



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA-GV

PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO

JULIANO ROCHA PEREIRA

**PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA E
COLOIDAL DE GOMA XANTANA BIOSINTETIZADA A
PARTIR DE RESÍDUO DE CERVEJARIAS ARTESANAIS
E USO COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA
DE SULFADIAZINA DE SÓDIO**

GOVERNADOR VALADARES

2022

JULIANO ROCHA PEREIRA

**PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA E
COLOIDAL DE GOMA XANTANA BIOSINTETIZADA A
PARTIR DE RESÍDUO DE CERVEJARIAS ARTESANAIS
E USO COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA
DE SULFADIAZINA DE SÓDIO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular, da Universidade Federal de Juiz de Fora *campus* Governador Valadares como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Bioquímica e Biologia Molecular. Área de concentração: Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Ângelo Márcio Leite Denadai

GOVERNADOR VALADARES

2022

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Rocha Pereira, Juliano.

PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA E COLOIDAL DE GOMA XANTANA BIOSINTETIZADA A PARTIR DE RESÍDUO DE CERVEJARIAS ARTESANAIS E USO COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SULFADIAZINA DE SÓDIO / Juliano Rocha Pereira. -- 2022.

165 p.

Orientador: Ângelo Márcio Leite Denadai

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Avançado de Governador Valadares, Instituto de Ciências da Vida - ICV. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular, 2022.

1. Bagaço de malte. 2. Biopolímero. 3. Espessante. I. Leite Denadai, Ângelo Márcio, orient. II. Título.

Juliano Rocha Pereira

Produção, caracterização reológica e coloidal de goma xantana biossintetizada a partir de resíduo de cervejarias artesanais e uso como sistema de liberação controlada de sulfadiazina de sódio

Tese apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Juiz de Fora, campus Governador Valadares, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Bioquímica e Biologia Molecular. Área de concentração: Bioquímica e Biologia Molecular.

Aprovada em 7 de outubro de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Ângelo Márcio Leite Denadai - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora - *campus* Governador Valadares

Dr. Frederico Barros de Sousa
Universidade Federal de Itajubá

Dr. João Paulo Campos Trigueiro
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - *campus* Nova Suíça

Dra. Lucia Alves de Oliveira Fraga
Universidade Federal de Juiz de Fora - *campus* Governador Valadares

Dr. Ademar Alves da Silva Filho

Universidade Federal de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 29/09/2022.



Documento assinado eletronicamente por **Angelo Marcio Leite Denadai, Diretor (a)**, em 07/10/2022, às 18:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ademar Alves da Silva Filho, Professor(a)**, em 08/10/2022, às 12:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Paulo Campos Trigueiro, Usuário Externo**, em 09/10/2022, às 17:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Frederico Barros de Sousa, Usuário Externo**, em 10/10/2022, às 17:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lucia Alves de Oliveira Fraga, Professor(a)**, em 10/10/2022, às 22:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **0971380** e o código CRC **F5DC60A8**.

Dedico aos meus pais, que sempre estão me guiando.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais, pelo amor e incentivo em todas as etapas de minha vida.

A minha esposa Joicy e filhos Júlia, João Pedro e Joaquim. Sem vocês não seria possível seguir em frente.

Aos meus irmãos Cristiano, Viviane e Fabiano, que mesmo de longe sempre torceram por mim. Obrigado!

A toda a minha família de um modo geral, pela torcida e incentivo.

Aos Prof. Dr. Ângelo e Prof. Dr. Jeferson que contribuíram com conhecimento e experiência.

A Profa. Dra. Gabriella, pela ajuda nos testes microbiológicos.

A aqueles que eu possa ter esquecido, mas que de alguma forma me ajudaram, meu muito obrigado.

À UFJF, FINEP, FAPEMIG e CNPq pelo apoio, financiamento e/ou bolsas de estudo.

RESUMO

A produção de cervejas tem aumentado exponencialmente nos últimos 20 anos, tendo como consequência, a geração anual de milhões de toneladas de resíduos, como o bagaço de malte. Atualmente, esse resíduo é destinado em quase sua totalidade, para elaboração de ração animal. Entretanto, por sua composição química ser rica em fontes de fibras, carboidratos e proteínas, o bagaço de malte pode ter um potencial de aproveitamento para outros fins de maior valor agregado. Nessa temática, o aproveitamento de bagaço de malte proveniente de cervejarias para produção de biopolímeros, como a goma xantana (XG), evitaria problemas ambientais e representaria para o país uma alternativa produtiva e econômica além de ainda gerar empregos. A goma xantana é um polissacarídeo extracelular com cadeia principal à base de celulose e ramificações laterais de trissacarídeos contendo ácido glucurônico e ácido pirúvico que lhes conferem um caráter aniônico. Obtida pela fermentação de fontes de carbono e ação da bactéria *Xanthomonas campestris*, é considerada segura e aprovada para uso em indústrias alimentícias e farmacêuticas, como emulsificantes, espessantes e estabilizantes, podendo também ser usadas para sistemas de liberação controlada de fármacos. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo, produzir goma xantana com bagaço de malte (XGM) obtido de cervejarias artesanais e goma xantana com sacarose comercial (XGSac), caracterizar as gomas do ponto de vista coloidal e reológico e compará-las com goma xantana padrão Sigma Aldrich® (XGS) e goma xantana produzida com soro de leite (XGSL). As gomas xantanas foram produzidas em meio de cultura inoculado com *Xanthomonas campestris pv. campestris*, incubadas a 28 °C por 120 h. Depois de purificadas com mistura de etanol:água, foram caracterizadas por espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e apresentaram composição e estrutura química semelhantes às gomas de referência (XGS e XGSL). Análises térmicas (TGA e DTA) indicaram que as gomas produzidas, apresentaram comportamento diferente das gomas de referência, provavelmente por incorporação de diferentes componentes do meio durante a etapa de purificação. A caracterização reológica estacionária mostrou comportamento pseudoplástico para todas as amostras. Na

reologia oscilatória, todas as gomas tiveram formação de rede viscoelástica com formação de “gel fraco”. O potencial zeta (ZP) de todas as gomas foi negativo em função do caráter aniônico, o que confirmou boa estabilidade coloidal das soluções xantânicas. O complexo SDZ-Na/XGM (sulfadiazina de sódio e goma xantana produzida com bagaço de malte) mostrou que o composto foi estável em solução e no estado sólido, decorrente da interação entre a SDZ-Na e XGM. A calorimetria de titulação isotérmica mostrou que o complexo possui 2 sítios de interação, com estequiometrias de $\approx 0,2:1$ e $\approx 2,6:1$. Os ensaios microbiológicos indicaram que a SDZ-Na, XGM e SDZ-Na/XGM foram eficientes para reduzir, mas não inibir totalmente o crescimento de *S.aureus*, *P. aeruginosa*, *E.coli* e *Salmonella*.

Palavras-chave: Bagaço de malte, biopolímero, espessante.

ABSTRACT

Beer production has increased exponentially in the last 20 years, resulting in the annual generation of millions of tons of waste, such as malt bagasse. Currently, this residue is destined in almost its entirety, for the elaboration of animal feed. However, due to its chemical composition being rich in sources of fiber, carbohydrates and proteins, malt bagasse may have the potential to be used for other purposes with greater added value. In this theme, the use of malt bagasse from breweries for the production of biopolymers, such as xanthan gum (XG), would avoid environmental problems and represent a productive and economic alternative for the country, in addition to generating jobs. Xanthan gum is an extracellular polysaccharide with a cellulose-based main chain and trisaccharide side branches containing glucuronic acid and pyruvic acid that give it an anionic character. Obtained by the fermentation of carbon sources and the action of the bacterium *Xanthomonas campestris*, they are considered safe and approved for use in the food and pharmaceutical industries, as emulsifiers, thickeners and stabilizers, and can also be used for controlled drug release systems. In view of the above, the present work aimed to produce xanthan gum with malt bagasse (XGM) obtained from craft breweries and xanthan gum with commercial sucrose (XGSac), characterize the gums from a structural, colloidal and rheological point of view and compare them with Sigma Aldrich® standard xanthan gum (XGS) and whey-produced xanthan gum (XGSL). Xanthan gums were produced in culture medium inoculated with *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, incubated at 28 °C for 120 h. The gums, after being purified with an ethanol:water mixture, were characterized by infrared spectroscopy (FTIR) and showed chemical composition and structure similar to the reference gums (XGS and XGSL). Thermal analysis (TGA and DTA) indicated that the produced gums presented different behavior from the reference gums, probably due to the incorporation of different components of the medium during the purification step. The stationary rheological characterization showed pseudoplastic behavior for all samples. In oscillatory rheology, all gums had viscoelastic network formation with formation of "weak gel". The zeta potential (ZP) of all gums was negative as a function of the anionic character, which

confirmed good colloidal stability of xanthan solutions. The SDZ-Na/XGM complex (sodium sulfadiazine and xanthan gum produced with malt bagasse) showed that the compound was stable in solution and in the solid state, due to the interaction between SDZ-Na and XGM. Isothermal titration calorimetry showed that XGM has 2 sites of interaction, with stoichiometries being $\approx 0.2:1$ and $\approx 2.6:1$. Microbiological assays indicated that SDZ-Na, XGM and SDZ-Na/XGM were efficient to reduce, but not totally inhibit, the growth of *S.aureus*, *P. aeruginosa*, *E.coli* and *Salmonella*.

Keywords: Malt bagasse, biopolymer, thickener.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Número de registros de cervejarias no MAPA por ano	26
Figura 2 - Número de registros de cervejarias no MAPA, por UF	26
Figura 3 - Fluxograma básico do processo de fabricação de cerveja e indicação de resíduos	27
Figura 4 - Eletromicrografia de transmissão de <i>Xanthomonas campestris</i> (x 12.000) ..	31
Figura 5 - Colônias de <i>Xanthomonas campestris</i> em ágar nutriente.....	32
Figura 6 - Via metabólica da síntese de goma xantana e o metabolismo da glicose em <i>Xanthomonas campestris</i> NRRL-1459	34
Figura 7 - Exemplos de Podridão negra em vegetais.....	35
Figura 8 - Estrutura química da goma xantana	37
Figura 9 - Estruturas ordenadas propostas a partir de dados de DRX.....	39
Figura 10 - Esquema de estado ordenado e em colapso de solução aquosa de XG`s.	40
Figura 11 - Mercado global de goma xantana por ano, valor e aplicação de mercado entre 2012 a 2019	41
Figura 12 - Etapas de produção de goma xantana em escala industrial.....	44
Figura 13 - Número de publicações por ano ao se consultar base de dados Scopus com a palavra “Xanthan gum”	45
Figura 14 - Estrutura química da Sulfadiazina	52
Figura 15 - Estrutura química da SDZ-Na.....	53
Figura 16 - Bagaço de malte bruto (A) e hidrolisado (B)	58

Figura 17 - Fluxograma de produção das gomas XGM e XGSac	61
Figura 18 - Colônia de <i>X. campestris</i> utilizada na produção das gomas.....	62
Figura 19 - Incubadora refrigerada Shaker utilizada na fermentação das gomas	64
Figura 20 - Aspecto das XG produzidas (A) XGM, (B) XGSac e gomas de comparação (C) XGS e (D) XGSL	66
Figura 21 - Espectrofotômetro de infravermelho utilizado na caracterização das gomas	67
Figura 22 - Analisador termogravimétrico TGA/DTA utilizado para determinação do perfil térmico das gomas	68
Figura 23 - Medidor de potencial zeta (ZP) e diâmetro hidrodinâmico (Dh).....	69
Figura 24 - Rêometro DHR1 utilizado para caracterização das gomas	70
Figura 25 - Osmômetro de ponto de congelamento utilizando para caracterização das gomas	71
Figura 26 - Esquema de obtenção do complexo SDZ-Na/XGM.....	73
Figura 27 - Esquema de obtenção de mistura mecânica do complexo SDZ-Na/XGM..	73
Figura 28 - Microcalorímetro VP-ITC utilizado na determinação de propriedades termodinâmicas.....	75
Figura 29 - Esquema de microdiluição de SDZ-Na	78
Figura 30 - Espectrofotômetro de placas Multiskan utilizado na leitura de placas	79
Figura 31 - Cromatogramas das soluções padrões e do bagaço de malte fermentado e não fermentado	85

Figura 32 – Curva de crescimento do inóculo de <i>X.campestris</i> com medida de densidade ótica a 600nm em função do tempo, à 28° C e 150 rpm em meio YM	87
Figura 33 - Tipo de movimento vibracional das moléculas.....	90
Figura 34 – Espectros na região do infravermelho para as XGs.....	91
Figura 35 – A) Curva de análise termogravimétrica (TGA). B) Curva de análise térmica diferencial (DTA) das XGs.....	96
Figura 36 - Modelo esquemático para o Potencial Zeta	99
Figura 37- Valores de: A) potencial zeta, B) Viscosidade, C) condutividade elétrica, D) Diâmetro hidrodinâmico; em função das concentrações de 0,005 a 20,0 g/L das XG`s	103
Figura 38 - Classificação dos fluidos.....	105
Figura 39 - Comportamento dos fluidos	106
Figura 40 – A) Curvas de fluxo e B) de viscosidade, para XGS, a 25 °C e concentração 2,0 g/L. Faixa de taxa de cisalhamento: $10 \geq \dot{\gamma} \geq 1000 \text{ s}^{-1}$	109
Figura 41 – A) Módulos G' (armazenamento) e G'' (perda) em função da amplitude de deformação (γ %) para as XG`s. B) Fator de amortecimento ($\tan\delta$) das XGsem função da amplitude.....	114
Figura 42 - A) Módulos G' (armazenamento) e G'' (perda) em função da frequência angular (ω) para XGM e XGSac. B) Fator de amortecimento ($\tan\delta$) das XGsem função da frequência	116
Figura 43 - Osmômetro de ponto de congelamento (FPO) e gráfico com processo de congelamento.....	118
Figura 44 - Osmolalidade em função da concentração das XGs.	119

Figura 45 - Espectro FTIR da SDZ-Na correlacionando com seus principais grupos funcionais	121
Figura 46 - Espectro na região do infravermelho da Sulfadiazina de sódio (SDZ-Na), XGM (goma xantana bagaço de malte), mistura mecânica (SDZ-Na+XGM) e complexo (SDZ-Na/XGM)	122
Figura 47 – A) Curvas de TGA da SDZ-Na, XGM, MM e complexo SDZ-Na/XGM. B) Curvas de DTA da SDZ-Na, XGM, MM e complexo SDZ-Na/XGM	126
Figura 48 - ITC da SDZ-Na (60 mmol em H ₂ O) em solução de XGM (2,0 g/L) a 25 °C	130
Figura 49 - Curva de titulação viscosimétrica de 60,0 mmol de SDZ-Na em 2,0 g/L de XGM à 25 °C e taxa de cisalhamento a 100 s ⁻¹	133
Figura 50 - Curva de condutividade de 60 mmol de SDZ-Na em 2,0 g/L de XGM à 25°C	134
Figura 51 - Crescimento microbiano de <i>P.aeruginosa</i> frente SDZ-Na, SDZ-Na/XGM e XGM.....	136
Figura 52 - Crescimento microbiano de <i>Salmonella</i> frente SDZ-Na, SDZ-Na/XGM e XGM	137
Figura 53 - Crescimento microbiano de <i>E.coli</i> frente SDZ-Na, SDZ-Na/XGM e XGM	138
Figura 54 - Crescimento microbiano de <i>S. aureus</i> frente SDZ-Na, SDZ-Na/XGM e XGM	139
Figura 55 - Cinética de inibição de crescimento de frente SDZ-Na, complexo e XGM, ambos na concentração de 3276 µg/mL. A) <i>S. aureus</i> B) <i>P. aeruginosa</i> C) <i>Salmonella</i> D) <i>E.coli</i>	142

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diferentes tipos de fonte de carbono, espécies de bactérias utilizadas e respectivos autores	46
Tabela 2 – Composição centesimal do bagaço de malte não hidrolisado e bagaço de malte hidrolisado que foi utilizado para produção das gomas.....	83
Tabela 3 – Atribuições para as bandas mais importantes observadas na região do infravermelho para as gomas xantanas XGM, XGSac, XGSL e XGS	92
Tabela 4 – Tabela com os principais eventos térmicos atribuídos às XGs	97
Tabela 5 - Principais bandas observadas na região do infravermelho para SDZ-Na, XGM, MM e complexo SDZ-Na/XGM.....	124
Tabela 6 – Principais modificações observadas no FTIR para o complexo SDZ-Na/XGM	125
Tabela 7 - Eventos térmicos atribuídos a SDZ-Na, complexo SDZ-Na:XGM, MM e XGM	127
Tabela 8 – Parâmetros termodinamicos de interação entre SDZ-NA e XGM a 25 °C.	131
Tabela 9 - Variáveis cinéticas determinadas por modelo logístico da SDZ-Na, SDZ-Na/XGM e XGM contra <i>S.aureus</i> , <i>P.aeruginosa</i> , <i>E.coli</i> e <i>Salmonella</i>	141

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Diversos tipos de resíduos agroindustriais utilizados como matéria-prima de novo produto	25
Quadro 2 - Composição centesimal aproximada de resíduo úmido de bagaço de malte	29
Quadro 3 - Mecanismos de ação das principais classes de antimicrobianos.....	50
Quadro 4 - Técnicas, propriedades físicas medidas e informações das principais técnicas em Análise Térmica.....	94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CRF	Code Federal Regulations
DLS	<i>Dynamic Light Scattering</i> (Espalhamento de luz dinâmico)
D _h	Diâmetro hidrodinâmico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTA	Análise térmica diferencial
EPS	Exopolissacarídeos
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier
ITC	Calorimetria isotérmica de titulação
LSPA	Levantamento Sistemático da Produção Agrícola
LVE	Linear viscoelastic
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
NCAUR	National Center for Agricultural Utilization Research
NRRL	Northern Regional Research Laboratory
PALS	<i>Phase Analysis Light Scattering</i> (Análise de fase por espalhamento de luz dinâmico)

PIB	Produto interno bruto
PCL	Poliprolactona
PLA	Ácido polilático
PLGA	Ácido glicólico polilático
RNA	Ácido ribonucleico
SDZ-Na/XGM	Complexo produzido com Sulfadiazina de sódio e goma xantana com bagaço de malte.
TGA	Análise termogravimétrica
UF	Unidades de Federação
USDA-ARS	United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service
XG	Goma xantana
XGs	Gomas xantanas
XGM	Goma xantana produzida com bagaço de malte
XGSL	Goma xantana produzida com resíduo de soro de leite
XGS	Goma xantana padrão Sigma Aldrich®
XGSac	Goma xantana produzida com sacarose
ZP	Potencial zeta

LISTA DE SÍMBOLOS

A	Área
F	Força F
G'	Módulo elástico ou de armazenamento (Pa)
G''	Módulo viscoso ou de dissipação (Pa)
K	Constante de equilíbrio
mV	Milivolts
η	Viscosidade (Pa. s)
Pa	Pascal
φ	Taxa de cisalhamento
τ	Tensão de cisalhamento (Pa)
γ	Taxa de deformação (1/s)
$\gamma \%$	Amplitude de deformação
Y	Concentração microbiana em seu valor máximo
K_x	Constante de velocidade de crescimento microbiano
a	Valor de absorbância
b	Parâmetro proporcional à concentração inicial de células inoculadas.
k	Condutividade elétrica
K_c	Índice de consistência (Pa.s ⁿ)

kt	Quilotoneladas
n	Índice de comportamento
ω	Frequência angular (rad/s)
v	Deformação axial
δ_{ang}	Deformação angular

SUMÁRIO

1..INTRODUÇÃO.....	20
2..REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 Resíduos agroindustriais.....	23
2.1.1 Aproveitamento de resíduos agroindustriais	23
2.1.2 Resíduos na Indústria cervejeira	25
2.2 Exopolissacarídeos de origem microbiana.....	29
2.2.1 Bactérias do gênero <i>Xanthomonas</i>	31
2.2.2 <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (<i>X. campestris</i>).....	34
2.3 Goma Xantana.....	36
2.3.1 Mercado de goma xantana.....	40
2.3.2 Produção de goma xantana	43
2.4 Sistema de liberação controlada de fármacos.....	47
2.5 Antimicrobianos	48
2.5.1 Sulfomanidas/Sulfadiazina	51
2.5.2 Sulfadiazina de sódio	52
3..HIPÓTESES	54
4..OBJETIVOS	55
4.1 Objetivo geral.....	55
4.2 Objetivos específicos.....	55
5..Materiais e métodos.....	57
5.1 Reagentes	57
5.2 Resíduo cervejeiro (bagaço de malte)	57
5.3 Composição centesimal do resíduo cervejeiro (bagaço de malte)	59
5.3.1 Umidade.....	59
5.3.2 Resíduo mineral fixo	59
5.3.3 Proteína bruta	59

5.3.4	Lipídios totais	60
5.3.5	Carboidratos por diferença.....	60
5.3.6	Açúcares por CLAE.....	60
5.4	Produção da goma	61
5.4.1	Microrganismo.....	62
5.4.2	Inóculo.....	63
5.4.3	Obtenção do tempo de inoculação – Curva de crescimento microbiano do inóculo	63
5.4.4	Produção da goma xantana com sacarose (XGSac)	64
5.4.5	Produção da goma xantana com bagaço de malte (XGM)	65
5.4.6	Precipitação e purificação	65
5.4.7	Recuperação e secagem	65
5.5	Caracterização das gomas produzidas	66
5.5.1	Espectroscopia na região do infravermelho	66
5.5.2	Análise Termogravimétrica e Análise Térmica Diferencial (TGA/DTA)	67
5.5.3	Estudo de agregação das gomas.....	68
5.5.4	Determinação dos parâmetros reológicos das soluções	70
5.5.5	Determinação da osmolalidade das gomas	71
5.6	Preparo e caracterização do complexo Sulfadiazina de sódio e goma xantana produzida com resíduo de malte	72
5.6.1	Matérias-primas e reagentes.....	72
5.6.2	Preparo do complexo (SDZ-Na/XGM).....	72
5.6.3	Caracterização do complexo liofilizado de SDZ-Na/XGM	74
6	Resultados e discussão	82
6.1	Gomas xantanas	82
6.1.1	Composição centesimal do bagaço de malte.....	82
6.1.2	Determinação de açúcares por CLAE.....	84
6.1.3	Crescimento bacteriano de <i>Xanthomonas campestris pv campestris</i>	85
6.1.4	Produção das xantanas	87

6.1.5	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier	89
6.1.6	Análises térmicas	93
6.1.7	Estudo de agregação das gomas xantanas por titulações condutimétrica, viscosimétrica, por Potencial Zeta, e por DLS	99
6.1.8	Ensaio reológico estacionário	103
6.1.9	Ensaio reológico oscilatório	109
6.1.10	Osmolalidade de ponto de congelamento	117
6.2	Complexo Sulfadiazina de sódio/Goma xantana produzida com resíduo.	120
6.2.1	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier	120
6.2.2	Análises térmicas (curvas TGA e DTA).....	125
6.2.3	Calorimetria de titulação isotérmica	129
6.2.4	Ensaio antimicrobiano	135
7	..conclusões	143
8	..REFERÊNCIAS	146

1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por ações voltadas à sustentabilidade ambiental bem como o enrijecimento das legislações que se desdobram em elevadas multas por poluição, vêm induzindo o meio industrial a buscar ingredientes “verdes” com a implementação de processos e obtenção de produtos de forma ecologicamente correta e que minimizem a poluição ambiental e reduzam a geração de resíduos.

Nesse contexto, a palavra sustentabilidade vem sendo citada constantemente, com objetivo de determinar ações para atender os consumidores, sem prejudicar o ambiente e o futuro das próximas gerações. A utilização de resíduos e uso de biopolímeros de origem microbiana são exatamente o tipo de recurso industrial sustentável capaz de competir com polímeros sintéticos (petroquímicos) e outros modificados geneticamente, sendo indicados e utilizados como novos produtos industriais (TROMMER, 2014; HABIBI et al., 2017).

O mercado cervejeiro está em ascensão mundial. No Brasil, o aumento de registro no número de estabelecimentos de bebidas se mostra constante nos últimos 20 anos, com uma taxa média de 19,6% de crescimento por ano e já representa 2% do PIB nacional, conforme o Anuário da cerveja (BRASIL, 2019). Esta alta produtividade, no entanto, gera um aumento no volume dos resíduos decorrentes da cadeia produtiva. A geração de resíduos nesse setor é alta, e de acordo com alguns pesquisadores, correspondem em torno de 30 a 50 g de resíduo seco para cada litro de cerveja. (BALOGUN et al., 2017; BOREL et al., 2020).

A disposição final destes resíduos no ambiente, que são gerados em grande volume, causaria um aumento na poluição ambiental e sérios danos ao ecossistema em que forem destinados. Sua composição química, rica em compostos orgânicos, necessita de elevada demanda bioquímica de oxigênio para se degradar. Assim, alterações do equilíbrio ecológico no local em que estes substratos serão destinados, seria inevitável.

O fato de o bagaço de malte possuir em sua composição, riquíssimas fontes de fibras, carboidratos e proteínas, torna-o parecido com outros alimentos de consumo humano, trazendo assim, benefícios para a saúde. Sua forma mais comum de reaproveitamento é como ingrediente complementar em pães, biscoitos, entre outros alimentos, sendo a maior parte desse resíduo utilizada na alimentação animal, principalmente de ruminantes (COSTA et al., 2019).

Buscar novas rotas para destinar esse resíduo, gerar novos produtos e principalmente, trazer benefícios ao meio ambiente é um desafio que fará com que o resíduo se torne matéria-prima para um novo processo (MOSTAFA et al., 2018). Uma das formas de se reaproveitar o resíduo seria na produção de goma xantana, seja para aplicações alimentícias ou não. Nesse cenário, suprir a demanda interna de goma xantana (XG) buscando maior competitividade e principalmente reduzindo custo no valor final, seria uma excelente alternativa para o mercado interno, já que a maior parte da XG utilizada no Brasil é importada.

