os sais de potássio e sódio, porém a literatura preconiza variadas concentrações, não existindo um valor de concentração padrão. O objetivo deste trabalho é avaliar o comportamento reológico da xantana comercial e da produzida por *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24, frente a adição de sais na solução aquosa e a mudança de temperatura e pH, utilizando como parâmetro a viscosidade apresentada pelas diferentes soluções. Foram testadas três diferentes concentrações de cloreto de potássio e sódio, entre  $0,01\text{mol L}^{-1}$  e  $1\text{mol L}^{-1}$ , na solução de xantana 1% (m/v), a  $25^{\circ}\text{C}$  e  $45^{\circ}\text{C}$ , e pH variando entre 3,0 e 5,0 . Os resultados mostraram que a composição química afeta diretamente a viscosidade da solução aquosa, e que, após dialisadas, a maior viscosidade foi alcançada com a adição de cloreto de potássio na concentração de  $0,1\text{mol L}^{-1}$ . A temperatura influencia diretamente na viscosidade aparente das soluções, assim como o pH, apresentando a solução de xantana pv pruni cepa 24 maior viscosidade aparente em pH igual a 5,0 e a temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ .

**Palavras-chave:** xantana, eletrólitos, viscosidade, composição química



#### 4. REOLOGICAL STUDY OF THE AQUEOUS SOLUTIONS OF THE COMMERCIAL XANTHAN AND OF THE ONE PRODUCED BY *Xhantomonas campestris* PV PRUNI STRAIN 24 WITH ADDITION OF SALTS AND TEMPERATURE AND pH VARIATION

Patrícia Silva DIAZ, Claire Tondo VENDRUSCOLO, João Luíz Silva VENDRUSCOLO

##### ABSTRACT

The industrial use of the xanthan predicts the addition of electrolytes, which aim at increasing the viscosity and its solubilization capability. Among the electrolytes, the most used ones are potassium and sodium salts, but the literature report varied concentrations, therefore, there is no standard concentration rate. This study aims at evaluating the rheological behaviour of the commercial xanthan and of the one produced by *Xanthomonas campestris* pv pruni strain 24 facing the addition of salts to the aqueous solution, the temperature and pH variation, and having as a parameter the viscosity presented by the different solutions. Three different concentrations of potassium and sodium between  $0.01\text{mol L}^{-1}$  and  $1\text{mol L}^{-1}$  were tested in the xanthan solution 1% (m/v), at  $25^{\circ}\text{C}$  and  $45^{\circ}\text{C}$ , and pH varying between 3.0 and 5.0. The results showed that chemical composition affects directly the viscosity of the aqueous solution, and that after being dialyzed, the highest viscosity was reached with the addition of potassium chloride at  $0.1\text{mol L}^{-1}$ . The temperature influences directly in the apparent viscosity of the solutions, as well as the pH, showing that the solution of xanthan pv pruni strain 24 presents higher apparent viscosity in pH equal to 5.0 and at a temperature of  $25^{\circ}\text{C}$ .

**Key words:** xanthan, electrolytes, viscosity, chemical composition.

## 4.1 INTRODUÇÃO

A aplicação industrial do biopolímero bacteriano xantana prevê a adição de eletrólitos, de maneira direta ou indireta, os quais tem por finalidade aumentar a viscosidade da goma e sua capacidade de solubilização (Kang e Pettit, 1993; Garcia-Ochoa et al. 2000).

Dentre os eletrólitos utilizados com estas finalidades, os mais frequentes são os sais de potássio e sódio (Morris, 1996), porém a literatura preconiza variadas concentrações, não existindo um valor de concentração padrão.

A ação dos eletrólitos adicionados as soluções de xantana na viscosidade dependem da origem do biopolímero bacteriano, tendo variação de acordo com a composição química e estrutural deste biopolímero (Torres et al. 1993; Souza et al., 1999; Moreira et al., 2001). Assim para um novo biopolímero bacteriano sintetizado, um novo comportamento reológico surge, se fazendo necessário conhecer as suas características frente a eletrólitos presentes na solução aquosa. O conhecimento do comportamento reológico é fundamental para determinar a aplicabilidade da xantana (Rao, 1986; Nitschke e Thomas, 1995).

A maior utilização da xantana é como agente espessante (Katzbauer, 1998), sendo amplamente utilizada na indústria alimentícia, assim faz-se necessário conhecer as suas características reológicas frente as várias formulações, as quais possuem diferentes concentrações de sais, variações no pH e na temperatura, tanto no seu processamento quanto no seu consumo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento reológico da xantana comercial e da produzida por *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24, com tempo de fermentação de 72h, frente a adição de sais na solução aquosa e a mudança de temperatura e pH da análise, utilizando como parâmetro a viscosidade apresentada pelas diferentes soluções. Foram testadas três diferentes concentrações de cloreto de potássio e de sódio, entre 0,01M e 1M, visando verificar qual a influência do eletrólito sobre a viscosidade da solução 1% (m/v), a 25°C e 45°C, e com pH variando do entre 3 e 5, utilizando Reômetro Haake RS 150.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 MATERIAL

A xantana utilizada foi a xantana comercial, Kelgum 87, Kelco, fornecida pela empresa Oderich, e a produzida pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24, proveniente da bacterioteca do EMBRAPA – Clima Temperado, com um tempo de fermentação de 72 horas.

Para a produção da xantana pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24, o inóculo foi preparado em um agitador incubador orbital, conforme Figura 1A. A fermentação foi realizada no fermentador da marca Biostat, modelo B, conforme Figura 1B, com volume de 5L. A fermentação foi realizada em bateladas, com duas etapas: produção de células e produção de polímeros. Para a produção celular utilizou-se o meio YM líquido (Lilly, 1958), o qual contém ( $\text{g L}^{-1}$ ): extrato de levedura 3,0; extrato de malte 3,0; peptona 5,0 e glicose 10. Para a produção de polímero foi utilizado um meio de fermentação com a seguinte composição, em  $\text{g L}^{-1}$ :  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  5,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,2;  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  1,5 e sacarose 50 (Cadmus et al., 1978). O pH dos meios foi ajustado para 7,0, e estes esterilizados a  $121^\circ\text{C}$ , por 15 minutos, sendo a sacarose esterilizada separadamente.

Para uniformizar o tamanho das partículas, a xantana produzida foi moída em um moinho de disco, Fritsch, modelo Pulverisette 14, com malha de  $0,5\mu\text{m}$ .

As análises reológicas foram realizadas no Reômetro Haake RS 150, com aparato de medida tipo copo, modelo DG 41, conforme Figura 2.

Para promover modificações no comportamento reológico das amostras foram utilizados cloreto de potássio (P.A.), cloreto de sódio (P.A.) hidróxido de sódio ( $0,1\text{mol L}^{-1}$ ) e ácido clorídrico ( $0,1\text{mol L}^{-1}$ ).



(A)

(B)

FIGURA 1 – Equipamentos utilizados para o preparo do inoculo e para fermentação. A) Incubador agitador orbital; B) Fermentador Biostat B com cuba de 5L.



FIGURA 2 – Equipamento utilizado para as análises reológicas, Reômetro Haake RS 150.

#### 4.2.2 MÉTODOS

Para a produção da xantana pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24, inicialmente obteve-se o crescimento celular em meio YM líquido (Jeanes, 1974). O inóculo preparado continha  $2 \times 10^{10}$  UFC/mL. As condições para o crescimento de células foram: 180rpm, 28°C por 24 horas em incubador agitador.

