



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
CAMPUS ALTO PARAÓPEBA
BACHARELADO EM ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Karine Rocha Xavier

OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA
UTILIZANDO DUAS CEPAS DE *Xanthomonas campestris* ATCC
13951 E ATCC 33913 A PARTIR DE SORO DE LEITE

Ouro Branco/ MG
Novembro/ 2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
CAMPUS ALTO PARAÓPEBA
BACHARELADO EM ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Karine Rocha Xavier

Projeto de TCC

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA UTILIZANDO
DUAS CEPAS DE *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 E ATCC 33913 A
PARTIR DE SORO DE LEITE**

Orientador: Enio Nazaré de Oliveira Junior

Projeto apresentado à disciplina de
Trabalho de Conclusão de Curso
como pré-requisito para aprovação
da mesma.

Ouro Branco/ MG
Novembro de 2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
CAMPUS ALTO PARAÓPEBA
BACHARELADO EM ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA UTILIZANDO
DUAS CEPAS DE *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 E ATCC 33913 A
PARTIR DE SORO DE LEITE**

Karine Rocha Xavier

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

Nome 1 - Orientador

Nome 2 – Examinador 1

Nome 3 – Examinador 2

Ouro Branco __/__/__

Resumo

Bactérias pertencentes ao gênero *Xanthomonas* possuem a capacidade de sintetizar um polissacarídeo que apresenta grandes propriedades desejáveis para diversas indústrias. O polissacarídeo, conhecido como goma xantana, é capaz de formar soluções viscosas e géis hidrossolúveis que fornecem características reológicas únicas quando utilizado. Por isso, esse polissacarídeo possui grande interesse comercial. A síntese de goma xantana é feita por meio do processo de fermentação e o meio padrão utilizado é a sacarose, fonte de carbono. Porém, tem sido realizadas diversas pesquisas a fim de avaliar a potencialidade da utilização de resíduos agroindustriais como fonte alternativa de carbono na biosíntese de xantana. O soro de leite é um resíduo gerado na fabricação de queijos que causa um grande impacto ambiental. O objetivo deste trabalho foi sintetizar a goma xantana utilizando duas cepas da *Xanthomonas campestris*, onde foram incubadas em meio YM. A fermentação foi realizada utilizando como fonte alternativa o soro de leite e foram variadas as condições de volume de soro e de concentração de fosfato. A fermentação foi feita sob agitação orbital de 250 rpm a 27°C durante 5 dias. Os resultados obtidos foram comparados com a goma obtida pela fermentação em meio padrão, utilizando a sacarose como fonte de carbono. O rendimento médio obtido na produção de goma utilizando a sacarose como fonte de carbono para a cepa 13951 foi de 5,237 g.L⁻¹ e para a cepa 33913 foi de 4,346 g.L⁻¹. O maior rendimento para produção da goma utilizando a fonte alternativa de soro de leite para a cepa 13951 foi 63,213 g.L⁻¹ e para a cepa 33913 foi de 48,324 g.L⁻¹. Através da tabela ANOVA obtida pelo software Statistica, foi possível analisar que os resultados gerados de rendimento para as duas cepas foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$), ou seja, os resultados foram confiáveis. Também houve uma análise da viscosidade das soluções de goma xantana e a maior viscosidade foi observada para a cepa 33913 com o valor de 16,30 m.Pa.s. Para a goma xantana produzida pela cepa 13951 o maior valor de viscosidade encontrado foi de 6,88 m.Pa.s. Essa análise mostra que é possível a produção de goma xantana a partir do soro de leite como fonte alternativa de carbono, diminuindo gastos de produção e os impactos ambientais gerados pelas indústrias de laticínios.

Palavras-chave: goma xantana, soro de leite, rendimento , viscosidade.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	4
1.1 Objetivo	6
1.1.1 Objetivos específicos	6
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
2.1 Polissacarídeos microbianos	7
2.2 <i>Xanthomonas sp</i>	8
2.3 Goma xantana	9
2.3.1 Produção.....	11
2.3.2 Biossíntese.....	12
2.3.3 Inóculo	13
2.3.4 Recuperação do biopolímero	14
2.3.5 Toxicidade	15
2.3.6 Propriedades reológicas da goma xantana.....	15
2.3.7 Aplicações	17
2.4 Utilização de resíduos agroindustriais para a biossíntese de goma xantana.....	20
2.4.1 Soro de leite.....	20
3 MATERIAL E MÉTODO	22
3.1 Preparo do pré-inóculo da <i>Xanthomonas campestris</i>	22
3.2 Sínteses de goma xantana em shaker.....	23
3.2.1 Preparo do inóculo.....	23
3.2.2 Variáveis e condições de síntese da goma	23
3.2.3 Precipitação da goma	24
3.2.4 Preparo das soluções para análise no viscosímetro	24
3.3 Caracterizações do soro	25
3.3.1 Obtenção do soro de leite.....	25
3.3.2 Umidade.....	25
3.3.3 Teor de cinzas.....	25
3.3.4 Acidez.....	25
3.3.5 Lipídeo	25
3.3.6 Dosagem de proteínas totais.....	26
3.3.7 Carboidratos	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	26

4.1 Caracterização do soro de leite	26
4.2 Viscosidade.....	27
4.3 Crescimento da <i>X. campestris</i>	29
4.4 Planejamento para produção da goma xantana	29
4.4.1 Estudos do comportamento da viscosidade para a cepa 13951 da <i>X. campestris</i>	30
4.4.2 Estudos do comportamento da viscosidade para a cepa 33913 da <i>X. campestris</i>	31
4.5 Rendimento.....	34
5 CONCLUSÃO.....	37

1. INTRODUÇÃO

Existem macromoléculas que podem ser sintetizadas por bactérias, fungos e leveduras, como exemplo, temos os biopolímeros que são formados por monossacarídeos e derivados de ácidos. São diversas as aplicações encontradas para esses biopolímeros, pois, possuem características reológicas desejáveis principalmente para as indústrias. Esse interesse comercial é devido a capacidade da goma em formar a classe de polímeros ou gomas, utilizados como gelificantes, espessantes, colóides protetores, agentes de suspensão, entre outras funções. As propriedades reológicas dos biopolímeros são dependentes de sua composição química, da cepa, da fonte de carbono e condições usadas no processo de fermentação (Nery *et al.*, 2008).

Goma xantana é o biopolímero sintetizado pela *Xanthomonas* e pode ser adquirido por fermentação em diversos tipos de meios de cultura, podendo variar em sua composição, massa molar e rendimento. A seleção de fontes de carbono para a *Xanthomonas* a fim de se obter um exopolissacarídeo em quantidades consideráveis e com características reológicas desejáveis economicamente é um grande desafio para os pesquisadores. O meio requerido pela bactéria *Xanthomonas* para a fermentação e a síntese da goma xantana deve conter fontes de carbono, nitrogênio e fósforo. A fonte de carbono mais utilizada comercialmente é a glicose, mas, ela demanda uma alta quantidade de goma para ser utilizado em processos industriais, por isso, o interesse em estudar substratos alternativos para a biossíntese de polissacarídeos vem aumentando, para assim, diminuir os custos de produção de goma (Diniz *et al.*, 2012; Rottava, 2005; Brandão *et al.*, 2010).

O aproveitamento de rejeitos industriais para o uso como substratos alternativos na biossíntese de goma xantana, ajuda na eliminação de problemas ambientais causados por resíduos gerados pelas indústrias no processo de produção, além disso, o Brasil poderia suprir sua própria necessidade de produção de goma com menor custo final. O soro de leite é considerado um grande poluidor da fauna e da flora, destruindo a nossa fauna e flora devido a sua alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO), sendo em torno de 30 mil a 50 mil mg de oxigênio por litro de soro. Esse valor é considerado cem vezes maior do que um esgoto doméstico. Devido aos fatores gerados pelo resíduo gerado pelos laticínios, o soro de leite vem sendo estudado como uma fonte alternativa de carbono para a produção de polissacarídeos, pois é um resíduo muito produzido no

Brasil, sendo um resíduo gerado pelas indústrias de laticínios na fabricação de queijos. Por possuir grandes quantidades de nutrientes em sua composição, o soro de leite se torna um grande atrativo nos processos de fermentação como substrato na síntese de goma xantana auxiliando na diminuição dos impactos ambientais (Fornari, 2006; Costa *et al.*, 2014; Oliveira, 2005).

No mundo, a produção de leite no ano de 2005 foi de aproximadamente 530 mil toneladas, no Brasil no ano de 2004 foram produzidos cerca de 23 mil toneladas de leite, gerando em torno de 4 milhões de toneladas de soro. O descarte do soro de leite das indústrias de laticínios é considerado um desperdício, devido ao valor nutricional do mesmo, além de gerar danos ao meio ambiente (Fornari, 2006).

1.1 Objetivo

O presente trabalho teve como objetivo a produção da goma, analisando a viscosidade e o rendimento da xantana, utilizando duas cepas da bactéria *Xanthomonas campestris*, sendo elas, *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson N° CCT 0083 N° ATCC 13951 e; *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* N° CCT 52688 N° 33913, utilizando o soro de leite como substrato.

1.1.1 Objetivos específicos

- Aplicar DCCR;
- Estudar a influencia das variáveis de volume de soro de leite e de concentração de fosfato;
- Otimizar as condições de fermentação, rendimento e viscosidade.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Polissacarídeos microbianos

As gomas utilizadas em indústrias de alimentos são polissacarídeos considerados de alta massa molar que são capazes de se dissolverem em água funcionando como espessantes, gelificantes, emulsificantes, estabilizantes e encapsuladores. Alguns podem ter origem vegetal, origem microbiana ou origem química, ou seja, produzidos por modificações químicas em polissacarídeos naturais (Souza *et al.*, 2004).