A goma xantana, descoberta no final da década de 1950 e aprovada pela US Food and Drug Administration (FDA), foi o segundo biopolímero apresentado para uso comercial como estabilizante e emulsificante. As gomas xantanas (XG`s) são exopolissacarídeos (EPS) que consistem em unidades de açúcares simples, como glicose, manose e frutose, produzidas por bactérias fitopatogênicas da espécie *Xanthomonas spp.* que utilizam ampla gama de carboidratos para produzi-las. Possuem propriedades tecnológicas únicas como, biodegradabilidade, solubilidade em água, alta capacidade espessante, estabilidade térmica, estabilidade frente ao pH e à presença de sais alcalinos (contra precipitação) em uma ampla faixa de valores, além de propriedades coloidais e reológicas muito particulares. Por esse motivo as XGs se destacam nas indústrias alimentícias, biotecnológicas, medicinais, farmacêuticas, de papel, têxteis e petrolíferas como espessantes e emulsificantes (XIN et al., 2015; DA SILVA et al., 2018; ELELLA et al., 2020).

A demanda por XG tem aumentado continuamente a cada ano e estima-se que cresça continuamente a uma taxa anual de 5–10% (BAJIC, et al., 2017). Dentre os grandes produtores, destacam-se a Merck e Pfizer (Estados Unidos), Rhone Poulenc, Mero-Rousselot-Santia e Sanofi-Elf (França), Saidy Chemical (China) e Jungbunzlauer (Áustria) (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; MENEZES, 2012).

A XG de qualidade alimentar apresenta um alto custo devido ao uso de glicose e sacarose como fontes de carbono. Isso se deve justamente aos padrões de pureza impostos pela FDA em 1969 nos Estados Unidos e que foram aplicados na Europa em 1974. No Brasil, desde 1965 a adição de XG obtida de glicose em alimentos, já era permitida. Para utilização da XG em aplicações não alimentícias, a utilização de substratos mais baratos ou resíduos tem sido motivo de estudo (GOMES et al., 2019). No entanto, o país é gerador de insumos que possibilitam a sua produção. Levando em consideração que o custo das matérias-primas contribui significativamente para o custo geral de produção, a alternativa é o uso de resíduos de baixo custo, como soro de queijo, polpa de beterraba e frutas, cana-de-açúcar, melaço e outros que são matérias-primas alternativas para a produção de XG (SALAH et al., 2010; GILANI et al., 2011 ; NIKNEZHAD et al., 2015).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi produzir goma xantana a partir da reutilização do resíduo cervejeiro (bagaço de malte) e caracterizá-la do ponto de vista reológico e coloidal. Além disso, testar seu uso como sistema de liberação controlada de fármacos, através de seu complexo com o fármaco Sulfadiazina de sódio.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Resíduos agroindustriais

2.1.1 Aproveitamento de resíduos agroindustriais

Em qualquer processo produtivo, a geração de resíduos e subprodutos é uma consequência natural. Então, buscar novas utilizações viáveis para o reaproveitamento de resíduos é seguir um caminho certo para tornar o processo sustentável e minimizar os impactos ambientais. O ideal é que, se possível, o resíduo se torne matéria prima para um novo processo, constituindo uma segunda transformação que minimize ainda mais a carga de resíduos. A estratégia de se reaproveitar e reutilizar as sobras ou descartes inutilizados gerando novas fontes de matéria-prima para outros setores além do agroindustrial gera maior competitividade entres as indústrias (MENEZES et al, 2011).

Os setores alimentícios e agroindustriais, por produzirem alta quantidade de resíduos, enfrentam problemas em suas disposições finais, sejam eles líquidos ou sólidos. Esses apresentam grande potencial poluente, perdas não inerentes ao processo produtivo que agregam valor econômico e por isso não podem ser considerados como lixo, devendo ser reaproveitados. A Lei 12.305 (BRASIL, 2010) institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos e, no seu artigo 13, classifica os tipos de resíduos quanto a sua origem. Nesse artigo estão inclusos os resíduos industriais que são gerados nos processos produtivos e instalações industriais e os resíduos agrossilvopastoris que são gerados nas atividades agropecuárias e silviculturais. É justamente aqui que se enquadram os resíduos agroindustriais. Essa lei obriga os responsáveis a estabelecerem uma gestão e gerenciamento seguindo a ordem de prioridade: a não geração, redução, reutilização, reciclagem, tratamento de resíduos sólidos e disposição final correta (VALENTE et at., 2009).

A título de explicação, os resíduos sólidos são constituídos por material, substância, objeto ou insumo descartado resultante de atividades humanas em sociedade, cuja composição final se encontra nos estados sólido ou semissólido (BRASIL, 2010).

A destinação final dos resíduos agroindustriais é um problema ambiental mundialmente citado. No Brasil, isso não é diferente. Em 2020, a safra nacional de grãos chegou a 247 milhões de toneladas conforme o Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA) (BRASIL, 2020). Com a mesma velocidade, a produção de resíduos agroindustriais foi crescente. Por possuírem baixo ou nenhum valor econômico, a conversão desses resíduos em outros novos produtos seria uma alternativa para valorizar esses resíduos, contribuindo positivamente para a minimização da poluição ambiental, bem como para diminuir os custos de produção e promover sua valorização econômica (FERNANDES et al., 2008; GONÇALVES et al., 2015).

Uma forma comum de reutilização de resíduos é na alimentação de ruminantes, composta de resíduos da indústria cervejeira (bagaço de malte), resíduos da indústria de sucos (casca e sementes), resíduos da indústria de cereais (farelo de arroz, de trigo e outros) e resíduos da indústria da cana-de-açúcar (bagaço de cana). (MARTINS et al., 2014; COSTA et al., 2019). No Quadro 1, alguns exemplos de reutilização de resíduos.

Quadro 1 - Diversos tipos de resíduos agroindustriais utilizados como matéria-prima de novo produto

Tipo de resíduo	Novo produto	Referência
Lixo orgânico	Fertilizante orgânico	Beesigamukama, et al, 2021
Resíduos de laticínios	Bioplásticos, biomassa, derivados de soro de leite, ácido cítrico, ácido láctico.	Ahmad et al, 2019
Melaço de beterraba, bagaço de mandioca, casca de arroz, bagaço de cana	Pullulan	Singh et al, 2019
Bagaço da cana-de-açúcar	Etanol de segunda geração	Martins et al., 2014
Casca e sementes de melão minimamente processado	Doce, geleia e farinha.	Miguel et al, 2008
Casca de coco verde	Enzimas	Coelho et al, 2001

Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

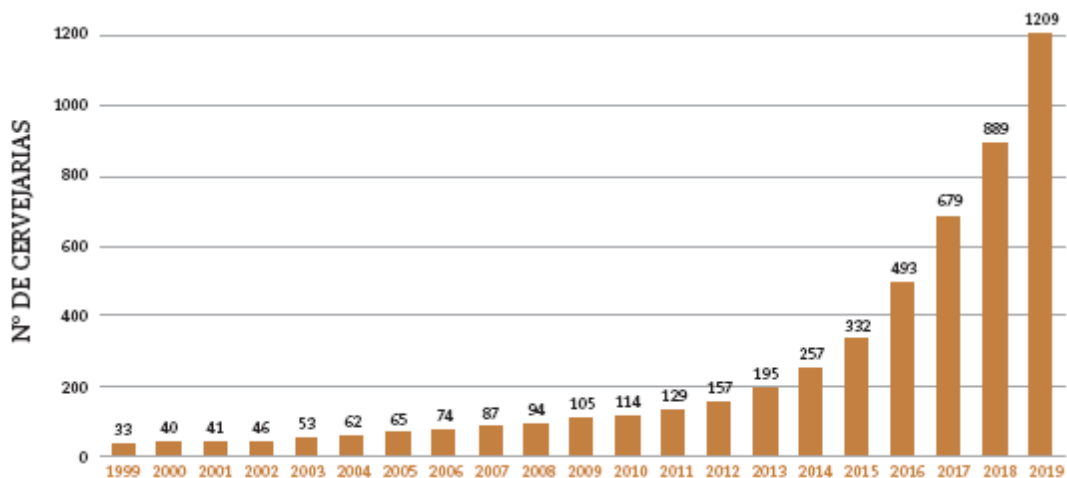
2.1.2 Resíduos na Indústria cervejeira

O setor cervejeiro no Brasil não para de crescer, sendo o país o 3º maior produtor mundial, com média 13,3 bilhões de litros/ano, atrás somente da China e Estados Unidos que produziram 46 e 22 bilhões, respectivamente. Nessa conta entram cervejarias já consolidadas (Ambev, Heineken, Grupo Petrópolis) e as cervejarias artesanais. Esse é um setor muito relevante para economia brasileira, uma vez que é responsável por 2% do PIB e 14% da indústria de transformação nacional, que gerou R\$ 77 bilhões em faturamento. Além disso, cria mais de 2,7 milhões de empregos ao longo de toda cadeia produtiva (SINDCERV, 2021).

De acordo com Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em 2010 havia apenas 114 cervejarias registradas e em 2019 já passam de 1209 nas 26 Unidades de Federação (UF), conforme ilustrado na Figura 1. A taxa média de crescimento nos últimos 5 anos ficou em 36,4%. Entre as Unidades de Federação, 80% dos estabelecimentos estão concentrados nas regiões Sul e Sudeste. Os maiores

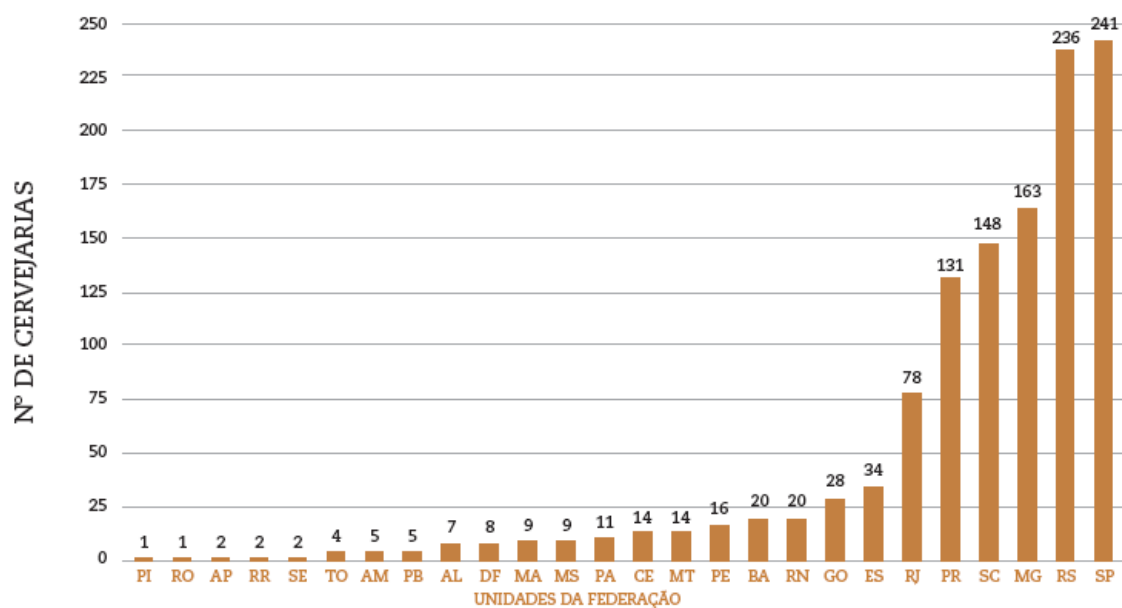
números de cervejarias estão concentrados em São Paulo, seguido por Rio Grande do Sul e Minas Gerais (Figura 2).

Figura 1 - Número de registros de cervejarias no MAPA por ano



Fonte: Brasil, (2019).

Figura 2 - Número de registros de cervejarias no MAPA, por UF

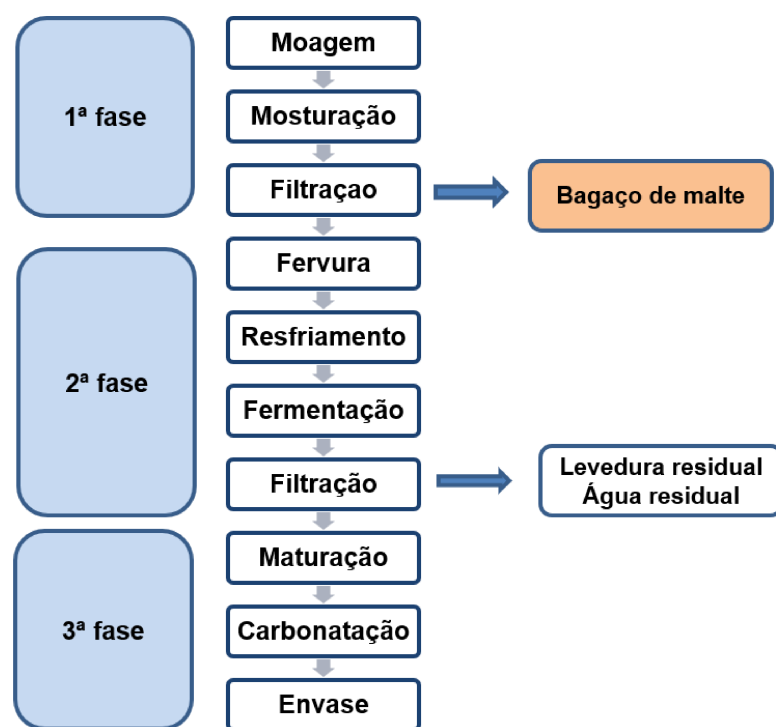


Fonte: Brasil, (2019).

O processo produtivo da cerveja é dividido em várias etapas e, resumidamente, podemos dividir em 3 fases. A primeira, contempla a obtenção e preparação do mosto,

que é a extração e hidrólise dos componentes da cevada maltada; a segunda, a fermentação dos açúcares disponíveis na etapa anterior com adição de leveduras, que fazem a conversão de açúcares em álcool; e a terceira, é o acabamento ou processamento final, que é a filtração, estabilização e o engarrafamento (AQUARONE, 1993). A Figura 3 mostra um fluxograma com as etapas do processo e indica onde há geração de resíduos.

Figura 3 - Fluxograma básico do processo de fabricação de cerveja e indicação de resíduos



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Os grãos de cevada são a matéria-prima principal no processo de fabricação cervejeira. É o cereal mais utilizado em função do seu baixo preço, valor nutricional e oferta, se comparado com o trigo (AKAR et al., 2004). Água de boa qualidade para compor o produto e higienizar os equipamentos também é utilizada em grandes volumes.

A levedura, que é outro item indispensável, faz o trabalho da fermentação nas cervejarias.

Evidentemente que, se comparadas a outras indústrias de transformação, ambientalmente, as cervejarias são menos poluentes. Contudo, com o aumento exponencial das cervejarias, é notadamente crescente também a geração de resíduos e isso é motivo de preocupação. Considerando que quase todos os resíduos são descartados, a carga de poluição que o meio ambiente recebe é altíssima, o que torna o setor cervejeiro potencial poluidor do meio ambiente em virtude de seu alto teor de sólidos em suspensão, presença de fósforo e nitrogênio e de sua alta carga orgânica. (SANTOS & RIBEIRO, 2005; VENTURINI, 2016).

Entre os principais resíduos gerados estão o bagaço de cevada (mais conhecido como bagaço de malte), levedura residual, água de lixiviação, pasta celulósica (rótulos removidos na limpeza das garrafas), latas, tampas metálicas, vidros e terra Diatomácea, utilizada na clarificação da cerveja. O bagaço de malte é um subproduto formado pela parte sólida após a filtração do mosto cervejeiro que é composto principalmente de restos de casca e polpa de malte. Em quantidades, o bagaço de malte é o principal subproduto do processo cervejeiro e representa cerca de 85% dos subprodutos gerados no processo produtivo. Para cada 100 kg de malte de cevada utilizado na produção de cerveja, são gerados cerca de 110 – 120 kg de resíduos sólidos e úmidos, correspondendo em torno de 15 a 30 kg de bagaço de malte a cada 100 litros de cerveja produzida. Isso equivale a 30 milhões de toneladas de resíduo cervejeiro produzidas anualmente, dispostas em forma úmida, prensada e seca (VENTURINI, 2016; COSTA et al, 2019; BOREL et al., 2020).

O bagaço de malte possui excelentes características para tornar-se matéria-prima. Sua constituição apresenta alto teor de umidade, fibras, já que é composta por hemicelulose, lignina e celulose, além de, carboidratos, proteínas, compostos fenólicos, vitaminas do complexo B e resíduo mineral fixo. Cordeiro et al., (2012) avaliaram a composição centesimal do bagaço de malte que estão mostrados no Quadro 2. Por

apresentar considerável valor nutritivo, é bastante comercializada para indústria de ração animal. Seu alto teor de fibras, que auxiliam na prevenção de doenças intestinais, está despertando o interesse das indústrias de alimentos em utilizá-lo na alimentação humana, seja como melhoramento ou enriquecimento de produtos (BIELI, 2015). A alta concentração de carboidratos, favorece o processo de fermentação em processos industriais. Constitui um exemplo, o seu uso na indústria química para produção de xilitol, ácido cítrico e ácido lático (PANZARINI et al; 2014). Desse modo, reutilizar e agregar valor a esse resíduo fermentável é de suma importância para o desenvolvimento de novos produtos, a redução do impacto ambiental e ainda a geração de lucro para os fabricantes.

Quadro 2 - Composição centesimal aproximada de resíduo úmido de bagaço de malte

Análise (%)	Bagaço de malte (base úmida)
Umidade	75,45±0,48
Proteínas totais	5,37±0,03
Gorduras totais	2,43±0,05
Fibra bruta	3,98±0,04
Resíduo mineral fixo	1,29±0,02
Carboidratos	15,46±0,03

Fonte: Cordeiro et al., (2012).

2.2 Exopolissacarídeos de origem microbiana

Exopolissacarídeos (EPS) microbianos são polissacarídeos extracelulares (biopolímeros hidrofílicos de alta massa molecular), produzidos durante o crescimento de fungos e bactérias, que são ligados à superfície das células ou excretados para o meio na forma de limo. Esses compostos são constituídos de unidades de açúcar simples, como manose, glicose, frutose e assim por diante e apresentam uma ampla

gama de propriedades funcionais, com potencial de aplicação em vários setores industriais. (SEESURIYACHAN et al., 2012; ELELLA et al., 2020).

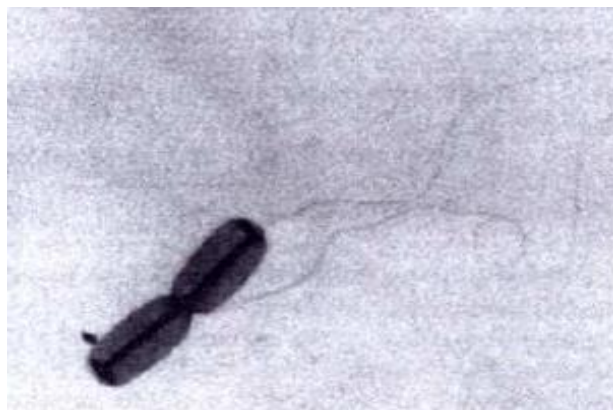
A produção de EPS pelos microrganismos está relacionada com a capacidade de sobrevivência do microrganismo em condições adversas do meio ambiente, como variações de temperatura, estresse hídrico e salino. Esses EPS possibilitam à bactéria, aderência e colonização das superfícies sólidas onde os nutrientes se acumulam e ajudam na fixação de minerais, protegem o microrganismo contra desidratação, atuam como fonte de carbono e energia, impedem que vírus e anticorpos se liguem a sítios ativos sobre a parede celular e ainda envolvem as membranas das células protegendo-as do dessecação e outros estresses ambientais (MISHRA et al., 2013).

As gomas produzidas por fermentação microbiana (xantana, gelana, dextrana, levana, curdlana, pululona, celulósicas), são exemplos de EPS. A necessidade de produção de EPS em escala comercial iniciou-se da demanda das indústrias de alimentos, farmacêutica e petroquímica por substituir e complementar as gomas naturais (arábica, ágar, carragena, guar, adraganta, karaya, alginatos, tragacante, locusta) que são usadas como gelificantes, espessantes, colóides protetores, recuperação terciária de petróleo entre outras várias aplicações (BHATIA et al., 2015). Essas aplicações são determinadas pela composição química, ligações moleculares e grupamento que cada tipo de goma possui. No geral, gomas com estrutura molecular linear formam soluções mais viscosas do que as de mesmo peso molecular e ocupam maior espaço (espessantes). Gomas com estrutura molecular ramificada formam géis e são altamente estáveis porque as ramificações aumentam as possibilidades de ligações intermoleculares. Outras, com estrutura molecular linear e ramificada, têm propriedades mistas (PATEL et al., 2020). Dentre a grande variedade de biopolímeros, a representante que tem maior importância comercial, econômica e possui maior volume de produção são as XGs produzidas pela bactéria *Xantomonas campestris* sp. (PETRI, 2015).

2.2.1 Bactérias do gênero *Xanthomonas*

A palavra *Xanthomonas* vem do grego e é composta pelo adjetivo *Xanthus* (amarelo) e o substantivo feminino *monas* (unidade). São bactérias Gram-negativas, aeróbicas, de haste reta (bastonetes) e curta, móveis por flagelo único maior que seu comprimento (em média 2,3 μm), encontrados isolados ou não, com dimensões médias aproximadas de 0,5 de largura e 1,4 μm de comprimento (Figura 4).

Figura 4 - Eletromicrografia de transmissão de *Xanthomonas campestris* (x 12.000)



Fonte: García-Ochoa et al., (2000).

Geralmente são vistas em uma placa com ágar nutriente como colônias lisas, viscosas e amarelas, conforme ilustrado na Figura 5, resultante da produção do pigmento carotenóide insolúvel em água chamado de xantomonadina (SADDLER & BRADBURY, 2015).

Figura 5 - Colônias de *Xanthomonas campestris* em ágar nutriente



Fonte: Batt & Tortorello, (2014).

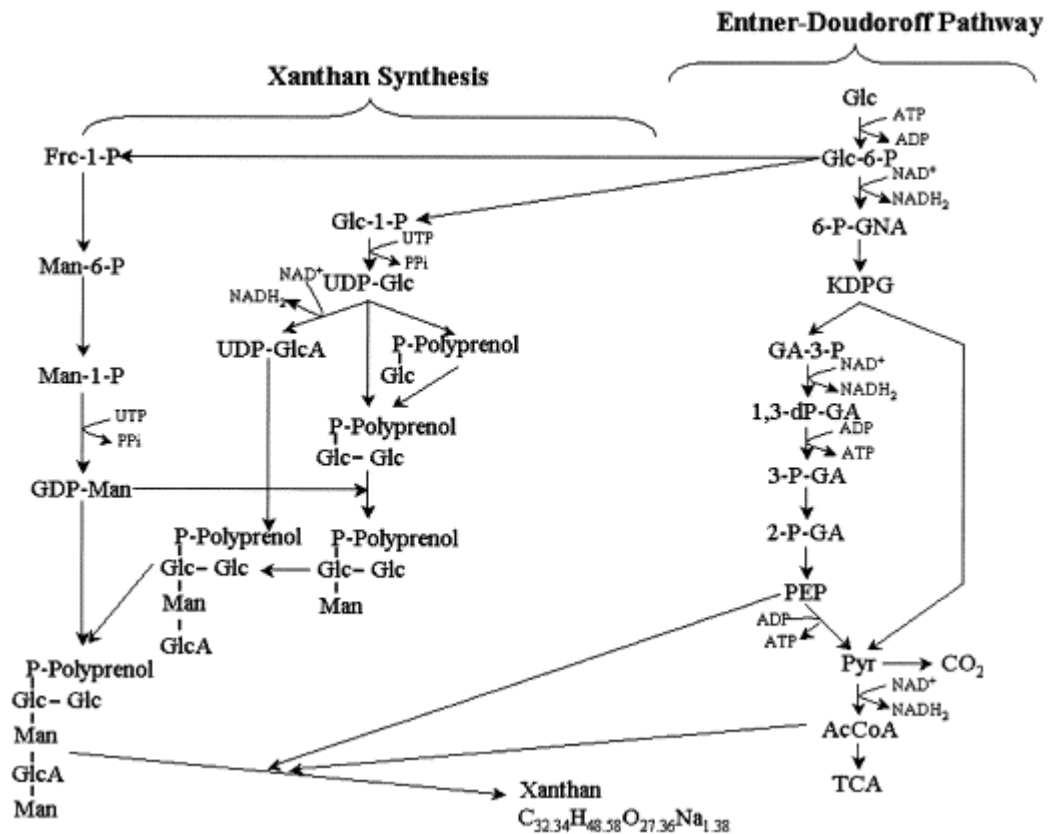
Taxonomicamente, é um dos gêneros de proteobactéria, pertencente à família das *Pseudomonadaceae*, ordem *Pseudomonadales*, classe Gammaproteobactéria, filo proteobactéria e reino bactéria. É composta por mais 29 espécies que foram reclassificadas com base na hibridação DNA-DNA (*X. albilineans*, *X. alfalfae*, *X. ampelina*, *X. arboricola*, *X. axonopodis*, *X. boreopolis*, *X. badrii*, *X. bromi*, *X. campestris*, *X. cassavae*, *X. citri*, *X. codiae*, *X. cucurbitae*, *X. cyanopsidis*, *X. cynarae*, *X. euvesicatoria*, *X. frageriae*, *X. gardneri*, *X. holcicola*, *X. hortorum*, *X. hyacinthi*, *X. malvacearum*, *X. maltophila*, *X. manihotis*, *X. melonis*, *X. oryzae*, *X. papavericola*, *X. perforans*, *X. phaseoli*, *X. pisi*, *X. populi*, *X. sacchari*, *X. theicola*, *X. translucens*, *X. vasicola*, *X. vesicatoria*), além de incluir diferentes patovares que podem estar associados à planta hospedeira (VICENTE & HOLUB, 2013; EUZÉBY, 2016).

