



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI

CAMPUS ALTO PARAÓPEBA

CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

**Biossíntese de Goma Xantana produzida por
Xanthomonas campestris a partir da Fermentação
da Casca de Camarão como Substrato**

Paulo Ricardo Pacheco Dias

Orientador: Enio Nazaré de Oliveira Junior

Ouro Branco-MG
Novembro de 2015

**Biossíntese de Goma Xantana produzida por
Xanthomonas campestris a partir da Fermentação
da Casca de Camarão como Substrato**

Paulo Ricardo Pacheco Dias

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado em cumprimento às
exigências do Curso de Bacharel em
Engenharia de Bioprocessos da
Universidade Federal de São João Del-
Rei.

Orientador: Enio Nazaré de Oliveira Júnior

Ouro Branco-MG
Novembro de 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI

CAMPUS ALTO PARAÓPEBA

CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

**Biossíntese de Goma Xantana produzida por
Xanthomonas campestris a partir da Fermentação
da Casca de Camarão como Substrato**

Paulo Ricardo Pacheco Dias

A Banca Examinadora, composta pelos membros abaixo, avaliou este TCC:

Enio Nazaré de Oliveira Junior– Orientador

Nome 2 – examinador 1: Edson Romano Nucci

Nome 3 – examinador 2: Isabel Cristina Braga Rodrigues

Ouro Branco, 18/11/2015.

RESUMO

As bactérias do gênero *Xanthomonas* são capazes de produzir um polissacarídeo denominado goma xantana. Esse polissacarídeo é de grande interesse das indústrias alimentícias, petrolífera, farmacêutica e de cosméticos, pois pode ser utilizado como agente estabilizante, emulsificante e espessante. A produção industrial de goma xantana é feita por fermentação, utilizando-se sacarose como fonte de carbono. Contudo, com o objetivo de se ter menores custos de produção, pesquisas têm sido realizadas para avaliar o potencial da utilização de resíduos agroindustriais como fonte de carbono alternativa para a produção de goma xantana pelas bactérias do gênero *Xanthomonas*. A produção de camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* tem crescido no Brasil e com isso tem-se gerado grandes quantidades de resíduos sólidos, uma vez que a cabeça e a casca do crustáceo correspondem a aproximadamente 40% do seu peso total gerando problemas ambientais quando descartados sem um destino adequado. O objetivo deste trabalho foi viabilizar a produção de goma xantana por duas cepas de *Xanthomonas campestris*, utilizando a casca de camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*) como fonte de nutrientes, na tentativa de minimizar o desperdício do resíduo, reduzir o problema da poluição ambiental e possibilitar a produção de goma xantana a um menor custo. O experimento foi realizado, variando-se a concentração de casca de camarão de 1,0 a 5,0 % m/v e a concentração de ureia de 0,0 a 0,5 % m/v. A fermentação foi feita em agitação orbital de 250 rpm a 27°C durante 5 dias. Os resultados foram comparados com a goma produzida a partir de meio de cultura padrão contendo sacarose. O rendimento médio encontrado pelo experimento com a sacarose para a cepa 33913 foi de 2,545 g L⁻¹ e para a cepa 13951 foi de 2,663 g L⁻¹. O melhor rendimento para produção de goma xantana, utilizando meio alternativo de casca de camarão, com a cepa 13951 foi de 3,310 g L⁻¹ e com a cepa 33913 foi de 2,178 g L⁻¹. Por meio de diagramas de Pareto e da análise da tabela ANOVA gerada no software Statistica, foi observado que os resultados obtidos de rendimento foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$) e confiáveis para as duas cepas. Ainda foi avaliada a viscosidade das soluções preparadas pela solubilização das gomas xantanas produzidas pelas duas cepas e foi observada maior viscosidade com a xantana produzida pela cepa 13951, cujo maior valor de viscosidade obtido foi de 122,5 cp. O maior valor de viscosidade obtido para a solução de goma xantana produzida pela cepa 33913 foi de 44,6 cp. Para a cepa 33913, após análise estatística, verificou-se que os resultados de viscosidade foram estatisticamente significativos e confiáveis, enquanto que para a cepa 13951, não obteve-se resultados estatisticamente significativos, nem um modelo matemático que descrevesse adequadamente a influência dos parâmetros na viscosidade. O estudo realizado indica que é possível produzir goma xantana a um menor custo de produção a partir do meio alternativo de casca de camarão, o que seria uma alternativa para reduzir os impactos ambientais causados pela disposição desse resíduo no meio ambiente.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVO.....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 Polissacarídeos microbianos.....	4
3.2 Gênero <i>Xanthomonas</i>	5
3.2.1 <i>Xanthomonas Campestris</i>	6
3.3 Goma Xantana.....	7
3.3.1 Estrutura e composição da Goma Xantana.....	7
3.3.2 Características reológicas e propriedades da Goma Xantana.....	9
3.4 Processo de produção de Goma Xantana.....	10
3.5 Aplicações da Goma Xantana.....	14
3.6 Meio padrão de Sacarose.....	15
3.7 Meio alternativo: Casca de camarão.....	15
4 METODOLOGIA.....	18
4.1 Caracterização da casca de camarão.....	18
4.1.1 Umidade: Método de Secagem em Estufa.....	18
4.1.2 Teor de cinzas.....	19
4.1.3 Lipídeos.....	19
4.1.4 Dosagem de proteínas solúveis.....	20
4.1.5 Carboidratos.....	20
4.2 Produção de goma xantana em shaker.....	20
4.2.1 Preparo do inóculo.....	20
4.2.2 Variáveis e condições de produção de goma xantana.....	21
4.2.3 Precipitação da goma xantana.....	23
4.2.4 Pesagem da Goma Xantana produzida para cálculo do rendimento.....	24
4.2.5 Análise da viscosidade.....	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26

5.1 Caracterização da casca de camarão.....	26
5.2 Processo de produção da goma xantana.....	27
5.2.1 Rendimento.....	27
5.2.2 Viscosidade.....	36
 6 CONCLUSÃO.....	 45
 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	 46

1. INTRODUÇÃO

A partir da década de 1950, surgiu no mercado mundial uma nova geração de produtos, os polissacarídeos microbianos, que devido às suas estruturas e propriedades, apresentam grandes aplicações nas indústrias alimentícias, farmacêuticas, entre outras como agentes estabilizantes, espessantes, emulsificantes, texturizantes e gelificantes. Antes de 1950, eram utilizados para a mesma finalidade, nessas indústrias, polissacarídeos de origem vegetal (CANUTO, 2006; LUVIELMO e SCAMPARINI, 2009).

A produção desses polímeros microbianos, em condições controladas de fermentação, permite a obtenção de um material com boas propriedades reológicas e ainda um fornecimento que independe das condições climáticas. A diversidade de polissacarídeos com diferentes estruturas químicas, que os micro-organismos são capazes de produzir, permite a obtenção de polímeros hidrossolúveis com diferentes propriedades e aplicações. Esse grupo de polímeros hidrossolúveis, de origem vegetal, microbiana ou animal, foi nomeado de gomas industriais (LUVIELMO e SCAMPARINI, 2009).

Os polissacarídeos produzidos por bactérias têm a finalidade de protegê-las contra a dessecação e o ataque de amebas, bacteriófagos e fagócitos, mas que devido às suas propriedades são utilizadas nas indústrias para formar soluções viscosas mesmo em baixa concentração (SOUZA e VENDRUSCULO, 1999).

A goma xantana é um polissacarídeo produzido por bactérias gram-negativas e fitopatogênicas do gênero *Xanthomonas*, e apresenta uma grande importância comercial. Devido à utilização como agente espessante e estabilizante, a produção de goma xantana tem crescido anualmente para atender as demandas das indústrias alimentícia, farmacêutica, de cosméticos, produtos agrícolas e petrolífera. A estrutura primária da goma xantana é formada por unidades repetidas de pentassacarídeos (BORGES e VENDRUSCOLO, 2008; LUVIELMO e SCAMPARINI, 2009).

As etapas de produção de goma xantana são a obtenção do pré-inóculo, inóculo, fermentação, pasteurização, remoção das células, precipitação, separação e secagem da goma. Dentre os fatores que podem influenciar o crescimento dos micro-organismos e a produção da goma xantana, destacam-

se o tipo de reator, o modo de operação (batelada ou contínuo), composição do meio e as condições da cultura (temperatura, pH e concentração de oxigênio dissolvido). No Brasil, toda a goma xantana utilizada, nos diferentes segmentos industriais é importada, contudo, o país é um grande produtor de insumos básicos para produção de xantana, e por isso é viável se ter a produção nacional desta goma. Para isso, são necessários estudos para seleção de cepas e escolha das melhores condições operacionais de produção, de forma que a produção de goma xantana no Brasil, possa ser competitiva com as atualmente comercializadas (BORGES e VENDRUSCOLO, 2008; LUVIELMO e SCAMPARINI, 2009).

A produção industrial de goma xantana é feita, normalmente, utilizando-se como fonte de carbono, a glicose ou sacarose, em fermentação submersa. Como fonte de nitrogênio, geralmente é utilizado extrato de levedura, peptona, nitrato de amônio, ureia e glutamato. Alguns micronutrientes também são necessários serem acrescidos nos meios de cultivo de *Xanthomonas campestris* como potássio, ferro e sais de cálcio (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000).

Embora, a produção de goma xantana, utilizando a sacarose como fonte de carbono esteja bem sedimentada, são necessários estudos para se obter fontes de carbono alternativas, que possam permitir a produção de goma xantana de qualidade, com alto rendimento e economicamente viável (Costa *et al.*, 2014).

De acordo com a Associação Brasileira de Criadores de Camarão, a produção brasileira de camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* cresceu entre os anos 1998 a 2005, passando de 7 mil para 65 mil toneladas por ano. Esta elevada produção de camarões tem gerado grandes quantidades de resíduos sólidos, uma vez que a cabeça e a casca do crustáceo correspondem a aproximadamente 40% do seu peso total e não podem ser usados na fabricação de ração animal, devido à elevada quantidade de fibras, gerando problemas ambientais quando descartados como, por exemplo, desequilíbrio na população microbiota de um determinado ambiente e mal cheiro (ASSIS *et al.*, 2008; ABCC, 2014). O uso de substratos alternativos como a casca de camarão na produção de goma xantana, elimina problemas ambientais relacionados à disposição do resíduo gerado e ainda produz um biopolímero de alto valor agregado a um menor custo de produção (Costa *et al.* 2014).

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi viabilizar a produção de goma xantana por duas cepas de *Xanthomonas campestris*, utilizando a casca de camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*) como fonte de nutrientes, na tentativa de minimizar o desperdício do resíduo, reduzir o problema da poluição ambiental e possibilitar a produção de goma xantana a um menor custo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Polissacarídeos microbianos

Polissacarídeos bacterianos, também denominados biopolímeros, são produzidos durante o crescimento de diversas espécies de bactérias. Esses biopolímeros foram descobertos, após um trabalho pioneiro de um grupo de pesquisadores da *Northern Regional Research Laboratory* (NRRL), Peoria, Illinois, EUA, nos anos 1950, que procuravam micro-organismos capazes de biossintetizar gomas hidrossolúveis de grande importância comercial. Esta pesquisa foi necessária porque os Estados Unidos precisavam complementar ou substituir o mercado de gomas extraídas de algas marinhas (alginatos), árvores (goma arábica, goma caraia, goma tragacante), cereais (amido) e sementes (goma lacusta) devido ao fato das variações sazonais e adversidades climáticas afetarem a disponibilidade e a obtenção dessas gomas. A produção de gomas por processos de fermentação é uma forma mais segura e de disponibilidade constante, que independe de condições externas, como as variações climáticas (CANUTO, 2006).

A biossíntese desses biopolímeros está relacionada diretamente à sobrevivência desses micro-organismos a condições adversas do meio, desempenhando diferentes papéis:

- Protegendo os micro-organismos da desidratação;
- Servindo como barreira ao ataque de vírus e impedindo que anticorpos se liguem a sítios específicos na parede celular;
- Neutralizando toxinas carregadas ou íons metálicos tóxicos;
- Atuando como fonte de carbono e energia;
- Convertendo o excesso de substrato em uma massa espumosa, mais difícil de ser metabolizada por outros micro-organismos;
- Interagindo com células de animais ou plantas em relações específicas, simbióticas ou patogênicas.