As condições da fermentação foram: 200rpm, 28°C, 3,5vvm de ar por 72 horas.

Após o término da fermentação o biopolímero foi separado das células através de centrifugação à 16.000G por 35 minutos a 4°C. Foi precipitado com álcool 96°GL na concentração de 1 para 4. Este foi recuperado e levado a estufa a 55°C para secagem até peso constante.

As soluções aquosas foram preparadas com xantana comercial e com a xantana produzida pelo pv pruni cepa 24 na concentração de 1% (m/v), com polímeros sem diálise e dialisados. As amostras foram dissolvidas em água destilada. Os sólidos foram dispersos através de agitação magnética por 2 horas e após aquecimento a 60°C por 20 minutos (Zhang Xuewu et al, 1996). Foram mantidas por 24 horas em temperatura ambiente. Para o estudo do comportamento reológico frente a adição de sais, foram adicionados cloreto de potássio e cloreto de sódio nas concentrações de 0,01 mol L<sup>-1</sup>; 0,1 mol L<sup>-1</sup> e 1 mol L<sup>-1</sup>. Para a modificação do pH das soluções utilizou-se hidróxido de sódio (0,1 mol L<sup>-1</sup>) e ácido clorídrico (0,1 mol L<sup>-1</sup>) e os valores de pH estudados foram de 3,0; 4,0 e 5,0.

Os parâmetros das análises reológicas foram de: taxa de deformação aplicada entre 0,01s<sup>-1</sup> a 60,0s<sup>-1</sup>, tempo de 600 segundos e nas temperaturas de 25°C e 45°C. Os ensaios foram realizados em triplicata.

As análises de composição química foram efetuadas no Laboratório de Análise de Solos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, seguindo a metodologia proposta por Tedesco et al., 1995.

## **4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.3.1 Determinação da Viscosidade Aparente da Xantana Comercial e da Produzida pelo pv pruni cepa 24**

Na análise da viscosidade aparente das soluções aquosas da xantana produzida pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24 com 72 horas de fermentação e da xantana comercial, verificou-se que a xantana produzida comercialmente apresenta valor superior quando comparada a

xantana pv pruni cepa 24, conforme está evidenciado na Figura 3, o que pode ser explicado pela análise da composição química das duas amostras. Na análise da composição da xantana comercial e da xantana produzida pelo patovar pruni, o resultado (Tabela 1), mostra que a xantana comercial possui, em maior concentração, o íon potássio, o qual pode ser utilizado para facilitar o processo de solubilização e modificação da viscosidade que este confere a xantana comercial, conforme descrito por Morris (1996). Na composição química da xantana produzida pelo pv pruni cepa 24, como resíduo de sua síntese, o íon potássio está presente em concentrações superiores as concentrações usadas na xantana comercial, isto ocorre devido ao fato de utilizar-se solução salina com íon potássio como controladora do pH do meio de cultura na produção da xantana desta cepa. Estas concentrações elevadas de íons provocam a diminuição na viscosidade aparente da solução aquosa da xantana, provavelmente a concentração ultrapassa a concentração crítica, o que provoca a desordenação da estrutura da molécula (Morris, 1996; Pelletier et al., 2001). Os sais de sódio por serem muito solúveis encontram-se dissolvidos nos mananciais de água a ser tratada, dando origem aos íons de sódio presentes, os quais apresentam remoção muito onerosa e não comum nos processos (Richter et al., 1991; Battalha et al., 1993; Macedo, 2001), portanto estes íons encontram-se na composição química das xantanas, oriundos da água utilizada no processo produtivo.

TABELA 1 - Concentração de íons presentes na composição da xantana comercial e da xantana produzida pelo pv pruni cepa 24.

Amostra	K	Na
X. comercial	12,38	2,91
XC 24	30,81	0,65

\* Resultados expressos em g Kg<sup>-1</sup>

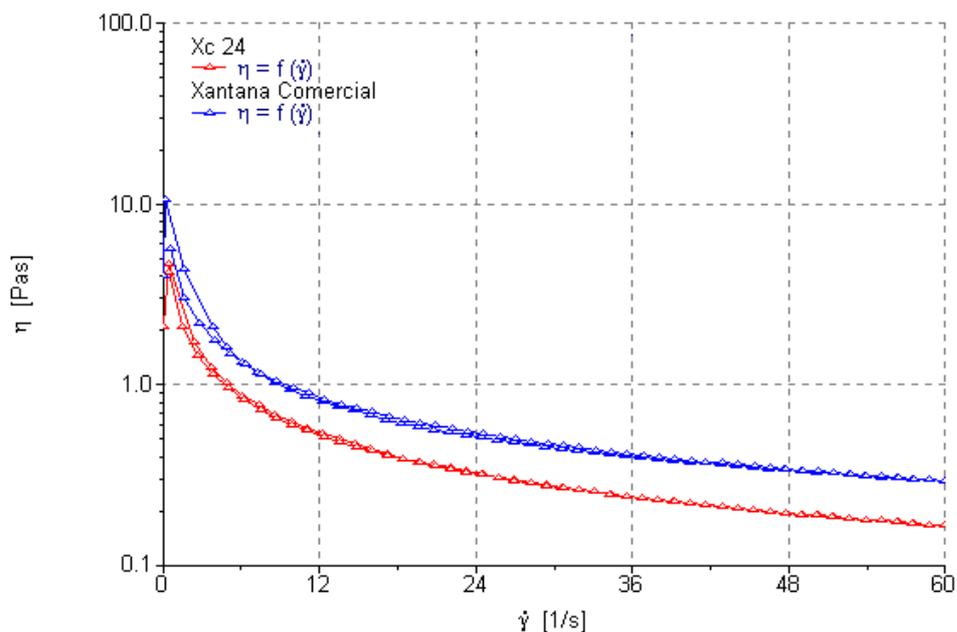


FIGURA 3 – Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial e xantana pv pruni cepa 24, 1% (m/v), a 25°C.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 1 e na Figura 3, procedeu-se a diálise da xantana comercial e da xantana produzida pelo pv pruni cepa 24, com o objetivo de reduzir a concentração dos íons presentes. Após a diálise, foi realizada novamente a análise da composição química das amostras, a qual apresentou o seguinte resultado, conforme Tabela 2.

TABELA 2 - Concentração de íons presentes na composição da xantana comercial e da xantana produzida pelo pv pruni cepa 24, após o processo de diálise.

Amostra	K	Na
X. comercial	2,18	1,81
XC 24	4,57	0,35

\* Resultados expressos em g Kg<sup>-1</sup>

A partir dos resultados obtidos após a análise das amostras dialisadas verificamos que a concentração dos íons potássio e sódio diminuiu em ambas

amostras. Durante o processo de diálise também ocorreu redução da massa de xantana em 2/3.

Os resultados obtidos da análise da viscosidade aparente das soluções aquosas das xantanas, apresentados na Figura 4, mostram que a xantana comercial possui viscosidade aparente superior a da xantana pv pruni cepa 24, o que pode ter sido ocasionado pela carga de eletrólitos da xantana pv pruni ser maior do que a xantana comercial, estando a estrutura em um estado desordenado (Morris, 1996; Pelletier et al., 2001), porém sua viscosidade aparente após a diálise é maior, mais próxima da viscosidade aparente da xantana comercial, conforme descrito por Liu et al. (1998).