Biopolímeros microbianos, também conhecidos como goma, são macromoléculas compostas por monossacarídeos e derivados ácidos, que podem ser obtidas pela síntese por bactérias, fungos ou leveduras. Esses polissacarídeos microbianos se tornaram uma ótima alternativa, por possuírem características parecidas ou até melhores se comparados aos polissacarídeos de outras origens, pois, suas capacidades se tornam específicas gerando o surgimento de novos produtos. Os polissacarídeos de origem microbiana tem sido os mais estudados hoje em dia, por possuírem algumas vantagens no processo de produção em comparação aos polissacarídeos de outras origens. Algumas das vantagens é que o processo de produção de goma não depende das condições climáticas, possibilidade de utilização de fontes alternativas para o processo fermentativo da bactéria, maior rapidez na obtenção do produto final e é necessário um pequeno espaço para a produção. Em relação às características reológicas da goma microbiológica, esta apresenta uma maior uniformidade em suas propriedades físico-químicas pela utilização de um micro-organismo específico e à capacidade de controle dos parâmetros do processo de fermentação (Souza *et al.*, 2004; Fornari, 2006).

Entre os polímeros bacterianos a goma xantana tem sido a mais estudada por pesquisadores, pois, foi liberado o uso em alimentos pela FDA (*Food and Drug Administration*) desde o ano de 1969. Normalmente, a goma que é comercializada e sintetizada pela *Xanthomonas campestris*, tendo a glicose como fonte de carbono, derivados de amônia e fatores de crescimento são usados como fonte de nitrogênio sob condições aeróbias de 28°C e sob agitação constante. Ao final do processo, a goma é obtida por precipitação com etanol, posteriormente, seca e moída (Souza *et al.*, 2004).

Os biopolímeros são classificados quanto a sua localização morfológica, sendo assim, podem ser: intracelular, integrantes da parede celular e extracelulares. Os biopolímeros

classificados como extracelular, sendo o caso da goma, são excretados em condição de muco para o meio, sendo estes de maior interesse por serem mais fáceis de extrair. Os polissacarídeos possuem funções específicas como composto de armazenamento, estrutural, marcadores de interação entre micro-organismo e meio ambiente, protege o micro-organismo contra desidratação, serve de barreira contra agentes invasores, neutraliza toxinas, atua como fonte de energia, entre outros. Na literatura, se sabe pouco sobre o processo de produção dos exopolissacarídeos. O melhor entendimento do funcionamento do metabolismo bioquímico seria importante, pois assim, seria possível o controle e a otimização da biossíntese da goma xantana (Fornari, 2006; Souza *et al.*, 2004).

Muitas espécies de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, fungos e algas sintetizam exopolissacarídeos e é induzida pela limitação de algum nutriente essencial, exceto carbono ou outra fonte de energia. Alguns exopolissacarídeos são produzidos durante o crescimento do micro-organismo e outros sintetizam durante a fase logarítmica ou na fase estacionária. A síntese desse componente exige a utilização de açúcares difosfato nucleotídeos. Existem dois mecanismos para a síntese de exopolissacarídeos por bactérias, porém, o mecanismo que envolve enzimas extracelulares lipoprotéicas, secretadas na superfície da célula de bactérias Gram-positivas e utilizadas na formação da dextrana, não se aplica para bactérias Gram-negativas (Souza *et al.*, 2004).

2.2 *Xanthomonas sp*

A bactéria *Xanthomonas campestris* foi isolada por VERS em 1940, onde percebeu-se a capacidade do micro-organismo em elevar a viscosidade do meio onde ela cresce. Esta viscosidade é permitida devido a produção de um muco que é secretado no meio, denominada goma xantana (Rottava, 2005).

As *Xanthomonas* pertencem à família *Pseudomonaceae*, possuem a forma de bastão de aproximadamente 0,4-0,7 µm de largura e 0,7-1,8 µm de comprimento, são Gram-negativas, móveis por flagelo único de 1,7-3 µm de comprimento. É um micro-organismo quimiorganotrófico e estritamente aeróbio, sua respiração necessita de oxigênio como um aceptor final de elétron, e ela é resistente a estreptomicina. As colônias das *Xanthomonas* são caracterizadas de cor amarela, lisas e viscosas. A

coloração amarelada da cultura de *Xanthomonas* está presente em todas as espécies, podendo haver ausência quando ocorre algum tipo de degradação. São fitopatogênicas, com exceção a *X. maltophilia*, infectam mais de 240 gêneros de plantas causando prejuízos em agriculturas. Na Figura 1 é mostrada uma micrografia de uma planta infectada com *Xanthomonas* (Rottava, 2005).

Figura 1: Micrografia de uma planta infectada pela *Xanthomonas campestris*.



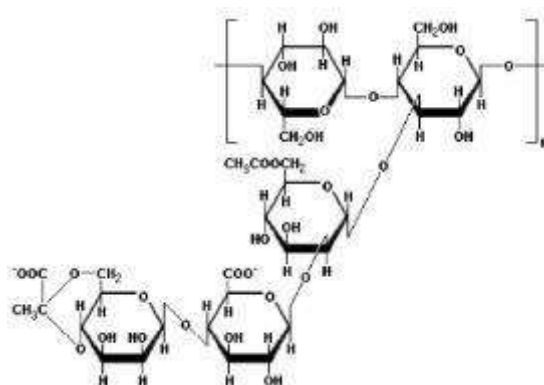
Fonte: microbewiki.kenyon.edu

Vários patovares de *X. campestris* produzem exopolissacarídeos (EPS), por suas características fitopatogênicas. A síntese de exopolissacarídeos está relacionada a sua sobrevivência, pois, o EPS parece controlar a colonização de bactérias a superfície dos vegetais aderindo a certas estruturas. Ao invadirem as camadas intracelulares dos vegetais, multiplicam-se microcolônias cheias de um material fibrilar, o EPS xantana. Após um período de tempo encontram-se inteiramente cobertas por EPS, que preenche todos os espaços das estruturas intracelulares. Esse muco secretado pela bactéria possui alta capacidade de reter água, ocasionando um fenômeno conhecido como *water soaking*, que obstrui os espaços causando uma desintegração do tecido. Este fenômeno é o primeiro sintoma da infecção nos vegetais pela *Xanthomonas*. Como a congestão nos espaços é contínua os sintomas vão piorando, atacando a fotossíntese e a permeabilidade da membrana celular, assim, a planta murcha. A bactéria faz uso do tecido necrosado da planta secretando enzimas que são capazes de degradar polissacarídeos (Rottava, 2005; Fornari, 2006).

2.3 Goma xantana

Goma xantana é um poli- β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucopirranose, semelhante a celulose, porém, com ramificações alternadas no carbono 3, constituídas por três açúcares conforme ilustrado na Figura 2 (Rottava, 2005; Fornari, 2006).

Figura 2: Estrutura da goma xantana (PAIVA, 2014).



A goma xantana é um heteropolissacarídeo, da qual a unidade básica repetidora é um pentassacarídeo, composto por duas unidades de glicose, duas de manose, uma de ácido glucurônico, contendo uma proporção molar de 2,8:2,0:2,0 e grupos piruvatos e acetil. A cadeia principal da goma possui unidades de β -D-glucose com ligações nas posições 1 e 4. O trissacarídeos da cadeia lateral possui uma unidade de ácido D-glucurônico entre duas unidades de D-manose ligadas na posição O-3 de resíduos de glucose da cadeia principal. Considera-se que metade dos resíduos D-manose terminais possui ácido pirúvico ligado e distribuição desconhecida. A unidade D-manose ligada na cadeia principal possui um grupo acetil ligado na posição O-6. Devido a presença de ácidos acético e pirúvico é obtido um polissacarídeo aniônico. Aproximadamente 30% das ramificações contem um grupo piruvato ligado. A massa molar da goma xantana é dependente do processo fermentativo e da linhagem utilizada, podendo variar de 2 a 12×10^6 Da. As soluções de xantana possui um comportamento pseudoplástico, ou seja, sua viscosidade é menor com o aumento da deformação do fluido. A goma xantana que apresenta um alto grau de acetilação e baixo grau de piruvatação em sua composição tem uma maior viscosidade, isso se deve ao favorecimento de interações intermoleculares. A utilização da linhagem de *Xanthomonas campestris* resulta em uma variação da massa molar da goma e no grau de piruvatação, resultante da instabilidade da linhagem (Rottava, 2005; Fornari, 2006).

Goma xantana é um polissacarídeo de grande interesse comercial, principalmente para as indústrias farmacêuticas, de alimentos e de petróleo. Esse interesse pela goma é devido às características físico-químicas que superam todos os outros polissacarídeos disponíveis comercialmente. A propriedade principal da xantana é sua capacidade de melhorar a reologia ou o comportamento de fluxo das soluções. As propriedades que se

destacam dos demais polissacarídeos são a sua alta viscosidade em menores concentrações, estável em ampla faixa de pH e de temperatura, sendo afetada somente em pH maiores que 11 e menores que 2,5, mesmo em presença de sais. Essa estabilidade é proporcional a sua concentração (Luvielmo e Scamparini, 2009; Rottava, 2005).

A estabilidade da goma só é possível na faixa de 10°C a 90°C e a viscosidade não é muito afetada quando na presença de sais. Quando produtos alimentícios contendo a goma em sua composição é colocada a processo de esterilização, apenas 10% de sua viscosidade é perdida, essa redução é menor se comparada a outros polissacarídeos (Luvielmo e Scamparini, 2009).

A bactéria *X. campestris* é classificada como Phylum classe Bactéria; Ordem *Pseudomonadales*; Família *Pseudomonadaceae*; Gênero *Xanthomonas*; Espécie *campestris* (Canuto, 2006).

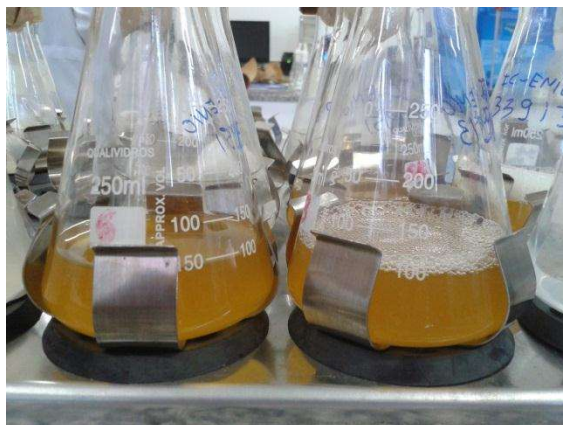
2.3.1 Produção

No procedimento para a produção da goma, é feita a seleção da cepa microbiana a ser preservada, com a criação de estocagem das cepas por um período de tempo indeterminado, por métodos que mantem a sua característica. É feita a utilização do processo de fermentação aeróbica submersa para cultivo da *X. campestris* pura. O meio é esterilizado e composto de fontes de carboidrato, nitrogênio e sais minerais e inoculado com cultura selecionada, em escala piloto, seguidamente é incubado a uma temperatura de 30°C por um período de três dias acompanhado de um tratamento térmico para eliminação de micro-organismos indesejáveis. Seleções genéticas vêm sendo realizadas para a otimização da biossíntese de goma xantana pela *X. campestris* (Luvielmo e Scamparini, 2009).