Esses polissacarídeos microbianos apresentam grande diversidade com relação a estrutura e propriedades e, por isso, apresentam inúmeras aplicações nos mais diversos segmentos industriais como o alimentício, o petroquímico, o

farmacêutico e o químico. São amplamente utilizados como agentes espessantes, emulsificantes, estabilizantes, gelificantes, agentes de suspensão, coloides protetores etc. As propriedades desses biopolímeros estão relacionadas a composição química, agrupamentos e ligações moleculares, bem como a sua massa molar média e distribuição (CANUTO, 2006).

Esses polissacarídeos de cadeia longa, capazes de formar soluções viscosas e géis em meio aquoso, são denominados gomas e podem ser definidos como polissacarídeos de elevada massa molar, de característica hidrofílica e que contém milhares de monossacarídeos. Há uma grande variedade de biopolímeros produzidos por micro-organismos que se enquadram nas características dessas gomas hidrocoloides, dentre as quais, citam-se a goma curdlana (produzida pela bactéria *Alcaligenes faecalis* var. *mixogenes*) e a goma xantana (produzida pelas bactérias do gênero *Xanthomonas*) (CANUTO, 2006).

3.2 Gênero *Xanthomonas*

As bactérias do gênero *Xanthomonas* pertencem à família *Pseudomonaceae*. Todos os micro-organismos desse gênero são fitopatogênicos com exceção do *Xanthomonas maltophilia*. As *Xanthomonas* infectam uma extensa variedade de plantas, incluindo algumas de interesse da agricultura como a alcachofra, o algodão, a ameixa, a berinjela, o brócolis, a couve, a couve-flor, a couve de Bruxelas, o maracujá, a mostarda, a nectarina, a pimenta, o rabanete, o repolho, o tomate, a alfafa, o pêssego, a laranja, mandioca e feijões. Na mandioca, por exemplo, ela coloniza vascularmente as plantas e pode atingir as raízes, causando o escurecimento dos vasos condutores. Nas plantações de laranja, as *Xanthomonas* causam o cancro cítrico, onde é responsável por causar lesões nos frutos, folhas e ramos (THEODORO *et al.*, 2002; CANUTO, 2006; LUVIELMO e SCAMPARINI, 2009).

A podridão Negra, causada pelo *X. campestris* pv. *campestris* é uma das mais sérias bacterioses dos cultivos vegetais e essa doença pode ser observada em qualquer estágio do desenvolvimento da planta e caracteriza-se por veias nas folhas que se tornam amarelas e negras. O desenvolvimento dessa doença

é rápido e pode levar a planta a morte, causando grandes perdas econômicas (LUVIELMO e SCAMPARINI, 2009).

3.2.1 *Xanthomonas campestris*

A espécie *Xanthomonas campestris* é uma bactéria fitopatogênica que quando infecta a planta, produz um exopolissacarídeo denominado goma xantana. As células da *Xanthomonas campestris* apresentam a forma de bastonete, ficam alinhadas e predominantemente ocorrem isoladas. Apresentam, em média, 0,4 a 0,7 μm de largura e 0,7 a 1,8 μm de comprimento. São bactérias gram-negativas que possuem um único flagelo sendo, portanto, móveis. Esses micro-organismos são quimiorganotróficos, e dessa forma, utilizam como fonte de carbono diversos carboidratos e sais de ácidos orgânicos. São bactérias aeróbias, requerendo uma molécula de oxigênio comoceptor final de elétrons. Não são denitrificantes, sendo catalase-positiva e oxidase negativa. Geralmente, formam colônias lisas, amarelas e viscosas, devido a um pigmento insolúvel em água denominado xanthomonadinas (GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000; FARIA, *et al.*, 2005). Na figura 1, é mostrada a imagem de micrografia de uma bactéria *Xanthomonas campestris*.

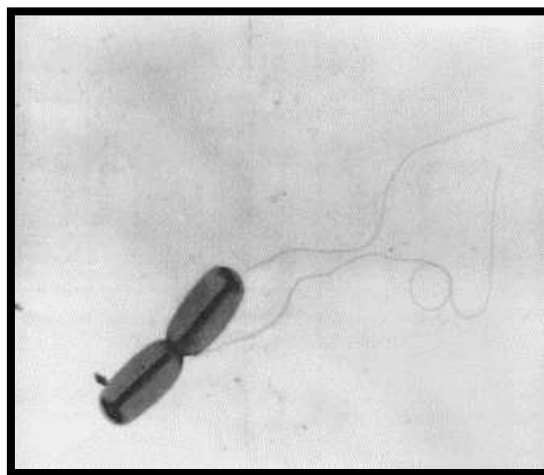


Figura 1. Bactéria *Xanthomonas campestris*. (Micrografia (x12000)).

Fonte: GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000.

3.3 Goma Xantana

Goma Xantana é o nome dado ao polissacarídeo microbiano extracelular, produzido por meio de fermentação, pela bactéria *Xanthomonas campestris*. É o polissacarídeo microbiano de maior importância do ponto de vista comercial, com uma produção mundial em torno de 30.000 toneladas por ano, correspondendo a um mercado de 408 milhões de dólares. Os maiores produtores mundiais de goma xantana são os EUA, França e China. O Brasil, segundo dados do Sistema de Análise das Informações do Mercado Exterior, gastou 15 milhões de dólares na importação de 2200 toneladas de goma xantana em 2005, sendo que em 2010, o país gastou 20 milhões. Com uma taxa de crescimento médio de 12% no quinquênio de 2005 a 2010, a expectativa é que em 2015, o gasto com a importação de xantana chegue a 26 milhões (CANUTO, 2006; MENEZES *et al.*, 2012).

A produção de goma xantana no Brasil ainda é insipiente e por isso é necessário reverter esse quadro, sendo que o Brasil tem um grande potencial, uma vez que possui as matérias-primas básicas (sacarose, extrato de levedura e álcool etílico) para produção de goma xantana a menores custos. Além disso, há muitos estudos de meios alternativos que estão apontando para a produção de goma xantana em quantidade e com propriedades economicamente viáveis (MENEZES *et al.*, 2012, Costa *et al.*, 2014).

3.3.1 Estrutura e composição da Goma Xantana

A goma xantana é um heteropolissacarídeo de alta massa molar que apresenta uma estrutura primária formada por repetições de pentassacarídeos unidos formados por dois resíduos de glicose, dois de manose e um de ácido glicurônico e proporções variadas de O-acetil e piruvil substituintes (Figura 2). O trissacarídeo da cadeia lateral contém uma unidade de ácido D-glicurônico entre duas unidades de D-manose ligadas na posição O-3 dos resíduos de glicose da cadeia principal. Cerca de metade dos resíduos de D-manose terminais apresentam um ácido pirúvico ligado, de distribuição indeterminada. A unidade de D-manose ligada a cadeia principal apresenta um grupo acetil na posição O-

6. O polissacarídeo tem caráter aniônico devido a presença de ácido acético e ácido pirúvico (SANDFORD e BAIRD, 1983; CANUTO, 2006).

A molécula da goma xantana é regular com relação a presença de ramificações em uma glicose a cada duas, entretanto, há uma certa irregularidade, pois nem todas as cadeia laterais apresentam acetilação ou um ácido pirúvico ligado. Variações nas condições de cultura e na variedade de *X.campestris* utilizada, podem variar a composição, com relação ao grau de acetilação e piruvilação, a proporção entre resíduos de glicose, manose e ácido glicurônico e ainda a presença de outros monossacarídeos na xantana produzida (WOICIECHOWSKI, 2001; BORGES e VENDRUSCOLO, 2008).

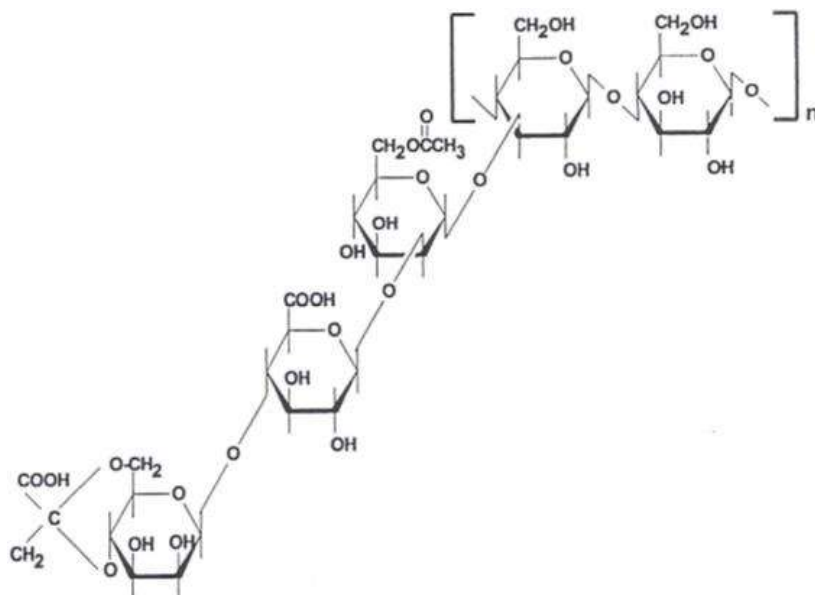


Figura 2. Estrutura básica da goma xantana.

Fonte: BECKER, *et al.*, 1998

A molécula de goma xantana pode apresentar uma estrutura secundária com conformação ordenada ou desordenada, sendo que dois modelos têm sido propostos: simples ou dupla hélice. A conformação ordenada pode ser nativa ou renaturada, sendo que a forma nativa está presente em temperaturas abaixo do ponto de transição conformacional da molécula, que depende da força iônica do meio em que a xantana está dissolvida. A transição conformacional ordem-desordem é dirigida pela ocorrência de temperaturas acima do ponto de transição e ou redução da força iônica. A manutenção da forma nativa, assim

como da forma renaturada dependem dos mesmos fatores. Em condições de força iônica baixa, a repulsão entre os grupos carboxílicos tende a desestabilizar a estrutura ordenada, contudo, a adição de sais (cátions) estabilizam a conformação evitando o rompimento induzido por aquecimento (BORGES e VENDRUSCOLO, 2008).

3.3.2 Características reológicas e propriedades da Goma Xantana

A goma xantana apresenta propriedades reológicas bem distintas e incomuns, como alta viscosidade, grande estabilidade frente a variações de pH e temperatura, compatibilidade com muitos sais metálicos, ingredientes alimentícios e outros biopolímeros usados como agentes espessantes. A xantana ainda é atóxica e por isso é aprovada pelo FDA (*Food and Drug Administration*) dos EUA, desde 1969, como aditivo em alimentos. No Brasil, a goma xantana é aprovada desde 1965, pelo Decreto de lei nº 55.871, da Legislação Brasileira de Alimentos (CANUTO, 2006).

A xantana apresenta alta solubilidade em água quente e fria e apresenta alta viscosidade, mesmo em baixas concentrações. Soluções de xantana são muito pseudoplásticas, ou seja, a viscosidade diminui com o aumento da tensão de cisalhamento, mas recuperam facilmente a viscosidade após a remoção da taxa de deformação. Essa pseudoplasticidade acentua as qualidades sensoriais, pois realça o sabor e diminui a sensação de gomosidade percebida na boca. Além disso, em taxas de cisalhamento entre 50 e 200s⁻¹, taxa da mastigação, a xantana exibe baixa viscosidade, o que faz com que o produto pareça menos viscoso ao paladar e o sabor seja mais bem percebido. A pseudoplasticidade da xantana pode ser explicada pela associação de suas cadeias, que quando em repouso ou em baixas tensões de cisalhamento são estabilizadas pelas ligações de hidrogênio e no cisalhamento, as cadeias são alinhadas e a extensão da agregação é reduzida, ocasionando a baixa viscosidade (BORGES e VENDRUSCOLO, 2008).

A presença de sais pode influenciar o comportamento reológico da xantana. Em baixas concentrações de xantana, a adição de sais pode levar a uma redução da viscosidade, já em altas concentrações do biopolímero, a adição

de sais pode levar a um aumento da viscosidade (BORGES e VENDRUSCOLO, 2008).

O comportamento reológico depende da composição química da goma xantana, mas não existe um consenso entre os pesquisadores quanto à influência de cada constituinte. Alguns afirmam que o conteúdo de piruvato pode ser utilizado como indicativo de qualidade reológica, na qual xantanas com alto conteúdo de piruvato (>4%) apresentam viscosidades superiores às xantanas com conteúdo inferior de ácido pirúvico (0,5 a 3%). Outros cientistas afirmam que a variação no conteúdo de piruvato não pode ser correlacionada com a variação de viscosidade (BORGES e VENDRUSCOLO, 2008).

A viscosidade de gomas xantanas com menor teor de ácido acético, na presença de sais, é maior, sendo que segundo Tako e Nakamura (1984), a xantana desacetilada apresenta maior viscosidade em altas concentrações, quando comparada a xantana nativa. Esse fenômeno pode ser explicado pelo fato da associação intermolecular ser mais forte devido a desacetilação (BORGES e VENDRUSCOLO, 2008).