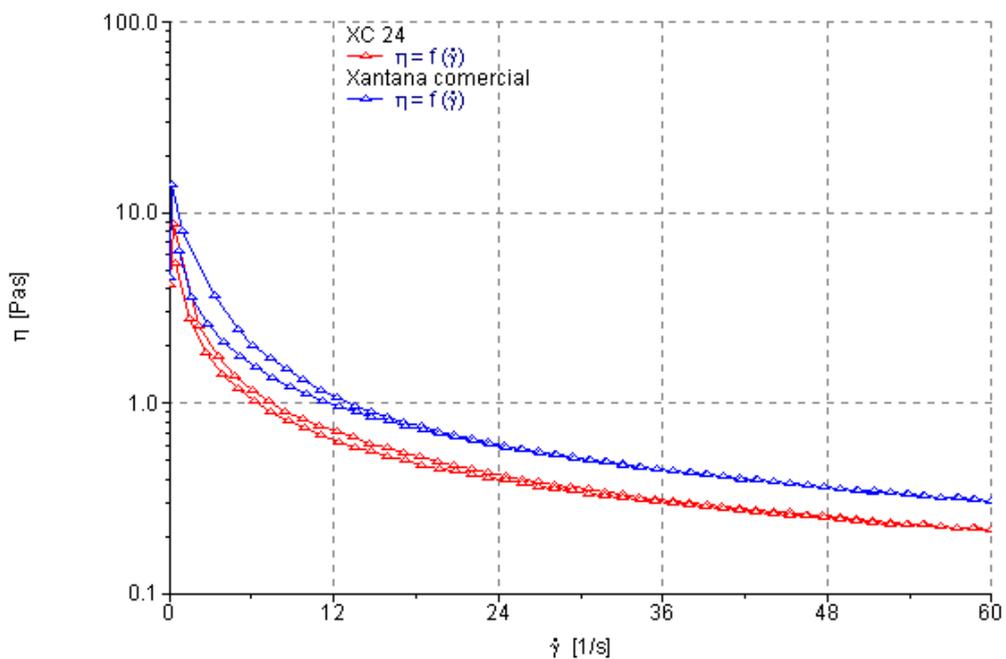


FIGURA 4 – Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação das soluções aquosas de xantana comercial e xantana produzida pelo pv pruni cepa 24 dialisadas, 1% (m/v), a 25°C.

Observando os resultados das Figuras 3 e 4 comparativamente verificamos que, após a diálise das amostras de xantana comercial e pv pruni cepa 24, a viscosidade aparente de ambas é superior, pois se tomarmos a taxa de deformação de  $12\text{s}^{-1}$ , vemos que para a xantana comercial sem diálise a viscosidade é de  $810\text{mPa}\cdot\text{s}$  e após a diálise é de  $1060\text{mPa}\cdot\text{s}$ , aumentando em 30% a viscosidade. Para a xantana pv pruni cepa 24 sem diálise a viscosidade é de  $530\text{mPa}\cdot\text{s}$ , e após a diálise é de  $710\text{mPa}\cdot\text{s}$ , aumentando em 34% a

viscosidade, comprovando que o estado de transição da estrutura da xantana é dependente do nível e da natureza dos sais na solução, conforme relatado por Capron et al. (1997). Por estes resultados verificou-se que a concentração de eletrólitos em ambas as amostras sem diálise não é adequada, assim para o estudo da adição de sais na xantana comercial e da xantana pv pruni cepa 24 procedeu-se a diálise das amostras.

A xantana comercial que passou pelo processo de diálise apresenta valores de viscosidade superior, o que pode ser explicado pela retirada de sais na sua composição original, a qual apresenta  $12\text{g Kg}^{-1}$  de íons potássio e passou para  $2,18\text{g Kg}^{-1}$ , afetando assim a viscosidade da xantana, comprovando que a composição química afeta a viscosidade aparente da xantana (Torres et al., 1993; Souza et al., 1999; Antunes et al., 2000; Moreira et al., 2001).

### **4.3.2 Efeitos da Adição de Sais na Viscosidade Aparente**

#### **4.3.2.1 Adição de sais na xantana comercial**

Estudos sobre o efeito de adição de sais nas soluções de xantana são importantes para predizerem a sua utilização em alimentos, já que a grande maioria, como molhos, sopas, maionese, etc. são adicionados de eletrólitos, além da xantana.

As soluções preparadas para determinação reológica da xantana comercial foram acrescidas de sais, sendo cloreto de potássio e sódio nas concentrações de  $0,01\text{mol L}^{-1}$ ,  $0,1\text{mol L}^{-1}$  e  $1\text{mol L}^{-1}$ . As análises foram realizadas a  $25^{\circ}\text{C}$ . Os resultados destas análises são apresentados nas Figuras 5, 6 e 7.

Os resultados obtidos demonstram que, mesmo que a xantana comercial não tenha sido dialisada, a adição de sais aumentou a viscosidade aparente das amostras, sendo a concentração que resultou em maior viscosidade a de  $0,1\text{mol L}^{-1}$ ; independente do sal adicionado. Este resultado mostra que a xantana deverá ser adicionada a produtos que contenham determinada concentração de sais, assim desenvolverá totalmente seu potencial viscoso.

As amostras apresentaram efeito tixotrópico, pois ao diminuir a taxa de deformação as ligações se reconstituíram formando novamente as estruturas internas, voltando a viscosidade original apresentada (Shaw, 1975; Navarro, 1997). A concentração de sal onde as amostras apresentaram maior grau de tixotropia foi a de  $0,1\text{mol L}^{-1}$ .

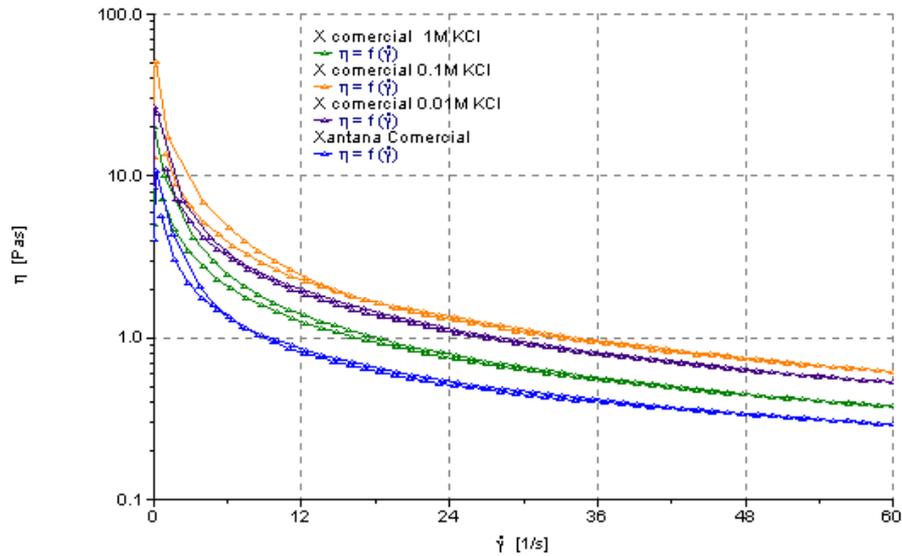


FIGURA 5 – Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v), e acrescida de KCl, a 25°C.