A xantana é obtida por processo de fermentação aeróbio, a uma temperatura de aproximadamente 28°C pelo patovar da *X. campestris*. Tanto a produção em escala laboratorial quanto a comercial visam reproduzir o processo natural de produção da xantana sob condições físico-químicas otimizadas. O meio de fermentação para biossíntese da goma deve conter vários compostos como fonte de carbono e nitrogênio, as fontes que mais são utilizadas são a glicose e a sacarose. A concentração de carbono sensibiliza o rendimento da xantana, com isso, altas concentrações desse componente

pode até inibir o desenvolvimento celular. Na Figura 3 é demonstrado o processo de fermentação da *X. campestris* realizado no *shaker* (Canuto, 2006).

Figura 3: Fermentação da *Xanthomonas campestris*.



Meios que contem uma maior concentração de carbono e baixa concentração de nitrogênio contribuem no aumento de polímero. O pH neutro vem sendo utilizado pelos pesquisadores como ponto ótimo para o crescimento da *X. campestris*, porém, esta decresce para 5 durante a produção da xantana, isso ocorre por causa dos ácidos contidos no biopolímeros. O controle do pH é importante, pois, influencia o crescimento celular, porém, não tem efeito sobre a goma. A faixa de oxigenação para produção da goma é entre 1,5-3,5 mM O₂/L/minuto. É importante o uso de uma boa aeração no processo de fermentação devido ao aumento da viscosidade durante a etapa de produção da xantana (Canuto, 2006).

Pesquisas observaram que a biossíntese de goma acontece em duas etapas no mínimo. Primeiro, a unidade repetitiva pentassacarídica montada ligando-se ao poliprenol por meio de uma ligação difosfato. Posteriormente, as unidades repetitivas são eliminadas e polimerizadas, sendo o polímero liberado para o meio de crescimento (Canuto, 2006).

2.3.2 Biossíntese

A síntese de xantana por *X. campestris* envolvem duas rotas metabólicas: a rota Entner-Doudoroff, que transforma aproximadamente 80% da glicose em piruvato, que segue para o ciclo do ácido tricarboxílico e a via da pentose-fosfato que metaboliza a glicose remanescente. Essas rotas metabólicas estão associadas as cadeias laterais da xantana e os agrupamentos piruvato e acetila são oriundo dos fosfoenolpiruvato e acetilCoA (Oliveira, 2005).

A biossíntese de xantana solicita a produção de precursores ativados tais como, a UDP-glicose, UDP-ácido glucurônico e GDP-manose, seguida do transporte destes açúcares ao lipídeo isoprenóide para formar a unidade repetida de pentassacarídeo difosfatolipídeo. Seguidamente, ocorre a adição dos agrupamentos acetila e piruvato, e, conseqüentemente, esta unidade monomérica é polimerizada. Os carreadores da xantana se encontram livres e solúveis no citoplasma e podem ser canalizados para a síntese do polímero (Oliveira, 2005).

Os monossacarídeos e os grupamentos acetila e piruvato, são acrescentados ao lipídeo carreador. Contudo, D-glicose-1-P é juntada a UDP-glicose, acompanhado da transferência D-glicose, D-manose e acetila. Enfim, o ácido D-glucurônico, D-manose e piruvato são somados para criar a unidade repetida do pentassacarídeo, este é linear e a ramificação ocorre, somente se, as unidades repetidas do polissacarídeo são polimerizadas. O processo de regulação da xantana ainda é desconhecido (Oliveira, 2005).

2.3.3 Inóculo

O Inóculo consiste na produção de uma população de micro-organismos oriunda de uma cultura estoque, a fim de se conseguir células em estado fisiológico apropriadas para a inoculação do fermentador na etapa inicial de produção em processos fermentáveis. É importante proceder no tipo de inóculo e na qualidade, pois, exercem grandes influencia no processo de fermentação. Fatores como, a densidade do inóculo, o estado fisiológico e morfológico, a idade das células são importantes nos passos de preparo do inóculo para o processo de fermentação. As características que são desejáveis no inóculo são dependentes do tipo de produto que se quer obter e do tipo de processo fermentativo em que ele será utilizado (Canuto, 2006).

Existe uma grande importância frente as condições do inóculo, ou seja, um inóculo de má qualidade leva a resultados insatisfatórios, podendo ocorrer a diminuição da produção e do rendimento. Por isso, é necessário o monitoramento das etapas de produção envolvidas no processo, para se manter a viabilidade do produto. Quanto maior é o número de etapas do processo de produção, maior é a dificuldade de se manter viável o micro-organismo, exceto no caso de cepas mutantes (Canuto, 2006).

Na Figura 4 é mostrado um *eppendorf* contendo a bactéria que foi devidamente armazenado no freezer.

Figura 4: Inóculo da bactéria *Xanthomonas campestris*.



A produção de goma xantana está associada ao crescimento celular, na etapa de inoculação acontece um aumento de densidade celular, porém, diminui a produção de goma, pois, a goma envolta da célula dificulta o transporte de nutrientes e amplia a fase lag de crescimento da bactéria. Ocorre a transferência dos micro-organismos de um meio de cultura sólido complexo para um volume menor de um meio de cultura complexo. O volume de inóculo necessário para a produção de goma em fermentadores é de 10% do volume total do caldo a ser fermentado (Luvielmo e Scamparini, 2009).

2.3.4 Recuperação do biopolímero

A alta concentração de goma presente no caldo de fermentação faz com que o caldo possua alta viscosidade e se torne de difícil manuseio. As principais etapas de recuperação desses biopolímeros são: precipitação, lavagem, secagem e moagem. A precipitação do biopolímero é feita por diminuição da solubilidade do colóide dissolvido, utilizando-se métodos como adição de sais, de solventes miscíveis em água e concentração por evaporação, além de precipitação por solventes orgânicos, como o etanol, o isopropanol e a mistura de álcool e sais, também se faz uso de ultrafiltração. O mais comum de se utilizar é a precipitação com álcool, principalmente etanol e isopropanol. O custo para recuperação do álcool utilizado na precipitação do biopolímero contribui no custo total de produção, quando a escala no processo é industrial (Luvielmo e Scamparini, 2009). Na Figura 5 é mostrada a goma precipitada do meio fermentado.

Figura 5: Recuperação do biopolímero.



Os álcoois podem ser acrescentados ao caldo fermentativo não só com o objetivo de diminuir a solubilidade, mas também, para lavar impurezas como, componentes coloridos, sais e células. A quantidade de álcool necessário para a recuperação do biopolímero depende das características do reagente (Luviélmo e Scamparini, 2009).

2.3.5 Toxicidade

A avaliação toxicológica de um aditivo deve ser feita antes de ser autorizado a sua utilização em produtos. Deve se considerar qualquer efeito cumulativo, sinérgico ou de proteção. Nessa avaliação não deve ser levado em consideração somente suas características específicas que os possibilita a conversão em aditivos alimentares, mas todas as suas ações colaterais e contraindicações (Albuquerque, 2012).

As características toxicológicas e a segurança da goma para utilização alimentícia e farmacêutica vêm sendo pesquisadas. A xantana é atóxica e não inibe o crescimento da *X. campestris*. Não causa nenhum tipo de irritação na pele e nos olhos, por isso, a xantana foi aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para utilização nos alimentos sem descrever qualquer restrição da quantidade para o uso (Canuto, 2006).

2.3.6 Propriedades reológicas da goma xantana

A reologia é a ciência que estuda o escoamento, ou seja, as propriedades que caracterizam o comportamento de compostos quando estes são submetidos a deformação em relação a tensão e a taxa de deformação (Oliveira, 2005).

A temperatura de dissolução compromete a viscosidade por controlar a conformação molecular. Assim, soluções de xantana obtidas por dissolução em temperatura moderada tendem a ser muito viscosas. A goma xantana apresenta duas conformações, helicoidal e randômica, a determinação da conformação depende da temperatura de dissolução (Luvielmo e Scamparini, 2009).

A natureza do polímero como seu peso molecular, sua estrutura e a presença de grupos acetil e piruvil possui a capacidade de alterar as características reológicas das soluções. A goma xantana possui uma conformação helicoidal, simples ou dupla-hélice. As mais importantes propriedades são relacionadas ao estado ordenado da molécula, sendo assim, podem ser usadas na presença de sais (Canuto, 2006).

A viscosidade é definida como a resistência de um líquido ao fluxo causado por atrito entre as moléculas. Além disso, é uma medição direta da qualidade do fluido, a viscosidade é fornecedora de várias informações sobre o fluido como sobre as mudanças em sua estrutura durante determinado etapa. Em um fluido Newtoniano, a viscosidade depende da temperatura, enquanto os fluidos não-Newtonianos dependem do tempo e/ou da taxa de deformação. A goma produz um fluido não-Newtoniano e altamente pseudoplástico, ou seja, a viscosidade diminui com o aumento da taxa de deformação do fluido. A viscosidade das soluções praticamente não se altera com temperaturas entre 4 e 93°C, pH entre 1 e 13 e força iônica iguais a concentrações de cloreto de sódio entre 0,05 e 1% (Luvielmo e Scamparini, 2009).

Essa pseudoplasticidade agrava as características sensoriais, acentuando o sabor e reduzindo a sensação de gomosidade. A xantana exibe baixa viscosidade, fazendo com que o produto obtido seja menos viscoso ao paladar e o sabor se torna mais perceptível. A viscosidade da goma, mesmo em baixas concentrações, é relacionada com sua estrutura ramificada e a alta massa molar. A maioria de suas características reológicas vem de sua conformação dupla hélice obtida em solução (Luvielmo e Scamparini, 2009).

As propriedades reológicas que são dependentes da natureza do polímero, ou seja, depende da massa molar e do conteúdo de acetato e piruvato. Os níveis de ácido pirúvico e substituições de acetal na molécula alteram as condições de crescimento das células e as condições operacionais (Luvielmo e Scamparini, 2009).