Outro fato observado é que biopolímeros com maior teor de manose e ácido glicurônico apresentam maior grau espessante (ANTUNES *et al.*, 2000). Aumento na concentração de manose leva a um aumento da viscosidade de xantana diante de aquecimento; maior teor de glicose leva ao efeito contrário (Moreira *et al.*, 2001).

3.4 Processo de produção de goma xantana

A goma xantana é produzida por cultivo aeróbio, a uma temperatura de aproximadamente 28°C. O processo de produção de goma xantana, em escala laboratorial ou comercial, visa simular o processo ocorrido na natureza em condições físico-químicas controladas e otimizadas (CANUTO, 2006).

O meio de cultivo deve conter micronutrientes (como potássio, ferro e sais de cálcio) e macronutrientes como uma fonte de carbono e nitrogênio. Glicose e sacarose são as fontes de carbono mais utilizadas, sendo que a concentração da fonte de carbono afeta o rendimento da produção de xantana; geralmente, é mais utilizada uma concentração entre 2 e 4%. Altas concentrações desses substratos podem até inibir o crescimento celular. Meios que contêm baixo teor

de nitrogênio e alto teor de carbono favorecem o acúmulo de xantana. Geralmente, procura-se meios que favoreçam o crescimento e o acúmulo da goma xantana (CANUTO, 2006).

As temperaturas utilizadas na produção de goma xantana ficam entre 25 e 34°C. Contudo, segundo Shu e Yang (1990) a temperatura ótima para a produção de xantana depende do meio de produção utilizado, sendo de 28°C para o meio otimizado por Garcia-Ochoa *et al.*, (2000).

O pH neutro é o melhor para o crescimento das cepas de *Xanthomonas campestris*, contudo durante a produção da xantana, o pH decresce para valores próximos de 5,0, devido aos grupos ácidos presentes no biopolímero. De acordo com alguns estudos, o controle de pH melhora o crescimento celular, mas não tem efeito sobre a produção de goma xantana (CANUTO, 2006).

A faixa de oxigenação recomendável para produção da goma xantana é de 1,5 a 3,5 mM O₂/L/minuto. A agitação e a aeração são parâmetros necessários para evitar condições de anaerobiose decorrentes do aumento de viscosidade devido à formação do biopolímero. Dessa forma, a combinação adequada, para estes parâmetros, deve ser estudada para evitar a limitação de oxigênio ou condições de estresse hidrodinâmico (CANUTO, 2006; BORGES e VENDRUSCOLO, 2008).

Estudos demonstram que a biossíntese de goma xantana ocorre em duas etapas, na primeira, a unidade pentassacarídica é montada sequencialmente ligando-se ao poliprenol através de uma ligação difosfato; no segundo estágio, as unidades repetitivas são excretadas e polimerizadas sendo o polímero liberado para o meio de crescimento (CANUTO, 2006). Na figura 3, é mostrada a biossíntese da goma xantana.

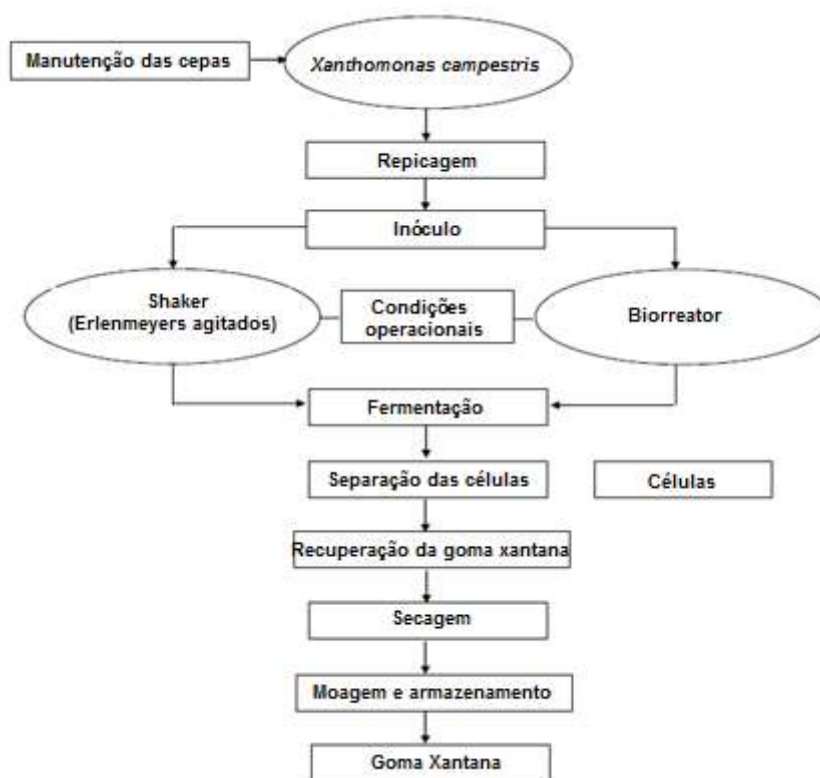


Figura 4. Processo de produção da goma xantana.

Fonte: BRANDÃO, 2012.

A fermentação para produção de goma xantana em *Shaker* tem uma duração de 120 horas, e ocorre a 28°C com uma agitação de 250 rpm. Após o término da fermentação, o biopolímero é recuperado através da precipitação, normalmente com etanol absoluto (99,5°GL) na relação de 3:1 de etanol e meio fermentado, seguida de uma filtração e posterior secagem a baixas temperaturas (40°C). A goma xantana é ainda, posteriormente, liofilizada para posteriores análises de caracterização da estrutura e reologia (BRANDÃO, 2012, MENEZES *et al.*, 2012).

A otimização das condições operacionais da produção de goma xantana na escala laboratorial leva em consideração, as condições operacionais de fermentação (agitação, aeração, temperatura), as condições dos nutrientes utilizados no meio de cultura e o tipo de cepa de *Xanthomonas*. Quando se utiliza como fonte de carbono, a glicose ou a sacarose, há necessidade de se ter uma maior suplementação de outros nutrientes para obtenção de um bom rendimento de xantana, diferentemente de quando são utilizados substratos alternativos, que

necessitam de uma menor suplementação de nutrientes, o que permite uma redução do custo de processo (BRANDÃO, 2012).

Para realização da fermentação e análise dos parâmetros, variáveis e resultados, é fundamental realizar um planejamento fatorial associado à análise de superfícies de respostas, uma vez que apoiado na teoria estatística, se obtém informações seguras sobre o processo, reduzindo o número de experimentos ou repetições e melhorando a qualidade da informação obtida através dos resultados. O planejamento ainda permite a análise de fatores simultaneamente, calculando e avaliando o erro experimental, permitindo a especificação do nível de confiança estatística do experimento e a reprodutibilidade do resultado desejado. Os planejamentos experimentais estatísticos têm sido muito empregados na otimização de processos fermentativos, com o objetivo de selecionar variáveis, pois é um sistema de modelagem que permite a avaliação da relação entre um grupo de variáveis, que podem ser controlados experimentalmente, e que ainda possibilita a obtenção da resposta ótima (RODRIGUES e IEMMA, 2009).

3.5 Aplicações da goma xantana

A goma xantana tem aplicação em inúmeros segmentos industriais entre eles, alimentos, fármacos, químico e petroquímico e isso se deve as suas propriedades reológicas singulares como formação de soluções viscosas em baixas concentrações, ampla faixa de estabilidade de pH e de temperatura e alta pseudoplasticidade (ROTTAVA, 2005; LUVIELMO e SCAMPARINI, 2009).

As propriedades toxicológicas da xantana têm sido estudadas para seu uso nos setores alimentício e farmacêutico. A xantana é atóxica, não inibe o crescimento, não causa sensibilização e nem irritação em pele e olhos. Por estas razões, a xantana é aprovada pelo FDA para uso como aditivo alimentar sem haver a necessidade de se especificar a limitação da quantidade (CANUTO, 2006).

As aplicações da goma xantana na Indústria Alimentícia são muito amplas, sendo neste setor, o maior número de utilizações. A xantana tem sido usada em diversos produtos alimentícios contribuindo com a textura, palatabilidade e aparência, aumentando a aceitação dos produtos no mercado.

Como exemplo, pode-se citar sua utilização como estabilizante em sorvetes, produtos instantâneos, sobremesas, molhos, sopas, bebidas, coberturas, merengues, produtos enlatados etc. (CANUTO, 2006).

Na indústria farmacêutica, a goma xantana é aplicada em formulações como xaropes, cremes e emulsões, uma vez que é um excelente agente estabilizante e espessante. Já em pastilhas, a goma xantana prolonga o tempo de contato do composto ativo em comprimidos e cria um efeito de liberação prolongada da droga (CANUTO, 2006).

Na indústria de cosméticos, a goma xantana é utilizada para encorpar e estabilizar cremes e géis dentais fornecendo uniformidade a pastas de dente e facilitando sua saída do tubo. Pode ser utilizada ainda para estabilização de emulsões, melhorando a retenção de água e a textura em cremes e loções. Em xampus, a goma é utilizada para ajuste da viscosidade e da propriedade de escoamento, e ainda como agente suspensor quando há a presença de substâncias insolúveis como pigmentos ou outros componentes ativos (CANUTO, 2006).

A goma xantana é usada na indústria petroquímica, em processos de perfurações para recuperação de óleo, devido à alta viscosidade das soluções e à sua solubilidade em água (LUVIELMO e SCAMPARINI, 2009).

3.6 Meios de padrão de sacarose

O meio, normalmente, empregado na produção de goma xantana contém sacarose como fonte de carbono e energia. Várias formulações de meio de crescimento utilizando como fonte de carbono a sacarose, a glicose, a lactose e o amido foram testados, nas concentrações de 5, 10, 20 e 50 g L⁻¹. A maior síntese de goma xantana foi observada quando 50 g L⁻¹ de sacarose foram utilizadas como fonte de carbono, comparada às mesmas condições de glicose, lactose e amido (BRANDÃO, 2012).

3.7 Meio alternativo: Casca de camarão

A carcinicultura, criação de camarões em viveiro, é uma atividade praticada em mais de 50 países, e cresceu muito nas últimas décadas em países

tropicais e subtropicais. Além de ser uma excelente alternativa para atender a demanda crescente de consumo de camarões, favorece ainda as regiões sob sua intervenção, por estar se tornando uma importante atividade sócio econômica (DASMACENO, 2007).

O *Litopenaeus vannamei* é uma espécie de camarão nativa da costa sul-americana do Pacífico que se estende do Peru ao México, sendo comum na faixa costeira do Equador. Essa espécie é cultivada em todos os países produtores de camarão do mundo ocidental, por apresentar taxa de crescimento uniforme e fácil adaptabilidade a diferentes condições do meio ambiente. Além disso, apresenta uma excelente aceitação nos mercados internacionais, devido à sua coloração típica e carne de boa qualidade (DASMACENO, 2007).

Segundo a Associação Brasileira de Criadores de Camarão (ABCC), o Brasil vem se destacando na produção de camarões da espécie *Litopenaeus vannamei*, sendo que em 2003 e 2004, o camarão brasileiro ocupou o primeiro lugar nas importações de países como os Estados Unidos e França. Contudo, devido aos efeitos adversos da ação *antidumping* imposta pelos Estados Unidos e da desvalorização cambial, o camarão brasileiro perdeu competitividade para ser exportado, o que levou os produtores brasileiros a focarem no mercado interno. Essa ação teve resultados positivos, pois em 2014, a produção brasileira de camarão cultivado chegou a 90000 toneladas, dos quais 99,7% foi destinada ao mercado interno e dessa forma, a participação do camarão cultivado no mercado brasileiro cresceu de 22% (20000 toneladas) em 2003 para 99,7% (89723 toneladas) em 2014.

A elevada produção de camarões tem gerado grandes quantidades de resíduos sólidos, uma vez que a cabeça e a casca do animal correspondem a aproximadamente 40% do seu peso total, gerando assim danos ambientais quando descartados, podendo-se citar o descontrole da microbiota de um determinado ambiente devido ao aumento da população de micro-organismos decompositores, além do mal cheiro que atrai insetos e pode acarretar em doenças em humanos. Este resíduo é, geralmente, clandestinamente enterrado ou jogado no mar trazendo sérios problemas ambientais, principalmente em países onde não há uma fiscalização rigorosa. A produção anual de resíduos da indústria de crustáceos é da ordem de 39000 toneladas, e dessa forma, destinar

esses resíduos de forma adequada, sem poluir o meio ambiente, tem sido um desafio para os empresários do setor (ASSIS *et al.*, 2008).