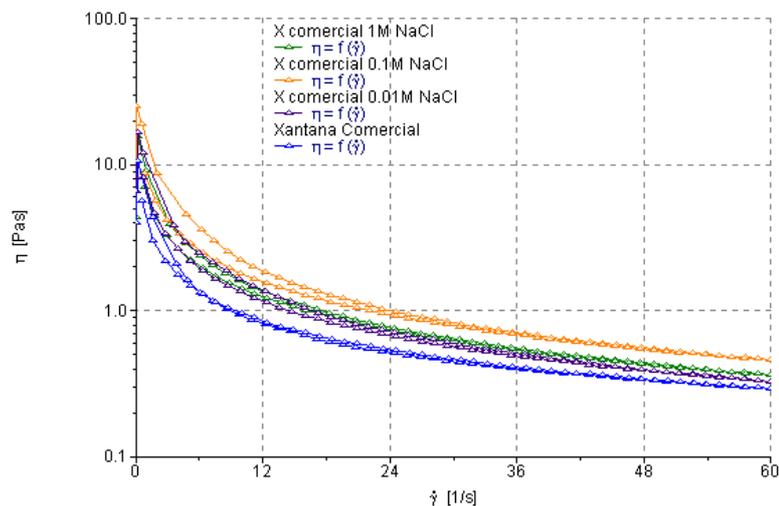


FIGURA 6 – Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v), acrescida de NaCl, a 25°C.

Dos sais adicionados à xantana, o KCl foi o que resultou em maior viscosidade aparente das soluções aquosas, conforme a Figura 7. O íon

potássio possui tamanho de  $1,33 \cdot 10^{-4}$   $\mu\text{m}$  portanto, maior volume que o íon sódio, o qual possui tamanho de  $0,95 \cdot 10^{-4}$   $\mu\text{m}$  (Ohlweiler, 1982; Lee, 1980, Atkins, 2001). A molécula de xantana quando associada ao íon potássio também terá maior volume hidrodinâmico, conseqüentemente maior viscosidade aparente da solução. Observa-se que o grau de tixotropia apresentado pela amostra acrescida de cloreto de sódio é superior a tixotropia apresentada pela amostra com cloreto de potássio.

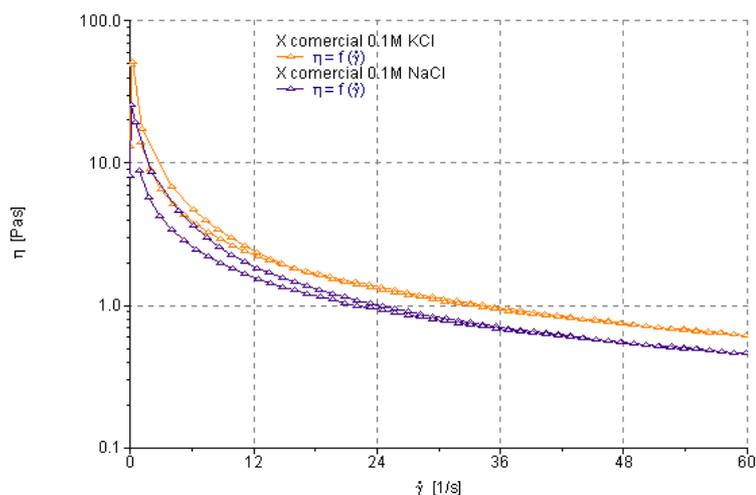


FIGURA 7 – Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial, 1% (m/v) acrescidas de KCl e NaCl, na concentração de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , a  $25^\circ\text{C}$ .

Observando-se os resultados expostos na Tabela 3, verificamos que a concentração de KCl que resulta em maior viscosidade aparente da solução aquosa de xantana comercial é de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; o que foi proposto por Liu et al. (1988), nesta concentração a conformação é de desordem, no formato de uma espiral estendida. Na conformação desordenada a cadeia lateral não está associada a cadeia principal, e sim projetada distante da cadeia principal. Isto pode ter provocado um valor maior na viscosidade aparente, posto que a estrutura está mais expandida que na forma ordenada. Estima-se que com a concentração de  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , a xantana adquiriu conformação ordenada, de dupla hélice, como foi proposto por Morris (1984). Ainda observamos que a viscosidade aparente apresentada pelas soluções de xantana comercial com adição de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  KCl é 20% superior a viscosidade da solução com  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  KCl.

L<sup>-1</sup> e 70% superior a viscosidade da solução com 1mol L<sup>-1</sup>. Se compararmos entre os sais, a viscosidade aparente da solução aquosa de xantana comercial com 0,1mol L<sup>-1</sup> de KCl é 29% superior a viscosidade da solução com NaCl. A xantana comercial sem a adição de sais apresenta viscosidade aparente de 810mPa.s, e com a adição de 0,1mol L<sup>-1</sup> de cloreto de potássio viscosidade de 2370mPa.s, sendo três vezes superior com a presença de eletrólitos.

TABELA 3 – Valores das viscosidades (mPa.s) das soluções de xantana comercial e acrescidas de sais a 25°C, na taxa de deformação de 12s<sup>-1</sup>.

Concentração	KCl	NaCl
0,01M	1970	1350
0,1M	2370	1840
1M	1380	1350

Os resultados mostram que o cloreto de potássio, na concentração de 0,1mol L<sup>-1</sup>, é o sal que confere maior viscosidade aparente a xantana comercial, sendo os valores sempre superiores aos dos demais sais.

#### 4.3.2.2 Adição de sais na xantana pv pruni cepa 24

Uma vez que o cloreto de potássio foi o sal que apresentou maior viscosidade aparente das soluções de xantana comercial, foi escolhido para ser adicionado a xantana produzida pelo pv pruni cepa 24 dialisada, nas concentrações de 0,01mol L<sup>-1</sup>; 0,1mol L<sup>-1</sup> e 1mol L<sup>-1</sup>.

Observando os resultados da determinação da viscosidade aparente da xantana pv pruni cepa 24 com adição de KCl apresentados na Figura 8, verificamos que, a concentração de 1mol L<sup>-1</sup> é superior a concentração crítica, isto é, torna a solução saturada de íons potássio, os quais, por repulsão eletrostática provocam o desordenamento da estrutura, conseqüentemente menor viscosidade. Para as concentrações de 0,01mol L<sup>-1</sup> e 0,1mol L<sup>-1</sup>, o comportamento reológico é bem próximo, sendo a viscosidade, a uma taxa de deformação de 12s<sup>-1</sup> para a concentração de 0,01mol L<sup>-1</sup>, de 900mPa.s e para a concentração de 0,1mol L<sup>-1</sup> de 940mPa.s. Isto sugere que a estrutura

desordenada da solução de xantana é mais expandida a baixas concentrações de KCl pela repulsão eletrostática entre os grupos ionizados, conforme relatado por Hatakenaka (1987). A concentração ideal de KCl para a xantana pv pruni cepa 24 dialisada é de  $0,1\text{mol L}^{-1}$ .