2.3.7 Aplicações

A goma xantana é muito utilizada em vários seguimentos industriais, como alimentícia, farmacêutica, petrolífera, entre muitos outros, devido suas características que são usualmente desejáveis para as indústrias. É utilizada como agente controladora de sistemas aquosos e estabilizadoras de emulsões e suspensões. Possui a capacidade de obter soluções altamente viscosas com baixa tensão de cisalhamento, alta pseudoplasticidade e rendimento. São estáveis em uma ampla faixa de temperatura, pH e sais. Os biopolímeros bacterianos por serem oriundos de micro-organismos e utilizados em produtos de consumo humano, como por exemplo, fármacos, cosméticos e alimentos, precisam ser aprovados por órgão competentes, passar por análises rigorosas no controle de qualidade (Canuto, 2006; Fornari, 2006).

A obtenção de biopolímeros para o consumo humano é uma função muito mais complexa se comparada ao biopolímero utilizado para outros fins. Pois estes, não precisam seguir os critérios rigorosos de legislação alimentar em vigor (Fornari, 2006).

2.3.7.1 *Uso na Indústria Alimentícia*

Na indústria alimentícia as aplicações da goma são bastante vastas, sendo utilizadas em diversos alimentos, tendo como objetivo uma melhora do produto. A goma xantana tem sido utilizada como estabilizante em substitutos de clara de ovos, utilizados na produção de merengues, *nougat* e doces, sem prejudicar as características naturais do produto. A goma também é utilizada como estabilizantes de sorvetes, encorpendo e prevenindo a aderência de géis e frutas. A xantana também aumenta a viscosidade dos molhos de tomate, garantindo que o molho permaneça na superfície de pizzas e massas inibindo a absorção da mesma (Penna, 2002).

Em bebidas, as indústrias utilizam a xantana para o melhoramento das propriedades de palatabilidade de sucos cítricos e bebidas com aromas e sabores frutais. Também é usual para sucos de polpa de fruta ou com um maior teor de sólidos suspensos. Por serem muito solúveis tanto em soluções quentes como frias, possui um bom desempenho como estabilizante e podendo ser utilizados em muitos produtos instantâneos como sopas, molhos, sobremesas e bebidas proporcionando um aumento na viscosidade (Canuto, 2006).

Suas propriedades reológicas juntamente com a sua ampla faixa de estabilidade aumentam o tempo de vida útil de prateleira e de produtos em emulsões água-óleo como enlatados, devido a sua alta estabilidade térmica. A xantana se tornou o produto mais indicado para ser utilizado em situações adversas, como exemplo, seu uso dela como espessante em tortas congeladas a base de amido, evitando a sinérese e retrogradação após alguns ciclos de congelamento e descongelamento. No setor de panificação, a goma é responsável pelo aumento na absorção da água durante assamento e armazenamento dos pães, melhorando a textura dos pães e estendendo o prazo de vida útil (Canuto, 2006; Jungbunzlauer, 2006).

Em laticínios a xantana somada a outras gomas agem como estabilizantes de produtos lácteos. Suas características pseudoplásticas melhoram o processo de produção de queijos e sobremesas evitando a sinérese (Canuto, 2006). A xantana também é muito utilizada como agente de retenção de água em produtos de baixa caloria, conhecidos como *light*, melhorando a textura dos produtos e aumentando o tempo de validade. Na Figura 6 podemos observar um exemplo do uso da goma xantana em doces (Penna, 2002).

Figura 6: Exemplo da aplicação da goma xantana na indústria alimentícia: sorvete.



Fonte: www.gomaxantana.com.br

2.3.7.2 Uso na Indústria Farmacêutica e cosmética

Na indústria farmacêutica, os produtos higiênicos e de cosméticos possuem uma grande aplicação para a goma xantana, como em xaropes, cremes, emulsões ou suspensões impedindo a separação de componentes não solúveis. Prolonga o tempo de contato do composto ativo de comprimidos e pastilhas, podendo ser usado uma concentração de

3% de xantana. Em cremes e géis se faz a maior aplicação de goma, dando suavidade e maciez por sua pseudoplasticidade. No setor de higiene a goma é bastante utilizada em cremes dentais, tornando o aspecto da pasta mais liso e uniforme fazendo com que o creme deslize na saída do tubo. Também é utilizada em xampus ajustando a viscosidade e a capacidade de escoamento, e, auxilia quando há presença de componentes insolúveis atuando como agente suspensor. Na Figura 7 é demonstrado produto com aplicação para a goma (Menezes *et al.*, 2012).

Figura 7: Exemplo da aplicação da goma xantana na indústria farmacêutica: creme dental.



Fonte: megacurioso.com.br

2.3.7.3 Demais usos

Diversas são as utilidades da goma em processos industriais, sendo aplicada em grande escala na recuperação secundária e terciária de petróleo. É um dos componentes utilizados na fabricação de lama de perfuração, manutenção e acabamentos de poços petrolíferos e também usados na recuperação secundária de hidrocarbonetos. Óleos de corte também utiliza das propriedades da goma, por sua grande faixa de estabilidade a degradação pela temperatura, diminuindo o número de perdas por fricção no processo de corte de materiais duros. Em esmalte cerâmico, seu uso, é devido sua propriedade de agente suspensor. Possui uma ótima compatibilidade com os componentes do esmalte cerâmico, melhorando a moagem do material, aumento da adesão ao úmido, controle do tempo de secagem e redução de imperfeições na superfície das peças (Canuto, 2006).

Na agricultura são utilizados como estabilizadores em pulverizadores fungicidas, herbicidas, pesticidas e fertilizantes, controlando o tamanho das gotículas. Responsável

por aumentar a aderência entre o composto ativo e a colheita, melhorando o tempo de contato entre elas (Fornari, 2006).

2.4 Utilização de resíduos agroindustriais para a biossíntese de goma xantana

Nos últimos anos, vem aumentando o setor de produção agrícola seja por aumento da área agrícola ou pelos avanços alcançados na biotecnologia que desenvolve novas plantas, melhor qualidade dos alimentos e aumento na variedade de produtos. Dados do IBGEG confirmam o crescimento em 2010 do setor agrícola de 4,7% e com isso, também aumenta, na mesma proporção, a produção de resíduos agroindustriais. Além disso, o país se destacou no beneficiamento de sua produção agroindustrial, produtos que eram exportados *in natura*, hoje são industrializados e geram um maior número de resíduos. Os resíduos gerados ao final dos processos de produção, embora não possuem valor agregado, podem se transformar em fontes para produção de novos produtos (Menezes *et al.*, 2012).

O uso de substratos alternativos de baixo valor agregado em processos fermentativos para a produção de goma xantana, tais como, resíduos agroindustriais, ajudam na redução de custos de produção, diminuindo fatores de riscos ambientais, pois, auxiliam na destinação desses resíduos. Na literatura, existem diversos trabalhos a respeito da utilização de fontes alternativas de carbono para a produção de goma xantana pela bactéria *X. campestris*, já que esta possui um espectro largo de fontes de carbono fermentáveis. Podemos citar como exemplos o trabalho de Brandão *et al.*, 2010 com o tema de Utilização do soro de mandioca como substrato fermentativo para a biossíntese de goma xantana: Viscosidade aparente e produção e o trabalho de Druzian *et al.*, 2007 com o tema Produção de goma xantana por fermentação do resíduo de suco de maçã (Menezes *et al.*, 2012).

2.4.1 Soro de leite

A fonte usual de carbono para a produção de goma xantana é a glicose e a sacarose, porém, estudos vêm sendo feitos para a utilização de fontes alternativas, objetivando a diminuição dos problemas de poluição ambiental gerados por resíduos industriais. Os resíduos oriundos de laticínios podem ser sólidos, líquidos e emissões atmosféricas que geram impactos ao meio ambiente. O potencial de poluição das indústrias não é

dependente do tamanho da indústria, sendo assim, foram criadas legislações ambientais que exigem que todas as empresas descartem adequadamente seus resíduos. A melhor forma de obter um controle ambiental é minimizando a geração de resíduos pelo monitoramento dos processos. Para sucesso do gerenciamento dos resíduos que são gerados é muito importante conhecer as características e as fontes de geração dos resíduos (Silva, 2011; Brandão *et al.*, 2010).

Um dos maiores responsáveis pela poluição geradas em laticínios é o soro de leite, devido ao seu alto teor de matéria orgânica. Em muitas indústrias de laticínios o soro de leite é descartado juntamente com os demais efluentes. Por isso, é considerado um forte aliado da poluição, devido ao seu alto potencial de poluição. Isso é devido a sua alta demanda biológica de oxigênio (DBO) que é por volta de 30 mil a 50 mil mg de O por litro de soro de leite, aproximadamente 100 vezes maior do que um esgoto doméstico. Uma indústria com cerca de produção de 10 mil litros de soro por dia polui cerca de uma população de aproximadamente 5 mil habitantes. Para produzir 1 Kg de queijo, precisa de 10L de leite e recupera-se 9 a 12 litros de soro. Considerando que a produção de queijo no Brasil é cerca de 450 mil toneladas/ano, isso indica que a produção de 4.050.000 toneladas de soro de queijo. (Silva, 2011; Oliveira, 2005; Oliveira *et al.*, 2012).

O soro de leite é considerado cem vezes mais poluentes que o esgoto doméstico. O soro de leite, o leitelho e o leite ácido, por possuírem um grande valor nutricional não podem ser misturados com efluentes da indústria, pois, devem ser captados e manejados separadamente, viabilizando o seu reaproveitamento na fabricação de outros produtos lácteos ou de outros fins, tal como, a goma xantana. O soro de leite é resultante da fabricação de queijos e está sendo muito estudado como fonte alternativa de carbono na produção da xantana, ajudando na eliminação dos problemas ambientais oriundos do descarte indevido do soro, além do Brasil possuir grande capacidade de suprir sua própria demanda de goma utilizada no país. O primeiro trabalho consistiu no uso do soro de leite integral para a fermentação da goma xantana feito por Schwartz & Bodie em 1985, o trabalho objetivava na adaptação da bactéria ao meio contendo o soro (Silva, 2011; Brandão *et al.*, 2010; Oliveira, 2005).