Esses resíduos sólidos, provenientes da casca de camarão, apresentam teores elevados de quitina (15 a 20%), proteínas (25 a 40%) e carbonato de cálcio (40 a 55%) e dessa forma, estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de reaproveitamento e desenvolvimento de produtos de alto valor agregado, aumentando a produtividade do setor e garantindo a preservação ambiental. Dentre esses estudos, pode-se citar a produção de quitosana e a promissora utilização desse resíduo como meio alternativo de nutrientes para a bactéria *Xanthomonas campestris* na produção da goma xantana, produto de alto valor agregado, utilizado em vários setores industriais. A utilização de substratos alternativos como a casca de camarão na produção de goma xantana, elimina os impactos ambientais e permite a obtenção do biopolímero a um custo menor de produção (ASSIS *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2014).

4. METODOLOGIA

4.1 Caracterização da casca de camarão

A casca de camarão da espécie *Litopenaeus vannamei* utilizada nos experimentos foi obtida do produto camarão inteiro cozido congelado da marca Matiporã, lote: 0034/15 -193/32, produzido em 08/01/2015 e cuja validade é 07/2016. O camarão foi descascado e a casca e cefalotórax foram secos em estufa a 105°C e depois moídos em moinho de facas.

4.1.1 Umidade: Método de Secagem em Estufa

A casca de camarão foi seca e a umidade foi determinada através do método de secagem em estufa a 105°C com circulação de ar, de acordo com a *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1997). O ensaio foi feito em triplicata. Os cadinhos foram secos previamente por 30 minutos e depois tiveram suas massas registradas. Foi pesado 1 g de casca de camarão em cada cadinho e foram deixados na estufa por 1h30min. Após esse tempo, a casca de camarão seca teve seu peso registrado e a umidade determinada. Na figura 5, é apresentada a estufa empregada na determinação da umidade da casca de camarão.



Figura 5. Estufa empregada na secagem das amostras de casca de camarão para determinação do teor de umidade.

4.1.2 Teor de cinzas

O teor de cinzas foi determinado por incineração em mufla a 550°C de acordo com a AOAC (1997), no qual foram utilizadas as amostras que haviam sido usadas no cálculo de umidade. Após a incineração, a casca de camarão foi pesada, podendo-se assim, por gravimetria, determinar o teor de cinzas. Na figura 6 é mostrada a imagem da mufla utilizada na incineração da casca de camarão.

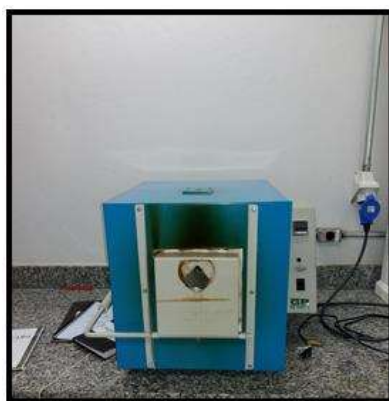


Figura 6. Mufla empregada na incineração das amostras de casca de camarão para determinação do teor de cinzas.

4.1.3 Lipídios

Para a determinação do teor de lipídios, utilizou-se a técnica de extração de lipídios pelo método de Soxhlet. Para isso, utilizou-se um volume de 300 mL do solvente éter de petróleo e pesou-se amostras de 2 g de casca de camarão. Foram realizados 3 ciclos de extração, após essa etapa, o solvente contendo os lipídios extraídos foi totalmente evaporado utilizando o rotoevaporador, de forma que restou nos balões previamente secos e pesados, apenas os lipídios extraídos. Os balões contendo os lipídios foram pesados, obtendo-se assim a massa de lipídios contida nas amostras de casca de camarão. O ensaio foi realizado em duplicata. Na figura 7 é mostrado a montagem dos equipamentos utilizados na extração de lipídios das amostras de casca de camarão pelo método de Soxhlet.



Figura 7. Equipamento montado para extração de lipídios das amostras de casca de camarão pelo método de Soxlet.

4.1.4 Dosagem de proteínas solúveis

O teor de proteínas contidas na casca de camarão foi determinado conforme o método espectrofotométrico descrito por Lowry *et al.* (1951). O experimento foi realizado em triplicata. Para a análise do teor de proteínas foi preparada solução 1% (m/v) de casca de camarão.

4.1.5 Carboidratos

O percentual de carboidratos foi calculado pela diferença entre 100 e a soma das porcentagens de água, proteína, lipídios totais e cinzas.

4.2 Produção de goma xantana em *shaker*

A produção de goma xantana foi feita em *shaker* (agitador orbital). Para análise e comparação, fez-se a fermentação utilizando meio padrão de sacarose e meio alternativo de casca de camarão. Foi avaliado o rendimento e a viscosidade das gomas produzidas por duas cepas de *Xanthomonas campestris*.

4.2.1 Preparo do inóculo

O meio YM líquido utilizado para o inóculo é composto por (m/v) glicose 1,0%; extrato de levedura 0,3%; extrato de malte 0,3%; peptona bacteriológica

0,5% com o pH ajustado para 7,0. Foram preparados 2 frascos *erlenmeyers* (250 mL) contendo 100 mL do meio para cada cepa de *Xanthomonas campestris*. Os frascos contendo os meios foram esterilizados em autoclave a uma temperatura de 121°C por um período de 15 minutos. Os meios foram resfriados a temperatura ambiente. Dentro da capela de fluxo laminar, previamente limpa com etanol 70% e esterilizada com radiação UV, um criotubo de 2 mL de pré-inóculo foi transferido para cada frasco. Os *erlenmeyers* foram incubados em agitador orbital (*shaker*) a 180 rpm, a uma temperatura de 28°C $\pm$ 2°C por 24 horas. Na figura 8, é apresentado o autoclave, capela de fluxo laminar e *shaker* utilizados nos experimentos.



Figura 8. Autoclave utilizado na esterilização das vidrarias e meios (A). Capela de fluxo laminar utilizada na transferência dos pré-inóculos e inóculos aos meios YM, padrão de sacarose e alternativo de casca de camarão (B). Agitador orbital (*shaker*) utilizado na produção do inóculo e na fermentação para produção de goma xantana (C).

4.2.2 Variáveis e condições de produção de goma xantana

Para avaliação das variáveis e condições da produção de goma xantana foi realizado um planejamento estatístico DCCR (Delineamento Composto Central Rotacional) fracionado 2² com 4 pontos axiais e triplicata no ponto central, totalizando 11 ensaios conforme apresentado na Tabela 1. A metodologia de superfície de resposta foi utilizada para determinar a influência das variáveis estudadas e obter a composição otimizada do meio fermentativo. Esse planejamento foi utilizado para as duas cepas de *Xanthomonas campestris* estudadas nesse trabalho.

Tabela 1 – Planejamento experimental variando a porcentagem de casca de camarão (% m/v) e de ureia (% m/v).

Ensaio	Casca de camarão (% m/v)	Ureia (% m/v)
1	-1 (1,6)	-1 (0,07)
2	+1 (4,4)	-1 (0,07)
3	-1 (1,6)	+1 (0,43)
4	+1 (4,4)	+1 (0,43)
5	0 (3)	-1,41 (0)
6	0 (3)	+1,41(0,5)
7	-1,41 (1)	0 (0,25)
8	+1,41 (5)	0 (0,25)
9*	0 (3)	0 (0,25)
10*	0 (3)	0 (0,25)
11*	0 (3)	0 (0,25)

Para preparo dos meios alternativos de casca de camarão, os seguintes passos foram seguidos.

As amostras de casca de camarão foram pesadas e adicionadas em 90 mL de água destilada, depois agitadas a 400 rpm a 25°C por 5 minutos utilizando-se um *mixer*. As soluções de casca de camarão foram, então, transferidas para falcons de 50 mL e centrifugadas a 6000 RPM por 10min. O sobrenadante foi coletado, mediu-se o volume em proveta e completou o volume até 90mL com água destilada. Adicionou-se as concentrações de ureia e homogeneizou-se até total solubilização da ureia. Adicionou-se ainda 0,3 g de fosfato de potássio em cada meio e homogeneizou-se. Em seguida, os *erlenmeyers*, contendo os meios foram autoclavados, por 15 minutos a 121°C. Os meios foram retirados do autoclave e resfriados a temperatura ambiente. Dentro da capela de fluxo laminar, previamente limpa com etanol 70% e esterilizada com radiação UV, 10 mL de inóculo foi adicionado a cada meio. Os

erlenmeyers foram incubados em agitador orbital (*shaker*) a 250 rpm, a uma temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 120 horas.

4.2.3 Precipitação da goma xantana

Após o término das 120 horas de fermentação da bactéria *Xanthomonas campestris*, acrescentou-se em cada meio, o solvente etanol para a precipitação da goma xantana produzida. Esse processo foi realizado em temperatura ambiente, por trinta minutos. A concentração utilizada foi de 3:1 de etanol e solução contendo goma xantana. A aparência da goma xantana precipitada é mostrada na figura 9. Passado o tempo para precipitação, a goma sedimentada ou flotada é removida do meio de cultura através de filtração e depois transferidas para falcons de 50 mL, previamente secos, identificados e pesados. Na figura 10, é mostrada como a goma xantana foi filtrada e na figura 11 é mostrada a goma xantana nos falcons. Os tubos falcon contendo as gomas produzidas foram deixados na estufa a 50°C para secagem.



Figura 9. Aparência das gomas xantanas precipitadas em béqueres (A). Vista de cima dos béqueres contendo a goma xantana flotada (B).



Figura 10. Goma xantana filtrada em peneira.



Figura 11. Gomas Xantanas nos falcons antes de serem secas em estufa.

4.2.4 Pesagem da Goma Xantana produzida para cálculo do rendimento

Após 48h de secagem em estufa a 50°C, as gomas foram pesadas em balança analítica. Com o peso registrado foi calculado o rendimento de produção de goma xantana em cada condição do planejamento experimental. Na figura 12, é mostrada a aparência da goma xantana dentro do tubo falcon, após a secagem.



Figura 12. Aparência da goma xantana dentro do tubo falcon após a secagem em estufa.

4.2.5 Análise da viscosidade

Para análise da viscosidade, preparou-se soluções de 0,5% (m/v) de goma xantana produzida pelas cepas da bactéria *Xanthomonas campestris*, utilizando meio alternativo de casca de camarão. O biopolímero, após secagem em estufa, foi pesado, macerado, dissolvido em água destilada e as soluções foram levadas para agitação mecânica utilizando agitador magnético em placa de aquecimento por aproximadamente 15 minutos em temperatura ambiente (figura 13). Posteriormente, as soluções tiveram sua viscosidade determinada utilizando um viscosímetro de Brookfield com temperatura controlada em 25°C. Cada amostra foi transferida para o equipamento e aplicada uma velocidade de rotação variável aos eixos metálicos imersos no líquido. Na figura 14, é mostrado o viscosímetro empregado nas análises de viscosidade das soluções de goma xantana.

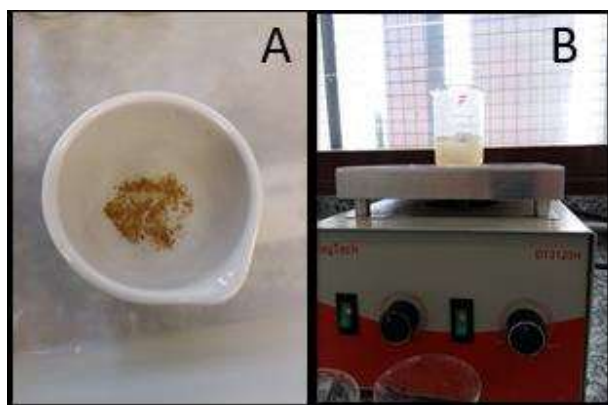


Figura 13. Goma xantana após maceração (A). Solução de goma xantana sendo preparada para análise da viscosidade (B).



Figura 14. Viscosímetro utilizado na análise de viscosidade das soluções de goma xantana.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da casca de camarão

A determinação da composição centesimal da casca de camarão utilizada foi importante para se saber as características do resíduo empregado como substrato alternativo na fermentação para produção de goma xantana.

A composição centesimal da casca de camarão pode ser representada pelo teor de umidade, teor de cinzas (sais minerais resultantes do processo de determinação de umidade), lipídios totais, proteína e carboidratos. Na tabela 2, são apresentados os valores obtidos para cada um desses parâmetros, muito importantes para o crescimento dos micro-organismos *Xanthomonas campestris* e consequente produção de goma xantana.