A identificação geral de *Xanthomonas* para as espécies baseia-se na capacidade do organismo de hidrolisar gelatina e amido, produzir nitritos e amônia a partir de nitratos, formar pigmento amarelo não solúvel em ágar nutriente e pigmento marrom no ágar de extrato de carne bovina (BATT & TORTORELLO, 2014). São essencialmente fitopatogênicas, ou seja, podem causar doenças em plantas e apresentam complexa diversidade de interações em seu ciclo de vida, podendo sobreviver no solo, em plantas

hospedeiras ou não, em sementes e ainda interagindo com insetos. A exceção fica por conta da *X. maltophilia* que é um patógeno humano (HOLT et al., 1994; MARCUZZO, 2009). São quimiorganotróficos, ou seja, capazes de usar ácidos orgânicos, carboidratos e sais, como fonte de energia para o metabolismo respiratório (GARCÍA-OCHOA, 2000). Também são capazes de despolimerizar proteínas naturais e polissacarídeos como amido, celulose e pectina (SHARMA et al., 2014). Em testes bioquímicos, elas não desnitrificam e a catalase é positiva com produção de gás sulfídrico (H₂S). Já na oxidase, indol, urease e nitrato-redutase, o resultado é negativo (SADDLER & BRADBURY, 2015).

A via preferencial de oxidação da glicose é a via Entner-Doudoroff, com atuação das enzimas que envolvem a fosforilação de açúcares de 6 carbonos e sua clivagem em compostos de 3 carbonos. A permease transporta a glicose e a fosforilação é feita pela hexocinases, formando glicose-6-fosfato (Glc-6-P). Aqui, o fluxo metabólico se divide em dois caminhos. O primeiro onde o fluxo envolvido na síntese de xantana é categorizados na montagem sequencial de nucleotídeos de açúcares transformados a partir de Glc-6-P com síntese de polímeros de xantana. E o segundo pela via desidrogenase de glicose-6-fosfato que é catalisada em 6-fosfogluconolactona e ao sofrer hidratação é catalisada pela lactonase em 6-fosfogluconato. Em seguida, quando há a desidratação catalisada pela desidrase, forma-se o 2-ceto-3-desoxi-6-fosfogluconato (KDPG) que é catalisado pela 2-desidro-3-desoxi-fosfogluconato aldolase em 3-fosfogliceraldeído (GA-3-P) com produção de fosfoenolpiruvato (PEP) e piruvato (pyr) seguindo o fluxo metabólico e produzindo a goma xantana, conforme mostra a Figura 6 (CHIA-HUA & MARTIN, 2003; ROSALAM & ENGLAND, 2006; OLIVA-NETO et al., 2011).

Figura 6 - Via metabólica da síntese de goma xantana e o metabolismo da glicose em *Xanthomonas campestris* NRRL-1459



Fonte: Chia-Hua & Martin, (2003).

2.2.2 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (*X. campestris*)

Xanthomonas campestris pv. *campestris* são bactérias fitopatogênicas de ocorrência natural. Infecta naturalmente a família *Brassicaceae/Cruciferae* incluindo variedades de plantas herbáceas de grande importância econômica, como as hortaliças, cereais, leguminosas, frutas e plantas produtoras de óleos e gorduras vegetais (BILA et. al. 2013).

É causadora da podridão negra, que foi descrita primeiramente por Garman em 1894, isolando a bactéria de repolhos em Kentucky, EUA, mas sem determinar qual era

o tipo. Em 1895, Pammel observou doença semelhante em nabos na cidade de Iowa, EUA, e mostrou que a doença foi causada por uma bactéria de coloração amarela, chamada de *Bacillus campestris*. Assim, observaram que a doença ocorria principalmente em culturas de Brassicaceae e em todos os continentes. É, portanto, considerada a doença mais importante das Brássicas em todo o mundo (VICENTE & HOLUB, 2013; DA SILVA et al., 2018). O sintoma característico da Podridão negra é uma infecção local resultando em lesões quando há entrada da bactéria pelos hidátodos das folhas. Após a infecção, as folhas murcham e ocorre mudança na coloração para amarela, marrom e negra, tornando-se necrosadas com perda das folhas até a morte da planta (Figura 7).

Figura 7 - Exemplos de Podridão negra em vegetais



Fonte: Bila et al., (2013).

A área onde bactéria infecta, tem formato de “V” sendo o vértice voltado para o centro da folha, progredindo para a nervura principal, onde ocorre a necrose (BILA et al., 2013). Esta necrose é associada à produção do exopolissacarídeo “goma xantana” que é responsável por enormes prejuízos as lavouras, mas também, com grande aplicabilidade e geração de lucros nas indústrias alimentícias, farmacêuticas e petrolíferas, por sua utilização como agentes emulsificantes, espessantes, estabilizantes e agentes de suspensão (AHMAD et al., 2019; ELELLA et. al. 2020). A podridão negra tem sido controlada com a utilização de cultivares resistentes, desenvolvimento de métodos de controle mais eficientes, como a busca por informações sobre a expressão

de proteínas e genes do patógeno e o conhecimento da interação do patógeno com a planta hospedeira (BRASIL, 2005).

A infecção por essa bactéria se dá pela infestação por sementes, transplantes e ervas daninhas infectadas. A disseminação das bactérias pode ocorrer pelos insetos, trabalhadores, máquinas, água e vento. Se somente 0,03% das sementes do cultivar for infestada já é considerada epidemia grave no cultivar. As *X. campestris* são resistentes, conseguindo sobreviver no solo por 6 meses e quando associada a restos culturais, por até 2 anos (BILA et. al. 2013).

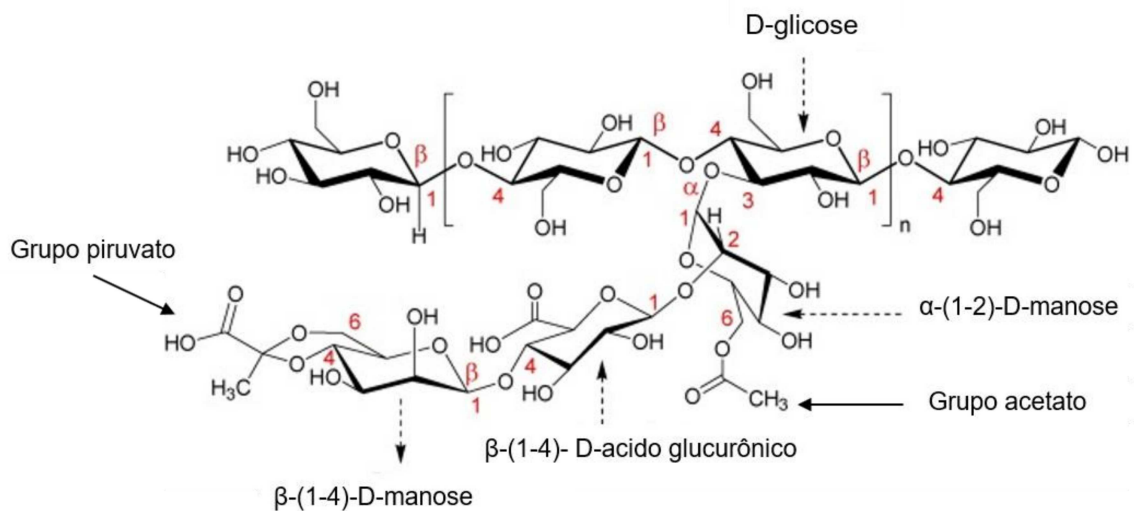
2.3 Goma Xantana

A goma xantana (XG) ou polissacarídeo B-1459 (HUBLIK, 2012; MORRIS, 2019) é um biopolímero produzido por espécies de bactérias do gênero *Xanthomonas*, mais especificamente *X. campestris* B-1459, descoberta em 1950 no Northern Regional Research Laboratory (NRRL), atualmente chamado National Center for Agricultural Utilization Research (NCAUR), o qual é vinculado ao United States Department of Agriculture - Agricultural Research Service (USDA-ARS). Antes do descobrimento da XG, a primeira goma a ser comercializada era a goma Dextrana descoberta na década de 1940 (PALANIRAJ & JAYARAMAN, 2011; GHASHGHAEI et al., 2016). Em 1964, iniciou-se a produção comercial da XG para uso não alimentício. Em 1969, a XG, foi considerada um importante biopolímero natural e industrial devido a não toxicidade, por ser segura e não causar irritação nos olhos ou pele. Então, foi aprovada pela Food and Drug Administration (FDA), que é o órgão de regulamentação de fármacos e alimentos nos EUA para uso em aditivos alimentares sem quaisquer limitações de quantidade específicas. Logo em seguida foi registrada como estabilizante e emulsificante no U.S. Code Federal Regulations (CFR) (ELELLA et al., 2020). Em 1974, foi aprovada pelo Scientific Committee on Food (SCF) para uso como agente espessante e geleificantes com o código E-415 em toda Europa. No Brasil, em 1965, através do Decreto Lei 55.871,

foi permitida sua adição em alimentos com o código INS 415, que a categoriza como agente espumante, estabilizante, espessante e emulsificante (FAO, 2016). As XGs, são biodegradáveis, biocompatíveis, bioadesivas, atóxicas, seguras e adquiridas de fontes renováveis (PATEL et al., 2020).

Com denominação bioquímica de β -(1-4)-D-manopiranosil-(4,6-O-piruvil)- β -(1-2)-D-glucorônico- α (1-3)-D-manopiranosil-(6-O-acetil)-3-O- β -(1-4)-D-glicopiranosose, a XG é um heteropolissacarídeo aniônico, com estrutura molecular natural ramificada, composta de uma unidade de repetição de pentassacarídeo (Figura 8).

Figura 8 - Estrutura química da goma xantana



Fonte: Adaptado de Patel et al., (2020).

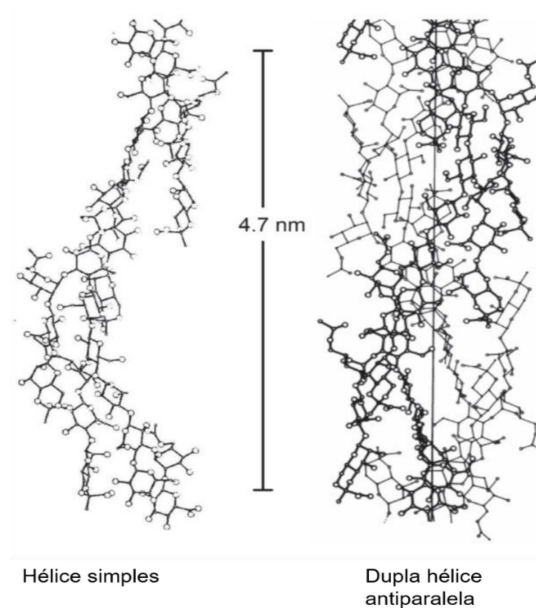
A estrutura linear β -D-glicose (1-4) ligada se assemelha a cadeia de celulose. A estrutura lateral trissacarídea contém conexão a uma unidade de β -(1-4)-D-manose terminal ligada com ácido D-glucurônico via β -(1-4) em uma segunda D-manose através de α -(1-2). A D-manose terminal está ligada a resíduos de ácido pirúvico (piruvil-manose) nas posições C-4 e C-6 e a D-manose interna ligada a cadeia principal é acetilada (éster

ácido acético – acetil-manose) na posição C-6 com quantidades não estequiométricas que afetam as interações intermoleculares e intramoleculares, resultando em gomas com massa molar e cadeias de diferentes tamanhos que podem interferir diretamente na viscosidade. Essas diferenças estão associadas com condições de fermentação, como tempo, temperatura, pH, agitação, cepa bacteriana, aeração, modificações químicas, fonte de carbono e concentração inicial de nitrogênio (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; ANTUNES et al., 2003; SAMPAIO et al., 2020). O ácido glucurônico é responsável pelo caráter polianiônico da goma (ABBASZADEH et al., 2015; PATEL et al. 2020; ELELLA et al., 2020).

Possui razão molar média de 2:2:1 (glicose, manose e ácido glucurônico) e alto peso molecular ($>10^6$ g/mol) que depende das cadeias individuais ou associações e condições de fermentação caracterizando o biopolímero por ter baixa polidispersidade (PALANIRAJ & JAYARAMAN, 2011; ELELLA et al., 2020; PATEL et al., 2020).

No estado sólido, dados de difração de raios X (DRX) mostraram que as cadeias adotam uma estrutura molecular de hélices simples e duplas, com um passo de 4,7 nm, estabilizada por empacotamento ordenado das cadeias laterais ao longo da cadeia do polímero. O aquecimento pode fazer com que o empacotamento se desfça e sua estrutura funcione como duplas hélices antiparalelas, conforme mostrado na Figura 9 (MORRIS, 2019).

Figura 9 - Estruturas ordenadas propostas a partir de dados de DRX

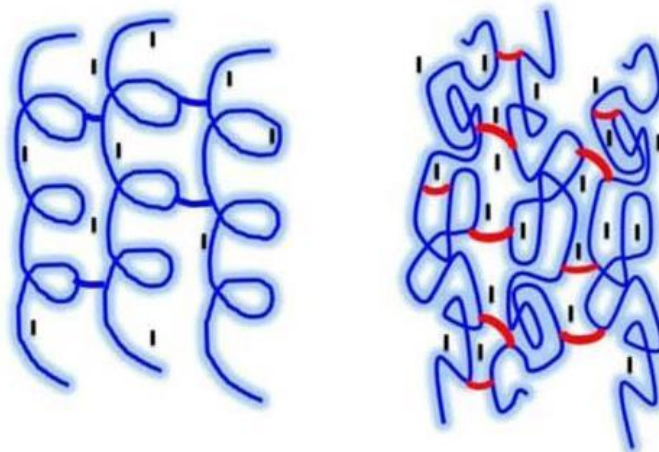


Fonte: Morris, (2019).

Nessa conformação, a estrutura lateral do trissacarídeo rica em hidroxilas está alinhada com a cadeia rígida que interage com outras moléculas estabilizando a estrutura geral por interações não covalentes, principalmente ligações de hidrogênio. A adição de moléculas de água e aumento de solubilidade, fazem com que as cadeias laterais envolvam a estrutura geral, protegendo as ligações β -(1-4) e mantenham a estabilidade da emulsão e suspensão das partículas de XG em solução (PALANIRAJ & JAYARAMAN, 2011; ELELLA et al., 2020). A estabilidade conformacional é interrompida pela presença ou não de grupo piruvato ou acetato nas cadeias laterais que podem variar com tipo de cepa e condições de processamento da goma. Esses grupos, presentes nas cadeias laterais, fornecem solubilidade e são responsáveis pelos parâmetros reológicos em soluções aquosas. A disponibilidade de oxigênio e nitrogênio, afeta o conteúdo do piruvato e acetato e a relação glicose, manose e ácido glucurônico, e é responsável pelo aumento ou não da viscosidade na goma xantana.

A estrutura da XG possui volume hidrodinâmico bem superior ao volume molecular real. É, desse modo, capaz de arrastar expressivas quantidades de solvente quando as soluções são submetidas ao cisalhamento. Ao aplicar a condição de cisalhamento, o colapso gradual da estrutura da rede pode aumentar a pseudoplasticidade e as propriedades reológicas de XG que resulta em um aumento da resistência ao escoamento e por isso as XG são empregadas como agentes espessantes e emulsificantes mesmo em baixas concentrações (SAHA & BHATTACHARYA, 2010; ELELLA et al., 2020). Uma representação esquemática da goma xantana em seu estado natural, quando em solução aquosa e em estado colapsada é mostrada na Figura 10.

Figura 10 - Esquema de estado ordenado e em colapso de solução aquosa de XG's



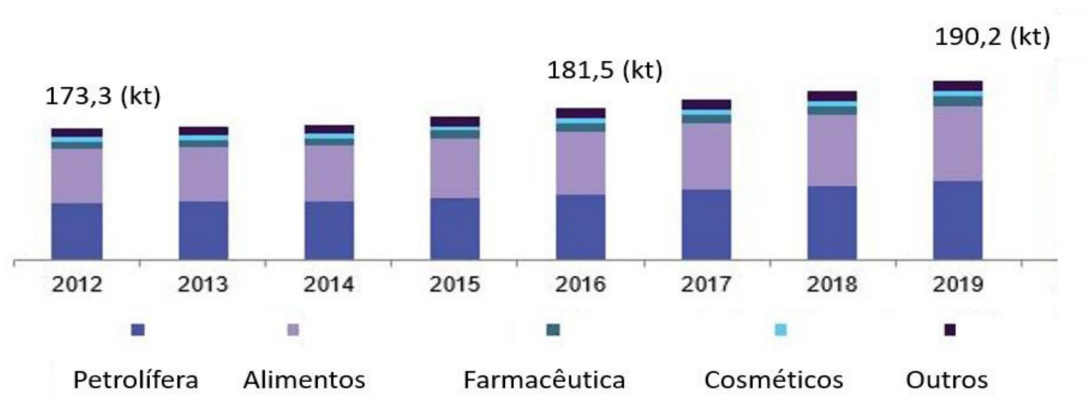
Fonte: Petri, (2015).

2.3.1 Mercado de goma xantana

A produção mundial de XG aumenta a uma taxa anual de retorno de investimento acima de 5,1%. Em 2019, a produção superou 190 quilotoneladas (kt) e o seu mercado global para uso como aditivo alimentar ficou em aproximadamente US\$ 50 milhões e

considerando todas as aplicações, passou de US\$ 930 milhões (GLOBAL MARKET INSIGHTS, 2020). Os principais produtores são Jungbunzlauer (Áustria), Cargill e CP Kelco (Estados Unidos), Danisco (Dinamarca), Fufeng Group Company Ltda (China). Sua utilização nos setores alimentícios, petrolífero, farmacêutico, cosmético, agroindústria, têxtil, mineração, tintas, papel e outras, se dá pelas funções emulsificantes, estabilizantes, lubrificantes, dispersante, além de ser redutor de atrito, agente de limpeza e agentes de suspensão (DRUZIAN e PAGLIARINI, 2007; RONČEVIĆ et al., 2019; LI et al., 2019). Na Figura 11 é possível ver o consumo por aplicação e volume de mercado. A estimativa anual é que a demanda global aumente em torno de 2%. Os setores que mais utilizam esse produto são o alimentício (44,6%), petrolífero (40,5%), farmacêutico (4,7%), cosméticos (3,0%) e outros (7,0%) (GLOBAL MARKET INSIGHTS, 2020).

Figura 11 - Mercado global de goma xantana por ano, valor e aplicação de mercado entre 2012 a 2019



Fonte: Grand View Research, (2020).

No setor alimentício, é muito utilizada em molhos, sucos, laticínios e congelados (KATHERINE et al., 2017). No setor petrolífero, atua ajudando os fluidos de perfuração

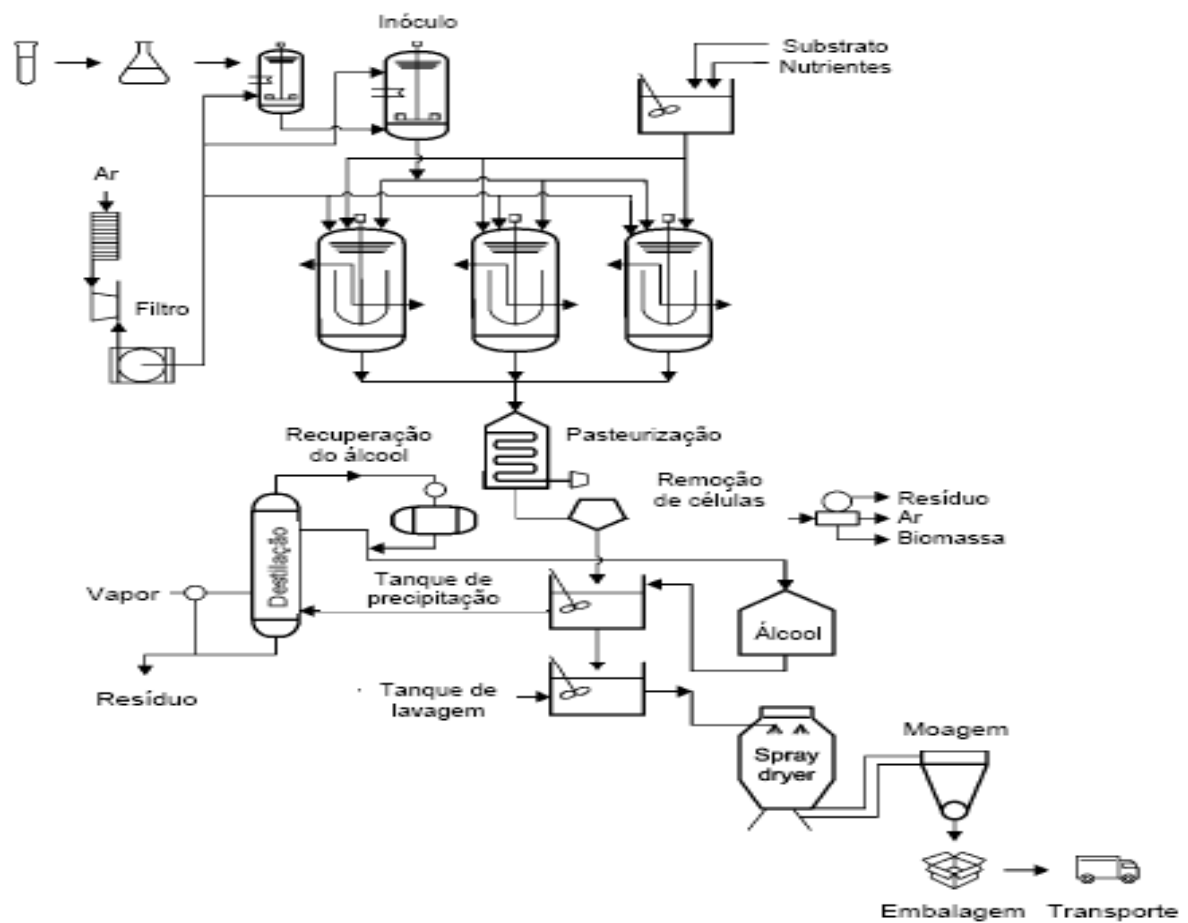
de poços na extração de óleo, gás e na recuperação terciária de petróleo. Nesta aplicação, salmoura espessada com polímero é usada para conduzir a massa do surfactante através da rocha porosa do reservatório para mobilizar o óleo residual (GOMES et al., 2019). Na indústria farmacêutica, é utilizada como sistema de liberação controlada, que aumenta o tempo de contato dos ingredientes ativos e retarda a liberação do fármaco em comprimidos. Em suspensões e emulsões farmacêuticas, atua como estabilizante, mantendo a fluidez (PALANIRAJ & JAYARAMAN, 2011). Conforme os dados do Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior via Internet (ALICEWEB), em 2020, o Brasil importou 6.000 toneladas de goma xantana para aplicações na indústria de alimentos e petróleo. Isso gerou um gasto de US\$19.535.589. A tendência é que esse volume de importação aumente progressivamente. Conforme esses dados, podemos destacar que a produção interna de XG é baixíssima e utilizamos quase toda XG importada. Buscar a autonomia interna e incentivar a produção em grande escala no Brasil, visando a exportação e competitividade é um ponto em que pesquisadores vêm trabalhando, no sentido de utilizar resíduos agroindustriais. Em consulta ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial (BRASIL, 2021), dezessete pedidos de patentes relacionados à produção já estão depositados e, três desses pedidos estão relacionados ao uso de resíduos para produção da XG.

O Brasil possui grande volume de produção nos setores sucroalcooleiro e agroindustrial, e conseqüentemente, matéria prima e grande quantidade de resíduos de menor custo para produção de XG, se comparado com outros países que utilizam prioritariamente glicose (BAJIC et al., 2017; PATEL et al., 2020; RANGANATHAN et al., 2020). Apesar desse cenário favorável, a falta de políticas nacionais de incentivo à produção, o preconceito das indústrias com produtos nacionais e a falta de aplicação do Plano Nacional de Resíduos Sólidos, fazem com que o Brasil desperdice dinheiro descartando resíduo que pode virar outro produto de elevado custo final.

2.3.2 Produção de goma xantana

O processo de produção de XG em laboratório consiste em manter certa quantidade da cultura de *X. campestris* em um meio fermentativo rico em fonte de carbono (carboidratos de modo geral), fonte de nitrogênio (extrato de levedura, peptona, nitrato de amônio), fonte de sais (fósforo e traços de outros minerais), controlando pH (6,0 a 7,5), temperatura (25 a 30 °C) e agitação (100 a 600 rpm) (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). A relação C/N no meio tem influência e é um fator que deve ser considerado na produção. O nitrogênio é importante para o rápido crescimento celular e o carbono para conversão em XG. Baixas concentrações desses elementos são ideais para produção, mas se a quantidade de ambos for muito elevada, suas propriedades reológicas estarão comprometidas. Desse modo, o meio de cultura apresenta geralmente de 1 a 5% de glicose ou sacarose como fonte de carbono e 0,05 a 1% de nitrogênio (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; LUVIELMO & SCAMPARINI, 2009; PEREIRA & FERRAZ, 2016). A bioconversão desse nutriente em XG ocorre com rápido crescimento e em torno de 2 dias de fermentação já é possível ver a alteração de turbidez (BRANDÃO et al.; 2008; ROJAS et al., 2013, BHATIA et al., 2015). Industrialmente o processo é o mesmo, feito em biorreatores e em tanques de grandes volumes. Após tempo de fermentação, que gira em torno de 120 horas, é feita a recuperação por centrifugação ou filtração para remover as células microbianas. A precipitação e purificação da XG, é realizada através de lavagens sucessivas com adição de sais e solventes miscíveis em água como etanol e acetona por exemplo. A etapa de secagem/desidratação é feita em estufas e ou liofilizadores e por fim o acondicionamento deve ser feito em recipientes com baixa permeabilidade à água (DA SILVA et al., 2018). A Figura 12 ilustra o processo de produção da XG em escala industrial.