O soro de leite é um líquido adquirido na etapa de coagulação do leite no processo de fabricação do queijo, posterior a separação da caseína e da gordura. No leite, o soro

compõe de 80 a 90% do volume que embarca no processo industrial e possui cerca de 6% de extrato seco. De acordo com a literatura, aproximadamente 5,5% dos nutrientes presentes no leite permanecem no soro, tais como, proteínas solúveis, lactose, vitaminas e sais minerais, sendo muito atrativo para o uso em processos fermentativos (Brandão *et al.*, 2010).

3 MATERIAL E MÉTODO

Os materiais utilizados para este experimento foram:

- Agitador magnético;
- Autoclave;
- Balança magnética;
- Béqueres;
- Capela de fluxo laminar;
- Erlenmeyers (250 mL);
- K_2HPO_4 ;
- Meio YM líquido;
- $MgSO_4 \times H_2O$;
- Pera;
- pHmetro;
- Pipetas;
- Placa de aquecimento;
- Shaker;
- Solução de ácido acético 1% (v/v);
- Solução de hidróxido de sódio mol.L⁻¹;
- Soro de leite;
- Viscosímetro de Brookfield;

3.1 Preparo do pré-inóculo da *Xanthomonas campestris*

A Fundação André Toselo situada em Campinas-SP cedeu as cepas da bactéria *X. campestris*, que foram tragas em tubos falcon e onde foi realizado um repique. Foi retirada uma alçada de semeadura para acrescentar ao meio YM ágar pelo método de estriamento em placas. As quais foram mantidas em meio YM ágar contendo glicose 1%; extrato de levedura 0,3%, extrato de malte 0,3%, peptona bacteriológica 0,5%, e ágar 2%. Realizou-se a esterilização do meio por meio da autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Depois de inocular a *X. campestris* em meio YM ágar, as placas de Petri foram condicionadas a temperatura ambiente por 28 horas. Após esse período, as placas de Petri foram levadas a capela de fluxo laminar, onde retirou alçadas da bactéria e colocou no *Erlenmeyers* de 250 mL contendo 100 mL de meio YM líquido e levado ao *shaker*

durante 24 horas em uma temperatura de 28°C e 180 rpm. O meio YM líquido continha (m/v) glicose 1%; extrato de levedura 0,3%; extrato de malte 0,3% e peptona bacteriológica 0,5%.

Após o preparo do pré-inóculo foi adicionado ao meio (v/v) de glicerina 10% para o armazenamento das cepas das bactérias. Foi feita a adição de 1mL de pré-inóculo em criotubo para armazenamento destes em *freezer*. O procedimento descrito acima foi realizado para as duas cepas de *X. campestris*.

3.2 Sínteses de goma xantana em shaker

3.2.1 Preparo do inóculo

O meio de cultivo para o preparo do inóculo foi o YM líquido que foi adicionado em 04 frascos *Erlenmeyers* de 250 mL contendo 100 mL de meio YM. Foram adicionados o pré-inóculo da cepa 13951 em dois *Erlenmeyers*, e adicionou-se o pré-inóculo da cepa 33913 nos outros dois *Erlenmeyers*. Os *Erlenmeyers* foram acondicionados em *shaker* a 180 rpm e a uma temperatura de 28°C durante 24 horas.

3.2.2 Variáveis e condições de síntese da goma

A determinação e análise das condições e das variáveis utilizadas no processo de produção da goma xantana foi feita através de um planejamento estatístico DCCR (Delineamento Composto Central Rotacional) fracionado 2^2 com 4 pontos axiais e triplicata no ponto central, somando 11 ensaios demonstrados na Tabela 1. A utilização do método de superfície foi feita para determinação da influencia das variáveis analisadas e para obter a composição do meio fermentativo.

Tabela 1: Variáveis e condições do processo de fermentação bacteriano.

Ensaio	Volume de soro (mL)	Volume de água (mL)	K ₂ HPO ₄ (%m/v)	Inóculo (mL)	MgSO ₄ X 7H ₂ O (%m/v)
1	-1 (56)	34	-1 (0,6)	10	0,1
2	+1 (84)	06	-1 (0,6)		
3	-1 (56)	34	+1 (3,4)		
4	+1 (84)	06	+1 (3,4)		
5	0 (70)	20	- 1,41 (0)		
6	0 (70)	20	+ 1,41 (4)		
7	- 1,41 (50)	40	0 (2,0)		
8	+ 1,41 (90)	0	0 (2,0)		
9	0 (70)	20	0 (2,0)		

10	0 (70)	20	0 (2,0)
11	0 (70)	20	0 (2,0)

Todos os ensaios foram compostos com a mesma concentração de sulfato de magnésio hidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e inóculo, e foram variadas as concentrações de potássio dibásico anidro (K_2HPO_4), volume de soro de leite e o meio foi complementado com água para obter um volume total de 100 mL para cada ensaio. Os meios foram preparados de acordo com a Tabela 1 e autoclavados. Após o procedimento de esterilização dos meios a etapa seguinte foi a adição dos inóculos em cada *erlenmeyer* de modo asséptico e seguro na capela de fluxo laminar, e após, foram colocados ao shaker refrigerado a 28°C e uma rotação de 250 rpm durante 5 dias (120 horas) para a síntese de xantana. As duas cepas receberam o mesmo planejamento para a produção da goma.

3.2.3 Precipitação da goma

Ao término das 120 horas de fermentação da goma, foi acrescentado ao meio o álcool 95%, que é o solvente utilizado para precipitação da goma em temperatura ambiente. A proporção utilizada para esse tipo de operação foi de 3:1 de etanol e meio contendo a goma durante 30 minutos aproximadamente. Após esse tempo a goma sedimentada ou flotada foi removida mecanicamente do meio de cultura com o auxílio de bastões de vidro e peneiras plásticas.

3.2.4 Preparo das soluções para análise no viscosímetro

Para a análise da viscosidade, foram preparadas soluções aquosas (m/v) de goma xantana 0,5% para leitura no viscosímetro. O excesso de água contida na goma foi removida manualmente e depois seca em estufa. Após secagem, as amostras foram moídas com auxílio de gral e pistilo. As soluções para a leitura no viscosímetro foram feitas pesando-se uma massa de 0,125g de goma produzida e adicionando-se 24,875 mL de água destilada. A solução foi mantida em um agitador magnético a fim de se dissolver toda a goma. Após essa etapa, a goma é armazenada por 24 horas para garantir uma melhor dissolução da goma e homogeneidade da solução.

As viscosidades das amostras de goma foram medidas em um viscosímetro de Brookfield a uma temperatura de 25°C. A rotação adotada variou de acordo com cada

amostra de goma, sendo a cepa 33913 em uma rotação de 60 rpm e a cepa 13951 em uma rotação de 30 rpm. Os critérios para seleção das rotações adotadas para cada amostra foram baseados nas informações contidas no manual do equipamento que sugere que a leitura do torque para confiabilidade das análises fosse superior a 10% e menor que 90%, pois, esse é o intervalo que o equipamento se mantém confiável.

3.3 Caracterizações do soro

3.3.1 Obtenção do soro de leite

O soro de leite de queijo foi cedido pelo Laticínio Usina de Beneficiamento Vale do Ype situada na cidade de Ouro Branco no estado de Minas Gerais.

3.3.2 Umidade

A umidade foi determinada pelo método de secagem em estufa a 100°C com passagem de ar, conforme a AOAC (*Association Analytical Chemists*, 1997).

3.3.3 Teor de cinzas

O teor de cinzas foi obtido por incineração em mufla a 550°C conforme a AOAC (1997).

3.3.4 Acidez

Para obtenção da acidez do soro de leite foi realizada titulação utilizando hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol.L⁻¹, como indicador utilizamos a fenolfetaleína 10 L de soro de leite em triplicata para determinação da acidez em titulação. O ponto de equilíbrio é obtido quando ocorre uma alteração na cor do soro de leite para rosa.

3.3.5 Lipídeo

Adicionou-se 50 mL do soro de leite em um *falcon* de 50 mL e colocados em centrífuga durante 30 minutos a uma temperatura de 4°C, sob agitação de 8000 rpm e 6797xg, para determinação dos lipídeos. Ao fim desta etapa, os lipídeos que se encontravam na parte superior do *falcon* foram retirados com o auxílio de uma espátula e adicionados em béqueres colocados na estufa por um tempo aproximado de 10 minutos em uma temperatura de 50°C para secagem do soro. Posteriormente, os béqueres foram pesados

a fim de se obter a quantidade de lipídeos presentes no soro de leite. O ensaio ocorreu em triplicata.

3.3.6 Dosagem de proteínas totais

Para a determinação do teor de proteínas no soro de leite foi escolhido o método calorimétrico de LOWRY *et al.* (1951). O experimento foi feito em triplicata.

3.3.7 Carboidratos

Para a determinação de carboidratos subtraíram-se os resultados dos parâmetros descritos acima.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A variação na coloração do meio de cada ensaio foi observada e variaram de acordo com a concentração do soro de leite utilizado, após a esterilização do meio em autoclave, alguns ensaios apresentaram uma coloração mais escura do que outras, provavelmente, foi resultado de uma reação de *Maillard*.

4.1 Caracterização do soro de leite

Está representada na Tabela 2, a média dos valores obtidos na caracterização físico-química das amostras do soro de leite utilizado nos experimentos para produção da goma xantana.

Tabela 2: Caracterização físico-química do soro de leite utilizado na produção de goma xantana.

Parâmetros	Soro de leite (%)
Teor de umidade	96,84 ± 0,05
Teor de cinzas	0,36 ± 0,01
Lipídeos totais	0,05 ± 0,03
Proteína (Lowry)	0,43 ± 0,05
Carboidratos	2,35 ± 0,09

A composição centesimal do soro de leite foi representada pelo teor de umidade, teor de cinzas, lipídeos totais, proteínas e dos carboidratos. Para a caracterização do soro foi possível obter resultado para todos os itens citado acima, exceto para o teor de carboidratos, que pode ser obtido pela subtração dos demais parâmetros, pois, estes são compostos essenciais para o crescimento do micro-organismo.