Tabela 2. Composição centesimal da casca de camarão empregada no experimento.

Análise	Composição centesimal da casca de camarão (%)
Umidade	6,92±0,32
Cinzas	19,60±0,52
Proteínas	41,21±1,04
Lipídeos	4,25±0,35
Carboidratos	28,02±0,6

Esses valores se encontram próximos aos encontrados no trabalho de (Costa *et al.*, 2014), onde a casca de camarão empregada nos experimentos por eles realizados continha um teor de umidade de 5,77%, 18,8 % de cinzas, 49,74% de proteínas, 4,01 % de lipídeos e 21,68% de carboidratos.

Ainda, segundo Assis *et al.* (2008), a casca de camarão é composta basicamente de proteínas, minerais, quitina e carotenoides, no entanto, o conteúdo varia de acordo com a espécie, parte do corpo, pesca, localização e variação sazonal. Os resíduos de camarão gerados nas indústrias tem mostrado teores de proteína entre 34,60 e 49,75%, lipídios totais 3,78 e 10,50%, e teores

de cinzas entre 15,75 e 41,35%. Dessa forma, a casca de camarão, um resíduo da indústria pesqueira, apresenta nutrientes que permitem a sua utilização como substrato alternativo de baixo custo na produção de goma xantana.

5.2 Processo de produção da goma xantana

A produção da goma xantana, utilizando as cepas 13951 e 33913 de *Xanthomonas campestris*, com meio alternativo de casca de camarão, em fermentador orbital aerado, foi realizada utilizando-se o planejamento estatístico DCCR fracionado 2^2 com 4 pontos axiais e triplicata no ponto central, totalizando 11 ensaios. Para o planejamento, foi proposto a variação da concentração de casca de camarão (% m/v) e da concentração de ureia (% m/v).

As variáveis dos planejamentos estatísticos descritos na Tabela 2 foram analisadas pelo diagrama de Pareto e pela superfície de resposta. O tratamento dos dados foi realizado utilizando-se o software Statistica 7.0. Ainda foi realizada duplicata para avaliação do rendimento de produção de goma xantana pelas cepas de *Xanthomonas campestris*, utilizando-se meio padrão de sacarose.

5.2.1 Rendimento

O rendimento da goma xantana produzida pelas cepas da bactéria *X. campestris* utilizando meio alternativo de casca de camarão foi obtido por gravimetria após a secagem em estufa da goma produzida.

As Tabelas 3 e 4 apresentam os rendimentos encontrados para o meio padrão de sacarose e o meio alternativo de casca de camarão utilizando-se as cepas 13951 e 33913, respectivamente.

Tabela 3. Rendimentos obtidos na produção de goma xantana após a fermentação da cepa 13951 da bactéria *Xanthomonas campestris*

Substrato	Ensaio	Rendimento (g.L ⁻¹)
Sacarose	1	3,863
	2	1,463
Casca de camarão	1 (-1,-1)	0,701
	2 (+1,-1)	2,538
	3 (-1,+1)	1,621
	4 (+1,+1)	2,810
	5 (0,-1,41)	2,321
	6 (0,+1,41)	2,067
	7 (-1,41,0)	1,219
	8 (+1,41,0)	3,310
	9 (0,0)	2,185
	10 (0,0)	2,207
	11 (0,0)	1,703

Tabela 4. Rendimentos obtidos na produção de goma xantana após a fermentação da cepa 33913 da bactéria *Xanthomonas campestris*

Substrato	Ensaio	Rendimento (g.L ⁻¹)
Sacarose	1	3,430
	2	1,660
Casca de camarão	1 (-1,-1)	1,322
	2 (+1,-1)	2,178
	3 (-1,+1)	0,799
	4 (+1,+1)	1,245
	5 (0,-1,41)	1,737
	6 (0,+1,41)	1,364
	7 (-1,41,0)	0,946
	8 (+1,41,0)	1,627
	9 (0,0)	1,614
	10 (0,0)	1,600
	11 (0,0)	1,479

Na tabela 3, percebe-se que o maior rendimento na produção de goma xantana pela cepa 13951, utilizando-se o meio alternativo de casca de camarão foi no ensaio 8. A produção de goma nos ensaios 2 e 4 também tiveram bons rendimentos. A diferença de rendimento nos diferentes ensaios, provavelmente ocorreu devido ao fato das diferentes condições de processo, no qual houve variações nas concentrações de casca de camarão e de ureia. Os meios em que a produção de goma xantana foi maior são aqueles nas quais as condições foram mais favoráveis durante a fermentação. O rendimento na produção de goma xantana a partir do meio padrão de sacarose variou de 1,463 a 3,863 g L⁻¹, sendo esses valores muito próximos dos rendimentos obtidos para gomas xantanas produzidas a partir da casca de camarão, que variou de 0,701 a 3,310 g L⁻¹. Esse resultado indica que é possível obter goma xantana a partir do meio alternativo analisado, reduzindo os custos de produção, já que a casca de camarão é um subproduto proveniente da carcinicultura.

Na tabela 4, observa-se que o maior rendimento na produção de goma xantana pela cepa 33913 foi no ensaio 2. O ensaio 5 e os ensaios dos pontos centrais 9,10 e 11 apresentaram rendimentos semelhantes, o que pode ser explicado pelo fato desses ensaios terem os mesmos teores de casca de camarão. O ensaio 8 também teve um rendimento bem próximo dos pontos centrais, mesmo tendo um teor de casca de camarão maior, mas tendo a mesma concentração de ureia, sendo que o real efeito de cada variável independente nos ensaios será melhor avaliado, analisando-se a superfície de resposta. O rendimento na produção de goma xantana a partir do meio padrão de sacarose para a cepa 33913 variou de 1,660 a 3,430 g L⁻¹, sendo esses valores próximos aos rendimentos obtidos para gomas xantanas produzidas a partir da casca de camarão, que variou de 0,946 a 2,178 g L⁻¹. Percebe-se ainda que os rendimentos da cepa 33913 foram menores que os rendimentos da cepa 13951, indicando que essa se adaptou melhor as condições de fermentação utilizando-se o meio alternativo de casca de camarão do que aquela.

Ainda, segundo Costa *et al.* (2014), o rendimento na produção de goma xantana, a partir do meio alternativo de casca de camarão variou de 2,64 a 4,64 g L⁻¹ para a cepa 1182, de 2,60 a 4,14 g L⁻¹ para a cepa 254, de 1,95 a 2,65g L⁻¹ para a cepa 629. Todas as cepas utilizadas foram de *Xanthomonas campestris*

e a concentração de casca em todos os ensaios variou de 2 a 10%, sendo observados maiores rendimentos em concentrações mais elevadas de casca de camarão.

No trabalho realizado por Costa *et al.* (2014) foi observado ainda que o rendimento na produção de goma xantana a partir do meio aquoso de casca de camarão foi maior do que com meio padrão de sacarose para as três cepas estudadas, sendo que a cepa 1182 apresentou maior produção de goma xantana que as outras cepas, independentemente do substrato. Esses resultados só colaboram ainda mais para mostrar que a casca de camarão pode ser utilizada como substrato na produção de goma xantana por cepas de *X.campestris*, o que vem a contribuir com a redução de custos de produção, pelo fato da casca de camarão ser um resíduo proveniente da indústria de pesca e ainda ser uma forma sustentável de dar um destino a esse resíduo evitando-se danos ambientais provenientes da disposição inadequada do mesmo.

Através do programa Statistica 7.0, obteve-se os diagramas de Pareto, valores da ANOVA e superfícies de resposta para os rendimentos de produção de goma xantana nos ensaios utilizando-se as cepas 13951 e 33913 de *X.campestris*.

Através do diagrama de Pareto (Figura 15) e da Tabela 5, avalia-se o comportamento da produção de goma xantana pela cepa 13951 em relação à concentração da casca de camarão e ureia, sendo que é possível observar que o parâmetro concentração de casca de camarão possui valor estatisticamente significativo ($p < 0,05$). As demais variáveis como concentração de ureia e as interações entre estas são menos significativas nestas condições de processo dentro dos intervalos de confiança ($p < 0,05$). Estes parâmetros causam menor influência nos resultados, mas podem possuir maior influência sob outras condições.

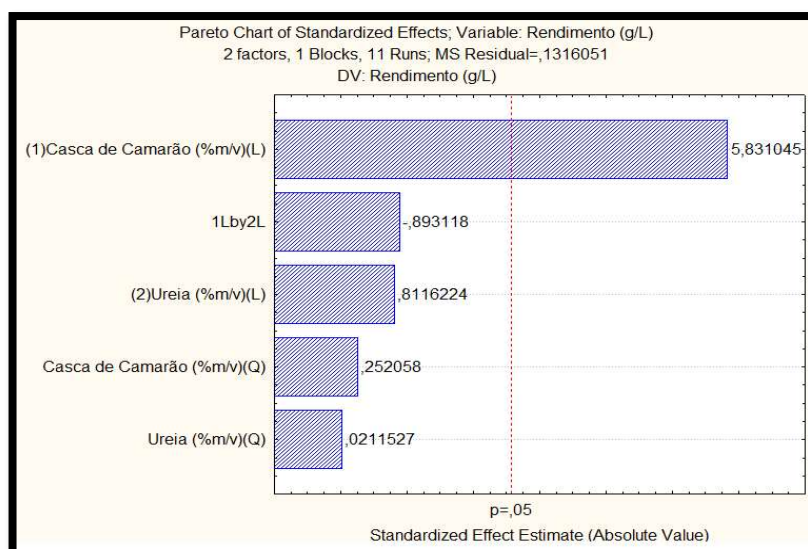


Figura 15. Diagrama de Pareto com o comportamento da produção de goma xantana pela cepa 13951 em relação à concentração da casca de camarão e ureia.

Tabela 5. Valores da ANOVA para o rendimento da goma xantana pela cepa 13951 em relação à concentração da casca de camarão e ureia

Fonte	Soma dos quadrados (SS)	Grau de liberdade (df)	Quadrado médio (MS)	F
Regressão	4,675151	5	0,935030	7,104821
Resíduo	0,658025	5	0,131605	
Total	5,333176	10	-	

* $F_{\text{calc}} = 7,104821$; $F_{\text{tab}} = F_{(5;5;0,05)} = 5,05$.

Por meio da Tabela 5, obtém-se o valor de F calculado (F_{calc}), sendo que como F_{calc} é maior que F_{tab} (F tabelado), o modelo matemático é estaticamente significativo e preditivo. Desta forma, é possível definir a equação matemática com as respectivas variáveis obtidas na tabela de estimativas de efeitos gerada pelo software Statistica.

$$\begin{aligned} \text{Rendimento} = & 2,031667 - 0,747890x_1 + 0,038479x_1^2 + 0,104099x_2 \\ & + 0,003229x_2^2 - 0,162000x_1x_2 \quad (\text{Equação 1}) \end{aligned}$$

Onde x_1 é a concentração de casca de camarão e x_2 é a concentração de ureia. A confiabilidade da Equação 1, pode ser verificada obtendo os valores preditos pelo modelo matemático descrito anteriormente. Considerando o ensaio de número 3 do planejamento, tem-se:

$$\text{Rendimento} = 2,031667 - 0,747890(-1) + 0,038479(-1)^2 + 0,104099(1) + 0,003229(1)^2 - 0,162000(1)(-1)$$

$$\text{Rendimento} = 1,592 \text{ g/L}$$

Comparando o valor predito (1,592 g/L) e o valor observado (1,621g/L) percebe-se uma diferença muito pequena no resultado (0,029g). Também pode-se fazer a análise do gráfico do valor preditivo em relação ao valor observado, que foi gerado no programa Statistica e é apresentado na figura 16, onde percebe-se que os valores observados se encontram próximos da reta dos valores preditos.

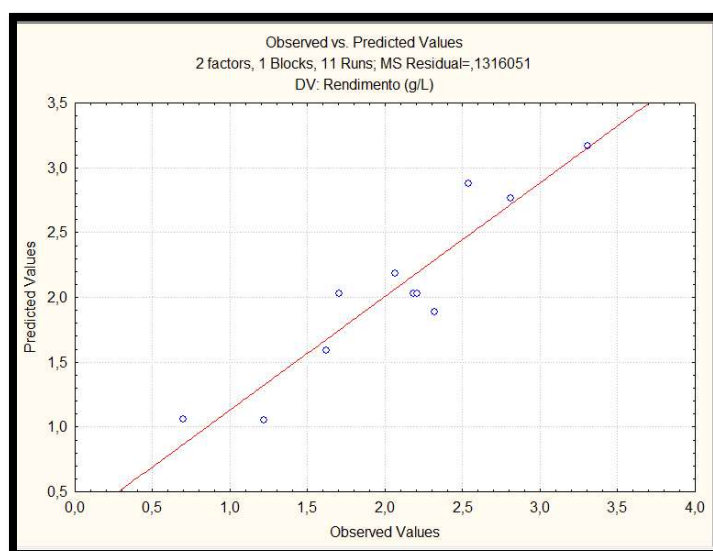


Figura 16. Valor predito *versus* valor observado para a variável Rendimento de produção de goma xantana pela cepa 13951 de *X.campestris*.