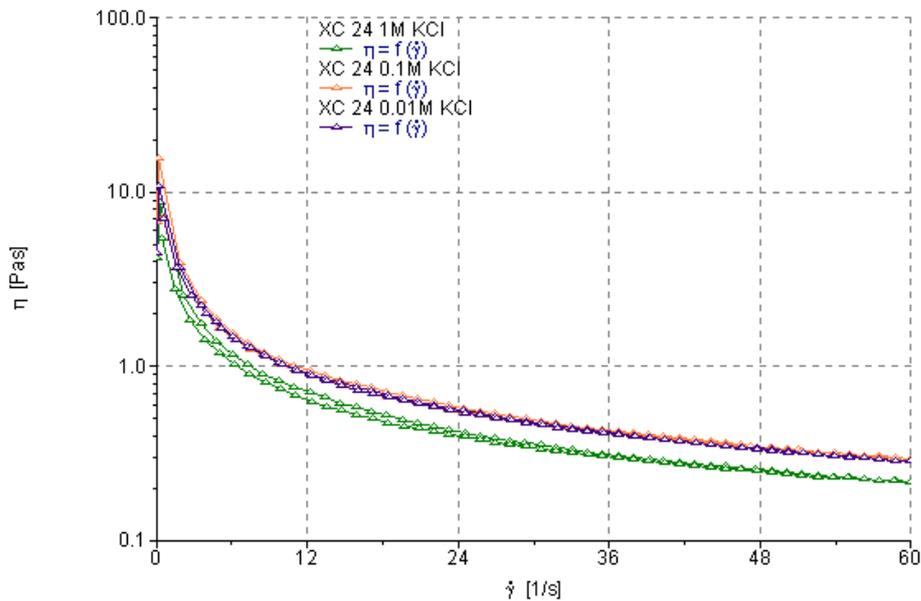


FIGURA 8 – Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana pv pruni cepa 24, 1% (m/v) acrescidas de KCl nas concentrações de  $0,01\text{mol L}^{-1}$ ;  $0,1\text{mol L}^{-1}$  e  $1\text{mol L}^{-1}$ , a  $25^\circ\text{C}$ .

Comparando-se a viscosidade aparente da solução aquosa da xantana comercial com  $0,1\text{mol L}^{-1}$  de KCl com a viscosidade aparente da xantana pv pruni cepa 24, a uma taxa de deformação de  $12\text{s}^{-1}$ , observa-se que a xantana comercial apresenta viscosidade aparente de  $2370\text{mPa.s}$  e a xantana pv pruni cepa 24, de  $940\text{mPa.s}$ , sendo a viscosidade da xantana comercial 52% superior, o que pode ser explicado pela composição química das amostras após a diálise, como a xantana pv pruni possui maior concentração de íons que a xantana comercial, conseqüentemente a sua estrutura encontra-se mais estendida e menos volumosa, o que pode ter sido ocasionado pelas altas repulsões eletrostáticas dos grupos hidrolisados.

Todas as amostras apresentaram o comportamento reológico típico da xantana, não newtoniano e pseudoplasticidade, a qual é caracterizada pela

diminuição da viscosidade à medida em que aumenta a taxa de deformação aplicada no sistema (Rocks, 1971; Sutherland, 1982; Morris, 1984).

### 4.3.3 Efeitos da Alteração de Temperatura na Viscosidade Aparente

Com relação aos efeitos de mudança de temperatura sobre a viscosidade aparente das soluções de xantana comercial e da xantana pv pruni cepa 24, observa-se que a viscosidade sofre decréscimo com o aumento da temperatura de 25°C para 45°C, conforme Figura 9. Na taxa de deformação de  $12\text{s}^{-1}$ , a xantana comercial a 25°C, apresenta viscosidade de 810mPa.s, enquanto que a 45°C a viscosidade é de 560mPa.s, diminuindo em 44%. Para a xantana pv pruni cepa 24 a 25°C, a viscosidade é de 530mPa.s e a 45°C é de 470mPa.s, diminuindo em 12%, se mostrando muito mais estável a mudança de temperatura que a xantana comercial.

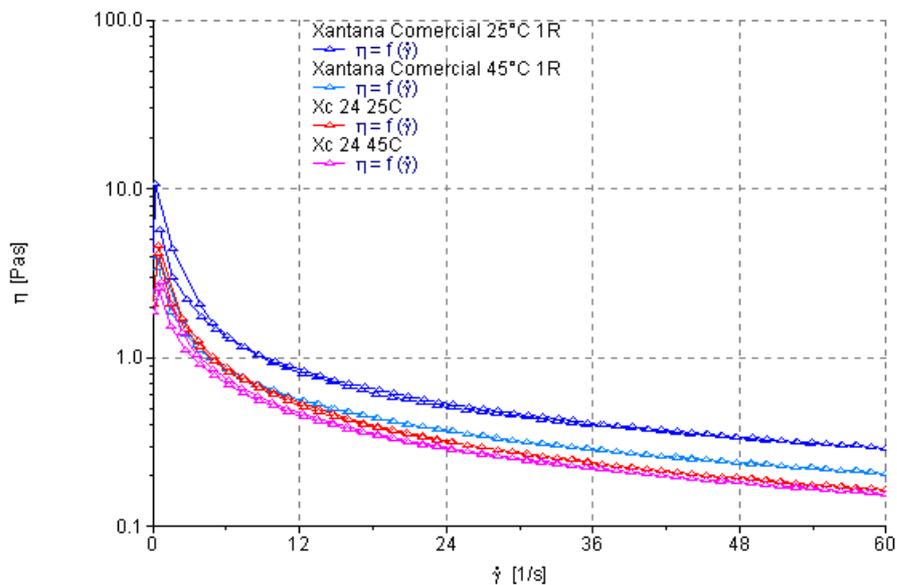


FIGURA 9 – Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana comercial e pv pruni cepa 24, 1% (m/v), a 25°C e 45°C.

Ainda observando a Figura 9, verifica-se que todas as soluções apresentaram um pequeno aumento da viscosidade antes do decréscimo esperado tradicional dos demais polímeros, conforme foi relatado por Jeanes et

al. (1961). Este comportamento é indicativo da passagem de uma conformação ordenada, como a hélice, para a conformação desordenada do tipo enrolamento ao acaso, com subsequente aumento no volume hidrodinâmico efetivo e, assim, da viscosidade (Morris, 1977; Milas e Rinaudo, 1979; Moreira et al., 2001). Este comportamento é apresentado tanto pela xantana comercial quanto pela xantana pv pruni cepa 24. O posterior decréscimo da viscosidade é atribuído a liberação das cadeias laterais seguida do progressivo decréscimo da rigidez da cadeia principal, fenômeno que ocorre em temperaturas entre 40°C e 60°C (Milas e Rinaudo, 1979).

Quando se utiliza a xantana como espessante em alimentos é importante considerar seu comportamento frente a variações na temperatura em função de muitos produtos serem consumidos a 45°C ou em temperaturas mais elevadas. Estes alimentos, após o aquecimento, devem manter suas propriedades de textura, como por exemplo sopas devem manter-se cremosas, e para isso é necessário que o espessante utilizado mantenha seu comportamento viscoso mesmo em temperaturas acima de 25°C. A xantana pv pruni cepa 24 apresenta decréscimo em sua viscosidade aparente com o aumento da temperatura, porém mantém-se viscosa, apresentando características reológicas exigidas industrialmente.

#### **4.3.4 Efeitos da Alteração do pH na Viscosidade Aparente das Soluções de Xantana pv pruni cepa 24**

Para estudar o efeito da mudança de pH na viscosidade aparente das soluções da xantana pv pruni cepa 24 com 0,1mol L<sup>-1</sup> de KCl, ajustou-se o pH para 3,0; 4,0 e 5,0. O pH inicial da solução era de 3,5; no qual, a uma taxa de deformação de 12s<sup>-1</sup>, a viscosidade aparente foi de 810mPa.s, enquanto que no pH de 3,0 foi de 420mPa.s, com pH 4,0 foi de 850mPa.s e no pH 5,0 foi de 1340mPa.s. Portanto observamos na Figura 10 que, na medida que aumentou-se a alcalinidade da solução, ocorreu o aumento da viscosidade, o que poder explicado pelo aumento de alguns graus de manutenção na estrutura, pois a concentração do íon potássio é de 0,1mol L<sup>-1</sup> e como foi adicionada uma solução de hidróxido de sódio para alterar o pH da solução, o íon sódio acrescentado liga-se as moléculas de xantana fazendo com que a estrutura

fique mais expandida, sem ocasionar estendimento, conferindo assim uma maior viscosidade a solução de xantana. Quando a solução está com pH de 3,0 ocorre a perda dos grupos de ácido pirúvico e acetilas (Bradshaw et al., 1983) conseqüentemente sua viscosidade é a menor como foi relatado por Kang e Pettit (1993). Nas outras duas condições de pH, 4,0 e 5,0, pode-se observar que a viscosidade aparente das soluções é mais elevada, pois a concentração dos grupos de piruvato das cadeias laterais é maior, conforme é relatado por Capron et al. (1997).