Os resultados obtidos não foram como esperado, pois, o soro de leite obteve 96,84% de umidade e assim, 3,16% de matéria seca, havendo alto teor de umidade por estar em estado líquido, os teores de lipídeos, cinzas e proteínas se apresentaram baixos, por apresentarem pequena quantidade de sólidos em suspensão. Os resultados foram próximos a literatura de NERY *et al.* (2008) que observou 93,39% de umidade e 6,61% de matéria seca.

Os compostos apresentados possui grande importância no processo fermentativo da bactéria *X. campestris*, pois, fazem parte dos nutrientes essenciais para o crescimento e produção da goma xantana durante a fermentação.

Para a manutenção de matérias-primas é determinado a acidez que é uma medida utilizada para este controle. O Hidróxido de sódio (NaOH) é um elemento alcalino que neutraliza o ácido do leite e a fenolftaleína é utilizada para determinar a quantidade de álcali essencial para neutralizar o ácido no meio.

Para a determinação da acidez nas amostras de 10 mL de soro de leite foi encontrada uma média de $0,19 \pm 0,01\%$ de ácido láctico, isso implica que o soro de leite utilizado é um soro doce, isso porque o soro é titulável em uma faixa de acidez entre 0,10 a 0,20% e pH entre 5,8 e 6,5.

4.2 Viscosidade

A viscosidade da goma diminui com o aumento da taxa de deformação do fluido, comportamento pseudoplástico, para análise da viscosidade foi utilizada a goma produzida em shaker com soro de leite no ponto central e seus elementos descritos na Tabela 3. Foram analisados a viscosidade aparente (m.Pa.s) e a velocidade de agitação (rpm), o equipamento usado para obtenção desses dados foi o viscosímetro de *Brookfield* com banho-maria acoplado. A velocidade de agitação, taxa de cisalhamento, usado para as duas cepas foi de 30 rpm em condições iguais. Na concentração de (m/v) de goma xantana 0,5%, todas as soluções obtiveram valores de viscosidade dentro da

faixa de confiabilidade do equipamento, sendo assim, torque do equipamento manteve-se entre 10% e 90%. Os valores são demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3: Análise da viscosidade da goma xantana com concentração de 0,5% (m/v) pela cepa 13951 e pela cepa 33913, com velocidade de agitação de 30 rpm e 60 rpm, respectivamente.

Amostras cepa 13951	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Viscosidade (m.Pa.s)	6,68	4,56	3,32	2,52	6,88	2,10	5,06	2,30	2,46	3,50	2,26
Amostras cepa 33913	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Viscosidade (mPa.s)	16,30	-	3,80	2,30	-	3,82	4,20	2,80	6,08	7,20	9,40

Na cepa 33913 não houve crescimento da goma xantana para os ensaios 2 e 5. A goma sintetizada no meio contendo soro de leite pela cepa 13951 obteve a menor viscosidade nas condições do ensaio 6, apresentando um valor de 2,10 m.Pa.s e um valor máximo nas condições do ensaio 5, apresentando um valor de 6,88 m.Pa.s, sendo o mais favorável para a produção de goma com maior massa molar do que os outros ensaios mostrados. Já para a goma xantana sintetizada no meio contendo o soro de leite da cepa 33913 o valor mínimo de viscosidade foi apresentado no ensaio 4, com o valor de 2,30 mPa.s, e o valor máximo de viscosidade foi apresentado no ensaio 1, obtendo um valor de 16,30 mPa.s, mostrando-se mais favorável para produção de goma com maior massa molar nessas condições. Todos os ensaios foram executados com a mesma condição de rotação e temperatura de acordo com os parâmetros de cada cepa. As diferenças de viscosidades mostradas na Tabela 3 pela cepa 33913 de *X. campestris* pode ter sido pelo cultivo em diferentes condições de variações de concentração de soro de leite e de fosfato que favorecem a produção de gomas xantanas, sendo assim, algumas condições foram mais favoráveis a produção de gomas de alta massa molar do que outras. Na Tabela 4 são apresentados os valores mínimos e máximos para cada cepa relacionando suas condições de fermentação.

Tabela 4: Viscosidade com maior e menor valor relacionando suas condições de fermentação para a cepa 13951.

Cepa 13951	Ensaio	m.Pa.s	Volume de soro (mL)	K₂HPO₄ (%m/v)
Maior Viscosidade	5	6,88	0 (70)	- 1,41 (0)
Menor Viscosidade	6	2,10	0 (70)	+ 1,41 (2)
Cepa 33913	Ensaio	m.Pa.s	Volume de soro (mL)	K₂HPO₄ (%m/v)
Maior Viscosidade	1	16,30	-1 (56)	-1 (0,3)
Menor Viscosidade	4	2,30	+1 (84)	+1 (1,7)

Todos os 11 ensaios apresentaram a mesma quantidade de inóculo (10 mL) e MgSO₄ X 7H₂O (0,1 %m/v), variando somente nas concentrações do volume de soro e do sal (K₂HPO₄). Foi observado que os ensaios 5 e 6 para a cepa 13951 foram utilizados o mesmo volume de soro de leite (70 mL) e quantidades diferentes de fonte de fósforo, sendo que, no ensaio de melhor viscosidade a quantidade de fosfato que consistia na condição do ensaio foi somente a concentração encontrada no soro de leite e no de menor viscosidade continha uma quantidade de m/v de fosforo 2 %, além da concentração encontrada no soro de leite. Já para os ensaios 1 e 4 da cepa 33913 a maior viscosidade foi apresentada no ensaio que continha um menor volume do soro de leite (56 mL) e menor quantidade de sal (0,3 %m/v).

4.3 Crescimento da *X. campestris*

Foi realizado o monitoramento visual do crescimento bacteriano da *X. campestris* por um tempo de 24 horas, onde foi observado um aumento na turbidez do meio utilizado consequente do crescimento bacteriano. De acordo com a literatura, as condições ótimas para o crescimento da biomassa e a biossíntese de goma xantana são uma temperatura de 28°C e um período de 24 horas, que foram devidamente utilizados para a realização dos experimentos.

4.4 Planejamento para produção da goma xantana

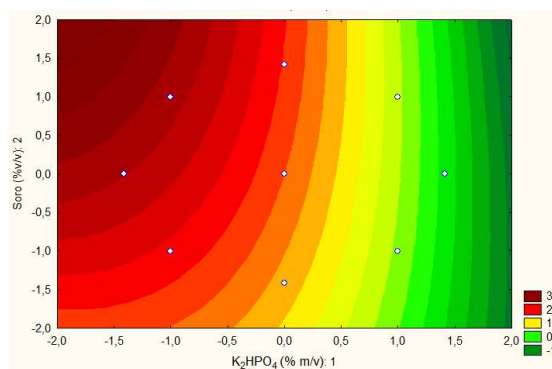
Para a biossíntese da goma xantana com as cepas da *X. campestris* utilizando o soro de leite como substrato em fermentados orbital aerado, foi utilizado o planejamento estatístico DCCR fracionado 2² com 4 pontos axiais e triplicata no ponto central, gerando um total de 11 ensaios. Foi proposta a variação na concentração de fosfato de

potássio dibásico K_2HPO_4 (%m/v) e do volume de soro de leite utilizado (%m/v). As variáveis obtidas planejamento estatístico descritos na Tabela 1 foram analisadas pelo diagrama de Pareto e pela superfície de resposta. Os dados foram tratados pelo software Statistica 7.0.

4.4.1 Estudos do comportamento da viscosidade para a cepa 13951 da *X. campestris*.

A Figura 8 representa a superfície de resposta que mostra uma faixa ótima de viscosidade da goma xantana quando há uma diminuição na concentração de fósforo e aumento no volume de soro.

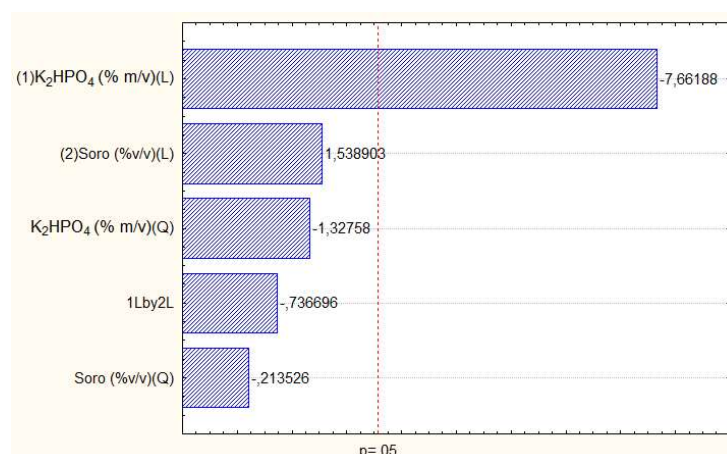
Figura 8: Curva de contorno com a viscosidade aparente da goma xantana produzida pela cepa 13951 em relação a concentração de soro e fósforo.



Através da análise da curva de contorno com relação ao comportamento da viscosidade aparente da goma xantana fermentada pela cepa 13951 e ao volume do soro de leite e fósforo utilizado, fica claro que a concentração de fósforo influencia negativamente na massa molar da goma xantana produzida pelo meio usado, e a viscosidade possui valor máximo no ponto onde contém maior volume do soro de leite e menor concentração de fosfato, sendo assim, a cepa 13951 da *X. campestris* quando expostas a essas condições produzem uma goma com baixa massa molar, ou seja, menor viscosidade. Os maiores valores de viscosidade obtidos podem ser justificados pelas ótimas condições de cultivos da *X. campestris* utilizados na produção da goma xantana que favorecem uma goma com maior peso molecular.

O diagrama de Pareto mostrado na Figura 9, analisa os níveis de confiança ($p < 0,05$) em relação as variáveis analisadas durante a etapa de produção da goma xantana.

Figura 9: Diagrama de Pareto em análise a viscosidade da goma xantana produzido pela cepa 13951 em relação a concentração de soro de leite e de fósforo.



O diagrama de Pareto mostra estatisticamente a influencia negativa do fósforo nas condições de ensaio, devido a concentração de fósforo atingir o intervalo de confiança ($p > 0.05$). Por isso, a viscosidade da xantana sintetizada pela cepa 13951 pode sofrer alteração na concentração de fósforo a fim de otimizar a produção da goma. Na Tabela 5 podemos observar os valores obtidos da ANOVA pelo *software* Statística.