Como pode ser observado na superfície de resposta (Figura 17), para se obter um melhor rendimento na produção de xantana, sob as mesmas condições de fermentação, deve-se acrescentar uma maior concentração de casca de camarão. Observa-se ainda a concentração de ureia teve menor influência na produção de goma xantana.

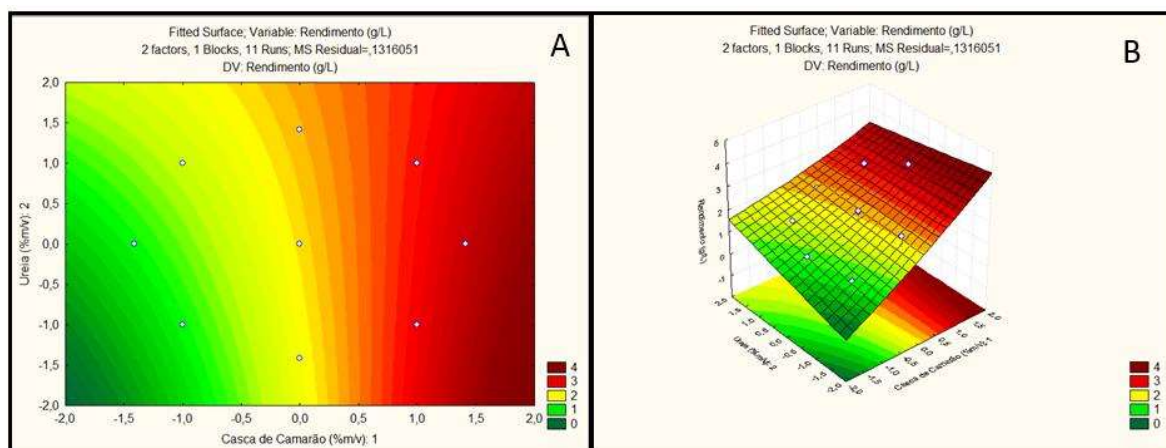


Figura 17. Curva de contorno (A) e Superfície de resposta (B) do comportamento do rendimento da goma xantana produzida pela cepa 13951 em relação à concentração de casca de camarão e ureia.

Através do diagrama de Pareto (figura 18) e da Tabela 6, avalia-se o comportamento da produção de goma xantana pela cepa 33913 em relação à concentração da casca de camarão e ureia, sendo que é possível observar que o parâmetro concentração de casca de camarão e concentração de ureia possui valores estatisticamente significativos ($p < 0,05$). As demais variáveis como as interações entre os parâmetros são menos significativas nestas condições de processo dentro do intervalo de confiança ($p < 0,05$).

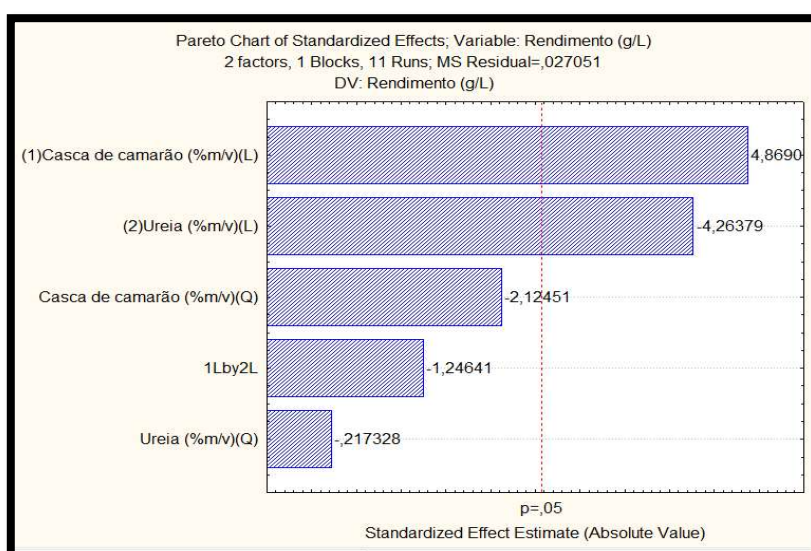


Figura 18. Diagrama de Pareto com o comportamento da produção de goma xantana pela cepa 33913 em relação à concentração da casca de camarão e ureia.

Tabela 6. Valores da ANOVA para o rendimento da goma xantana pela cepa 33913 em relação à concentração da casca de camarão e ureia

Fonte	Soma dos quadrados (SS)	Grau de liberdade (df)	Quadrado médio (MS)	F
Regressão	1,302148	5	1,298507	48,002181
Resíduo	0,135255	5	0,027051	
Total	1,437403	10	-	

* $F_{\text{calc}} = 48,00211$; $F_{\text{tab}} = F_{(5;5;0,05)} = 5,05$.

Por meio da Tabela 6, foi obtido o valor de F_{calc} , sendo que como F_{calc} é maior que F_{tab} , o modelo matemático é estaticamente significativo e preditivo. Desta forma, é possível definir a equação matemática com as respectivas variáveis obtidas pela tabela de estimativas de efeitos gerada pelo software Statistica.

$$\begin{aligned} \text{Rendimento} = & 1,564333 - 0,283135x_1 - 0,147042x_1^2 - 0,247938x_2 \\ & - 0,015042x_2^2 - 0,102500x_1x_2 \quad (\text{Equação 2}) \end{aligned}$$

Onde x_1 é a concentração de casca de camarão e x_2 é a concentração de ureia. A confiabilidade da Equação 2, pode ser verificada obtendo os valores preditos pelo modelo matemático descrito anteriormente. Considerando o ensaio de número 1 do planejamento, tem-se:

$$\begin{aligned} \text{Rendimento} = & 1,564333 - 0,283135(-1) - 0,147042(-1)^2 - 0,247938(-1) \\ & - 0,015042(-1)^2 - 0,1022500(-1)(-1) \\ \text{Rendimento} = & 1,265 \text{ g/L} \end{aligned}$$

Comparando o valor predito (1,265g/L) e o valor observado (1,322g/L) percebe-se uma diferença muito pequena no resultado (0,057g). Também pode-se fazer a análise do gráfico do valor predito em relação ao valor observado, que foi gerado no programa Statistica e é apresentado na figura 19, onde percebe-se que os valores observados se encontram próximos da reta dos valores preditos.

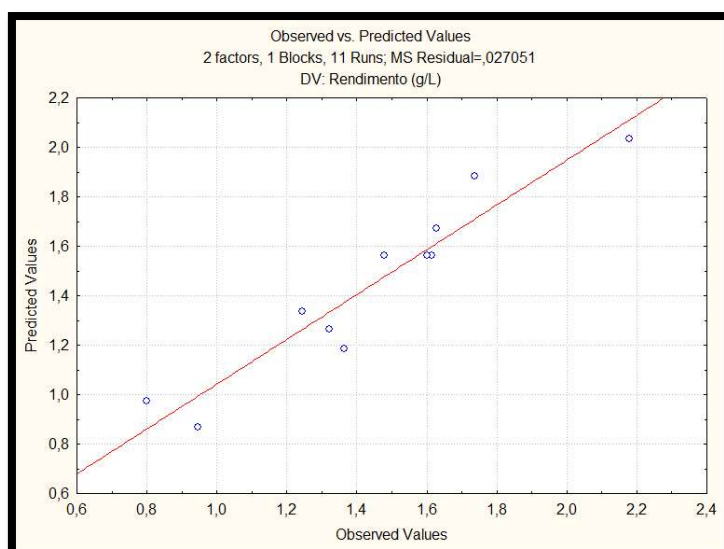


Figura 19. Valor predito *versus* valor observado para a variável Rendimento de produção de goma xantana pela cepa 33913 de *X.campestris*.

Como pode ser observado na superfície de resposta (figura 20), para se obter um melhor rendimento na produção de xantana, sob as mesmas condições de fermentação utilizando a cepa 33913, deve-se acrescentar uma maior concentração de casca de camarão e uma menor concentração de ureia.

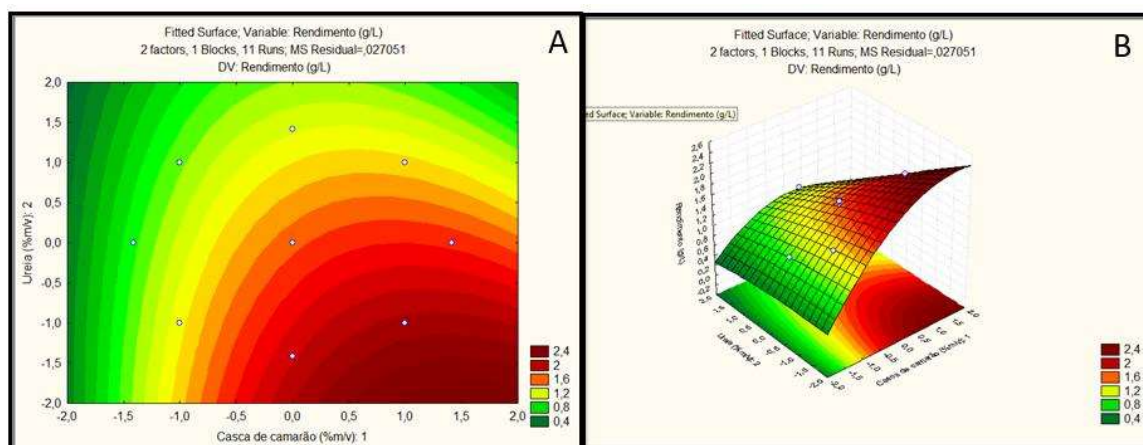


Figura 20. Curva de contorno (A) e Superfície de resposta (B) do comportamento do rendimento da goma xantana produzida pela cepa 33913 em relação à concentração de casca de camarão e ureia.

5.2.2 Viscosidade

A viscosidade aparente das soluções de goma xantana (0,5% m/v), que foram preparadas a partir das gomas produzidas pelas cepas 13951 e 33913, foi determinada utilizando-se o viscosímetro de Brookfield com dispositivo de cilindros concêntricos e temperatura controlada em 25°C.

A confiabilidade da viscosidade medida pelo viscosímetro de Brookfield é para torques situados entre 10 e 90%; valores abaixo de 10% ou superiores a 90%, não podem ser utilizados por não serem considerados resultados confiáveis. Na concentração de 0,5% (m/v) de goma xantana produzida com meio padrão de sacarose, na menor rotação do equipamento as duas gomas apresentaram torque superior a 90% e por esse motivo o resultado não pode ser utilizado por não ser confiável.

A Tabela 7 apresenta os valores de viscosidade encontrados para o meio alternativo de casca de camarão da goma xantana produzida pela cepa 13951.

Tabela 7. Valores das viscosidades obtidas de goma xantana a concentração de 0,5% (m/v) após a fermentação da cepa 13951 da bactéria *Xanthomonas campestris*. A velocidade de agitação empregada foi de 4 rpm.

Ensaio	Viscosidade (cp)
1 (-1,-1)	11,2
2 (+1,-1)	31,00
3 (-1,+1)	57,60
4 (+1,+1)	19,00
5 (0,-1,41)	23,80
6 (0,+1,41)	60,70
7 (-1,41,0)	122,50
8 (+1,41,0)	34,50
9 (0,0)	65,40
10 (0,0)	79,90
11 (0,0)	62,70

A rotação empregada para os ensaios foi a de 4 rpm, a que melhor permitiu a leitura dos ensaios dentro dos limites de confiabilidade do equipamento.

Observa-se que a maior viscosidade foi obtida no ensaio 7. Os ensaios 9,10 e 11 que equivalem aos pontos centrais e os ensaios 3 e 6 também apresentaram alta viscosidade. Os outros ensaios apresentaram resultados de viscosidade menores, porém valores que podem ser considerados altos dependendo da aplicação da goma xantana.

As altas viscosidades observadas podem ser devido ao fato da cepa 13951 de *X.campestris* ter sido cultivada em condições que favoreceram a produção de gomas com maior massa molar. Os diferentes resultados de viscosidade obtidos também podem ser explicados pelo fato de que algumas condições foram mais favoráveis a produção de gomas de alta massa molar do que outras. Por meio da superfície de resposta para a viscosidade apresentada na figura 21, observa-se que viscosidades mais altas foram obtidas quando se tinham menores concentrações de casca de camarão e concentrações de ureia próximas do ponto central.