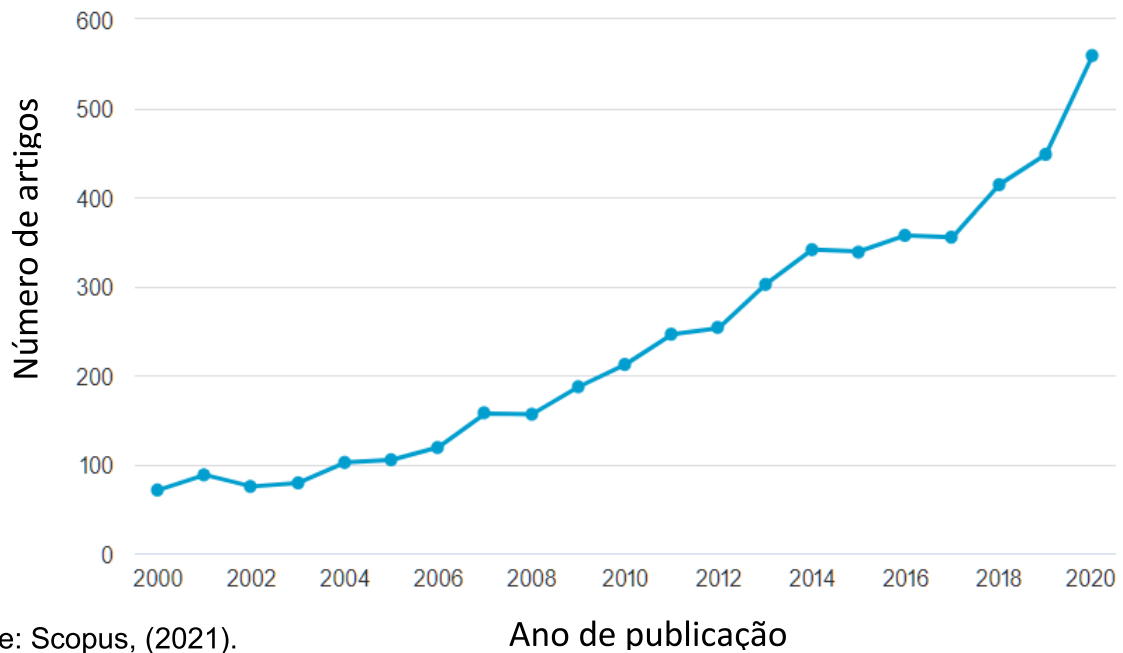
Figura 12 - Etapas de produção de goma xantana em escala industrial



Fonte: Lopes et al., (2015).

Nos últimos 20 anos pesquisadores vêm trabalhando fortemente com a XG, tanto no desenvolvimento de novas fontes de substratos para produção quanto em suas aplicações. O número de publicações é crescente e isso pode ser comprovado pelo relatório gerado em base de dados da Scopus, quando a expressão “Xanthan gum” é pesquisada. Só em 2020, 559 artigos foram publicados sobre XG (Figura 13).

Figura 13 - Número de publicações por ano ao se consultar base de dados Scopus com a palavra “Xanthan gum”



Fonte: Scopus, (2021).

Na Tabela 1, para exemplificar, diversos trabalhos foram publicados utilizando resíduos como principal fonte de carbono e fermentados pelas bactérias da espécie *Xanthomonas sp.* para produção de XG.

Tabela 1 - Diferentes tipos de fonte de carbono, espécies de bactérias utilizadas e respectivos autores

Resíduos da indústria de	<i>X. campestris</i> ATCC 13951	Roncevic et al., 2019
Resíduo de pão		Demirci et al., 2019
Penas de galinha		Ozdal e Kurbanoglu, 2018
Resíduo água de indústria	<i>X. campestris</i> ATCC 13951	Bajic et al., 2017
Pó da semente de jaca	<i>X. campestris</i> NCIM-2961	Katherine et al., 2017
Resíduos de cozinha	<i>X. campestris</i> LRELP-1	Li et al., 2016
Amido	<i>X. campestris</i> sp. XC6	Bhatia et al., 2015
Casca de coco	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> 1866	Nery et al., 2013
Casca de cacau	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> 472	Diniz, 2012
Soro de mandioca	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> 1866	Brandão et al, 2010
Soro de queijo	<i>X. campestris</i> pv. <i>manihotis</i> 1182	Silva et al., 2009
Resíduo suco maçã	<i>X. campestris</i> pv. <i>manihotis</i> 280	Druzian e Pagliarini, 2007

Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Desse modo, utilizar resíduos agroindustriais como uma fonte alternativa de carbono para produção de XG, possibilita a geração de novo produto, reduz o impacto ambiental e os custos de produção.

2.4 Sistema de liberação controlada de fármacos

Um medicamento quando é ingerido, dependendo da sua rota anatômica, passa, após sua absorção, por diversos tecidos e órgãos até atingir a circulação sistêmica. Durante esse percurso, os fármacos estão sujeitos à degradação química e enzimática, que comprometem sua eficácia e exigem doses maiores para o alcance do nível terapêutico esperado (BALMAYOR et al., 2011). Os sistemas de liberação controlada de fármacos apresentam características de liberação em tempo e/ou localização para atingir um objetivo conveniente (USP, 2006). Nas últimas décadas, o “Control Drug Delivery Systems (CDDS)” ou sistemas de liberação controlada de fármacos têm sido estudados a fim de melhorar ou facilitar a biodisponibilidade dos fármacos para o tratamento de doenças (SALIM & KAMALASANAN, 2020).

Na tentativa de obtenção de fármacos com excipientes ou adjuvantes que viabilizem sua administração e encontrem seu local de ação com concentração adequada, veículos eficientes estão sendo estudados e devem ser capazes de superar as barreiras para tornar os fármacos disponíveis ao organismo. Entre eles, estão sendo utilizados polímeros naturais e sintéticos na forma de grânulos, hidrogéis, microesferas, nanopartículas e outras formulações. Entre os polímeros naturais, destacam-se as gomas arábica, guar e xantana, pectina, celulose, quitosana, caseína, proteína de soja, albumina e outros. Entre os polímeros sintéticos estão o ácido polilático (PLA), ácido glicólico polilático (PLGA), policaprolactona (PCL), álcool polivinílico e outros (MUKHOPADHYAY & PRAJAPATI, 2015).

Por não apresentar toxicidade, serem biodegradáveis, possuírem boa biocompatibilidade e mucoadesividade, os polímeros naturais são preferidos aos sintéticos. As características desejáveis em polímeros naturais são, preferencialmente boa solubilidade em água, baixo custo, facilidade de sintetização e caracterização (MUKHOPADHYAY & PRAJAPATI, 2015).

Os hidrogéis são classificados como rede polimérica que absorvem e armazenam grandes quantidades de soluções aquosas, mas não insolúveis em água devido a presença de ligações covalentes. Sua resistência mecânica ocorre devido à reticulação da rede física ou química e seu comportamento de dilatação se dá justamente pela presença de grupos hidrofílicos (MALIK et al., 2020). São macios e assemelham-se como tecidos vivos quando estão inchados. Apresentam vantagens como resistência enzimática, não toxicidade e boa resistência mecânica. Suas aplicações são as mais diversas como na biomedicina, biossensores, dispositivos oftalmológicos e biomédicos (ANWAR et al., 2021).

Nesse sentido, a goma xantana, tem sido utilizada como polímero hidrofílico no preparo matrizes de liberação controlada de fármacos, seja sozinha ou junto com outros polímeros, justamente pelo seu custo benefício e aceitação regulatória (ASGHAR et al., 2009; KAUSHIK et al., 2015). Em suspensões à base de água, a XG tem sido bastante explorada devido seu caráter aniônico e utilizada para uso em meios ácidos e alcalinos (MALIK et al., 2020). Possui cadeias longas com grande número de cadeias laterais de trissacarídeos que lhe dão soluções com alta viscosidade mesmo em baixas concentrações. A hidratação é rápida, sem formação de grumos, o que lhe confere afinidade para aumentar a solubilidade de fármacos ou transportadores de natureza hidrofóbica (KUMAR et al., 2018). Além dessas vantagens, a facilidade de produção, segurança, biodegradabilidade, biocompatibilidade, aceitação regulatória e principalmente seu custo benefício, se produzida com fontes alternativas de carboidratos, faz com que a XG seja também bastante utilizada na produção de hidrogéis para liberação controlada de fármacos.

2.5 Antimicrobianos

O termo antimicrobiano é definido como compostos químicos que independente da sua forma de obtenção, mesmo em baixa concentração, exerce toxicidade seletiva

sobre os microrganismos patogênicos. São imprescindíveis para prevenção, controle e cura de infecções, tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária, desde a descoberta da penicilina em 1929. Foi uma grande conquista para sociedade e principalmente para economia, por transformar infecções antes letais em doenças sem complicações (SPINOSA & TÁRRAGA, 2011; BELMESSIERI et al., 2017; CATALÁN-MATAMOROS et al., 2019).

Os principais antimicrobianos utilizados hoje são os beta-lactâmicos, quinolonas/fluoroquinolonas, glicopeptídeos, oxazolidinonas, aminoglicosídeos, macrolídeos, lincosamidas, nitroimidazólicos, cloranfenicol, estreptograminas, sulfonamidas, tetraciclina, glicilciclina, polimixinas, daptomicina, gemifloxacina. Sua classificação se dá por sua estrutura química, ação biológica, espectro e mecanismo de ação, conforme exemplificados no Quadro 3 (SPINOSA & TÁRRAGA, 2011; NOGUEIRA et al., 2016).

Quadro 3 - Mecanismos de ação das principais classes de antimicrobianos

MECANISMO DE AÇÃO	CLASSE DE ANTIMICROBIANO
Interferência na estrutura e função do DNA	Quinolonas Rifamicinas
Interferência na síntese proteica	Aminoglicosídeos Tetraciclínas Anfenicóis Macrolídeos Lincosamidas Oxazolidinonas
Interferência no metabolismo do folato	Sulfonamidas Trimetropima
Interferência na constituição da parede celular	Beta-lactâmicos
Interferência na estabilidade da membrana celular	Polimixinas

Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Atualmente convivemos com a grande ameaça que é a resistência das bactérias sobre os antimicrobianos, mais conhecida no termo em inglês como Antimicrobial resistance (AMR). Essa resistência está associada ao uso inapropriado e injustificado de substâncias antimicrobianas e também a medidas inadequadas para controlar a propagação de doenças infecciosas (CARRARA et al., 2018; CATALÁN-MATAMOROS et al., 2019; BALTA et al., 2021).

Entender o porquê e quais os mecanismos fazem com que as bactérias resistem aos fármacos é essencial para desenvolvimento de meios que ampliem a eficácia dos antimicrobianos e diminuam o desenvolvimento da resistência (NOGUEIRA et al., 2016).

2.5.1 Sulfomanidas/Sulfadiazina

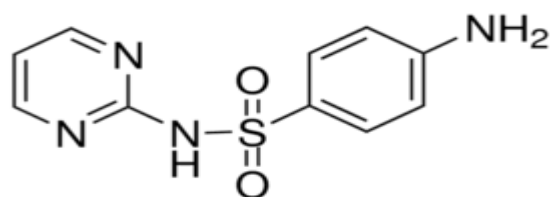
As drogas da sulfa ou sulfonamidas (SAs), que pertencem à classe de antimicrobianos que interferem no metabolismo do folato (ácido fólico), tiveram sua atividade antimicrobiana confirmada em 1935 pelo patologista alemão Gerhard Domagk.

Esses fármacos impedem a síntese de ácido di-hidrofólico, formado a partir do ácido p-aminobenzoico (PABA) e precursores. Funcionam como análogos do PABA competindo com a enzima di-hidropteroasintetase e desse modo atuam como antimicrobianos. Esse mecanismo gera alta sensibilidade aos SAs apenas em microrganismos que sintetizam seu próprio ácido di-hidrofólico (NOGUEIRA et al., 2016).

Derivados de SAs são bastante produzidos e até o momento mais de 40 são aplicados na medicina humana e veterinária. Entre eles citam-se a Sulfanilamida (SAM), Sulfadiazina (SDZ) e Sulfametiazol (SMT). A diferença entre a estrutura química, a atividade fisiológica e a ação está condicionada à presença do grupo SO₂ e NH e à adição de radicais (DMITRIENKO et al., 2014).

A Sulfadiazina (SDZ), denominada de 4-amino-N-pirimidina-2-il-benzenossulfonamida, conforme o sistema IUPAC, apresenta-se como um pó cristalino branco, inodoro, solúvel em álcool e acetona, massa molar de 250,28 g/mol e ponto de fusão em 256 °C (FAHAD et al., 2021). É amplamente utilizada na indústria médica e pecuária devido a seu baixo custo, estabilidade e espectro antibacteriano para tratamento de infecções causadas pelos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*, *Candida albicans*, *Klebsiella* e outros (LI et al., 2021). É indicada para o tratamento de feridas com elevado risco de infecção como queimaduras, úlceras venosas, feridas cirúrgicas, toxoplasmose, malária, infecção urinária e febre reumática (HUI et al., 2020). A estrutura química da Sulfadiazina está representada na Figura 14.

Figura 14 - Estrutura química da Sulfadiazina



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Há necessidade e interesse de elaboração de novos modelos de antimicrobianos complexados no sentido de criar uma bioativada a um microrganismo específico. A estrutura da SDZ apresenta grupo funcional toxofórico (-SO₂ e NH-) que é responsável por uma resposta tóxica dos fármacos. A complexação de SDZ com outros fármacos e íons metálicos mostraram que os novos compostos formados, tornam-se mais ativos, melhorando a eficácia farmacológica e podem reduzir a resistência aos fármacos, melhorando seu efeito antimicrobiano (PORTES et al., 2018; FAHAD et al., 2021).

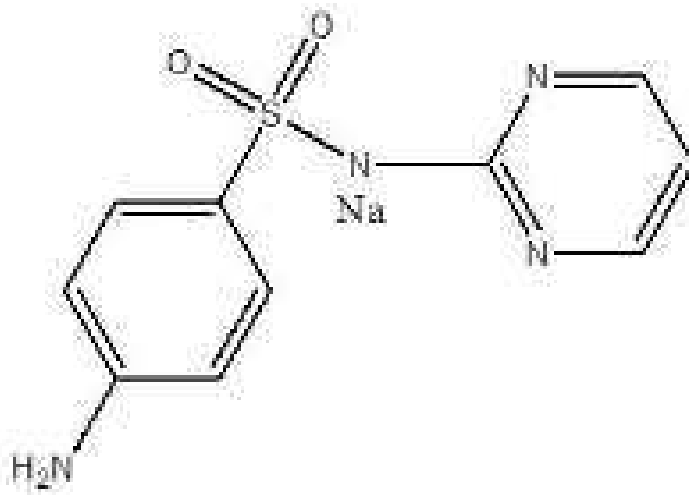
Trabalho publicado por Boughoual et al., (2018) complexou ligantes de sulfonamida com cobre e os caracterizou quanto à sua estrutura e atividade antimicrobiana, resultando em procedimento fácil, reprodutível e com boas propriedades antimicrobianas. Dumitriu et al.,(2015), conjugou Sulfadiazina-quitosana e complexos polieletrólitos com hialuronato de sódio para uso do tratamento de queimaduras e demonstrou que os complexos com quitosana modificada e sulfadiazina são mais ativos do que os complexos contendo quitosana não modificada.

2.5.2 Sulfadiazina de sódio

A sulfadiazina de sódio ou sulfadiazina sódica (SDZ-Na) mostrado na Figura 15, pertence à classe das sulfonamidas de ação curta que quando combinadas com

pirimetamina, são utilizadas para prevenir e tratar infecções bacterianas em gado e aves, infecções congênitas em recém-nascidos, toxoplasmose em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida, meningite sensível, bronquite aguda e ainda como uso tópico em queimaduras infectadas (GENG et al., 2012; ZHOU et al., 2019; DA SILVA et al., 2021). Geralmente os efeitos colaterais para quem usa frequentemente, compreendem diarreia, náusea, febre, depressão e podem levar a suspensão permanente ou temporária do tratamento, que depende do dano causado. Por isso as propriedades terapêuticas/tóxicas da SDZ-Na são constantemente objeto de estudo (BAI et al., 2020; CARDOSO et al., 2022).

Figura 15 - Estrutura química da SDZ-Na



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

3 HIPÓTESES

Os estudos e análises empreendidos partiram da hipótese de que a fonte de carbono proveniente do bagaço de malte pode ser utilizada como meio fermentativo para produção de gomas xantanas, com características físico-químicas próximas ou semelhantes às gomas xantanas comerciais.

Os resultados desta pesquisa deverão mostrar também que o bagaço de malte é um substrato adequado, de baixo custo que minimiza danos ambientais já que a destinação final desse resíduo agrega valor e gera novo produto.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Comprovar que a produção da goma xantana produzida com cepas de *X.campestris* utilizando bagaço de malte como substrato alternativo (XGM) e com sacarose comercial (XGSac) é possível.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar a composição centesimal do resíduo cervejeiro;
- Avaliar a estrutura monomérica das gomas por espectroscopia na região do infravermelho (FTIR);
- Avaliar o perfil térmico das gomas por análise termogravimétrica (TGA) e por análise térmica diferencial (DTA);
- Avaliar a estabilidade coloidal das gomas em solução aquosa através de medidas de potencial zeta (ZP) e condutividade elétrica.
- Determinar o diâmetro hidrodinâmico das moléculas/agregados gomas em solução aquosa por espalhamento de luz dinâmico (DLS);
- Determinar os regimes de concentração das soluções das gomas, por reologia estacionária.
- Analisar o comportamento reológico estacionário das soluções macromoleculares através da identificação do tipo de fluido, construindo curvas de fluxo e de viscosidade;
- Avaliar a microestrutura das soluções poliméricas por reologia dinâmico-oscilatória;

- Complexar a goma xantana produzida com bagaço de malte (XGM), com Sulfadiazina de sódio (SDZ-Na) e caracterizá-las sob os pontos de vista estrutural, termodinâmico e reológico, além de avaliar sua ação antimicrobiana.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios Multiusuário de Físico-Química & Fluidos e Laboratório de Alimentos do Instituto de Ciências da Vida - Universidade Federal de Juiz de Fora *campus* Governador Valadares (UFJF-GV).

5.1 Reagentes

Todos os experimentos foram realizados com água ultrapura tipo 1, obtida por Millipore Direct-Q3 UV (Merck, Darmstadt, Germany). Padrões de carboidratos sacarose, glicose, frutose, maltose, goma xantana padrão Sigma Aldrich® (XGS) adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA), goma xantana produzida com soro de leite (XGSL) fornecida pelo Laboratório de Análise de Alimentos e Águas da UFJF. *X.campestris* IBSBF 629 foi obtida da Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico de Campinas/SP. O bagaço de malte foi obtido em cervejaria artesanal de Governador Valadares. Todos os outros produtos químicos e reagentes eram de pureza de grau analítico e usados sem purificação adicional.

5.2 Resíduo cervejeiro (bagaço de malte)

O bagaço de malte foi doado por cervejaria artesanal Hausmalte de Governador Valadares após processo de fabricação da cerveja. O bagaço foi acondicionado em sacos plásticos, lacrados, transportados para o laboratório e armazenados em freezer (-18 °C) até o momento do uso. Antes do uso, fez-se o descongelamento em refrigeração por 12 horas. Em seguida foi feita a hidrólise ácido-térmica do bagaço. A Figura 16 mostra o bagaço na forma bruta e hidrolisada.

Figura 16 - Bagaço de malte bruto (A) e hidrolisado (B)

A)



B)



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Condições da hidrólise ácido-térmica:

- 150g de bagaço de malte por litro de água destilada;
- Ajuste de pH entre 2,0 – 2,5 com HCl;
- Autoclavagem a 121°C por 15 minutos;
- Resfriamento em temperatura ambiente;
- Neutralização até pH $7,0 \pm 0,3$ com NaOH;
- Filtração.

5.3 Composição centesimal do resíduo cervejeiro (bagaço de malte)

Foram determinados os teores de proteína, resíduo mineral fixo, umidade e carboidratos por diferença. Também foi feita a quantificação separada dos carboidratos (glicose, frutose, sacarose) presentes nas amostras. As metodologias estão descritas a seguir.

5.3.1 Umidade

Umidade foi determinada pelo método de secagem em estufa a 105 °C, até obtenção de peso constante, de acordo com Association of Official Analytical Chemists (AOAC,1995).

5.3.2 Resíduo mineral fixo

O teor de cinzas foi determinado por incineração de uma quantidade conhecida de amostra em mufla a 700 °C até obtenção de peso constante, de acordo com (AOAC, 1995).

5.3.3 Proteína bruta

A porcentagem de proteína bruta foi dosada pelo método de Kjeldahl. A amostra foi digerida com a mistura digestora (sulfato de cobre e sulfato de potássio) e ácido sulfúrico. Em seguida, foi realizada a neutralização com NaOH 50%, destilação e posterior titulação com solução de ácido clorídrico 1 N. Os resultados foram expressos

em porcentagem em relação ao peso da amostra partir dos teores de nitrogênio total usando o fator de conversão geral de 6,25 (AOAC, 1995).

5.3.4 Lipídios totais

O conteúdo de lipídios totais foi determinado pelo método gravimétrico de Soxhlet, baseado na perda de massa da amostra submetida a extração com éter etílico ou a quantidade de material solubilizado pelo solvente com resultados expressos em porcentagem (AOAC, 1995).

5.3.5 Carboidratos por diferença

O teor de carboidratos foi determinado pela diferença entre 100 e a soma das porcentagens de umidade, proteínas brutas, resíduo mineral fixo e lipídios totais. Os valores de carboidratos encontrados incluem a fibra alimentar total. Essa fração representa a fonte de carbono disponível para bioconversão da XG pelas cepas de *X. campestris* IBSBF 629.

5.3.6 Açúcares por CLAE

O método para determinação de açúcares utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), foi adaptado de David et al., (2016). O cromatógrafo usado foi o Jasco HPLC System, utilizando uma coluna Kromasil 100-5-NH2 4,6 x 250 mm, fase móvel acetonitrila (75 %)/água (25 %) com um fluxo de 1 mL/min, e temperatura da coluna mantida a 30°C conforme recomendação do fabricante (Kromasil, 2019), O detector

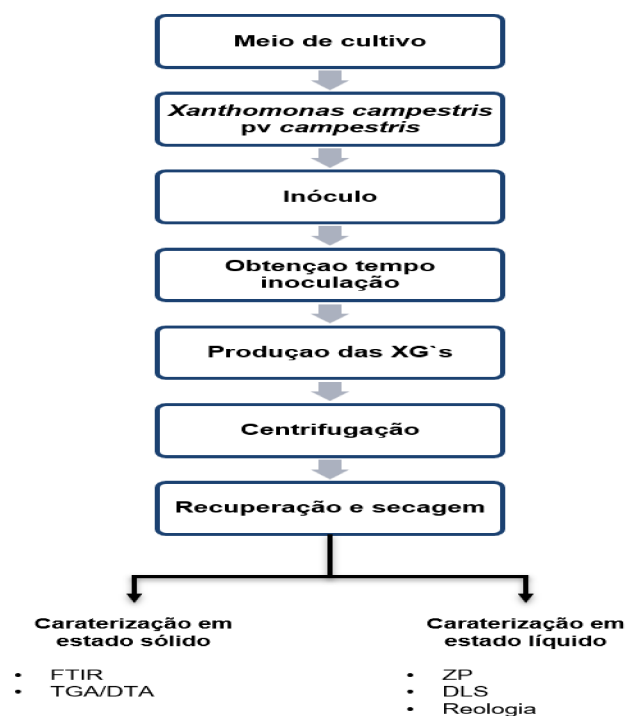
utilizado foi o Índice de Refração Jasco (modelo RI-2031) com um volume de injeção de 20 µL. As soluções padrões dos carboidratos foram preparadas com água Milli Q (Millipore) e filtradas em filtro membranas com porosidade 0,45 µm (Millipore).

Para identificar os açúcares, comparamos o tempo de retenção (Rt) entre os padrões (frutose, glicose e maltose) utilizados e as amostras de resíduo fermentado e não fermentado. A quantificação foi pela obtenção de curvas de calibração obtidas com um intervalo de linearidade para soluções aquosas dos padrões entre 2,0 a 50,0 g/L, com um coeficiente de correlação R-quadrado de 0,999.

5.4 Produção da goma

O fluxograma da Figura 17, mostra as etapas de produção e caracterização das XG's.

Figura 17 - Fluxograma de produção das gomas XGM e XGSac



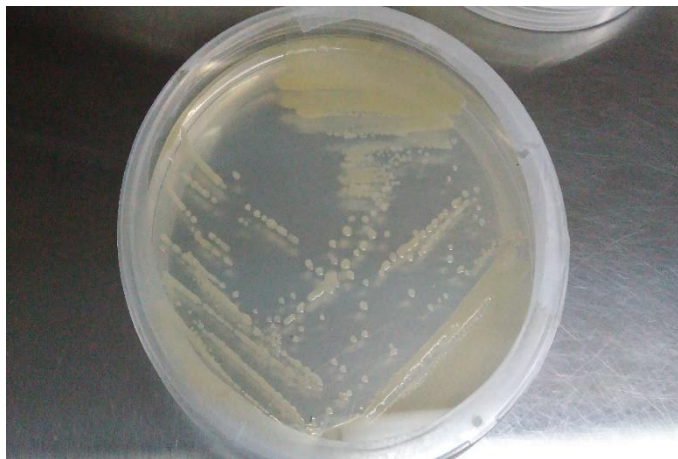
Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

5.4.1 Microrganismo

O microrganismo *X. campestris* IBSBF 629 (Figura 18) foi obtido da Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico de Campinas/SP. A reativação seguiu o protocolo encaminhado pelo fornecedor e todo o procedimento foi realizado de forma asséptica. Posteriormente, as alíquotas foram transferidas para microtubos estéreis (Eppendorf) com adição de agente crioprotetor estéril (glicerol 30 %), identificadas e estocadas em temperatura de -18 °C, em freezer.