Tabela 5: Valores da ANOVA para viscosidade aparente da goma xantana produzida pela cepa 13951 em relação a concentração de fósforo e volume do soro de leite.

Parâmetro	GL	SQ	QM	F calc	P
Conc. Fosfato (L)	1	8,180111	8,180111	58,70438	0,000603
Conc. Fosfato (Q)	1	0,245588	0,245588	1,76246	0,000603
Vol. Soro (L)	1	0,329998	0,329998	2,36822	0,000603
Vol. Soro (Q)	1	0,006353	0,006353	0,04559	0,000603
Vol. Soro x Conc. fosfato	1	0,075625	0,075625	0,54272	0,000603
Resíduo	5	0,696721	0,139344	-	-
Total	10	9,532818	-	-	-

OBS: $*F_{\text{calc}} = 12,64$; $*F_{\text{tab}} (5;5;0,05) = 5,05$.

Pode ser observado na Tabela 5, que os valores para F_{calc} e F_{tab} tem-se $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$, sendo assim, os valores apresentados são considerados confiáveis.

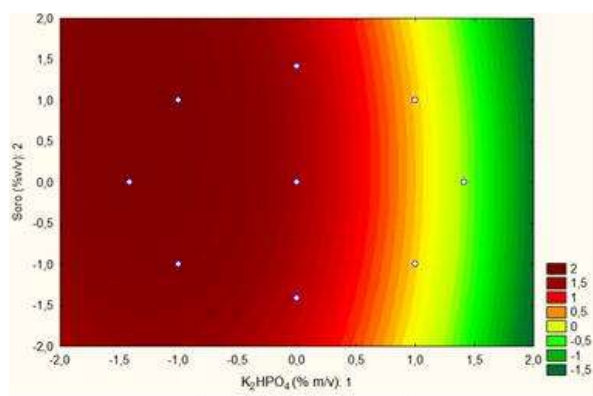
4.4.2 Estudos do comportamento da viscosidade para a cepa 33913 da *X. campestris*.

Como pode ser observado na curva de contorno apresentada na Figura 10, existe uma faixa ótima de viscosidade da xantana, onde se localiza todos os 11 ensaios, na qual as concentrações do soro de leite e de fosfato utilizados são adequadas para a síntese de

goma xantana pela bactéria *X. campestris*. Assim, podemos dizer que a cepa 33913 da *X. campestris* produz uma goma com maior massa molar em pontos onde a concentração do soro de leite e fosfato são proporcionalmente iguais.

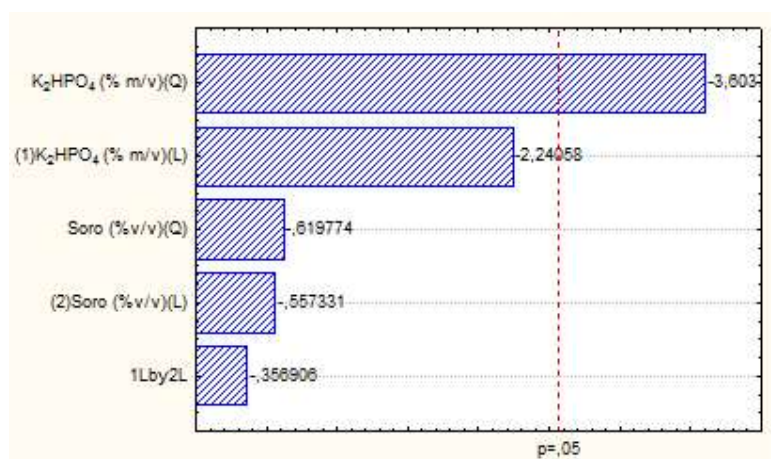
O baixo valor da viscosidade observado para a goma produzida pela cepa 33913 é consequência de sua baixa massa molar quando produzida em meio de cultura rica em soro de leite e pobre em fosfato, ou vice-versa. Na Figura 10 podemos analisar a curva de contorno relacionando a viscosidade aparente com a concentração de soro na produção da goma xantana.

Figura 10: Curva de contorno relacionando a viscosidade aparente e a concentração de soro da goma xantana produzida pela cepa 33913.



Podemos observar no diagrama de Pareto, representado na Figura 11, os níveis de confiança ($p > 0,05$) das variáveis da etapa de fermentação da *X. campestris*.

Figura 11: Diagrama de Pareto relacionando a produção e a concentração de fósforo e volume de soro de leite da cepa 33913.



Pode se observar através do diagrama de Pareto (Figura 11) que somente a concentração de fosfato contém significância estatística nas condições estabelecidas para os ensaios, pois, os dados atingiram o nível de confiança ($p > 0,05$) nesse parâmetro. Por isso, a variação de qualquer um dos fatores analisados não alterará significativamente a viscosidade da goma xantana sintetizada pela cepa 33913, exceto para concentração de fosfato.

De acordo com a Tabela 6 é possível observar que $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$, por isso, os dados apresentados são considerados confiáveis.

Tabela 6: Valores ANOVA para a viscosidade da goma xantana produzida pela cepa 33913 em relação a concentração de fósforo e volume de soro.

Parâmetro	GL	SQ	QM	F calc	P
Conc. Fosfato (L)	1	388,905	368,9046	5,02019	0,075160
Conc. Fosfato (Q)	1	954,313	954,3132	12,986665	0,0154483
Vol. Soro (L)	1	22,826	22,8255	0,31062	0,601329
Vol. Soro (Q)	1	28,227	28,2267	0,38412	0,562555
Vol. Soro x Conc. fosfato	1	9,361	9,3605	0,12738	0,735731
Resíduo	5	367,421	73,4842	-	-
Total	10	1738,408	-	-	-

OBS: $*F_{\text{calc}} = 12,04$ $*F_{\text{tab}}(5;5;0,05) = 5,05$

Segundo Faria, 2009 há uma grande complexidade em relação aos aspectos reológicos de um fluido pseudoplástico, uma vez que, parâmetros empregados na fermentação determinam o processo de biotransformação do substrato até o produto final, refletindo diretamente na viscosidade das soluções.

Além disso, a produção de goma xantana com maior massa molar parece ser condicionada a fatores como a cepa utilizada e suas condições durante o processo de fermentação. Se comparada com a literatura podemos observar que a produção de goma utilizando o meio padrão de sacarose segundo Brandão *et al.*, 2008, possui um valor de viscosidade de aproximadamente 4,4 mPa.s. Sendo que o maior valor de viscosidade obtido para a cepa 13951 e 33913 utilizando a fonte de carbono alternativa de soro de leite foram, respectivamente, 6,88 mPa.s e 16,30 mPa.s. Sendo assim, resultados evidenciam que a utilização do soro de leite como substrato produz uma goma de massa molar maior do que a goma produzida utilizando sacarose como substrato.

4.5 Rendimento

O rendimento da goma xantana produzida pelas cepas 33913 e 13951 da *X. campestris* utilizando o soro de leite como fonte alternativa, foram obtidos por gravimetria com posterior secagem em estufa a uma temperatura aproximada de 50°C. Os valores apresentados para o rendimento da goma xantana são comparativamente maiores onde se utilizou soro de leite como substrato, em vez do meio padrão utilizando a sacarose. Com isso, se torna possível a produção de goma xantana utilizando o soro de leite como substrato, diminuindo custos de produção e poluição ambiental ao utilizar um resíduo industrial. Nas Tabelas 7 e 8 são apresentados valores de rendimento para o meio padrão de sacarose e para o meio utilizando o soro de leite para as cepas 13951 e 33913 respectivamente.

Tabela 7: Rendimento da produção de goma xantana pela cepa 13951 da bactéria *X. campestris*.

Substrato	Ensaio	Rendimento (g.L ⁻¹)
Soro de leite	1	19,655
	2	20,5788
	3	43,581
	4	0
	5	9,255
	6	63,213
	7	12,362
	8	30,251
	9	26,051
	10	9,884
	11	15,273
Sacarose	1	6,123
	2	4,351

Pode ser observado pela Tabela 7 que o maior rendimento foi obtido nas condições do ensaio 6, sendo favoráveis para a produção de goma xantana, e o menor rendimento foi obtido nas condições do ensaio 5, mostrando-se ser a pior condição para a produção da goma xantana. A média obtida para a produção da goma utilizando o soro de leite foi de 22,7367 g.L⁻¹, sendo maior que o rendimento do meio padrão utilizando sacarose, que apresentou um valor médio de 5,237 g.L⁻¹.

Tabela 8: Rendimento da produção de goma xantana pela cepa 33913 da bactéria *X. campestris*.

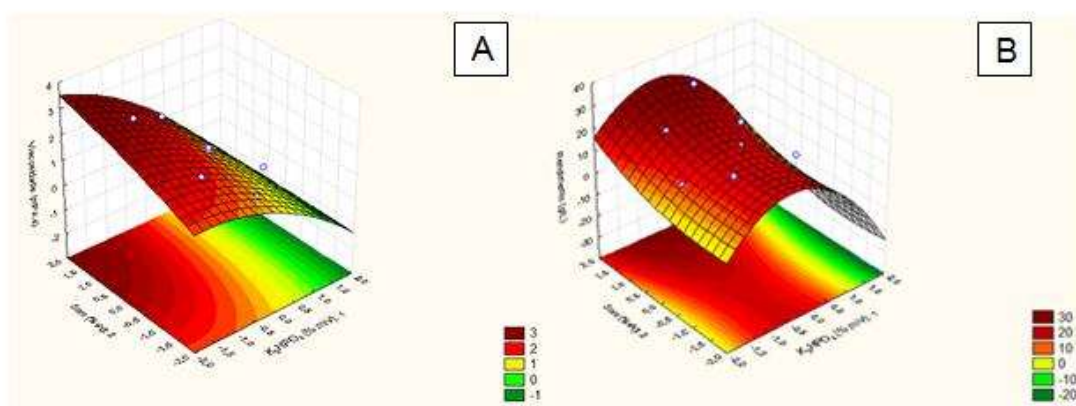
Substrato	Ensaio	Rendimento (g.L ⁻¹)
Soro de leite	1	14,000
	2	20,119
	3	47,999
	4	0
	5	14,288
	6	48,324
	7	35,613
	8	21,731
	9	26,276
	10	23,326
	11	35,761
Sacarose	1	6,731
	2	1,962

De acordo com a Tabela 8 podemos observar que o rendimento foi maior nas condições do ensaio 6 para a produção da goma e o menor rendimento foi obtido nas condições do ensaio 1, sendo a pior condição para produção da goma. A média obtida para a produção utilizando o soro de leite teve um valor de 26,1306 g.L⁻¹, sendo que a média obtida para o meio utilizando sacarose teve um valor de 4,347 g.L⁻¹, sendo assim, o meio alternativo, utilizando soro de leite, se mostra mais eficiente em relação ao rendimento da goma xantana.