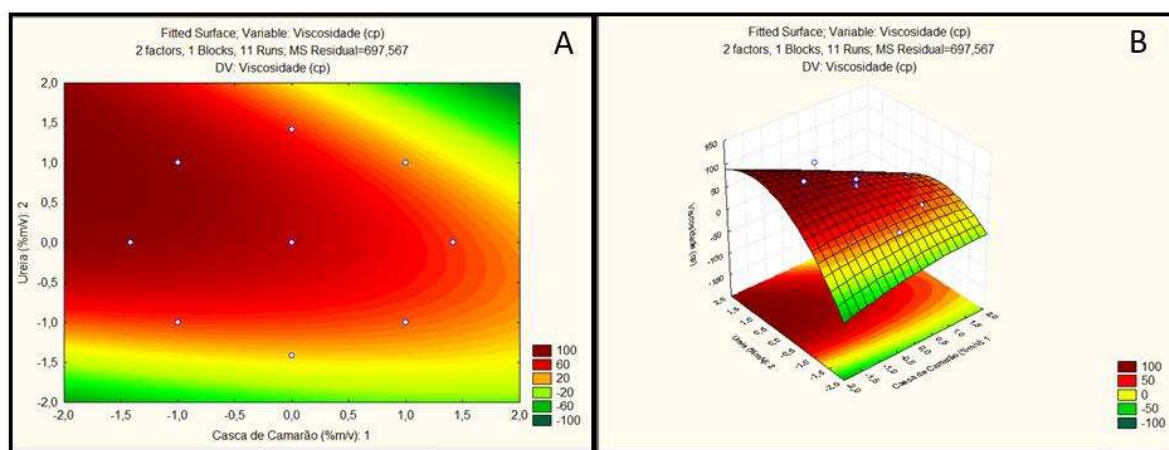


Figura 21. Curva de contorno (A) e Superfície de resposta (B) do comportamento da viscosidade das soluções 0,5% (m/v) de goma xantana produzida pela cepa 13951 em relação à concentração de casca de camarão e ureia.

Para avaliação dos níveis de confiança ($p < 0,05$) das variáveis estudadas durante a fermentação realizada pela cepa 13951, foi analisado o diagrama de Pareto (figura 22) e a Tabela 8.

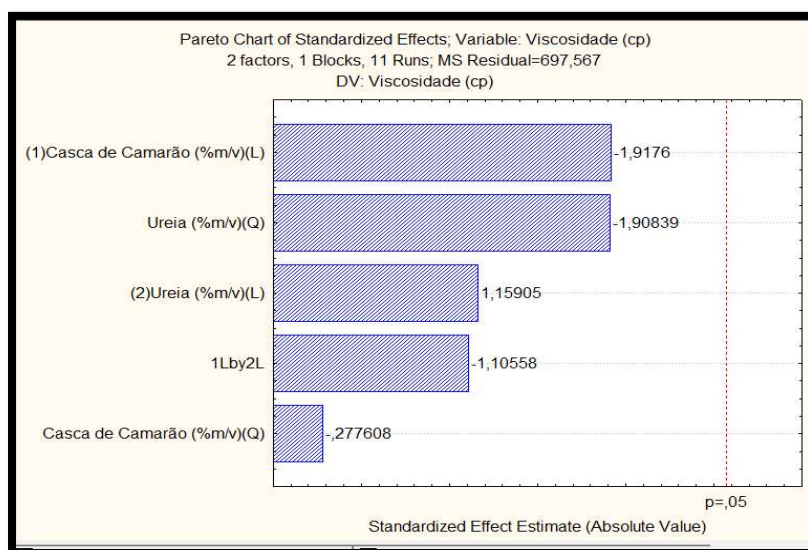


Figura 22. Diagrama de Pareto com o comportamento da viscosidade das soluções 0,5% (m/v) de goma xantana produzidas pela cepa 13951 em relação à concentração da casca de camarão e ureia.

Tabela 8. Valores da ANOVA para a viscosidade da solução 0,5% (m/v) da goma xantana produzida pela cepa 13951 em relação à concentração da casca de camarão e ureia.

Fonte	Soma dos quadrados (SS)	Grau de liberdade (df)	Quadrado médio (MS)	F
Regressão	6956,81	5	1389,8232	1,992
Resíduo	3487,84	5	697,567	
Total	10444,65	10	-	

* $F_{cal} = 1,992$; $F_{tab} = F(5;5;0,05) = 5,05$.

De acordo com a Figura 22, para a viscosidade, nenhum dos parâmetros foram estatisticamente significativos nestas condições dentro do intervalo de

confiança ($p < 0,05$), causando menor influência no processo, no entanto podem possuir maior influência sob diferentes condições.

Através da tabela 8, obteve-se o valor para o F_{calc} , sendo que como F_{calc} é menor que F_{tab} , conclui-se os dados de viscosidade obtidos experimentalmente para as soluções de goma xantana produzida pela cepa 13951 não apresentam resultado estatisticamente confiável, dentro das condições estudadas. Desta forma, a equação 3 obtida no software Statistica não é um bom modelo matemático, como pode ser observado a partir da verificação dos valores preditos e observados na figura 23, no qual percebe-se que os valores observados não ficaram próximos dos valores preditos.

$$\begin{aligned} \text{Viscosidade} = & 69,3333 - 17,9063x_1 - 3,0854x_1^2 + 10,8231x_2 - 21,2104x_2^2 \\ & - 14,6000x_1x_2 \quad (\text{Equação 3}) \end{aligned}$$

Onde x_1 é a concentração de casca de camarão e x_2 é a concentração de ureia.

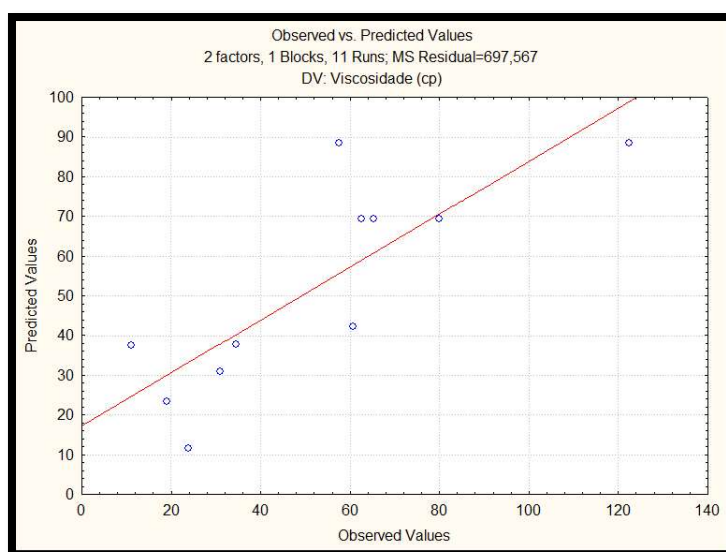


Figura 23. Valor predito *versus* valor observado para a variável Viscosidade de da goma xantana produzida pela cepa 13951 de *X.campestris*.

A confiabilidade da Equação 3 também pode ser verificada obtendo os valores preditos pelo modelo matemático descrito anteriormente. Considerando o ensaio de número 3 do planejamento, tem-se:

$$\begin{aligned} \text{Viscosidade} = & 69,3333 - 17,9063(-1) - 3,0854(-1)^2 + 10,8231(1) \\ & - 21,2104(1)^2 - 14,6000(1)(-1) \\ \text{Viscosidade} = & 88,37 \text{ cp} \end{aligned}$$

Comparando o valor predito (88,37cp) e o valor observado (57,60cp) percebe-se uma diferença considerável no resultado (30,77cp), de forma que se comprova que a equação 3 não é um bom modelo matemático.

A Tabela 9 apresenta os valores de viscosidade da solução 0,5% (m/v) de goma xantana produzida pela cepa 33913 em meio alternativo de casca de camarão.

Tabela 9. Valores das viscosidades obtidas de goma xantana em concentração de 0,5% (m/v) após a fermentação da cepa 33913 da bactéria *Xanthomonas campestris*. A velocidade de agitação empregada foi de 12 rpm.

Ensaio	Viscosidade (cp)
1 (-1,-1)	44,6
2 (+1,-1)	5,01
3 (-1,+1)	8,25
4 (+1,+1)	4,00
5 (0,-1,41)	9,15
6 (0,+1,41)	4,10
7 (-1,41,0)	25,10
8 (+1,41,0)	3,20
9 (0,0)	8,45
10 (0,0)	6,60
11 (0,0)	12,00

A rotação empregada para os ensaios de análise da viscosidade das soluções de xantana produzidas pela cepa 33913 foi a de 12 rpm, a que melhor permitiu a leitura dos ensaios dentro dos limites de confiabilidade do equipamento.

Como se pode observar na Tabela 9, as maiores viscosidades obtidas foram nos ensaios 1 e 7. Nota-se que as viscosidades das soluções de goma xantana produzida pela cepa 33913 tiveram valores menores do que as da cepa

13951, mostrando que essa se adaptou melhor as condições empregadas nos experimentos do que aquela.

Através da superfície de resposta apresentada na Figura 24, observa-se que quanto menor a concentração de casca de camarão e de ureia, maiores são os valores de viscosidade das soluções de goma xantana produzida pela cepa 33913. Ambas as cepas apresentaram gomas com maior viscosidade quando se tinham menores concentrações de casca de camarão, contudo a cepa 13951 apresentou maiores valores de viscosidade quando se tinha concentrações de ureia próximas do ponto central, enquanto que a cepa 33913 apresentou valores de viscosidade maiores para menores concentrações de ureia.

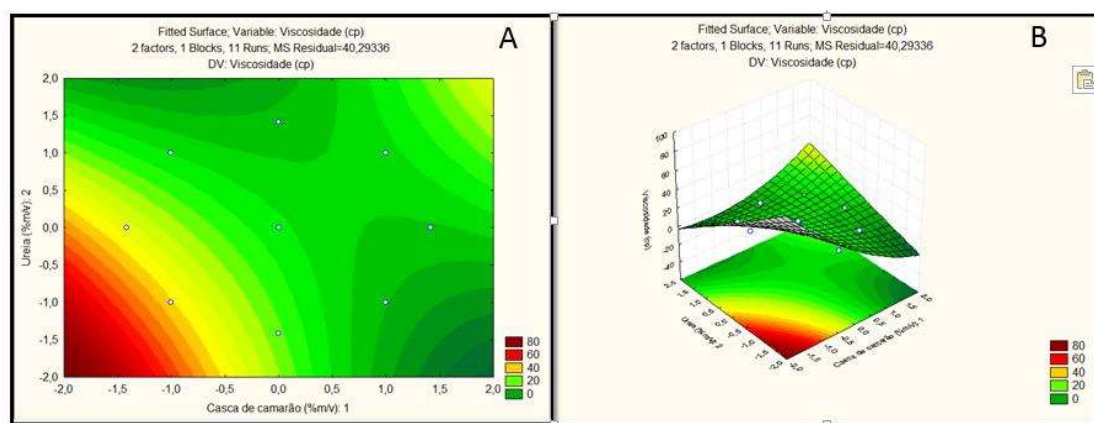


Figura 24. Curva de contorno (A) e Superfície de resposta (B) do comportamento da viscosidade das soluções 0,5% (m/v) de goma xantana produzida pela cepa 33913 em relação à concentração de casca de camarão e ureia.

Para avaliação dos níveis de confiança ($p < 0,05$) das variáveis estudadas durante a fermentação realizada pela cepa 33913, foi analisado o diagrama de Pareto (figura 25) e a Tabela 10.

De acordo com a Figura 25, para a viscosidade, a concentração de casca de camarão e a combinação entre os parâmetros concentração de casca de camarão e ureia foram estatisticamente significativos nestas condições dentro do intervalo de confiança ($p < 0,05$). As outras variáveis não foram estatisticamente significativas dentro dos resultados de confiança, causando menor influência no processo, contudo podem possuir maior influência sob diferentes condições.