Para verificar características morfológicas, procedeu-se à repicagem da cepa. O ágar Nutriente, contendo (% m/v) 0,1 % extrato de carne; 0,2 % extrato de levedura; 0,5 % peptona; 0,5% NaCl e 1,5 % de ágar puro foi esterilizado à temperatura de 121 °C por 15 minutos e vertido em placa de Petri estéril. Posteriormente, a cultura foi estriada e incubada em estufa a 28 ± 2 °C por 48 h. Os repiques foram realizados a cada 5 dias e armazenados a ± 4 °C a fim de verificar a manutenção das características morfológicas das colônias durante a realização do experimento.

Figura 18 - Colônia de *X. campestris* utilizada na produção das gomas



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

5.4.2 Inóculo

Uma alíquota de 100 mL do meio de cultivo Yeast Malt (YM), contendo (% m/v) 1,0 % dextrose; 0,5 % peptona bacteriológica; 0,3 % extrato de levedura; 0,3 % extrato de malte e com pH ajustado para 7,0 (solução de NaOH e HCl) foi vertida para 3 frascos erlenmeyers de 500 mL. A esterilização foi realizada por meio de vapor úmido (autoclave) a 121 °C por 15 min. O meio foi esfriado, inoculado com 3 alçadas (10 µL) da cultura de *Xanthomonas campestris* pv *campestris* que estavam estocadas a -18°C em freezer e incubado a 28 ± 2 °C, 150 rpm, 48 h em incubadora refrigerada Shaker (SAMPAIO et al., 2020).

5.4.3 Obtenção do tempo de inoculação – Curva de crescimento microbiano do inóculo

Foram preparados 10 erlenmeyers contendo 10 mL meio de cultura YM autoclavado e 10 µL do inóculo (alça bacteriológica) que foram incubados a 28 ± 2 °C, 150 rpm, por 48 h, para monitorar o crescimento das bactérias, a produção de goma e obtenção do ponto ótimo de inoculação. De forma asséptica, foram retiradas alíquotas a cada 3 h e realizadas medidas de absorvância a 600 nm em espectrofotômetro UV-Vis BEL (modelo V-M51) contra um branco constituído somente do meio de cultura YM autoclavado. A contagem de células viáveis foi feita pela técnica de profundidade (*Pour Plate*) com plaqueamento em duplicata de 1 mL do meio diluído (1:1; 1:10 e 1:100) em ágar nutriente fundido e incubado a 28 ± 2 °C por 48 h (DINIZ et al., 2012). Desse modo, uma curva de crescimento da biomassa do inóculo foi construída a partir dos resultados da absorvância em função do tempo de inoculação e a contagem de células viáveis foi expressa em UFC/mL.

5.4.4 Produção da goma xantana com sacarose (XGSac)

A produção da goma utilizando sacarose foi feita como meio controle/comparação já que a fonte de carboidrato é a mais utilizada para essa XG em escala comercial. O meio padrão foi composto com nutrientes mínimos necessários para fermentação que consistia em fonte de carbono (20 % sacarose), fonte de nitrogênio (0,05% de ureia) e fonte de fósforo (0,1% de fosfato de potássio). Oito frascos de 1000 mL foram utilizados contendo 500 mL do meio padrão utilizando sacarose como fonte de carbono e 75 mL do inóculo de *X. campestris* crescido por 27 h e com pH ajustado para 7,0. A fermentação foi realizada em incubadora refrigerada Shaker (Figura 19) a temperatura de 28 ± 2 °C, agitação de 150 rpm, por um tempo de 120 h nas instalações do Laboratório de Pesquisa em Microbiologia da UFJF/GV.

Figura 19 - Incubadora refrigerada Shaker utilizada na fermentação das gomas



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

5.4.5 Produção da goma xantana com bagaço de malte (XGM)

Para a produção da goma utilizando bagaço de malte hidrolisado, o meio convencional foi composto de bagaço de malte em substituição à sacarose como fonte de carbono (20%), acrescido de 0,05% de ureia (fonte de nitrogênio) e 0,1% de fosfato de potássio (fonte de fósforo). Foram utilizados 8 frascos de 1000 mL contendo 500 mL do meio convencional e 75 mL do inóculo de *X. campestris* incubado por 27 h com pH ajustado para 7,0. A fermentação foi realizada em incubadora refrigerada Shaker a temperatura de 28 ± 2 °C, agitação de 150 rpm, por um tempo de 120 h nas instalações do Laboratório de Pesquisa em Microbiologia da UFJF/GV.

5.4.6 Precipitação e purificação

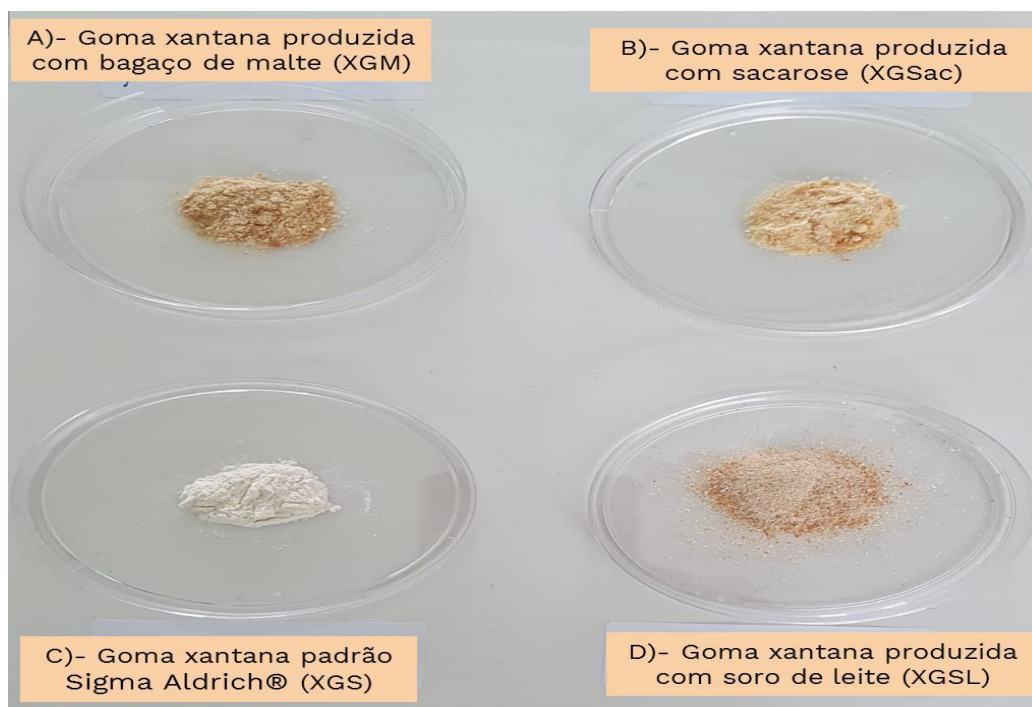
O fermentado foi centrifugado com uma velocidade de 6.000 rpm, por 35 min a 4 °C, em centrífuga refrigerada de bancada Solab (modelo SL-706) para remoção de células viáveis. O sobrenadante foi purificado com adição de etanol 96 °GL na proporção de 1:3 V/V.

5.4.7 Recuperação e secagem

Os biopolímeros foram transferidos com auxílio de bastão de vidro para béqueres previamente tarados e secos em estufa a vácuo na temperatura de 40 °C por 48 h. Após esse tempo, os béqueres foram levados ao liofilizador por 96 h. Por gravimetria, o rendimento em termos de massa de XG por massa de meio fermentativo foi calculado e os valores foram expressos em g/g (g de goma por 100 g de fonte carbono). A Figura 20

mostra os aspectos das gomas XGM e XGSac produzidas e gomas XGS e XGSL para comparação.

Figura 20 - Aspecto das XG produzidas (A) XGM, (B) XGSac e gomas de comparação (C) XGS e (D) XGSL



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

5.5 Caracterização das gomas produzidas

5.5.1 Espectroscopia na região do infravermelho

Os principais grupos funcionais presentes na estrutura das XGs foram identificados e caracterizados no estado sólido por espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) usando um espectrofotômetro Perkin

Elmer (Modelo Spectrum GX) (Figura 21). Pastilhas de cada amostra foram preparadas separadamente usando brometo de potássio (KBr) como suporte. Os espectros foram adquiridos em modo de transmitância (%) em um intervalo de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e média de 12 varreduras, utilizando o programa Perkin Elmer Spectrum ES (versão do aplicativo: 10.03.08.0133). Os dados foram exportados para o Microcal Origin® 9.0 para edição.

Figura 21 - Espectrofotômetro de infravermelho utilizado na caracterização das gomas



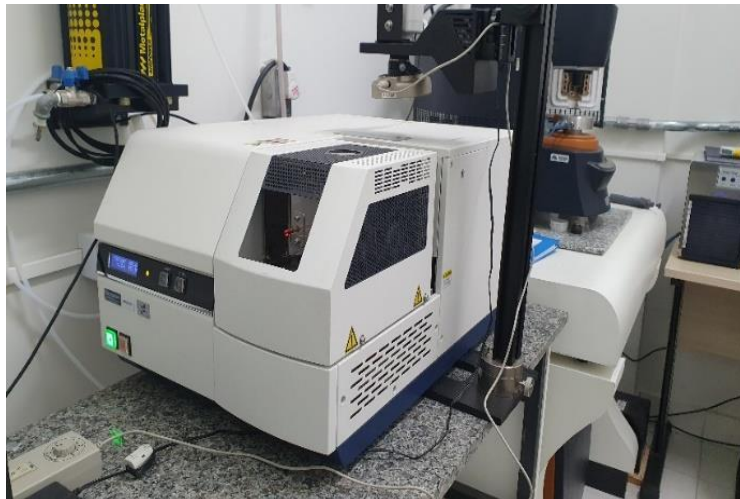
Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

5.5.2 Análise Termogravimétrica e Análise Térmica Diferencial (TGA/DTA)

A estabilidade térmica das XGs no estado sólido foi determinada por análise termogravimétrica (TGA) e análise térmica diferencial (DTA). O TGA/DTA forneceu informações sobre as faixas de temperatura, perda de massa e degradação térmica. O módulo utilizado foi o DTA/TGA-HITACHI (modelo STA7200RV), conforme Figura 22. As análises foram realizadas em atmosfera oxidante (ar) com fluxo de 300 mL/min, com rampa de temperatura de 10 a 800 $^{\circ}\text{C}$ e a uma taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Durante os experimentos, foram utilizados cadinhos de alumina e com massa aproximada de 2 mg de amostra.

Figura 22 - Analisador termogravimétrico TGA/DTA utilizado para determinação do perfil térmico das gomas



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

5.5.3 Estudo de agregação das gomas

As medidas de potencial zeta (ZP) e condutividade elétrica foram realizadas em soluções de xantana nas concentrações entre 0,005 a 20,0 g/L, preparadas em água ultra pura (Milli-Q, tipo 1). As análises foram realizadas no módulo Zeta Sizer Malvern (modelo NanoZS90), conforme Figura 23. A técnica utilizada foi padronizada pelo fabricante, chamada de velocimetria por laser doppler (*Laser Doppler Velocimetry*) acoplado com “M3-PALS análise de fase por espalhamento de luz (*Phase Analysis Light Scattering*)”, a um ângulo de espalhamento de luz a 173°. Uma cubeta de polietileno com eletrodos, específica do equipamento, foi utilizada para colocar a amostra. Os resultados

de ZP e condutividade elétrica foram calculados como a média de 5 medidas independentes, cada qual obtida pela média de 10 contagens. Os dados foram tratados com o programa Microcal Origin® 9.0.

A medida de tamanho de partículas das XGs em solução aquosa foram avaliadas por espalhamento dinâmico de luz (Dynamic Light Scattering – DLS) utilizando as mesmas soluções descritas acima. Também foi utilizando o módulo Zeta Sizer Malvern (modelo NanoZS90), a 25 °C, depois de 15 segundos de equilíbrio térmico. O feixe de luz monocromático (laser He–Ne de 4 mW de potência e comprimento de onda de 633 nm) com espalhamento de luz medido a um ângulo de 90° foi aplicado em cubeta descartável de polietileno de 1 cm de caminho óptico, que foi utilizada para colocar a amostra. Os resultados do tamanho (Dh) foram determinados pela média de 5 medidas independentes, cada uma delas obtida a partir da média de 5 contagens. Os dados foram tratados com o programa Microcal Origin® 9.0.

Figura 23 - Medidor de potencial zeta (ZP) e diâmetro hidrodinâmico (Dh)



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

5.5.4 Determinação dos parâmetros reológicos das soluções

O comportamento reológico das XGs nas concentrações entre 0,005 a 20,0 g/L foram avaliados por reologia estacionária, através da construção de curvas de fluxo e de viscosidade, varrendo-se a tensão de cisalhamento (τ) em função da taxa de cisalhamento ($\dot{\varphi}$), utilizando um reômetro rotacional estacionário de taxa de tensão controlada T.A. Instruments® (modelo DHR-1) (Figura 24), equipado com geometria placa-placa (PP25/S-SN 15782; $d = 1.0$ mm), com controle de temperatura através da placa com sistema Peltier ($25,00 \approx 0,02$ °C).

Ensaio de reologia oscilatória foram aplicados com o objetivo de determinar as propriedades viscoelásticas das XGs através de construção de curvas dos módulos de armazenamento e perda (G' e G'') e fator de amortecimento ($\tan\delta$), em função da amplitude de deformação ($\gamma\%$) e frequência angular (ω). O equipamento utilizado foi o mesmo para reologia estacionária.

Figura 24 - Rêmetro DHR1 utilizado para caracterização das gomas



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

5.5.5 Determinação da osmolalidade das gomas

A medida genérica da concentração das moléculas que fazem parte das gomas, foram determinadas pela Osmometria de ponto de congelamento. Essa medida se baseia na quantidade de moléculas que cada solução contém, independente da sua natureza. Dessa forma, soluções contendo um número igual de moléculas, exibem a mesma osmolalidade.

A osmolalidade das XGs foi realizada no Semi-micro osmômetro Kanuer, (modelo K-7400s) conforme mostrado na Figura 25. As concentrações utilizadas foram entre 0,005 a 20,0 g/L e os dados foram tratados com o programa Microcal Origin® 9.0.

Figura 25 - Osmômetro de ponto de congelamento utilizando para caracterização das gomas



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

5.6 Preparo e caracterização do complexo Sulfadiazina de sódio e goma xantana produzida com resíduo de malte

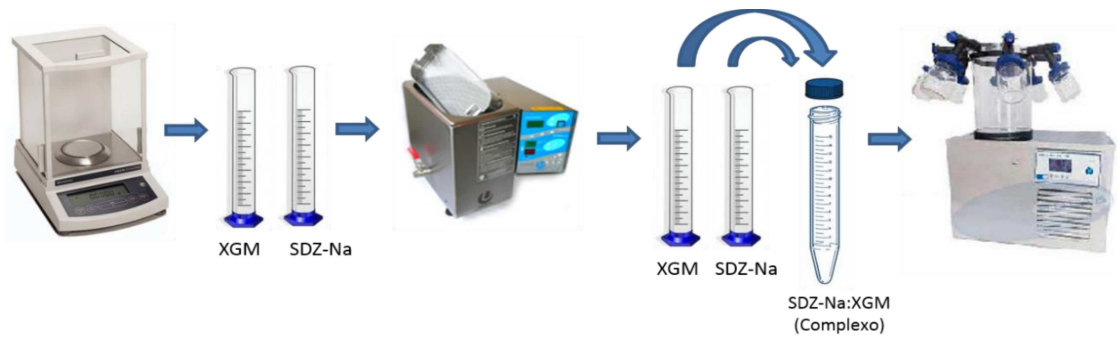
5.6.1 Matérias-primas e reagentes

- XGM biossintetizada anteriormente.
- Sulfadiazina de sódio (PM: 273,0 g/mol)
- H₂O ultrapura tipo 1, para o preparo das soluções;
- Solução salina;
- Caldo Mueller Hinton;
- Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB);
- Ágar Sal Manitol
- Álcool isopropílico acidificado;
- *Staphylococcus aureus* ATCC (1369061).
- *Escherichia coli* ATCC (25922)
- *Salmonella typhimurium* ATCC (14028)
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853)

5.6.2 Preparo do complexo (SDZ-Na/XGM)

Foram preparadas e solubilizadas separadamente, soluções de 1,0 g de XGM em 7,5 mL de água ultrapura tipo 1 e 0,6825 g de SDZ-Na em 2,5 mL de água ultrapura tipo 1. Em seguida as soluções foram misturadas totalizando um volume de 10 mL em tubo Falcon de 15 mL. A suspensão foi congelada e liofilizada. O esquema da Figura 26 mostra o preparo do complexo.

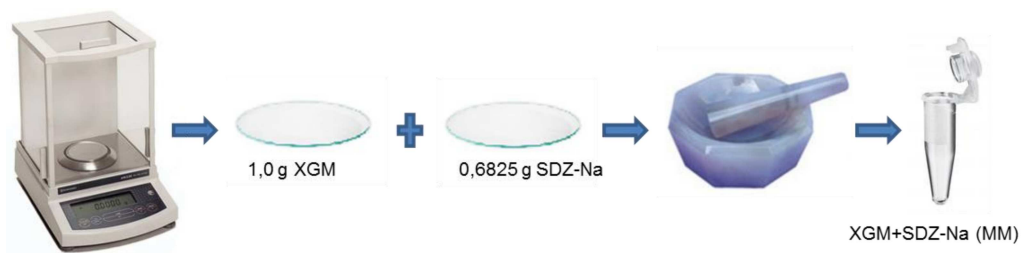
Figura 26 - Esquema de obtenção do complexo SDZ-Na/XGM



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Para comparar as análises em estado sólido, realizou-se mistura mecânica (MM) de SDZ-Na com XGM nas mesmas proporções descritas anteriormente. Procedeu-se a homogeneização em grau de porcelana e acondicionamento em Eppendorf conforme esquema da Figura 27.

Figura 27 - Esquema de obtenção de mistura mecânica do complexo SDZ-Na/XGM



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

5.6.3 Caracterização do complexo liofilizado de SDZ-Na/XGM

Da mesma forma com que foram caracterizadas as gomas produzidas com XGSac, XGSL, XGM e goma comercial XGS, procedeu-se à caracterização da Sulfadiazina de sódio (SDZ-Na), do complexo SDZ-Na/XGM e da mistura mecânica (MM). Foram utilizados os mesmos equipamentos, parâmetros e metodologias já descritos acima na espectroscopia na região do infravermelho e análises térmicas (DTA e TGA). Para complementação do estudo, foram realizadas titulações por condutividade elétrica e potencial Zeta, titulações isotérmicas por microcalorimetria, determinação dos parâmetros reológicos e ensaios antimicrobianos conforme descritos a seguir.

5.6.3.1 Titulações por condutividade elétrica e potencial Zeta

A formação do complexo foi monitorada por titulações com medidas de potencial zeta dos complexos SDZ-Na/XGM, realizadas com 30 injeções de 10 μL de solução de SDZ-Na na concentração 60 mM em 1,5 mL de solução de XGM a 2,0 g/L. Foram utilizadas cubetas capilar de polietileno e cubeta acoplada a eletrodos, específica para medição de potencial zeta. O equipamento e as configurações utilizadas são as mesmas dos experimentos descritos acima.

5.6.3.2 Calorimetria de titulação isotérmica

Para determinar alterações nas propriedades termodinâmicas em decorrência da complexação, foi realizado a calorimetria de titulação isotérmica utilizando o Microcalorímetro Microcal (modelo VP-ITC) (Figura 28), calibrado com os seguintes parâmetros: 51 injeções automáticas de 6,3 μL de titulante (solução SDZ-Na a 60 mM) em 1,5 mL do titulado (solução de XGM 2,0 g/L), com temperatura controlada a 25° C e rotação em 300 rpm.

A primeira injeção de 1 μ L foi descartada a fim de eliminar os efeitos de difusão de material da seringa para a célula e vice-versa.

Em paralelo, um branco foi feito com a titulação de solução SDZ-Na a 60 mM em 1,5 mL de água ultrapura tipo 1. Os experimentos foram realizados em duplicata e os dados tratados com programa Microcal Origin® 9.0.

Figura 28 - Microcalorímetro VP-ITC utilizado na determinação de propriedades termodinâmicas



Fonte: Elaborado pelo autor, (2022).

5.6.3.3 Caracterização reológica de suspensão SDZ-Na/XGM

A formação do complexo SDZ-Na/XGM foi monitorada por titulação viscosimétrica com injeções manuais de 63 μ L de solução de SDZ a 240 mM em 15 mL de solução de XGM 2,0 g/L. O experimento foi realizado no reômetro DHR1 da T.A. Instruments, utilizando acessório de cilindros concêntricos com controle Peltier de temperatura. Os valores de viscosidade de cada titulação foram inseridos manualmente em uma planilha, onde foram tratados e plotados gráficos com auxílio do programa Origin® 9.

A suspensão residual após titulação, contendo o complexo SDZ-Na/XGM na razão 0,00105 mol/g foi submetida a cisalhamento estacionário onde foram construídas curvas de fluxo e viscosidade com uma taxa de cisalhamento variando entre 1 a 1000 s⁻¹ e de 1000 a 1s⁻¹. e com temperatura mantida a 20 °C. Os experimentos em função da temperatura foram realizados varrendo-se a temperatura no intervalo de 5 a 60 °C aproximadamente, a uma taxa de cisalhamento de 10 s⁻¹.

5.6.3.4 Ensaios antimicrobianos – Concentração inibitória mínima (CIM)

5.6.3.4.1 Microrganismo utilizado

Os microrganismos *S. aureus* (29923), *E. coli* (ATCC 25922), *Salmonella* (ATCC 14028) e *P.aeruginosa* (ATCC 27853) foram obtidos da coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares. As linhagens estavam armazenadas em eppendorfs com adição de agente crioprotetor estéril, identificadas e estocadas em freezer a temperatura de -18°C.

5.6.3.4.2 Determinação do CIM frente a SDZ-Na, XGM e complexo SDZ-Na/XGM por microdiluição

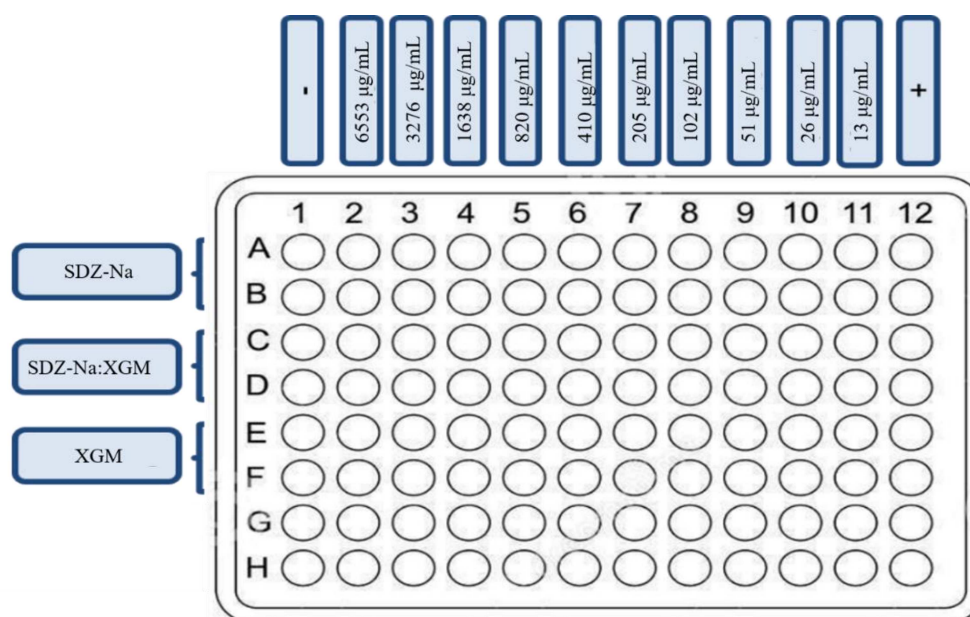
A determinação das CIM's das linhagens de *E. coli*, *S.aureus*, *Salmonella* e *P.aeruginosa*, foram realizadas em placa de microdiluição de 96 poços, utilizando o método de diluição seriada em caldo Mueller-Hinton (MH), frente às soluções de SDZ-Na, complexo liofilizado SDZ-Na/XGM e XGM. A metodologia utilizada foi o teste padrão de susceptibilidade antimicrobiana M7-A6 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015), com modificações.

Para preparação e ativação do inóculo, as linhagens foram semeadas em placa de Petri contendo Ágar Eosina azul de metileno (EMB) para *E.coli*, ágar sal manitol para *S.aureus*, ágar EMB levine para *Salmonella* e caldo BHI para *P. aeruginosa* que foram incubados a 37 °C por 24 h. Foram selecionadas 3 colônias isoladas do mesmo tipo morfológicos e transferidas para tubos de ensaio contendo 5 mL de solução salina 0,85% estéril. As suspensões foram homogeneizadas e padronizadas usando espectrofotômetro BEL (modelo UV 51) em comprimento de onda de 625 nm. Foi adicionada salina até alcançar absorvância próximo a 0,162, resultando em uma suspensão com aproximadamente de 1 a 2 x 10⁸ UFC/mL (CLSI, 2015).