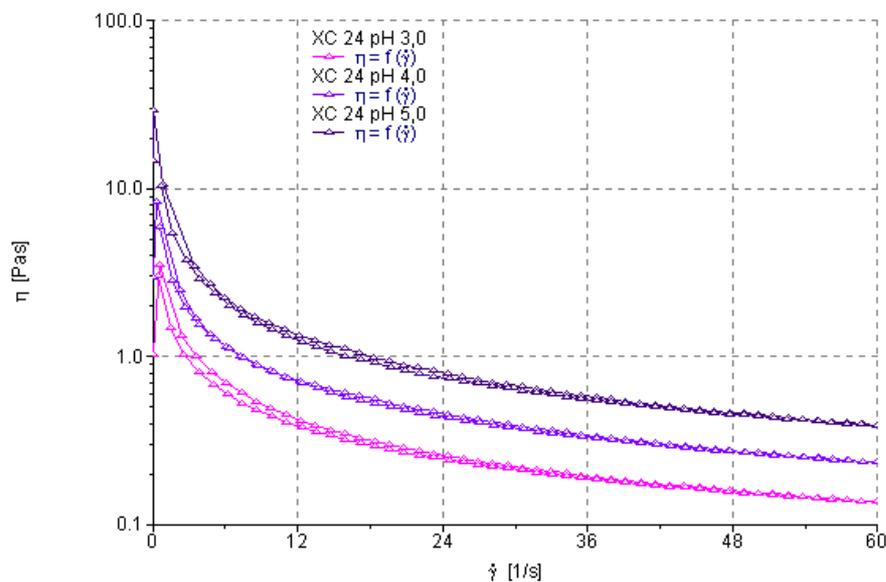


FIGURA 10 – Curvas da viscosidade aparente vs taxa de deformação de soluções aquosas de xantana pv pruni cepa 24, com pH de 3,0; 4,0 e 5,0; 1% (m/v), a 25°C.

A partir destes resultados, pode-se observar que a xantana pv pruni cepa 24 possui um comportamento reológico bem próximo de muitos alimentos, como por exemplo iogurte de morango, o qual possui pH de 3,86 e viscosidade aparente de 100mPa.s. Para obtermos a mesma viscosidade do iogurte de morango com a xantana pv pruni cepa 24 seria necessário preparar uma solução com concentração menor que 1%, pois esta apresenta viscosidade de 530mPa.s.

Sendo a xantana utilizada como estabilizante e espessante em alimentos, dos quais uma larga variedade são ácidos, com pH entre 3,0 e 4,5,

faz-se necessário considerar seu comportamento reológico frente as variações de pH das soluções. A xantana pv pruni cepa 24 apresenta acréscimo em sua viscosidade aparente com a aumento da alcalinidade, portanto, apresenta características reológicas exigidas industrialmente.

#### 4.4 CONCLUSÕES

Conclui-se que a composição química da xantana comercial e a produzida pelo pv pruni cepa 24 tem efeito na viscosidade da solução aquosa, e que, após dialisadas, a maior viscosidade foi alcançada com a adição de cloreto de potássio na concentração de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

A temperatura influencia na viscosidade aparente das soluções diminuindo-a, porém, tanto a xantana comercial como a xantana produzida por *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24 mantém-se viscosas a  $45^\circ\text{C}$ , sendo a xantana pv pruni mais estável a mudança de temperatura que a xantana comercial.

O pH influencia na viscosidade aparente das soluções de xantana produzida por *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24, apresentando maior viscosidade em pH igual a 5,0.

#### 4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ATKINS, P. **Princípios de Química – Questionando a vida moderna e o meio ambiente**. São Paulo, Bookman, 2001, p. 698-701

BATTALHA, B. L.; PARLATORE, A.C. **Controle da qualidade da água para consumo humano**. São Paulo, CETESB, 1993, p. 138.

- BRADSHAW, I. J.; NISBET, B. A.; KERR M. H.; SUTHERLAND, I. W. Modified xanthan – its preparation and viscosity. **Carbohydrate Polymers**, v. 3, p. 23-38, 1983.
- 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.
- CAPRON, I.; BRIGANDT, G.; MULLER, G. about the native and renatured conformation of xanthan exopolysaccharide. **Polymer**, v. 38, p. 5289-5295, 1997.
- GARCIA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASA, A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, p. 549-579, 2000.
- HATAKENAKA, K.; LIU, W.; NORISUYE, T. Stability of xanthan in aqueous sodium chloride at elevated temperature. **International Journal Biological Macromolecular**, v. 9, p. 346-348, 1987.
- JEANES, A.; PITTSLEY, J. E.; SENTI, F. R. Polysaccharide B-1459: A new hydrocolloid polyelectrolyte produced from glucose by bacterial fermentation. **Journal Applied. Polymer**, v. 5, p. 519-526, 1961.
- JEANES, A. Extracellular microbial polysaccharides – new hydrocolloids of interest to the food industry. **Food Technology**, v.28, n.5, p.34-40, 1974.
- KANG, K. S.; PETTIT, D. J. Xanthan, gellan, wellan and rhamnan. In: **Industrial gums**. New York, Ed. Academic Press, 1993, p. 341.
- KATZBAUER, B. Properties and applications of xanthan gum. **Polymer and Stability**, v. 59, p. 81-84, 1998.

- LEE, J. D. **Química Inorgânica – Um novo texto conciso**. São Paulo, Edgard Blucher Ltda., 1980, p. 133 e 258.
- LILLY, V. G.; WILSON, H. A.; LEARCH, J. G. Bacterial polysaccharides II. Laboratory Scale production of polysaccharides by species *X. campestris*. **Applied. Microbiology**, v. 6, 105-109, 1958.
- LIU, W.; NORISUYE, T. Order-disorder conformation change of xanthan in 0.01M aqueous sodium chloride: dimensional behavior. **Biopolymers**, v. 27, p. 1641-1654, 1988.
- MACEDO, J. A. B. **Águas e águas**. São Paulo, Livraria Varela, 2001, p. 304.
- MILAS, M.; RINAUDO, M. Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan. **Carbohydrate Research**, v. 76, p. 189-196, 1979.
- MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; GIL-TURNES, C.; VENDRUSCOLO, C. T. Screening among 18 novel strains of *Xanthomonas campestris* pv pruni. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 469-474, 2001.
- MORRIS, E. R. Molecular origin of xanthan solution properties. In: Extracellular microbial polysaccharides., American Chemical Society, 1977, p. 83-89, (ACS Symposium Series, 45).
- MORRIS, E.R. Rheology of hydrocolloids. In: PHILLIPS, G.O.; WEDLOCK, D.J.; WILLIAMS, P.A. **Gums and stabilisers for the food industry**. Oxford: Pergamon Press, 1984, p. 57-78,.
- MORRIS, E. R. Rheology of xanthan: Suspension of particles and stabilization of emulsions. **Food & Ingredients Journal of Japan**, v. 167, p. 31-36, 1996.
- NAVARRO, R. F. **Fundamentos de Reologia de Polímeros**. Caxias do sul, Editora da Universidade de Caxias do Sul, 1997, p. 300.