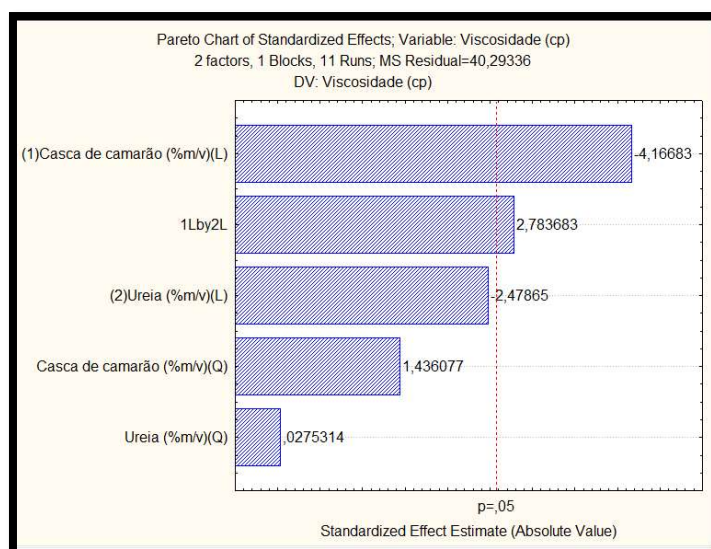


Figura 25. Diagrama de Pareto com o comportamento da viscosidade das soluções 0,5% (m/v) de goma xantana produzidas pela cepa 33913 em relação à concentração da casca de camarão e ureia.

Tabela 10. Valores da ANOVA para a viscosidade da solução 0,5% (m/v) da goma xantana produzida pela cepa 33913 em relação à concentração da casca de camarão e ureia.

Fonte	Soma dos quadrados (SS)	Grau de liberdade (df)	Quadrado médio (MS)	F
Regressão	1349,345	5	268,4998	6,6636
Resíduo	201,467	5	40,2934	
Total	1550,812	10	-	

* $F_{\text{calc}} = 6,6636$; $F_{\text{tab}} = F_{(5;5;0,05)} = 5,05$.

Por meio da Tabela 10, foram obtidos o valor de F_{calc} , sendo que como F_{calc} é maior que F_{tab} , o modelo matemático é estaticamente significativo e preditivo. Desta forma, é possível definir a equação matemática com as respectivas variáveis obtidas pela tabela de estimativas de efeitos gerada pelo software Statistica.

$$\text{Viscosidade} = 9,01667 - 9,35141x_1 + 3,83604x_1^2 - 5,56272x_2 + 0,07354x_2^2 + 8,83500x_1x_2 \quad (\text{Equação 4})$$

Onde x_1 é a concentração de casca de camarão e x_2 é a concentração de ureia. A confiabilidade da Equação 4, pode ser verificada obtendo os valores preditos pelo modelo matemático descrito anteriormente. Considerando o ensaio de número 3 do planejamento, tem-se:

$$\begin{aligned} \text{Viscosidade} &= 9,01667 - 9,35141(-1) + 3,83604(-1)^2 - 5,56272(1) \\ &\quad + 0,07354(1)^2 + 8,83500(-1)(1) \\ \text{Viscosidade} &= 7,88 \text{ cp} \end{aligned}$$

Comparando o valor predito (7,88cp) e o valor observado (8,25 cp) percebe-se uma diferença muito pequena no resultado (0,37cp). Também pode-se fazer a análise do gráfico do valor preditivo em relação ao valor observado, que foi gerado no programa Statistica e é apresentado na figura 26, no qual percebe-se que os valores observados se encontram próximos da reta dos valores preditos.

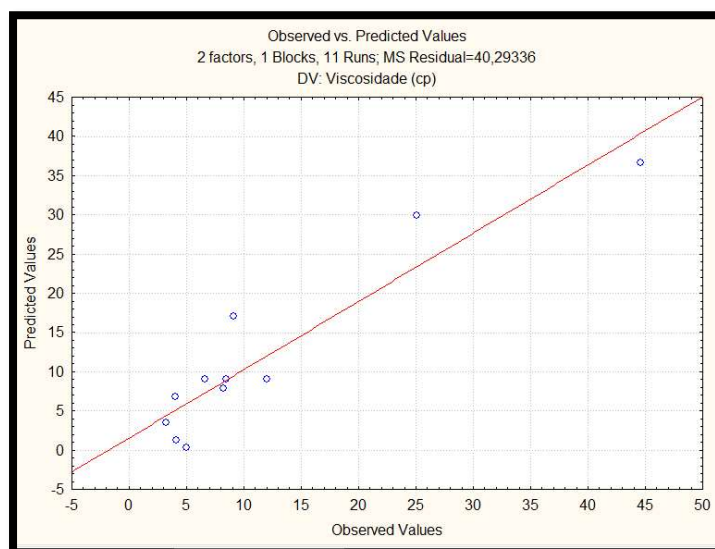


Figura 26. Valor predito versus valor observado para a variável Viscosidade de da goma xantana produzida pela cepa 33913 de *X.campestris*.

A produção de gomas xantanas de maior massa molar e que consequentemente produzam soluções com maiores viscosidades parece depender de fatores como o tipo de cepa e as condições empregadas durante a fermentação como as concentrações dos substratos, como pode ser observado diante dos resultados obtidos. No estudo realizado por Borges (2004), os

resultados das soluções de goma xantana também mostraram que o comportamento reológico foi dependente da cepa utilizada, confirmando o que foi percebido nesse experimento.

O estudo realizado por Faria (2009) mostrou a complexidade quando se trata dos aspectos reológicos de um fluido pseudoplástico como a goma xantana, uma vez que fatores como o tipo de cepa empregada, o pH, temperatura, composição do meio determinam o processo de biotransformação do substrato até o produto e é certo que, esse conjunto de fatores pode acarretar em mudanças estruturais no biopolímero sintetizado, refletindo diretamente na viscosidade de suas soluções.

Além disso, observou-se que maiores viscosidades foram obtidas nas condições onde o rendimento foi menor para a mesma cepa, o que indica que não existe uma relação direta entre a viscosidade e o rendimento, de forma que a influência das variáveis independentes (Concentração de casca de camarão e ureia) nos resultados de viscosidade e produção de goma xantana foi distinta. Esse resultado está de acordo com o que é apontado por Brandão, *et al.*, (2010), pois tem sido observado que quanto maior o rendimento da síntese de xantana, menor a viscosidade.

6. CONCLUSÃO

A casca de camarão é um resíduo gerado na indústria pesqueira, sendo que nesse trabalho foi avaliado a viabilidade do seu uso como substrato alternativo na produção de goma xantana. Os resultados de caracterização da casca de camarão mostraram que a mesma apresenta nutrientes fundamentais às bactérias produtoras de xantana. Os resultados das fermentações, utilizando-se casca de camarão como meio alternativo para ambas as cepas de *X. campestris* estudadas nesse trabalho, demonstraram que o resíduo da carcinicultura pode ser empregado com sucesso na produção de xantana, sendo que a cepa 13951 apresentou na melhor condição, um rendimento de 3,310 g L⁻¹ e a cepa 33913, um rendimento de 2,178 g L⁻¹. A produção média de goma xantana utilizando-se meio de sacarose foi de 2,663 g L⁻¹ para a cepa 13951 e de 2,545 g L⁻¹ para a cepa 33913. A cepa 13951 apresentou melhores rendimentos e soluções de xantana com maior viscosidade do que a cepa 33913, indicando que a cepa 13951 se adaptou melhor ao meio alternativo. Para as duas cepas, percebeu-se após a análise das superfícies de resposta que maiores rendimentos podem ser obtidos preparando-se meios com maiores teores de casca de camarão, contudo obteve-se maiores viscosidades com as gomas produzidas nas condições onde se tinham menores teores do substrato alternativo, de forma que o processo pode ser otimizado determinando-se um teor de casca de camarão que atenda a viscosidade mínima desejada com um bom rendimento.

Lembrando ainda que o meio alternativo tem um custo menor na sua aquisição, pode-se concluir que a casca de camarão pode ainda contribuir na redução dos custos de produção de goma xantana. Além disso, a utilização de casca de camarão na produção de xantana reduziria os impactos ambientais ocasionados pela disposição desse resíduo no meio ambiente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCC (Associação Brasileira de Criadores de Camarão) – Natal, 2014, <http://abccam.com.br/site>.

ANTUNES, A. E. C.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, J. L.; VENDRUSCOLO, C. T. **Síntese de biopolímero xantana em meios convencionais e alternativos: viscosidade x composição.** *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v. 6, n. 2, p. 123-125, 2000.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of analysis of AOAC International.** 16th ed., Horwitz, W., Maryland: Gaithersburg, 1997.

ASSIS, A.S.; STAMFORD, T.C.M; STAMFORD, T.L.M. **Bioconversão de resíduos de camarão *Litopenaeus Vannamei* (Booner, 1931) para produção de Biofilme de quitosana.** *Revista Iberoamericana de Polímeros*, vol. 9, pp.480-499, 2008.

BECKER, A.; KATZEN, F.; PUHLER, A.; IELPI, L. **Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective.** *Appl. Microbiol. And Biotechnol.* 50: 145-152, 1998.

BORGES, C. D. **Caracterização da goma xantana em função da cepa de *Xanthomonas Campestris* pv *pruni* e das condições operacionais.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, 2004.

BORGES, C. D.; VENDRUSCOLO, C. T. **Goma Xantana: características e condições operacionais de produção.** Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2008.

BRANDÃO, L. V.; ESPERIDIÃO, M.C.A; DRUZIAN, J.I. **Utilização do soro de mandioca como substrato fermentativo para a biossíntese de goma xantana: viscosidade aparente e produção.** Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2010.

BRANDÃO, L. V. **Goma xantana obtida por fermentação da glicerina bruta residual do biodiesel: produção, caracterização e aplicação para fluido de perfuração de poços de petróleo.** Universidade Federal da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Salvador, 2012.

CANUTO, A.P. **Desenvolvimento de Bioprocesso para produção de Goma Xantana por Fermentação no Estado Sólido a partir de Resíduos e Subprodutos Agroindustriais.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

COSTA, L. A. S.; CAMPOS, M. I.; DRUZIAN, J. I.; OLIVEIRA, A. M.; OLIVEIRA-JUNIOR, E. N. **Biosynthesis of xanthan gum from fermenting shrimp shell: yield and apparent viscosity.** *International Journal of Polymer Science*, v.2014, p.1-08, 2014.

DASMACENO, K.S.F.S.C. **Farinha dos resíduos do camarão *Litopenaeus Vannamei*: caracterização e utilização na fabricação de hambúrguer.** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Pernambuco. Recife, PE, 2007.

DAWES, I. W. e SUTHERLAND, I. W. **Microbial Physiology.** 2ed. Ed. Blackwell Scientific Publications, Londres, 289 p. 1992.

FARIA, S.; FRANCA, F. P.; CARDOSO, V. L. **Produção de Goma Xantana utilizando caldo de cana.** SHEB 2005, Anais do Congresso.

FARIA, S.; FRANCA, F. P.; CARDOSO, V. L. **Otimização da Produção e Caracterização da Goma Xantana empregando Caldo de Cana.** Tese de Doutorado. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG, 2009.

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

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

MENEZES, J.D.S.; DRUZIAN, J.I.; PADILHA, F.F.; SOUZA, R.R. **Produção Biotecnológica de goma xantana em alguns resíduos agroindustriais, caracterização e aplicação.** Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental. v(8), nº 8, p. 1761-1776, SET-DEZ, 2012.

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

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos.** Cárita Editora. 2ª edição. Campinas, 2009.

ROTTAVA, I. **Seleção de Linhagens de *Xanthomonas* sp para produção de Goma Xantana.** Erechim, RS, 2005. Dissertação de Mestrado do Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos da URI.

SANDFORD, P. A.; BAIRD, J. In: Aspinall GO, editor. **The polysaccharides.** Prague: Academia Press, 470-7433, 1983.

SHU, CH-H e YANG, SH-T. **Effects of temperature on cell growth and xanthan production in batch cultures of *Xanthomonas campestris*.** BiotechnolBioeng35: 454–468, 1990.

SOUZA, A.S.; VENDRUSCULO, C.T. 1999. **Produção e caracterização dos biopolímeros sintetizados por *X. campestris* pv *pruni* CEPAS 24 e 28.** Ciência e Engenharia, 8(2):115-123.

TAKO, M.; NAKAMURA, S. **Rheological properties of deacetylated xanthan in aqueous-media.** *AgriculturalAndBiologicalChemistry*, Tokyo, v. 48, n.12, p. 2987-2993, 1984.

THEODORO, G. F.; MARINGONI, A. C. **Sobrevivência de *Xanthomonasaxonopodispv. manihotisem* manipueira sob condições ambientais.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37, n. 7, 2002.

WOIECHOWSKI, A. L. **Desenvolvimento de Bioprocesso para a produção de goma xantana a partir de resíduos agroindustriais de café e de mandioca.** Curitiba, 2001. 153 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) – Setor de Tecnologia, UFPR.