Soluções de 0,0655 g/L de SDZ-Na, 0,1616 g/L de SDZ-Na/XGM e 0,0960 g/L de XGM foram preparadas e em seguidas feitas diluições seriadas em caldo MH obtendo-se concentrações totais variassem de 13 a 6553 µg/mL. Os cálculos e procedimentos efetuados obtiveram a proporção 2,5 mmol de SDZ-Na para 1 g de XGM, que foi a proporção encontrada nas análises de interação no ITC, correspondendo a 0,6825 g ou 40,56% de SDZ-Na no complexo.

A microplaca de 96 poços foi dividida conforme mostra a Figura 29.

Figura 29 - Esquema de microdiluição de SDZ-Na



Fonte: Elaborado pelo autor, (2022).

Fileiras A e B com diluições seriadas de SDZ-Na, fileiras C e D com diluições seriadas do complexo SDZ-Na/XGM e nas fileiras E e F, diluições seriadas de XGM. A cada poço, foram adicionado 100 µL de cada concentração definida anteriormente e em seguida, novamente em cada poço, foram adicionados 5 µL de cada inóculo bacteriano. O controle negativo, o não crescimento, foi adicionado somente 100 µL de caldo MH na coluna 1. O controle positivo, utilizado para ver o crescimento, foi adicionado de 100 µL de caldo MH e 5 µL de cada inóculo bacteriano na coluna 12. As placas foram incubadas por 24 horas a 37 °C. A leitura da placa foi realizada com adição de 10 µL de corante 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difenil brometo de tetrazolium (MTT) e incubadas novamente por 1 hora a 37 °C. Após esse tempo, foi adicionado 100 µL de isopropanol acidificado e realizado a leitura em espectrofotômetro de microplaca Thermo Electron (modelo Multiskan FC) no comprimento de onda a 570 nm (Figura 30). A CIM foi considerada a

menor concentração de inibiu 100% da atividade microbiana em comparação com o controle positivo. Os experimentos foram realizados em duplicata.

Figura 30 - Espectrofotômetro de placas Multiskan utilizado na leitura de placas



Fonte: O autor, (2022).

5.6.3.4.3 Definição de modelo matemático do crescimento de microrganismos

Para melhor entendimento do crescimento dos microrganismos (absorbância) em relação ao tempo de incubação (24 horas), foi utilizado uma concentração fixa de 3276 µg/mL de SDZ-Na, SDZ-Na/XGM e XGM onde foi estabelecido que, a partir das análises dos dados, utilizando modelos cinéticos de primeira ordem que estimasse a taxa de crescimento microbiano em função do tempo de incubação, resultaria em curvas de sobrevivência onde as variáveis dependentes seriam a concentração do microrganismos e as independentes o tipo de composto (SDZ-Na, SDZ-Na/XGM e XGM) (HABERBECK et al., 2018).

Em processos biotecnológicos, os modelos cinéticos são divididos em estruturados que no geral são pouco utilizados devido a sua complexidade de informações, e não estruturados, que são mais utilizados pela sua simplicidade e descrição de processo, baseado em observações experimentais, com possibilidade de descrever as diferentes sensibilidades dos microrganismos em função dos parâmetros testados. Dentre os modelos não estruturados, destacam-se os modelos de Haldane, Monod e o modelo logístico (LIU et al., 2003; FANAIEI & VAZIRI, 2009).

O modelo logístico empregado utiliza de um crescimento logístico em que a taxa de crescimento populacional se torna menor à medida que o tamanho da população se aproxima de um máximo que é imposto por recursos limitantes no ambiente. O crescimento produz uma curva em forma sigmoideal. A equação logística (Eq. 1) apresenta uma adequada aproximação da curva de crescimento que inclui as fases, lag, log, exponencial e estacionária dos microrganismos (FANAIEI; VAZIRI, 2009). A equação em forma integrada é apresentada como:

$$Y = \frac{a}{1+be^{-kt}} \quad (\text{Eq.1})$$

Onde Y é a concentração microbiana em seu valor máximo, K_t é a constante de velocidade de crescimento, a o valor de absorvância e b , similar às equações cinéticas de 1ª ordem, é um parâmetro proporcional à concentração inicial de células inoculadas. Os valores de absorvância foram obtidos utilizando espectrofotômetro de microplaca Thermo Electron (modelo Multiskan FC) contra um branco constituído somente da cultura, resultando na representação gráfica absorvância *versus* tempo de incubação, permitindo o levantamento do rendimento de crescimento do microrganismo.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir, na seção 7.1 estão apresentados os resultados de produção e caracterização das gomas xantanas produzidas com sacarose (XGSac) e com bagaço de malte (XGM). Para questões de comparação e enriquecimento do trabalho, a goma xantana padrão Sigma Aldrich® (XGS) e goma xantana produzida com soro de leite (XGSL) também foram caracterizadas com os mesmos métodos.

Na seção 7.2 estão apresentados os resultados de preparo e caracterização do complexo SDZ-Na/XGM.

6.1 Gomas xantanas

6.1.1 Composição centesimal do bagaço de malte

Na Tabela 2, estão apresentados os valores médios da caracterização físico-química do bagaço de malte não hidrolisado e bagaço de malte hidrolisado. O bagaço de malte hidrolisado foi utilizado como substrato alternativo para obtenção da goma xantana (XGM).

Tabela 2 – Composição centesimal do bagaço de malte não hidrolisado e bagaço de malte hidrolisado que foi utilizado para produção das gomas

Parâmetros	Bagaço não hidrolisado	Bagaço hidrolisado
% Umidade	95,72	91,02
% Resíduo mineral fixo	0,57	0,74
% Proteína	1,10	0,70
% Lipídeos totais	0,54	0,31
% Carboidratos por diferença	2,07	7,23

Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

O bagaço de malte hidrolisado utilizado no processo fermentativo apresentou 91,02% de umidade, 0,74 de resíduo mineral fixo, 0,70% de proteínas, 0,31 de lipídios e 7,23 de carboidratos. Os resultados sugerem que esses compostos são indicados para fermentação das *X. campestris pv campestris*, já que fazem parte dos nutrientes mínimos para o crescimento celular e conseqüentemente produção de XG. Os resultados encontrados aqui foram similares quando comparados com outros estudos que também utilizaram resíduos para produção de XG (DRUZIAN et. Al., 2007; BRANDÃO et. Al., 2008; DINIZ et al., 2012).

Tanto o bagaço não hidrolisado quanto o hidrolisado, possuem teores significativos de carboidratos e proteínas, permitindo assim sua utilização para o crescimento celular das bactérias de *X. campestris pv campestris* e assim biossintetizar e acumular o polímero de goma xantana. Geralmente, meios fermentativos utilizam de 1 a 5% de fonte de carbono, 0,05 a 0,1% de fonte de nitrogênio, traços de magnésio, fósforo e minerais (BORGES & VENDRUSCOLO, 2008; SCHMID et al., 2015; LOPES et al., 2015). Dessa forma, houve suplementação de nitrogênio (0,05% ureia) e fósforo (0,1% fosfato de potássio) no meio fermentativo para produção de XGM e XGSac. Uma hidrólise termo ácida foi realizada no bagaço, aumentando assim sua disponibilidade de

carboidratos no meio fermentativo, que anteriormente era 2,07 %, para 7,23 %. A hidrólise permitiu que os resíduos fossem melhor aproveitados já que a ação da acidez e temperatura liberou mais micronutrientes. Na forma não hidrolisada e não livre, os nutrientes estão em tamanhos maiores (macronutrientes). Além disso, a hidrólise permitiu a utilização na forma líquida onde, antes de fermentar, o substrato e meio de cultivo ficaram mais homogêneos.

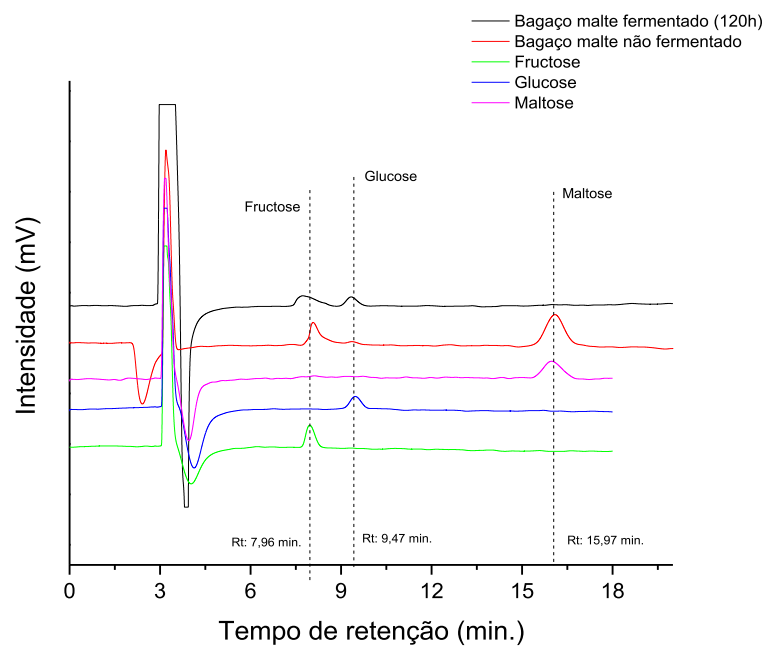
Nesse trabalho a relação C:N foi de 10,3:1. A relação entre fontes de carbono e nitrogênio (C:N) é um importante parâmetro a ser considerado na produção de XG's. Normalmente, baixas concentrações de ambos são úteis para a produção. Para haver um rápido crescimento celular, é necessária uma elevada concentração de nitrogênio. Já, para favorecer o acúmulo do polímero, o ideal é um elevado teor de carbono. (SUTHERLAND, 1998, BORGES & VENDRUSCOLO, 2008). Aperfeiçoar as condições para o crescimento celular é uma escolha assertiva para uma maior produção em escala industrial.

6.1.2 Determinação de açúcares por CLAE

A Figura 31 apresenta os cromatogramas onde é possível identificar açúcares presentes no bagaço de malte hidrolisado não fermentado e após 120 h de fermentação e dos padrões de frutose, glicose e maltose. Observa-se que os picos de açúcares encontrados bagaço de malte hidrolisado não fermentado e fermentado, foram equivalentes aos tempos de retenções (Rt) de frutose (7,96 min), glicose (9,47 min) e maltose (15,97 min), demonstrando que o bagaço de malte tem esses açúcares em sua composição. Além disso, é possível observar que no bagaço de malte hidrolisado após 120 h de fermentação, não houve quantificação da maltose, sugerindo que esse açúcar tenha sido utilizado preferencialmente pela *X. campestris* pv *campestris* para produção de XGM, embora a glicose e sacarose sejam as fontes de carbono mais utilizadas comercialmente. Na somatória dos açúcares quantificados por CLAE, o quantitativo de

4,12% encontrado, foi o suficiente para produção de XGM confirmando assim que o resíduo de bagaço de malte hidrolisado é um substrato alternativo para o crescimento celular das bactérias de *X. campestris pv campestris* e produção de goma xantana.

Figura 31 - Cromatogramas das soluções padrões e do bagaço de malte fermentado e não fermentado



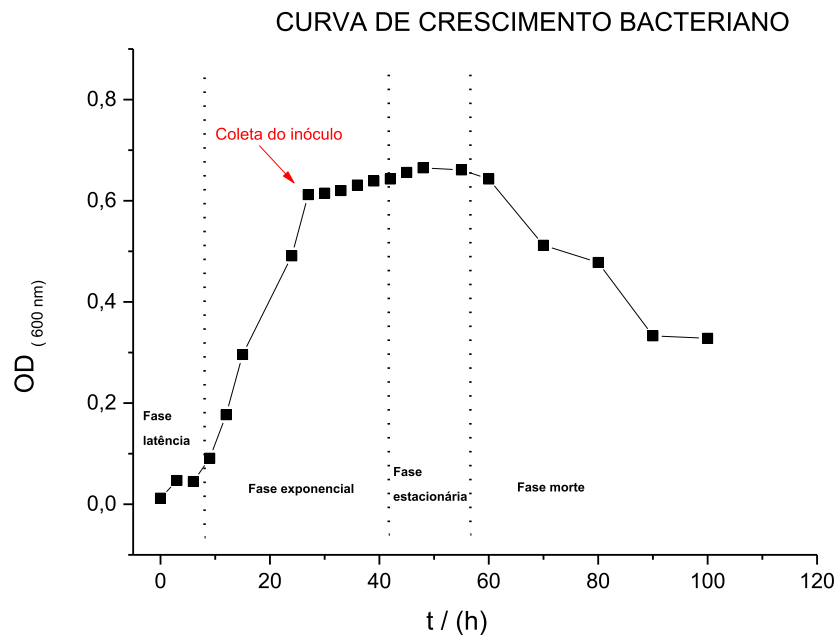
Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

6.1.3 Crescimento bacteriano de *Xanthomonas campestris pv campestris*

Para obtenção das informações das fases de crescimento bacteriano, foram construídas curvas de densidade óptica (a 600 nm) em função do tempo para estabelecer

o melhor tempo de incubação e concentração celular para transferência dos inóculos para produção da XG. A Figura 32 mostra a curva de crescimento celular da bactéria acompanhada do aumento da concentração celular em função do tempo. Entre $t = 0$ h (tempo zero) e $t = 6$ h, é predominante a fase de latência onde as células estão se adaptando ao meio com produção de enzimas que são necessárias ao crescimento e metabolismo dos carboidratos e proteínas presentes no meio. A partir do $t = 9$ h, verifica-se um aumento de densidade ótica, ou seja, crescimento celular que se estendeu até o $t = 27$ h que foi o tempo escolhido para transferência de inóculos para os experimentos, entendendo que, a partir desse tempo há uma desaceleração do crescimento onde a bactéria começa a expressar genes de fase estacionária que estão relacionados com um aumento da resposta a estresses e utilização de outras fontes de energia. A densidade ótica nesse tempo (27 h) foi de 0.600 e a contagem de células feita pelo método de profundidade foi de $1,0 \times 10^7$ UFC/mL. Trabalhos semelhantes utilizaram concentrações acima ou abaixo da que foi utilizada neste estudo (MESOMO et al., 2009; REIS et al., 2010; SOLEYMANPOUR et al., 2018). Entre $t = 30$ h e $t = 70$ h, a bactéria ficou na fase estacionária onde houve esgotamento da fonte de carbono, inibindo assim o aumento da concentração celular, em seguida entrou na fase de morte celular originando um decréscimo de concentração celular.

Figura 32 – Curva de crescimento do inóculo de *X.campestris* com medida de densidade ótica a 600nm em função do tempo, à 28° C e 150 rpm em meio YM



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

6.1.4 Produção das xantanas

A produção de XGs pela bactéria *X. campestris* pv *campestris* utilizando a sacarose como meio controle/comparação (XGSac) apresentou uma produção de 4,21 g/100 g de sacarose, enquanto que utilizando o bagaço de malte (XGM), a produção ficou em 1,96 g/100 g de resíduo de malte. A produtividade obtida com XGM foi menor que a XGSac, como esperado, já que a sacarose é um substrato puro.

Os resultados demonstram que a bactéria (*X. campestris* IBSBF 629) apresentou maior produtividade utilizando sacarose nas mesmas condições de operações. A

preferência da sacarose pela bactéria *Xanthomonas spp.* foi objeto de estudo de vários pesquisadores que chegaram à conclusão de que entre 1 e 5% de sacarose ou glicose, ocorrem as maiores produções de goma xantana (GARCÍA-OCHOA, 2000; ROTTAVA, 2005; LOPES et al., 2015). Tal fato é corroborado com a goma xantana comercial que é produzida com essa fonte de carboidrato.

Em escala industrial, a produtividade é um dos aspectos economicamente mais importantes e as etapas de extração e purificação devem ser rigorosamente executadas. A produtividade é influenciada pela cepa bacteriana, meio de fermentação e condições do processo (MAYER, et al, 2008). Trabalhos com produção de goma xantana a partir de resíduos e também com fonte de sacarose, apresentaram valores próximos aos aqui encontrados (SALAH et al., 2010; DINIZ et al, 2012; SCHMID et al., 2015).

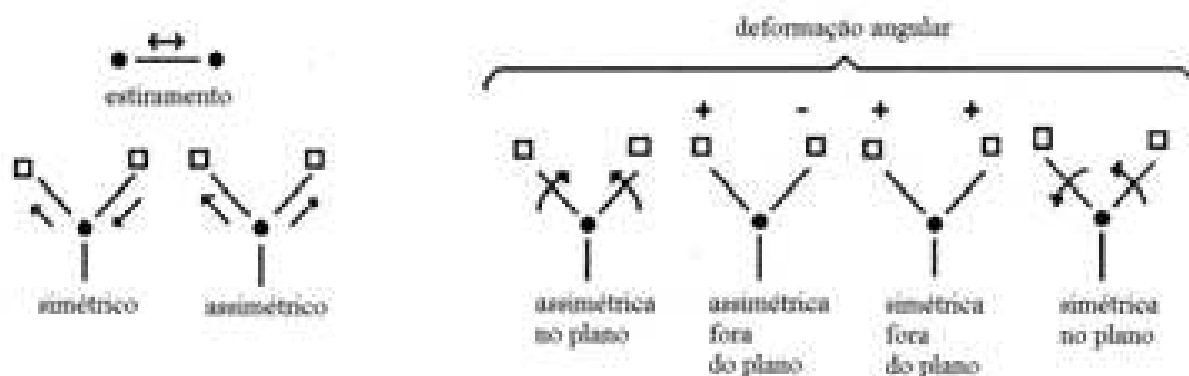
Mesmo apresentando um volume menor de produção, vale lembrar que foi possível produzir a XGM a partir de bagaço de malte, que é um resíduo, reduzindo assim custos de produção, poluição ambiental e gerando um novo produto a partir de um subproduto de baixo valor agregado.

Ao avaliar os custos de produção para XGM e XGSac e com esse cálculo, servindo de base para subsidiar a viabilidade econômica da produção de goma xantana com bagaço de malte, o custo *a posteriori* ou seja, após o processo de produção das gomas, considerando que somente a diferença entre as produções se deu pelo tipo de fonte de carbono utilizado (bagaço de malte e sacarose) em que 1 quilo de sacarose comercial custa R\$ 1,60 enquanto que 1 kg de bagaço de malte sai por menos de R\$ 0,15, resultou, em uma produção 5 vezes mais barata utilizando o resíduo de malte. Dessa forma, a utilização desse resíduo contribui para redução de custos de produção e poluição ambiental.

6.1.5 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica bastante utilizada que fornece informações sobre os modos vibracionais das moléculas de uma substância. A radiação infravermelha de maior utilidade na química orgânica está situada entre 4000 e 400 cm^{-1} . O fato de que todas as ligações químicas possuem frequências de vibrações específicas, correspondendo a níveis de energia (níveis vibracionais), essas podem sofrer uma variação no seu momento dipolar. Na prática, ao analisar uma amostra, a incidência de um feixe de luz (radiação infravermelho) sobre a variação do momento dipolo elétrico das ligações químicas das moléculas quando em movimento, determina as frequências absorvidas por ela. A quantização mede diretamente o quanto de cada comprimento de onda ou frequência da radiação eletromagnética incidente é absorvido ou transmitido gerando espectros de rotação que são visualizados em formas de linhas. Basicamente, as vibrações das moléculas são classificados em dois tipos: Estiramento axial (ν) que podem ser simétrica ou assimétrica e Deformação angular (δ), que também pode ser simétrica ou assimétrica e ainda simétrica e assimétrica no plano ou fora do plano conforme Figura 33. O estiramento axial são oscilações radiais das distâncias entre os núcleos enquanto as deformações angulares envolvem mudanças dos ângulos entre as ligações ou, como no modo de deformação assimétrica fora do plano, alterações do ângulo entre o plano que contém as ligações e um plano de referência. É uma técnica de análise rápida, não destrutiva e altamente sensível porque colhem informações de todas as frequências, permitindo múltiplas leituras de uma mesma amostra (BERTHOMIEU & HIENERWADEL, 2009; LEITE & PRADO, 2012).

Figura 33 - Tipo de movimento vibracional das moléculas

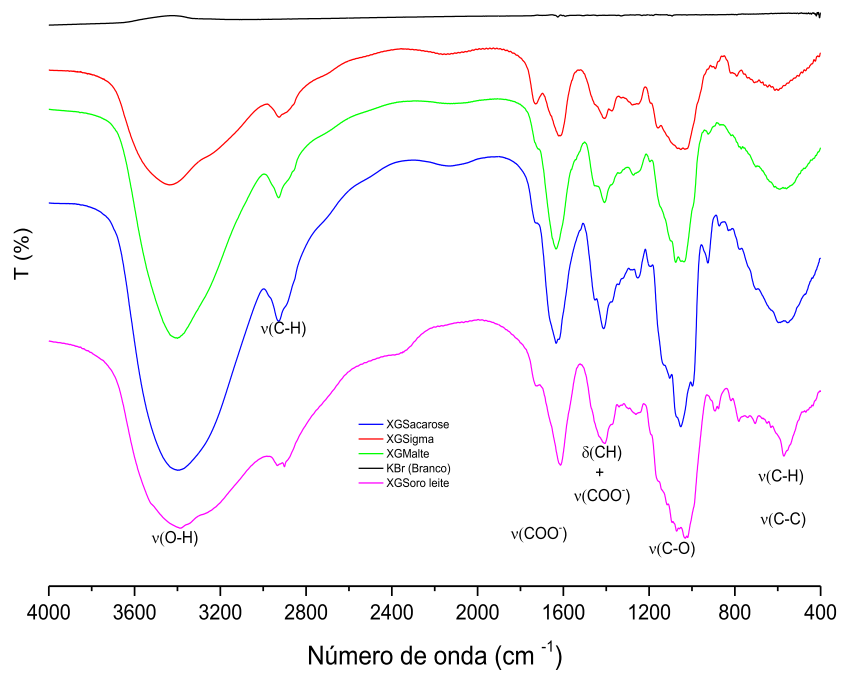


Fonte: Solomons, (2009).

A técnica de FTIR nos forneceu informações sobre os modos vibracionais das moléculas das XGse foi utilizada para identificar e definir sua composição e estrutura química, detectando suas semelhanças ou diferenças, visto ser um procedimento necessário e que deve anteceder quaisquer estudos acerca do comportamento coloidal ou reológico dos compostos.

Comparando a goma xantana padrão Sigma Aldrich® (XGS) com as demais (XGM, XGSac e XGSL), verifica-se que o perfil estrutural apresentou semelhança mas com modificações estruturais entre si e as principais bandas que caracterizam a gomas, como mostra a Figura 34, sugerindo que o processo é reprodutivo e estão coerentes com a literatura (MENDES et al., 2012; SARA et al., 2020). Os principais grupos funcionais presentes na molécula foram identificados e estão relacionados na Tabela 3.

Figura 34 – Espectros na região do infravermelho para as XGs



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Tabela 3 – Atribuições para as bandas mais importantes observadas na região do infravermelho para as gomas xantanas XGM, XGSac, XGSL e XGS

Número de ondas cm ⁻¹				Atribuições
XGS	XGM	XGSac	XGSL	
3437	3408	3408	3400	v(O-H) do grupo hidroxila
2928	2933	2928	2940	v(C-H) do grupo metila
1748	1729	1736	1745	v(COO ⁻) de ésteres, ác. carboxílicos, aldeídos e grupo cetônico.
1618	1637	1637	1618	v(COO ⁻) ésteres do grupo piruvato
1408	1402	1408	1408	δ_{ang} (C-H) de metila v(-COO ⁻) do grupo ác. glucurônico
1038	1075	1050	1043	v(C-O) de álcool (ligações glicosídicas) v(C-C), v(C-H) (ligações glicosídicas)
605	605	599	580	v(C-C), v(C-H) (ligações glicosídicas)

Legenda: v: Deformação axial - δ_{ang} : Deformação angular.

Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Nos espectros das XGs a banda larga em torno de 3400 – 3437 cm⁻¹ está relacionada à deformação axial dos grupos hidroxila v(OH) presentes na estrutura principal dos carboidratos. A banda 2928 – 2940 cm⁻¹ foi atribuída à deformação axial do grupo metila v(CH) presentes em hexoses como glicose e manose ou relacionada ao estiramento assimétrico ou simétrico de CH₃ ou CH₂. A banda observada na região de 1729 – 1748 cm⁻¹ corresponde à deformação axial do grupo carboxila v(COO⁻) dos derivados de ésteres dos ácidos pirúvico e ácidos carboxílicos, grupo cetônico e aldeído. A banda em torno de 1618 – 1637 cm⁻¹ corresponde à deformação axial de v(COO⁻) de cetona presente na cadeia lateral do trissacarídeo das XGs(resíduo do ácido pirúvico). Bandas entre 1402 – 1408 cm⁻¹, referem-se à deformação angular δ_{ang} (CH) de metila vibrações assimétricas v(COO⁻) do ácido glucurônico. Bandas entre 1038 – 1075 cm⁻¹

podem ser associadas à deformação axial dos grupos C-O e C-C e banda C-O característica dos polissacarídeos. Vibrações em torno de $580 - 605 \text{ cm}^{-1}$, referem-se à deformação axial de ligação $\nu(\text{C-C})$ e $\nu(\text{C-H})$, denominadas genericamente vibrações esqueléticas (impressão digital), geralmente fracas e sem qualquer importância para elucidação estrutural. Conforme Faria et al. (2011), os polissacarídeos são comumente representados por bandas características em 3400 cm^{-1} , 2940 cm^{-1} , e $800 - 1200 \text{ cm}^{-1}$ a qual representam ligações OH, CH de grupos CH_2 e sacarídeos. É possível observar que as principais bandas que caracterizam os polissacarídeos apresentaram deslocamentos, alargamento ou estreitamento das bandas, com modificações em sua estrutura. Sugere-se que essas diferenças estão associadas à modificação dos grupos funcionais, formando novas macromoléculas, com diferentes graus de ramificação e massa molar, decorrente de diferentes cepas de microrganismo, fonte de carbono e condições operacionais. Desta forma, analisando os espectros, é possível inferir que a bactéria *X. campestris* é capaz de bioconverter o bagaço de malte em goma xantana e sua estrutura possui similaridade com os mesmos grupamentos funcionais da goma xantana padrão Sigma Aldrich® (XGS) sugerindo assim reprodutibilidade do processo de produção (SUJATHA et al., 2020; NEJADMANSOURI et al., 2021; WANG et al., 2021).