- NITSCHKE, M.; THOMAS, R. W. S. P. Xanthan gum production by wild-type isolates of *Xanthomonas campestris*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 11, p. 502-504, 1995.
- OHLWEILER, O. A. **Química Analítica Quantitativa**. 3º ed., Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 1982, p. 65-70.
- PELLETIER, E.; VIEBKE, C.; MEADOWS, J.; WILLIAMS, P. A. Archeological study of the order-disorder conformational transition of xanthan gum. **Biopolymers**, v. 59, p. 339-346, 2001.
- RAO, M. A. Rheological properties of foods. In: **Engineering Properties of Foods**. New York, Ed. Marcel Dekker, 1986, p. 1-47.
- RICHTER, C. A.; NETTO, J. M. A. **Tratamento de água – Tecnologia Atualizada**. São Paulo – SP, Ed. Edgard Blucher Ltda., 1991, p. 321.
- ROCKS, J. K. Unusual rheological properties and heat, acid, and salt stabilities make glucose-derived hydrocolloid a versatile food additive. **Food Technology**, v. 25, p. 476-484, 1971.
- SHAW, D. J. **Introdução a química dos colóides e de superfícies**. São Paulo, Edgard Blucher, 1975, p. 180.
- SOUZA, A. da S. Produção e Caracterização dos Biopolímeros Sintetizados por *Xanthomonas campestris* pv *pruni* cepas 24 e 58. **Ciência e Engenharia**, v. 8, n. 2, p. 115-123, 1999.
- SUTHERLAND, I. W. Microbial polysaccharides from Gram-negative bacteria. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 663-674, 2001.
- TEDESCO, M. J.; CLÉSIO, G.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995, 174 p.

TORRES, L. G.; BRITO, E.; GALINDO, E.; CHOPIN, L. Viscous Behaviour of Xanthan Aqueous Solutions from a Variant of *Xanthomonas campestris*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. V. 75, p. 58-64, 1993.

ZHANG XUEWU; LIU XIN; GU DEXIANG; ZHOU WEI; XIE TONG; MO YONGHONG. Rheological models for xanthan gum. **Journal of Food Engineering**, v. 27, p. 203-209, 1996.

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

Com os resultados apresentados concluímos que o melhor método de solubilização de amostras de xantana para análise do comportamento reológico é o método proposto Zhang Xuewu (1996), no qual se adiciona a xantana na água destilada sob agitação magnética durante 2 horas e após procede-se o aquecimento a 60°C por 20 minutos. O tempo de hidratação adequado para análise reológica comparativa é de 24 horas em temperatura ambiente. Que só é possível realizar-se comparações com amostras preparadas com o mesmo método e com o mesmo tempo de solubilização.

A composição química da xantana comercial e a produzida pelo pv pruni cepa 24 afeta diretamente a viscosidade da solução aquosa, e que, após dialisadas, a maior viscosidade foi alcançada com a adição de cloreto de potássio na concentração de 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

A temperatura influencia na viscosidade aparente das soluções diminuindo-a, porém, tanto a xantana comercial como a xantana produzida por *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24 mantém-se viscosas a 45°C, sendo a xantana pv pruni mais estável a mudança de temperatura que a xantana comercial.

O pH influencia na viscosidade aparente das soluções de xantana produzida por *Xanthomonas campestris* pv pruni cepa 24, apresentando maior viscosidade em pH igual a 5,0.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHLGREN, J.A. Purification and properties of a xanthan depolymerase from a heat-stable salt-tolerant bacterial consortium. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 12, n. 2, p. 87-92, 1993.
- ANTUNES, A. E. C.; MOREIRA ET AL., A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; VENDRUSCOLO, C. T. Síntese de biopolímero xantana em meios convencionais e alternativos: viscosidade x composição. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 6, n. 2, p. 83-87, 2000.
- ATKINS, P. **Princípios de Química – Questionando a vida moderna e o meio ambiente**. São Paulo, Bookman, 2001, p. 698-701
- BRADBURY, J.F. *Xanthomonas* In: **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore, Williams and Wilkins, v. 1, 1984.
- BRADSHAW, I. J.; NISBET, B. A.; KERR M. H.; SUTHERLAND, I. W. Modified xanthan – its preparation and viscosity. **Carbohydrate Polymers**, v. 3, p. 23-38, 1983.
- 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.
- CAPRON, I.; BRIGANDT, G.; MULLER, G. about the native and renatured conformation of xanthan exopolysaccharide. **Polymer**, v. 38, p. 5289-5295, 1997.
- CHALLEN, I. A. Xanthan gum: a multifunctional stabiliser for food products. In: NISHINARI, K. & DOI, E. **Food hydrocolloids**, New York, Ed. Plenum Press, p. 135-140, 1993.

- CIVEROLO, E. L.; HATTINGH, M.J. *Xanthomonas campestris* pv *pruni*: Cause of Prunus Bacterial Spot. In: ***Xanthomonas***. London, Ed. Chapman & Hall, 1993, p. 399.
- COTTRELL, I. W. Industrial potential of fungal and bacterial polysaccharides. In: SANDFORD, P. A.; MATSUDA, K. American Chemical Society, 1979, P. 251/270 (ACS Symposium Series, 126).
- FUNAHASHI, H.; YOSHIDA, T.; TAGUCHI, H. Effect of glucose concentration on xanthan gum production by *Xanthomonas campestris*. **Journal Fermentation Technology**, v. 65, p. 603-606, 1987.
- GALINDO, E. Aspects of the process for xanthan production. **Institution of Chemical Engineers**, 72, part C, p. 227-237, 1994.
- GARCIA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASA, A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, p. 549-579, 2000.
- HATAKENAKA, K.; LIU, W.; NORISUYE, T. Stability of xanthan in aqueous sodium chloride at elevated temperature. **International Journal Biological Macromolecular**, v. 9, p. 346-348, 1987.
- JANSSON, P.E., KENNE, L.; LINDBERG, B. Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. **Carbohydrate Research**, v. 45, p. 275-285, 1975.
- JEANES, A.; PITTSLEY, J. E.; SENTI, F. R. Polysaccharide B-1459: A new hydrocolloid polyelectrolyte produced from glucose by bacterial fermentation. **Journal Applied. Polymer**, v. 5, p. 519-526, 1961.
- JEANES, A. Extracellular microbial polysaccharides – new hydrocolloids of interest to the food industry. **Food Technology**, v.28, n.5, p.34-40, 1974.