Segundo Brandão *et al.*, 2008, o rendimento da produção de goma utilizando a sacarose como fonte padrão de carbono foi de 3,17 g.L⁻¹, sendo que o maior rendimento obtido da produção de goma através da fonte de carbono alternativa de soro de leite para a cepa 13951 e para a cepa 33913 foram de, respectivamente, 63,213 g.L⁻¹ e 47,999 g.L⁻¹. Assim, podemos observar que as duas cepas utilizadas no experimento utilizando fonte de carbono alternativa de soro de leite, obtiveram valores de rendimento maiores do que o utilizando meio padrão de sacarose.

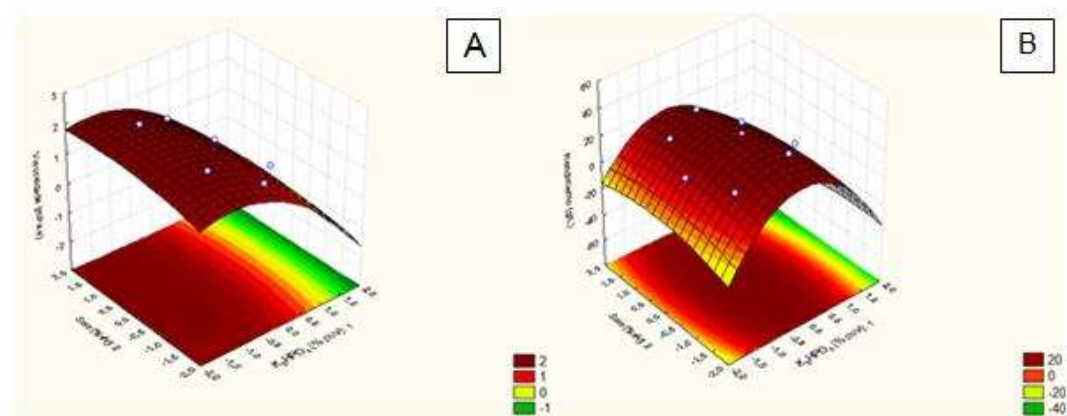
As Figuras 12 e 13 apresentam uma diferença entre as cepas usadas nos ensaios, por isso, seus dados obtidos para viscosidade e rendimento não são semelhantes. Na Figura 12 o meio com soro de leite possui uma tendência para obter uma viscosidade ótima onde contem menor concentração de fosfato e um maior volume de soro de leite, o fosfato não influencia significativamente nos dados obtidos.

Figura 12: Superfície de resposta analisando a viscosidade (A) e o rendimento (B) da goma xantana produzida pela cepa 13951 em relação ao volume de soro e concentração de fosfato.



Na Figura 13 é possível observar que a viscosidade da cepa 33913 aumenta em pontos onde a concentração de fosfato é menor e o soro de leite não possui uma influencia significativa no aumento da viscosidade, se mantendo constante em qualquer concentração de soro, e a ausência de algum dos dois parâmetros causa a diminuição da viscosidade. Para análise do rendimento, observa-se que há um aumento em pontos onde a concentração de fosfato tende à zero, já o volume do soro de leite não têm influencia significativa no rendimento.

Figura 13: Superfície de resposta analisando a viscosidade (A) e o rendimento (B) da goma xantana produzida pela cepa 33913 em relação ao volume de soro e concentração de fosfato.



Os resultados apresentados são referente ao meio que utiliza soro de leite para a produção de goma xantana. Para o meio que utiliza a sacarose como meio padrão, de acordo com a literatura, são produzidas gomas viscosas, porém, de rendimento baixo. Já para o meio que utiliza soro de leite como fonte alternativa, produziu gomas de baixa

massa molar e com maior rendimento. Isso pode ter sido causado na etapa de recuperação da goma utilizando o etanol, pode ter precipitado juntamente com a goma as proteínas presentes no meio, por isso foram carregadas juntamente com a goma, resultando em um falso rendimento.

Os processos metabólicos também interferem no rendimento e na viscosidade da goma, pois, o meio padrão e alternativo contêm composições diferentes, podendo tomar rotas metabólicas diferentes, conseqüentemente, produzindo gomas de diferentes características.

Segundo Faria, 2009 há muita complexidade em relação aos fatores reológicos da goma, uma vez que, aspectos como o pH, temperatura, composição do meio determinam o processo de biotransformação do substrato até o produto final. Além disso, foi observado que as maiores viscosidades foram obtidas onde o rendimento era menor, indicando que não existe uma dependência entre a viscosidade e o rendimento que influencie nas variáveis independentes (concentração de soro de leite e fosfato) nos resultados obtidos para viscosidade e produção da goma.

5 CONCLUSÃO

O soro de leite é um resíduo gerado na indústria de laticínios, assim, este trabalho verificou a viabilidade da utilização desse resíduo como substrato para a fermentação da goma xantana. Os resultados analisados para a caracterização do soro de leite mostraram que o soro possui nutrientes fundamentais para a bactéria *Xanthomonas campestris* que produz a goma xantana. Os resultados obtidos da fermentação utilizando o soro de leite pesquisadas neste trabalho mostram que o resíduo da fabricação de queijo, o soro de leite, pode ser empregado na produção de goma xantana sendo totalmente viável. Com o uso do soro de leite como fonte alternativa de carbono obteve-se um rendimento médio de 22,7367 g.L⁻¹ para a cepa 13951 e um rendimento médio de 5,237 g.L⁻¹ para a mesma cepa utilizando o meio padrão de sacarose. Já para a cepa 33913 utilizando o meio alternativo obteve-se um rendimento médio de 26,1306 g.L⁻¹ e com o meio padrão o rendimento obtido foi 4,3465 g.L⁻¹. Para a cepa 13951 utilizando soro de leite como substrato obteve-se um valor de viscosidade de 6,88 m.Pa.s e para a cepa 33913 um valor de viscosidade de 16,30 m.Pa.s.

6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALBUQUERQUE, M. V.; SANTOS, A. S.; CERQUEIRA, N. T. V.; SILVA, J. A. Educação Alimentar: Uma proposta de redução do consumo de aditivos alimentares. Química Nova na escola: Química e Sociedade. v. 34, n. 2, p. 51-57, 2012.

BORGES, C.D.; MOREIRA, A.N.; MOREIRA, A.S.; DEL PINO, F.A.B.; VENDRUSCOLO, C.T. **Caracterização de biopolímeros produzidos por *Beijerinckia sp.7070* em diferentes tempos de cultivo.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, volume 24, número 3, Campinas, Julho/Setembro, 2004.

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.

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. Revista Polímeros, 2010.

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.

DINIZ, D. M.; DRUZIAN, J. I.; AUDIBERT, S. **Produção de goma xantana por cepas nativas de *Xanthomonas campestris* a partir de casca de cacau ou soro de leite.** Universidade Federal da Bahia. Salvador. Revista Polímeros, v.22, n.3, p. 278-281, 2012.

DRUZIAN, J. I. **Produção de goma xantana obtida a partir do caldo de cana.** Revista Ciencia e Tecnologia de Alimentos. Campinas, p. 217-222, 2008.

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.

FORNARI, R. C. G. **Aproveitamento de soro de queijo para produção de goma xantana.** 2006. 98 f. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada, Erechim. 2006.

Goma xantana. Disponível em: <http://www.gomaxantana.com.br/site/?p=materias_ver&materia=7>, Acesso em: 15/11/2016.

Jungbunzlauer, Disponível em: <<http://www.jungbunzlauer.com/en/products/xanthan-gum/xanthan-gum.html>> Acesso em 24 de Nov. 2016.

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

Mega curioso, Do que é feita a pasta de dentes? Disponível em: <<http://www.megacurioso.com.br/fisica-e-quimica/20933-do-que-e-feita-a-pasta-de-dentes-.htm>>, Acesso em: 15/11/2016.

MENEZES, J. D. S.; DRUZIAN, J. I.; PADILHA, F. F.; SOUZA, R. R. **Produção biotecnológica de goma xantana em alguns resíduos agroindustriais, caracterização e aplicações.** Revista Elet. Em Gestão. v. 8, n. 8, p. 1761-176, 2012.

NERY, T. B. R.; BRANDÃO, L. V.; ESPERIDIÃO, M. C. A.; DRUZIAN, J. I. **Biossíntese de goma xantana a partir da fermentação de soro de leite: rendimento e viscosidade.** Universidade Federal de Bahia. Química Nova. v. 31, n.8, p. 1937-1941, São Paulo, 2008.

OLIVEIRA, D. F.; BRAVO, C. E. C.; TONIAL, I. B. **Soro de leite: Um subproduto valioso.** Revista Inst. Latic. n. 385, p. 64-71, 2012.

OLIVEIRA, S. H. *Produção de goma xantana a partir de soro de leite por Xanthomonas campestris pv. campestris LFR-4*. 2005. 157 f. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2005.

PAIVA, V. M. N. Resíduos **Agroindustriais para produção de goma xantana**. Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de farmácia. Juiz de Fora, 2014.

PENNA, A. L. B. Hidrocoloides: usos em alimentos. **Fi Food Ingredients**, São Paulo, 3(17): 58-64, 2002.

ROTTAVA, I. **Seleção de linhagens de Xanthomonas sp para produção de goma xantana**. 2005. 95 f. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada, Erechim. 2005.

SILVA, D. J. P. **Resíduos na indústria de laticínios**. 20 f. Departamento de tecnologia de alimentos – Ciências e tecnologia de alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2011.

SOUZA, D. M.; CRUZ, C. H. G. **Produção fermentativa de polissacarídeos extracelulares por bactérias**. Semina: Ciências Agrárias. Londrina, v. 25, n. 4, p. 331-340, 2004.

Xanthomonas campestris. Disponível em:
<https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Xanthomonas_campestris>, Acesso em:
15/11/2016.