6.1.6 Análises térmicas

As técnicas termogravimétricas são conhecidas como um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação é medida como função da temperatura, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de aquecimento/resfriamento (MACKENZIE, 1979). Para ser considerada uma técnica termoanalítica, deve-se medir uma propriedade física, essa medida deve ser expressa como função da temperatura e a medida deve ser automatizada. Dessa forma é possível coletar informações a respeito de estabilidade térmica, variação de

massa, pureza, ponto de ebulição e fusão, transição vítrea, calores específicos, cinética de reação e outras (IONASHIRO, 2005). As principais técnicas difundidas e utilizadas estão representadas no Quadro 4 juntamente com suas propriedades físicas e principais informações que cada técnica fornece.

Quadro 4 - Técnicas, propriedades físicas medidas e informações das principais técnicas em Análise Térmica

Técnica	Propriedade física medida	Informação da técnica
Análise Termogravimétrica – TGA	Massa	Decomposição
Análise Térmica Diferencial – DTA	Temperatura	Mudanças de fase Reações
Termogravimetria Derivada – DTG	Massa	Desidratação Oxidação
Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC	Entalpia	Mudanças de fase Reações Calorimetria Capacidade calorífica
Análise Termomecânica – TMA	Deformação	Mudanças mecânicas Expansão
Análise Dinâmico-Mecânica – DMA	Propriedades mecânicas	Mudanças de fase Cura de polímero
Análise de Gás Envolvido – EGA	Gases	Decomposição Catálise Reação de superfície

Fonte: Ionashiro, 2005; Vyazovkin, 2010; Fúlias et al., 2015.

As técnicas TGA, DTG, DTA e DSC são bastante utilizadas na indústria farmacêutica em matérias-primas no desenvolvimento de novos produtos e avaliação do produto final (SOUZA, et al., 2012).

A Análise Termogravimétrica (TGA) é técnica termoanalítica que acompanha a variação massa (perda ou ganho) de um objeto em função da programação da temperatura/tempo, em atmosfera controlada. São úteis para determinar a estabilidade térmica e diferenciar componentes de misturas (PRASERTSRI et al., 2013). A medida é feita por uma microbalança acoplada a um forno e a um controlador, sendo os resultados

fornecidos em percentual de massa em função de temperatura (BROWN, 2004; CALDERINI & PESSINE, 2008).

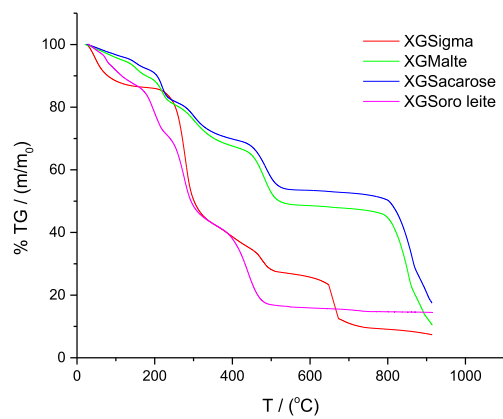
A Análise Térmica Diferencial (DTA) consiste na medida da diferença de temperatura entre a referência que é termicamente estável e a amostra em função do tempo quando submetidos a uma programação controlada de temperatura. O resultado é uma curva de DTA onde as diferenças de temperaturas são plotadas em eventos endotérmicos voltados para baixo e exotérmicos voltados para cima em função da temperatura/tempo. Nos dá informações sobre os efeitos de calor associados com alterações químicas e físicas das amostras como desidratação, decomposição, dissociação entre outros (IONASHIRO, 2005).

Análise termogravimétrica (TGA) foi executada para monitorar a variação da massa das XG em função da temperatura em atmosfera controlada. Os resultados podem indicar similaridades ou diferenças na composição das XG`s. A análise térmica diferencial (DTA) foi executada para medir o fluxo de calor resultante da diferença entre a temperatura da amostra e do material de referência em função do tempo, permitindo determinar a ocorrência de eventos endotérmicos ou exotérmicos (GIOLITO e IONASHIRO, 1988).

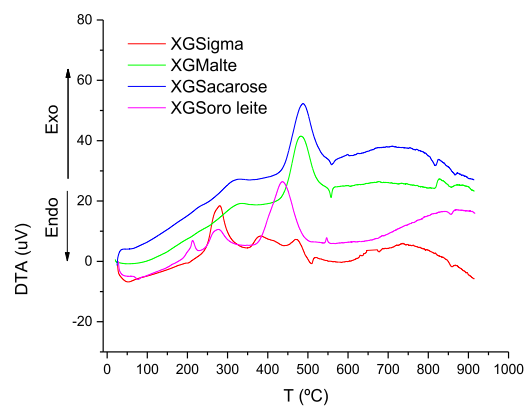
As curvas TGA e DTA das amostras de XGs representadas na Figura 35 mostram perfil de decomposição térmica. Os dados relacionados aos eventos térmicos ocorridos na amostra estão listados na Tabela 4.

Figura 35 – A) Curva de análise termogravimétrica (TGA). B) Curva de análise térmica diferencial (DTA) das XGs

A)



B)



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Tabela 4 – Tabela com os principais eventos térmicos atribuídos às XGs

Material	1° Perda de massa (%)	T (°C)	2° Perda de massa (%)	T (°C)	3° Perda de massa (%)	T (°C)	4° Perda de massa (%)	T (°C)
XGS	13	35-115	56	115-335	17	335-680	14	>680
	Desidratação		Decomposição		Decomposição		Carbonização	
XGM	12	35-195	25	195-450	18	450-785	32	>785
	Desidratação		Decomposição		Decomposição		Carbonização	
XGSac	10	35-200	23	200-455	17	455-799	32	>799
	Desidratação		Decomposição		Decomposição		Carbonização	
XGSL	15	30-170	48	170-403	29	403-500	7	>500
	Desidratação		Decomposição		Decomposição		Carbonização	

Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Todas as amostras apresentaram quatro eventos de perda de massa, sendo que:

O 1º evento é endotérmico e ocorre na faixa de 30 °C até 200 °C com primeira perda de massa inicial de 13 % para XGS, 12 % para XGM, 10 % para XGSac, 15 % para XGSL atribuída à perda de água superficial e intrínseca (desidratação). A presença de grupos hidrofílicos –OH, facilita a absorção da água e por isso tem-se essa pequena desidratação (FARIA et al, 2011, SAMPAIO et al., 2020).

O segundo evento é exotérmico, ocorre na faixa de 115 °C a 455 °C com segunda perda de massa de 56 % para XGS, 25 % para XGM, 23 % para XGSac, 48 % para XGSL atribuída à decomposição dos carboidratos. Observa-se que as XGM e XGSac apresentam melhores estabilidades térmicas (até 785 °C) ao se comparar com XGS e XGSL e também a outros trabalhos (FARIA et al., 2011; LI et al; 2016; SOLEYMANPOUR et al., 2018).

O terceiro é exotérmico e ocorre na faixa de 355 °C a 799 °C com terceira perda de massa de 17 % para XGS, 18 % para XGM, 17 % para XGSac, 29 % para XGSL que corresponde também a decomposição das XGs.

O quarto evento apresentaram massas residuais em 14 % para XGS (> 680 °C), 32 % para XGM (>785 °C), 32 % para XGSac (> 799 °C), 7 % para XGSL (>500 °C) e podem sugerir incorporação de cátions Na⁺/K⁺ que estão presentes na formulação das gomas (KLAIC et al., 2011).

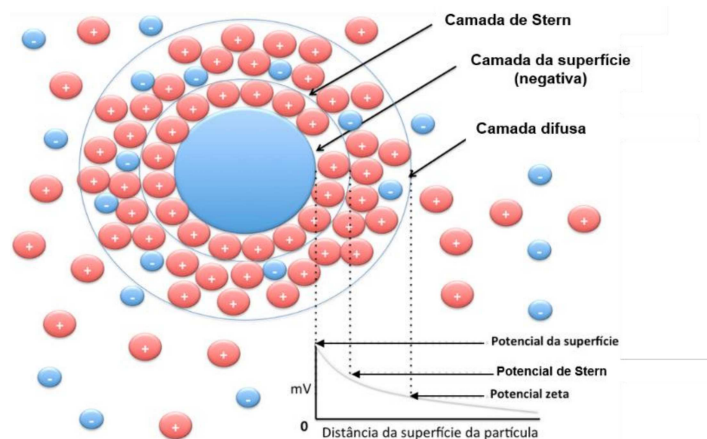
As gomas XGM e XGSac apresentaram maior estabilidade térmica quando comparadas com XGSL e XGS. Atribui-se a diferença de perda de massa entre as gomas na etapa de recuperação por precipitação, que pode levar à incorporação de diferentes quantidades de cátions ou a mudanças estruturais provocadas por diferentes fontes de carbono.

6.1.7 Estudo de agregação das gomas xantanas por titulações condutimétrica, viscosimétrica, por Potencial Zeta, e por DLS

O estudo de agregação das gomas em solução foi avaliado medindo-se o potencial zeta (ZP), o diâmetro hidrodinâmico (D_h), condutividade elétrica (k) e viscosidade (η) em função das concentrações crescentes das XG's.

A determinação do Potencial Zeta (ZP) é um modo de se caracterizar a dupla camada elétrica na interface com o meio líquido nos sistemas coloidais. É a diferença de potencial entre o meio disperso e a camada estacionária de um fluido ligado a partícula dispersa (HONARY & ZAHIR, 2013). É também definido como o potencial eletrostático médio existente no plano hidrodinâmico de cisalhamento, em algum lugar entre o plano de Stern (camada interna) e o final da camada difusa da superfície (camada externa) (Figura 36), normalizado pela concentração de cargas. Sua unidade no Sistema Internacional de Unidades é o Joule/Coulomb (J/C) ou Volt (V).

Figura 36 - Modelo esquemático para o Potencial Zeta



Fonte: Lahore et al, 2010.

As forças físicas mais fortes entre quaisquer dois objetos são as interações de Coulomb (elestrostáticas), cujas cargas interagem exercendo forças de atração e repulsão entre si. As partículas coloidais são estáveis quando há repulsão e se aglomeram quando há atração. Dessa forma, é possível controlar a estabilidade ou repulsão alterando variáveis como tensoativos e íons (alterando a força iônica ou o pH) (GHERNAOUT, 2015).

O ZP nos dá informação do potencial elétrico das partículas que são influenciados pelo meio em que está disperso e sua composição, sendo utilizados para avaliar a estabilidade das suspensões/emulsões permitindo inferir sobre a distribuição, adsorção, ionização e concentração de frações de soluções carregadas (KASZUBA et al., 2010; BAGUL et al., 2012).

Partículas com valores de ZP acima de (+/-) 30 mV são consideradas estáveis, se repelindo e impedindo que sua carga superficial aglomere. Valores abaixo de (+/-) 30 mV, são considerados instáveis com aglomerações de partículas (BRUNCHI et al., 2016).

O Espalhamento de luz dinâmico (DLS) foi utilizado para medir a distribuição de tamanho das partículas. As propriedades de dispersão da luz causada pelo movimento browniano das partículas em suspensão quando colocadas em uma cubeta transparente são recebidas por um detector a um determinado ângulo, que correlaciona a intensidade dos feixes de luz que mudam com o aumento do tempo de relaxamento das moléculas em solução e transmite informações sobre a distribuição dos tamanhos ou tamanho médio e agregados de moléculas (TAMIME, 2008; PECORA, 2013; PAPAGIANNIPOULOS et al., 2016). Movimento browniano é o movimento aleatório das partículas em suspensão quando se colide com átomos ou moléculas do líquido em suspensão (MALVERN, 2020).

A Figura 37A mostra o resultado de medições de ZP de dispersões de XGM, XGSac, XGS e XGSL nas concentrações entre 0,005 a 20,00 g/L. Observa-se uma

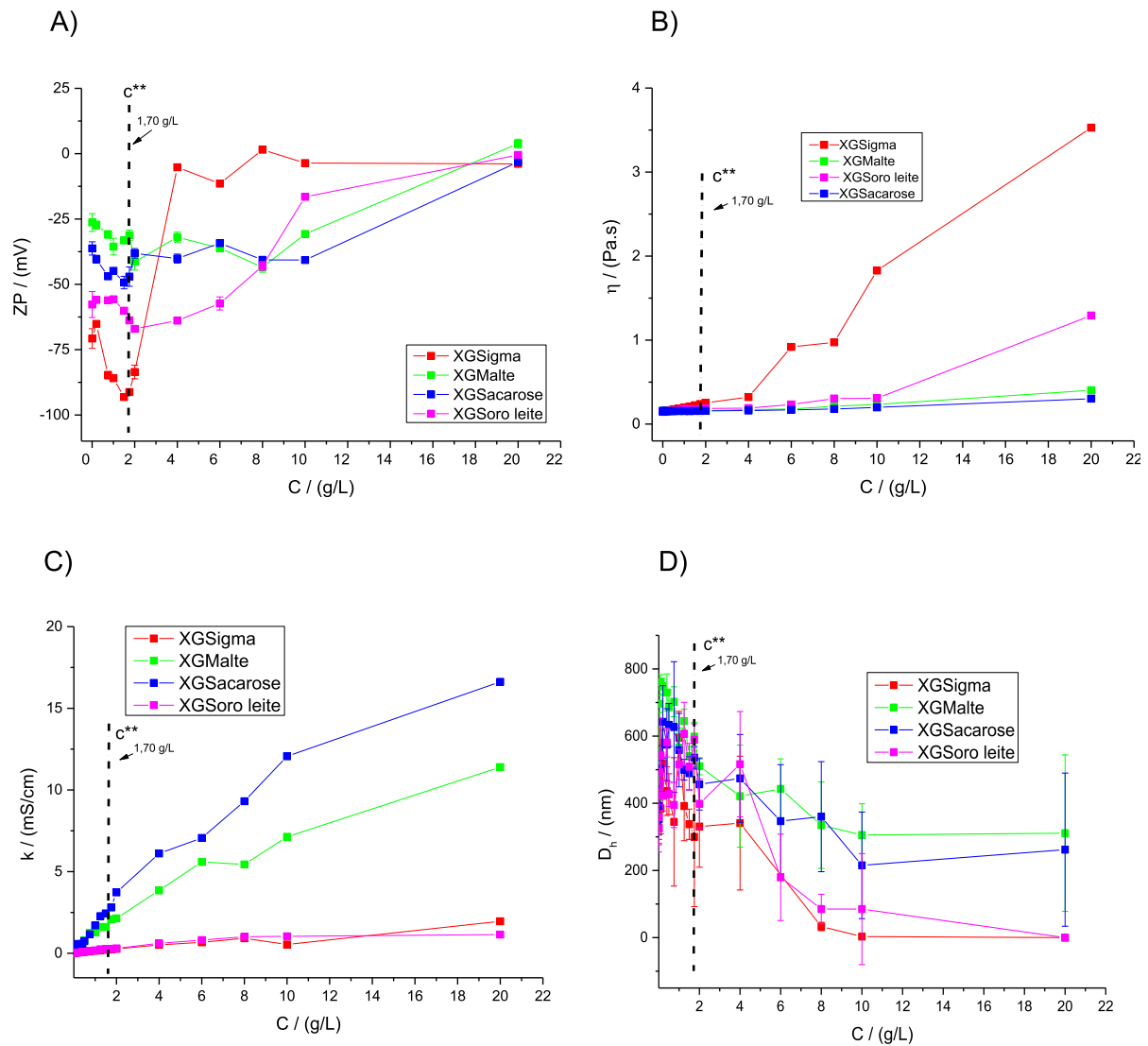
concentração crítica C^{**} (~1,70 g/L), denominada concentração de emaranhamento, separando dois regimes de comportamento de tamanhos diferentes nas partículas, o semidiluído e concentrado (WYATT & LIBERATORE, 2009). No início, todas as XGs apresentaram potencial zeta negativo (XGS: - 70 mV; XGM: - 26 mV; XGSac: -36 mV e XGSL: -57 mV) que estão associadas ao caráter aniônico das gomas devido à presença de grupos OH^- e COO^- . Aumentando a concentração até atingir a concentração crítica de emaranhamento ($C^{**} \sim 1,70$ g/L), verifica que as cargas ficaram ligeiramente mais negativas (XGS: - 93 mV; XGM: - 33 mV; XGSac: -49 mV e XGSL: -63 mV), sugerindo que este aumento no módulo do potencial zeta seja devido à formação de pequenos agregados moleculares onde as estruturas devem possuir uma concentração maior de cargas negativas na superfície, por isso um valor mais negativo de potencial zeta.

Acima da concentração crítica C^{**} , o módulo do potencial zeta diminui para todas as amostras, sugerindo agregação por emaranhamento tridimensional, levando a uma blindagem parcial das cargas de superfícies predominantes na interface das moléculas XGs/ água. Nessa mesma faixa de concentração, observa-se também um aumento da viscosidade (Figura 37B) confirmando essa agregação, que é um comportamento característico das gomas, que explica seus efeitos espessantes.

A Figura 37C, mostra a condutividade das XGsem função da concentração. Já era esperado que a condutividade aumentasse em função do aumento da concentração, visto que, as XGs são polieletrólitos (ZHANG & LIU, 2011). Porém, observa-se que a taxa de aumento da condutividade com a concentração é maior no início da titulação, pelo fato de as moléculas ainda não se encontrarem num estado emaranhado. Nesta situação, cada molécula individualmente tem uma maior contribuição para os valores de condutividade observados. Acima da concentração crítica, tem-se uma redução da taxa de aumento da condutividade com a concentração, que foi atribuída ao emaranhamento molecular conforme descrito acima. Nessas condições, considerando a blindagem de cargas, tem-se uma menor contribuição de cada molécula para o aumento da condutividade do meio.

Na Figura 37D temos ainda o gráfico dos diâmetros hidrodinâmicos das XGsem função de sua concentração. Os dados de DLS mostraram que todas as XGsapresentaram o mesmo padrão no desenho da curva. Na concentração inicial o tamanho de partículas médio para todas as XGsfoi de 650 nm, atribuído à presença de grandes agregados (ALMEIDA et al., 2021). Com aumento da concentração esperava-se um aumento de tamanho de partícula, mas houve diminuição de tamanho. Desse modo, a técnica não foi útil para o estudo de agregação das gomas por estar incoerente com os valores de potencial zeta, viscosidade e condutividade. A redução de tamanho é um artefato decorrente da formação de emaranhados moleculares contínuos, sem espaço entre as cadeias poliméricas, restringindo seus movimentos, explicando a queda aparente dos valores de tamanho.

Figura 37- Valores de: A) potencial zeta, B) Viscosidade, C) condutividade elétrica, D) Diâmetro hidrodinâmico; em função das concentrações de 0,005 a 20,0 g/L das XG's



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

6.1.8 Ensaios reológicos estacionários

A reologia é a ciência que estuda a deformação e escoamento da matéria quando submetida à aplicação de força. A matéria, nesse contexto, podem ser, gases, sólidos

ou líquidos. A deformação ocorre quando a matéria está no estado sólido e a propriedade de interesse é a elasticidade. O escoamento, representado pelos fluidos, seja no estado líquido ou gasoso, tem como principal propriedade de interesse, a viscosidade. O objetivo da reologia é conhecer a relação entre as forças aplicadas, os movimentos e interações moleculares e os efeitos induzidos, mostrando sua estrutura molecular (GUPTA, 2000; MALKIN et al., 2006; GOODWIN & HUGHES, 2008).

Os fluidos são substâncias que podem fluir ou escoar e sofrem deformação contínua. A resistência de um fluido ao menor movimento é chamada de viscosidade que é definida a partir da equação da 2ª Lei de Newton representadas nas Equações 2 e 3:

$$F = ma \quad (\text{Eq.2})$$

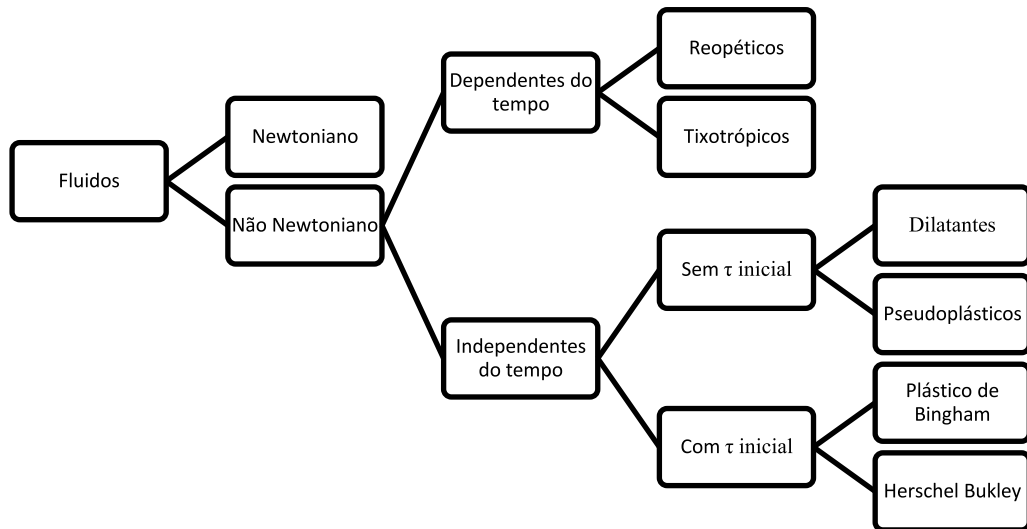
$$\tau = \eta\varphi \quad (\text{Eq. 3})$$

onde, a tensão de cisalhamento (τ), força por unidade de área paralela, representa o estímulo externo análogo ao parâmetro força (F); o fator de inércia viscosidade (η , Pa.s) é análoga à massa (m); e o fator de deslocamento aceleração (a) é análogo à (φ) taxa de cisalhamento que é o gradiente de velocidade, medindo o movimento transmitido ao fluido por ação de uma força externa (BARNES, 1989).

Fluidos que apresentam viscosidade constante, independente da tensão de cisalhamento, são classificados como newtonianos e tem relação linear entre tensão de e taxa de cisalhamento. Fluidos no qual a viscosidade varia com a tensão de cisalhamento que não apresentam uma relação linear entre tensão e taxa de cisalhamento, são considerados Não-Newtonianos (REINOSO et al., 2019). O fluido pseudoplástico é aquele que tem uma diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento. Fluido dilatante é aquele que quanto maior a taxa de cisalhamento, maior é sua viscosidade. Já o fluido dilatante que tem um comportamento rígido seguido de viscosidade constante é conhecido como plásticos ou de Bingham. Todos eles são classificados como dependentes (tixotrópicos e reopéticos) e independentes (pseudoplásticos, plásticos e dilatantes) do tempo. O esquema apresentado na Figura

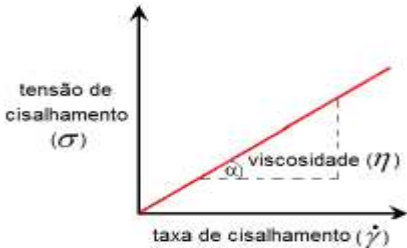

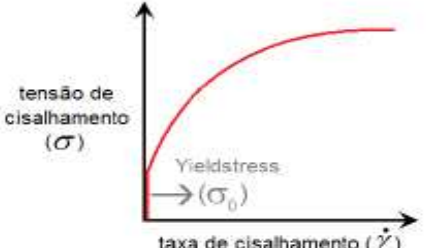

38 representa a classificação dos fluidos líquidos e na Figura 39 tem-se o desenho representativo das curvas, o tipo de comportamento do fluido, a equação e descrição da viscosidade.

Figura 38 - Classificação dos fluidos



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Figura 39 - Comportamento dos fluidos

Comportamento	Reograma	Viscosidade	Equação
Newtoniano		Constante $\eta a = \eta$ $n = 1$	$\mu = \eta \varphi$
Pseudoplástico		Decresce com aumento da taxa cisalhamento $n < 1$	$\mu = K \varphi^{n-1}$
Plástico Binghamiano		Decresce com aumento da taxa cisalhamento quando tensão inicial é excedida	$\mu = K p + \frac{\tau_n}{\varphi}$
Dilatante		Aumenta com aumento da taxa de cisalhamento $n > 1$	$\mu = K \varphi^{n-1}$

Fonte: Adaptado de Atkinson e Mavituna, (1991).

A goma xantana se enquadra no comportamento pseudoplástico. A sua viscosidade diminui com aumento da taxa de cisalhamento causado por uma desordem em sua rede polimérica e um alinhamento parcial das macromoléculas em direção ao fluxo. Então, a sua viscosidade está relacionada com a resistência interna oferecida ao movimento de diferentes partes desse fluido. Ou seja, ela é diluída por cisalhamento e mesmo assim possuem uma boa viscosidade em baixas taxas de cisalhamento

(RIBEIRO et al, 2015). Um aumento na concentração da goma causa um aumento na viscosidade devido ao entrelaçamento de suas redes poliméricas por interação intermoleculares (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). Além disso, mantem sua viscosidade mesmo em variações de pH, temperatura e presença de sais (MATSUYAMA et al., 2021). Essas características são desejáveis em diversos setores da indústria já que as gomas xantanas são utilizadas como espessantes, estabilizantes e emulsificantes principalmente na indústria de alimentos (ZHAO et al., 2021).