- KANG, K. S.; VEEDER, G. T.; COTTRELL, I. W. Some novel bacterial polysaccharides of recent development. In: BUSHELL, M. E. **Progress in Industrial Microbiology**, v.18, 1983, p.231-257.
- KANG, K. S.; PETTIT, D. J. Xanthan, gellan, wellan and rhamosan. In: **Industrial gums**. New York, Academic Press, 1993, p. 341.
- KENNEDY, J.F.; JONES, P.; BARKER, S.A. Factors affecting microbial growth and polysaccharide production during the fermentation of *Xanthomonas campestris* cultures. **Enzyme Microbiology and Technology**, v. 4, n. 1, 1982, p. 39-43.
- KREVELEN, D. W. V. **Properties of polymers**. São Paulo, Elsevier, 1990.
- LANEUVILLE, S. I.; PAQUIN, P.; TURGEON, S. L. Effect of preparation conditions on the characteristics of whey protein xanthan gum complexes. **Food Hydrocolloids**, v.14, p. 305-314, 2000.
- LEE, J. D. **Química Inorgânica – Um novo texto conciso**. São Paulo, Edgard Blucher Ltda., 1980, p. 133 e 258.
- LILLY, V. G.; WILSON, H. A.; LEARCH, J. G. Bacterial polysaccharides II. Laboratory Scale production of polysaccharides by species *X. campestris*. **Applied Microbiology**, v. 6, 105-109, 1958.
- LIU, W.; NORISUYE, T. Order-disorder conformation change of xanthan in 0.01M aqueous sodium chloride: dimensional behavior. **Biopolymers**, v. 27, p. 1641-1654, 1988.
- MARQUES, A.M.; ESTANOL, I.; ALSINA, J.M.; FUSTÉ, C.; SIMON- PUJOL, D.; GUINEA, J.; CONGREGADO, F. Production and rheological properties of the extracellular polysaccharide synthesized by *Pseudomonas sp* strain ESP-5028. **Applied Environmental Microbiology** v. 52, n. 5, p. 1221-1223, 1986.

- MILAS, M.; RINAUDO, M. Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan. **Carbohydrate Research**, v. 76, p. 189-196, 1979.
- MILAS, M.; RINAUDO, M.; TINLAND, B. The viscosity dependence on concentration, molecular weight and shear rate of xanthan solutions. **Polymer Bulletin**, v. 14, p. 157-164, 1985.
- MISAKI, A. Structural Aspects of Some Functional Polysaccharides. In: **Food hydrocolloids**. New York, Plenum Press, 1993, p. 01-19.
- MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; GIL-TURNES, C.; VENDRUSCOLO, C. T. Screening among 18 novel strains of *Xanthomonas campestris* pv *pruni*. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 469-474, 2001.
- MORRIS, E. R. Molecular origin of xanthan solution properties. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, 172, 19-19, 1976.
- MORRIS, E. R. Molecular origin of xanthan solution properties. In: Extracellular microbial polysaccharides, American Chemical Society, 1977, p. 83-89, (ACS Symposium Series, 45).
- MORRIS, E.R. Rheology of hydrocolloids. In: PHILLIPS, G.O.; WEDLOCK, D.J.; WILLIAMS, P.A. **Gums and stabilisers for the food industry**. Oxford: Pergamon Press, 1984, p. 57-78,.
- MORRIS, V. J. Science, structure and applications of microbial polysaccharides. In: : PHILLIPS, G.O.; WEDLOCK, D.J.; WILLIAMS, P.A. **Gums and Stabilisers for the Food Industry**. Oxford: Pergamon Press, 1992, p. 315.
- MORRIS, E. R. Rheology of xanthan: Suspension of particles and stabilization of emulsions. **Food & Ingredients Journal of Japan**, v. 167, p. 31-36, 1996.
- NAVARRO, R. F. **Fundamentos de Reologia de Polímeros**. Caxias do sul, Editora da Universidade de Caxias do Sul, 1997, p. 300.

- NITSCHKE, M.; THOMAS, R. W. S. P. Xanthan gum production by wild-type isolates of *Xanthomonas campestris*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 11, p. 502-504, 1995.
- OHLWEILER, O. A. **Química Analítica Quantitativa**. 3° ed., Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 1982, p. 65-70.
- PASQUEL, A. Gomas: Utilização e Aspectos Reológicos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, p. 86-97, 1999.
- PELLETIER, E.; VIEBKE, C.; MEADOWS, J.; WILLIAMS, P. A. Archeological study of the order-disorder conformational transition of xanthan gum. **Biopolymers**, v. 59, p. 339-346, 2001.
- QUINN, F. X. In: **Polymeric Materials Encyclopedia**. Boca Raton, Ed. Concise, 1999, p. 1652-1653.
- RINAUDO, M. On the Relation Structure-Properties of Some Polysaccharides Used in the Food Industry In: **Food hydrocolloids**. Ed. Plenum Press, New York, p. 21-34, 1993.
- ROCKS, J. K. Unusual rheological properties and heat, acid, and salt stabilities make glucose-derived hydrocolloid a versatile food additive. **Food Technology**, v. 25, p. 476-484, 1971.
- RUSSEL, J. B. **Química Geral**. São Paulo, Makron Books, v. 1, 1994, p. 307-524.
- SANDERSON, G. R. Gellan Gum. **Applied Science**, v.479, p. 201-232, 1990.

- SCAMPARINI, A. R. P. Modification of xanthan gum. In: **World Congress of Food Science and Technology**, 8. Toronto, Canada, Program and Abstracts, p. 177, 1991.
- SHAW, D. J. **Introdução a química dos colóides e de superfícies**. São Paulo, Edgard Blucher, 1975, p. 180.
- SILVA, J. A. L.; RAO, M. A. Role of rheological behavior in sensory assessment of fluid foods. In: **Rheology of Fluid and Semisolid Foods Principles and Applications**. New York, Ed. Gaithenburng Aspen Publisher, 1999, p. 443.
- SOUZA, A. da S. Produção e Caracterização dos Biopolímeros Sintetizados por *Xanthomonas campestris* pv *pruni* cepas 24 e 58. **Ciência e Engenharia**, v. 8, n. 2, p. 115-123, 1999.
- SOUW, P.; DEMAIN, A.L. Nutritional studies on xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 37, n. 6, p. 1186-1192, 1979.
- STADING, M. Gel structure and rheology in theory and practice. Sweeden: Dep. Of Food Science, Chalmers University of Technology. (tese PhD), 1988.
- SUTHERLAND, I. W. Xanthomonas polysaccharides improved methods for their comparison. **Carbohydrates and Polymer**, v. 1, p. 107-115, 1981.
- SUTHERLAND, I. W. Extracellular polysaccharide. In: **Biotechnology** Weinheim, Ed. Verlag Chemie, v. 3, 1983, p. 531-574.
- SUTHERLAND, I. W. Xanthan. In: **Xanthomonas**, London, Chapman & Hall, 1993, p. 399.
- SUTHERLAND, I. W. Microbial polysaccharides from Gram-negative bacteria. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 663-674, 2001.

- TAKO, M.; NAKAMURA S. Rheological properties of deacetylated xanthan in aqueous media. **Agricultural Biological Chemistry**, v. 12, p. 2987, 1993
- TORRES, L. G.; BRITO, E.; GALINDO, E.; CHOPIN, L. Viscous Behaviour of Xanthan Aqueous Solutions from a Variant of *Xanthomonas campestris*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. V. 75, p. 58-64, 1993.
- TORRESTIANA, B.; FUCIKOVSKY, L.; GALINDO, E. Xanthan production by some *Xanthomonas* isolates. **Letters in Applied Microbiology**, v. 10, p. 81-83,1990.
- VERGELATI, C.; PEREZ, S. Molecular modelling of the xanthan chain conformations. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 9, p. 211-218, 1987.
- YOUNG, R. J. **Introduction to polymer**. New York, Chapman & Hall, 1981.
- ZHANG XUEWU; LIU XIN; GU DEXIANG; ZHOU WEI; XIE TONG; MO YONGHONG. Rheological models for xanthan gum. **Journal of Food Engineering**, v. 27, p. 203-209, 1996.