Análises reológicas estacionárias foram realizadas varrendo a taxa de cisalhamento entre 10 a 1000 s⁻¹, a 25 °C para as XGs (XGM, XGSac, XGSL e XGS), com o objetivo de classificá-las quanto ao comportamento de fluxo. A concentração escolhida para análise foi 2,0 g/L que equivale a uma concentração mínima de 0,2% bastante utilizada na formulação de alimentos na formação de géis termicamente reversíveis (DA SILVA et al., 2018; RODRIGUES et al., 2018). As Figuras 40 A e B mostram as curvas de viscosidade e fluxo das soluções de xantanas.

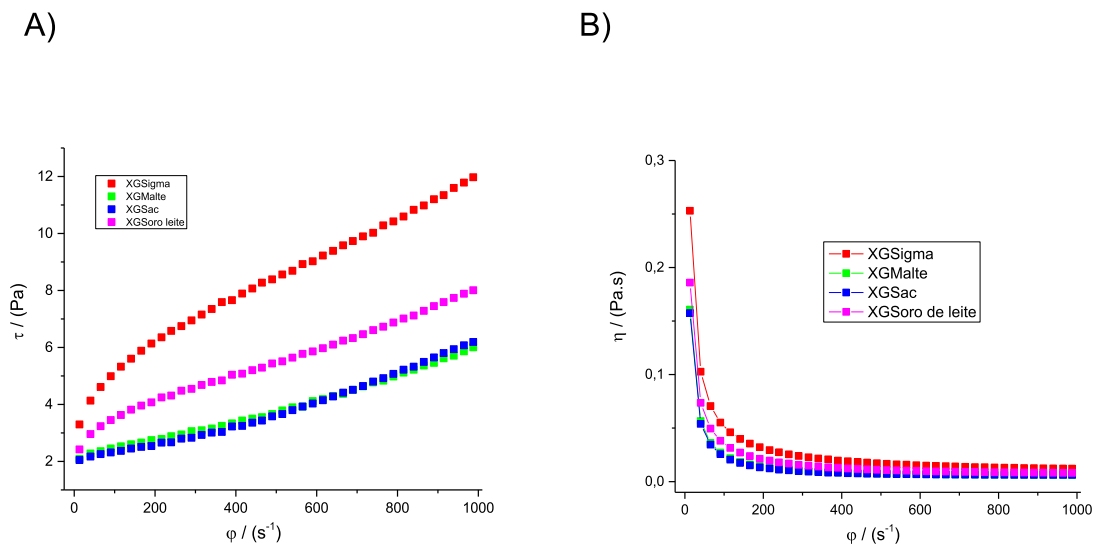
A Figura 40A mostram que a tensão de cisalhamento aumenta com o aumento da taxa de cisalhamento e todas as soluções apresentam caráter pseudoplástico, mesmo em baixas concentrações e são compatíveis com dados de literatura (MUDOI et al., 2013; PATEL et al., 2020; WANG et al., 2021). A Figura 40B demonstra que a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento, evidenciando o comportamento pseudoplástico para as XGs (ASSIS et al., 2014). Em solução, moléculas de xantana formaram uma estrutura de rede desordenada e emaranhada através de interações não covalentes intra e intermoleculares, se agregando entre as cadeias moleculares resultando em alta viscosidade em baixa taxa de cisalhamento (< 30 s⁻¹). Uma queda brusca nos valores de viscosidade ocorre com aumento da taxa de cisalhamento principalmente entre 30 e 190 s⁻¹, onde as moléculas que estavam emaranhadas e desordenadas, passaram a se desenrolar e se ordenar na direção do cisalhamento. Após 500 s⁻¹ o comportamento do fluxo tende a ser puramente Newtoniano. O alinhamento e ordenação das partículas em direção ao fluxo, faz com que as partículas adquiram altos gradientes de velocidade com tendência a linearidade em sua viscosidade causando

desagregação de suas partículas (REINOSO et al., 2019). Na concentração de 2,0 g/L, ao fixarmos uma taxa de cisalhamento em 115 s^{-1} , a viscosidade da goma produzida com residuo de malte (XGM), foi praticamente a mesma (0,023 Pa.s) que a goma produzida com sacarose XGSac (0,020 Pa.s), mostrando que o bagaço de malte (XGM) apresenta mesma capacidade espessante e confirmando seu potencial biotecnológico para fabricação de gomas, o que representaria redução nos custos de produção e impacto ambiental.

As gomas XGS (Sigma Aldrich®) e XGSL (fonte alternativa - soro de leite), foram as que tiveram as maiores viscosidades na mesma taxa de cisalhamento (0,046 Pa.s e 0,030 Pa.s, respectivamente). É importante salientar que a goma padrão XGS passa por rigoroso processo de produção e purificação, sendo esperado, portanto, um efeito espessante maior. A goma produzida a partir de soro de leite foi biossintetizada com outra cepa de microrganismos, o que pode explicar a diferença de viscosidade.

Resultados semelhantes ao do presente estudo, utilizando fontes alternativas de carboidratos foram relatados por NERY et al., (2008), BRANDÃO et al.,(2010), FARIA et al., (2011), DA SILVA et al., (2018), GONDIM et al., (2019), e WANG et al., (2021).

Figura 40 – A) Curvas de fluxo e B) de viscosidade, para XGS, a 25 °C e concentração 2,0 g/L. Faixa de taxa de cisalhamento: $10 \geq \dot{\gamma} \geq 1000 \text{ s}^{-1}$



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

6.1.9 Ensaios reológicos oscilatórios

O conceito de viscosidade é relevante para materiais complexos, com composição resultante da combinação de sólidos e líquidos visto que o comportamento de fluxo resultante é uma combinação desses dois estados físicos. Conforme citado anteriormente, a reologia objetiva a conhecer a relação entre as forças aplicadas, os movimentos, as interações moleculares e os efeitos induzidos, mostrando sua estrutura molecular. Em outras palavras, ela estuda como a matéria se deforma quando é aplicada uma tensão e o tempo em que essa tensão é aplicada. Dessa forma, um material pode se comportar como um sólido ou como um líquido dependendo do tempo do processo de deformação.

A viscoelasticidade diz respeito as propriedades viscosas (fluídicas) e elásticas (sólidas) que o material possui. Todos os materiais são viscoelásticos (BARNES, 2000),

sendo o que diferencia as propriedades viscosas e elásticas dos materiais, é a relação do tempo do processo de deformação (tempo de relaxação) e o tempo característico do material (tempo de observação). E essa relação de tempo, em Reologia, é definida pelo número de Deborah, (REINER, 1964) representada pela Equação 4.

$$D_e = \frac{\gamma}{T} \quad (\text{Eq.4})$$

Nesta equação, T é o tempo do processo de deformação e γ é o tempo característico do material. Materiais que apresentam elevado número de Deborah, podem ser considerados materiais sólidos. Já os que apresentam baixos número de Deborah, são líquidos. E os que apresentam valores de número de Deborah próximos a 1 ($D_e \sim 1$), são viscoelásticos e de grande interesse para reologia (KIM, 2006).

Nos fluidos não newtonianos em estado natural de repouso, a microestrutura apresenta um estado mínimo de energia livre de Gibbs, geralmente com mínimo de entalpia e máximo de entropia. Quando esse fluido sofre pequenas deformações, forças termodinâmicas agem restaurando o estado de repouso que é conhecida como resposta viscoelástica, sendo representada quando plotadas, em uma região conhecida como região de viscoelasticidade linear (Viscoelastic Linear - LVE) (MACOSKO, 1994). Dentro da LVE, diferente do que ocorre na reologia estacionária, a estrutura molecular é reversivelmente perturbada, podendo ser rapidamente restaurada mediante a interrupção do estímulo mecânico. Diversos modelos matemáticos (Maxwell, Kelvin-Voigt, Burgers) foram propostos para entendimento dessa região e uma das razões para determinar a LVE é compreender os efeitos da estruturação molecular do material quando em escoamento, não sendo nosso objetivo detalhá-los no presente texto.

Na prática, como a medida do número de Deborah não é trivial. Uma alternativa são os ensaios reológicos oscilatórios, que visam obter o módulo de armazenamento (G'), que representa a componente elástica (sólido) da amostra; e o módulo de perda (G''), representando a componente viscosa (fluídica) da amostra (GOODWIN & HUGHES, 2008). Os ensaios realizados em função da amplitude de deformação ($\gamma\%$)

permitem descrever o comportamento das amostras na faixa não destrutiva, determinando a faixa limite da LVE. Varreduras de frequência angular (ω) descrevem o comportamento dos módulos G' e G'' em sua dependência com a frequência, preferencialmente dentro da faixa de deformação não destrutiva, ou seja, na faixa da LVE. Frequências baixas simulam movimentos moleculares lentos em tempos longos enquanto que altas frequências simulam movimentos moleculares rápidos em tempos curtos.

De posse dos valores de G' e G'' , é possível determinar o fator de amortecimento ou perda ($\tan \delta = G''/G'$, monitorado geralmente em função da amplitude de deformação), que descreve a razão dos módulos do comportamento viscoelástico, informando se o material tende para um líquido ($\tan \delta \gg 1$) ou para um sólido ($\tan \delta \approx 0$).

Com as mesmas amostras utilizadas acima, foram realizados experimentos reológicos oscilatórias das XGs (XGM, XGSac, XGSL e XGS) varrendo uma faixa crescente de amplitude de deformação ($\gamma \% = 1$ e 500%) na frequência angular constante ($\omega = 20$ rad/s), com temperatura fixa (25 °C), visando a determinação dos módulos G' e G'' e da região de viscoelasticidade linear (LVE). Em seguida, varreduras de frequência angular foram realizadas de 1 a 100 rad/s, mantendo a amplitude de deformação fixa em 50% (dentro da LVE).

Fazendo a varredura de amplitude de deformação ($\gamma \%$) entre 1 e 500%, os valores dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') foram plotados como mostra a Figura 41A.

É possível observar que todas as gomas possuem o módulo G'' maior que o módulo G' , predominando a formação de rede viscoelástica com caráter viscoso (fluídico) (LARSSON & DUFFY, 2013). Além disso, tem-se que a região viscoelástica linear (LVE) encontrada dentro da faixa em que os módulos são constantes e paralelos (pelo menos aproximadamente) com o eixo da amplitude foi de 12% para XGS, 8% para XGSL e 4% para XGM e 4% XGSac. Em amplitudes de deformação acima da LVE, é sugerido que a estrutura molecular em redes está se desestruturando, reduzindo a densidade de

emaranhamento, até um limite de escoamento em que a estrutura é totalmente rompida e fluidizada.

Hyun et al., (2002) efetuou modelagem de diversos tipos de comportamentos macromoleculares em materiais fluidos, e os classificou em quatro tipos, a depender do tipo de interações:

Tipo I – Ambos os módulos elástico e viscoso diminuem com aumento da amplitude. Isso é atribuído ao emaranhamento de cadeia de polímeros. Em baixas amplitudes, as cadeias permanecem emaranhadas e em altas amplitudes, desembaraçam-se à medida que são esticadas seguindo alinhamento do fluxo, diminuindo o módulo viscoso. Quanto mais se estendem, atingem o comprimento máximo, reduzindo o módulo de elasticidade.

Tipo II – Ambos os módulos elástico e viscoso aumentam com aumento da amplitude. A atribuição para isso é devido a fortes interações entre segmentos do fluido. À medida que a amplitude de oscilação aumenta, os segmentos interagem aumentando a resistência ao fluxo. O cruzamento de cadeia de polímeros pode formar microestruturas que inibem a deformação adicional na direção do fluxo.

Tipo III – Ambos os módulos elástico e viscoso eventualmente diminuem com aumento da amplitude, mas o módulo viscoso aumenta inicialmente. Isso é atribuído a combinação do tipo I e II. No início é formado uma microestrutura fraca que resiste ao fluxo, mas após uma amplitude crítica de cisalhamento, a estrutura é destruída e as cadeias se alinham na direção do fluxo.

Tipo IV - Ambos os módulos elástico e viscoso eventualmente diminuem com aumento da amplitude, embora ambos aumentem inicialmente. O mecanismo atribuído a isso é igual ao tipo III, mas com interação intermolecular mais forte.

Para as quatro soluções de xantana, tem-se o comportamento próximo “tipo I” segundo Hyun et al. (2002) e Townsend et al., (2018), em que G'' e G' diminuem com a

amplitude e cujo mecanismo específico, atribuído é correlacionado ao emaranhamento das cadeias de polímeros. Em baixas amplitudes, as cadeias encontram-se emaranhadas. Parte da energia mecânica recebida é transferida para desembaraço macromolecular e parte é transferida para o solvente, causando movimento. Mas com o cisalhamento em altas amplitudes, as cadeias se desembaraçam à medida que são esticadas e alinhando-se na direção do fluxo. Isso reduz o arrasto local, diminuindo o módulo viscoso. Quando as cadeias atingem seu comprimento máximo, a energia mecânica aplicada não causa mais desembaraço molecular e o sistema não mais armazena energia, causando também uma redução no módulo elástico.

Todavia, para elevadas amplitudes, XGM, XGSac e XGSL, apresentam ponto de cruzamento mudando o caráter da amostra, com predomínio das forças elásticas sobre a viscosa, ou seja, $G'' < G'$, sugerindo enrijecimento a elevadas amplitudes. Esse enrijecimento pode ser decorrente da maior taxa de dessolvatação (maior redução de G'') frente a uma menor taxa de desembaraço (menor redução de G') desses polímeros, resultando no cruzamento. Tal fenômeno pode ser correlacionado com a presença de íons, já que XGS apresentou menor valor de massa residual na TGA, seguida de XGM. A ordem decrescente de massa residual é: $m/m_0(\text{XGSac}) > m/m_0(\text{XGSL}) > m/m_0(\text{XGM}) > m/m_0(\text{XGS})$. A ordem decrescente da amplitude de cruzamento foi: $\gamma\%(\text{XGSac}) \approx \gamma\%(\text{XGSL}) > \gamma\%(\text{XGM}) > \gamma\%(\text{XGS})$ (sem cruzamento), ou seja, XGSac e XGSL, que apresentaram ponto de cruzamento próximo, foram as que apresentaram maiores valores de massa residual.

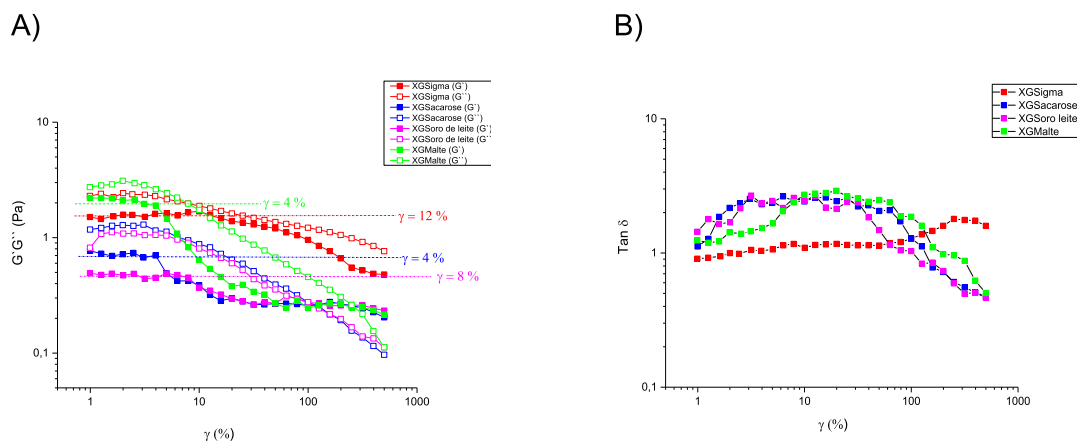
Na Figura 41B, observa-se que para XGM, XGSac e XGSL os valores do fator de amortecimento ($\tan\delta$) foram maiores que 1, sugerindo um comportamento predominante viscoso (fluídico) até 100% de frequência. Porém, das três xantanas, a XGM apresentou menores valores na faixa de 0 a 10% de deformação, demonstrando maior rigidez.

Após 100% de deformação, o comportamento dessas gomas passa a ser elástico tendendo a maior rigidez. Já para XGS, o $\tan\delta$ ficou menor que 1 em grande parte da frequência varrida, predominando o comportamento elástico, sendo este dado, compatível com aqueles observados na reologia estacionária. Contudo, após 100% de

deformação o caráter muda para o comportamento predominante fluídico, alcançando maiores valores de $\tan\delta$, compatível com quebra de interações moleculares e da estrutura.

Os dados sugerem que em baixas taxas de deformação (até próximo de 10%) ou em elevadas taxas de deformação (acima de 100%), a solução de XGM tenha elevada rigidez, demonstrando potencial efeito espessante em condições de processamento de baixo (< 10%) e alto (> 100%) cisalhamento.

Figura 41 – A) Módulos G' (armazenamento) e G'' (perda) em função da amplitude de deformação (γ %) para as XG's. B) Fator de amortecimento ($\tan\delta$) das XGsem função da amplitude



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Experimentos com varredura de frequência angular (ω) entre 1 e 100 rad/s, com amplitude fixa em $\gamma\% = 50\%$ foram realizados para as mesmas amostras, com o objetivo de obter gráficos de módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular de cisalhamento (Figura 42A). A importância de tais experimentos reside no fato de que, de um modo geral, ele investiga o comportamento de cisalhamento dependente do tempo, uma vez que a frequência é o valor inverso do tempo ($t = 1/\omega$). Assim, os dados em função da frequência têm íntima relação com os tempos de relaxação das cadeias

poliméricas, as quais são os entes responsáveis por armazenar ou dissipar energia numa solução polimérica (STADLER & MAHMOUDI, 2011).

Verifica-se que para todas as gomas, os valores dos módulos G' e G'' aumentam com o aumento da frequência, sugerindo estruturação molecular com o aumento desta variável. Este comportamento é comumente encontrado em soluções poliméricas de concentração relativamente baixa (Martín-Alfonso et al., 2018), e explicado pelo fato de que em elevadas frequências, movimentos moleculares de curta duração geram acoplamentos macromoleculares que resultam em uma estruturação do líquido como um todo. Em baixas frequências, o movimento browniano molecular compete com o movimento imposto pelo cisalhamento, dificultando tais acoplamentos.

Nas condições apresentadas, a amostra XGS apresenta comportamento de gel crítico, com $G' \approx G''$, no limite da transição de gel para sol, onde as interações tridimensionais em rede estão no limite da ruptura. As demais amostras exibiram comportamento de líquido viscoelástico, com $G'' > G'$.

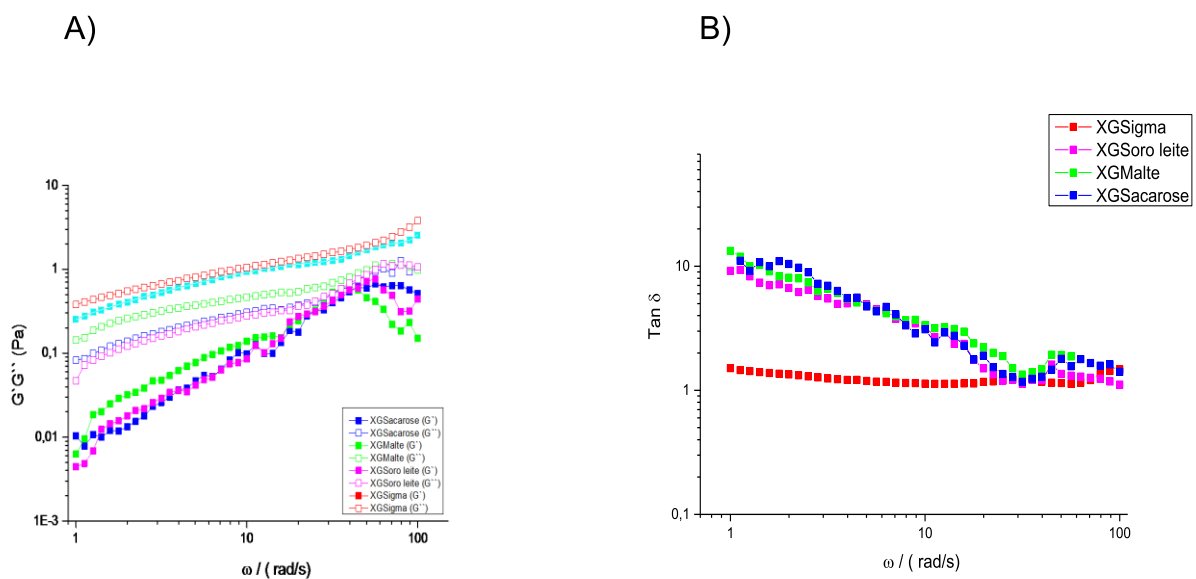
Em ordem crescente, os valores dos módulos elásticos ficaram com $G'_{XGS} > G'_{XGM} > G'_{XGSac} > G'_{XGSL}$, no caso da XGM, as curvas chegam a se tocar em $\omega \approx 20$ rad/s, onde deve ocorrer transição de sol para gel, com estruturação das cadeias.

Na Figura 42B, são apresentados os valores de $\tan\delta$ em função da frequência angular. Observa-se que para XGS os valores do fator de amortecimento ($\tan\delta$) foram próximos de e em alguns pontos, menor que 1, em quase toda a faixa varrida (comportamento predominantemente elástico), mas com baixa dependência com a frequência. Esse dado mostra que o fluido é relativamente inerte ao cisalhamento, dentro da faixa varrida.

Por outro lado, as xantanas XGM, XGSac e XGSL apresentaram elevada fluidez até próximo de 15 rad/s, quando passam a se comportar de maneira similar à xantana padrão sigma (XGS) com valores de $\tan\delta$ próximos de 1, demonstrando aumento da rigidez com o aumento da frequência de cisalhamento. Tal comportamento é atribuído a

alterações conformacionais induzidas pelo cisalhamento oscilatório, conforme já descrito acima, o qual faz com que as moléculas armazenem energia e se mantenham em uma conformação preferencial com acoplamentos macromoleculares. Tal comportamento reforça a hipótese de que o material XGM tenha elevado potencial espessante, especialmente em elevadas frequências de cisalhamento, o que é comumente encontrado em equipamentos que promovem agitação de forma cíclica, como agitadores oscilantes.

Figura 42 - A) Módulos G' (armazenamento) e G'' (perda) em função da frequência angular (ω) para XGM e XGSac. B) Fator de amortecimento ($\tan\delta$) das XGsem função da frequência



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Novamente reforço que essas diferenças no comportamento reológico das gomas, estão relacionadas com as concentrações de sais e possíveis diferenças estruturais, devido às diferentes condições do processamento e cepa bacteriana.

6.1.10 Osmolalidade de ponto de congelamento

A osmolalidade é definida como o número de moléculas de soluto que estão dissolvidas em 1 kg de solvente e seu valor está relacionado ao número total de partículas que estão em solução e com volume do solvente no sistema (MUSARA & POTE, 2014).

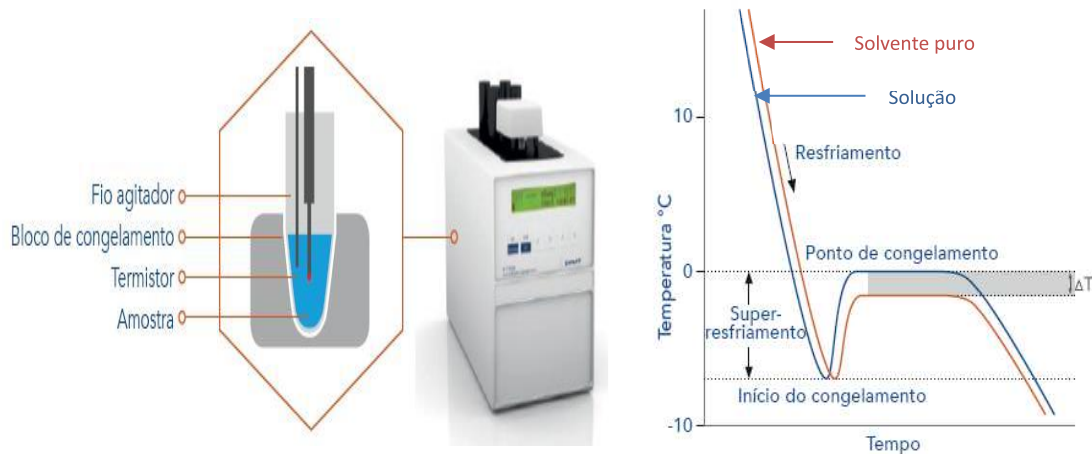
A medida da osmolalidade é conhecida como osmometria que é uma técnica essencial na medição de propriedades físico-químicas de soluções, como osmolalidade, pressão osmótica e estimativa de solventes químicos (KIYOSAWA, 2003; KISS et al., 2004). Os métodos usuais da osmometria são baseados na medição do ponto de congelamento, pressão de vapor e pressão osmótica que são propriedades coligativas de soluções.

A osmometria de ponto de congelamento (FPO) é baseada no princípio de que cada mol de soluto dissolvido diminuirá o ponto de congelamento de um líquido em 1,86 Kelvin por 1 mol de composto idealmente dissolvido em um litro de água (KNAUER, 2022).

O processo de medição é mostrado na Figura 43 e pode ser resumidamente descrito como resfriamento inicial da amostra, seguida de super resfriamento abaixo de 0 °C com a amostra ainda líquida. Em determinada temperatura o congelamento se inicia pela rotação de um fio agitador com formação de cristais de gelo, que liberam energia térmica, causando um aumento de temperatura da amostra. Ocorre o equilíbrio onde o congelamento e derretimento de cristais são balanceados e nesse ponto a temperatura da amostra é constante. O plateau gerado marca a temperatura real em que amostra foi congelada. Todo processo de medição de temperatura é feito por um termistor de alta precisão. São técnicas amplamente utilizadas na determinação laboratorial clínico em amostras de urina e soro, no controle de qualidade de preparações da indústria farmacêutica, no monitoramento de processo da indústria química e análises e controle

de qualidade de leite, isotônicos e cerveja na indústria de alimentos (GRATTONI et al., 2008).

Figura 43 - Osmômetro de ponto de congelamento (FPO) e gráfico com processo de congelamento



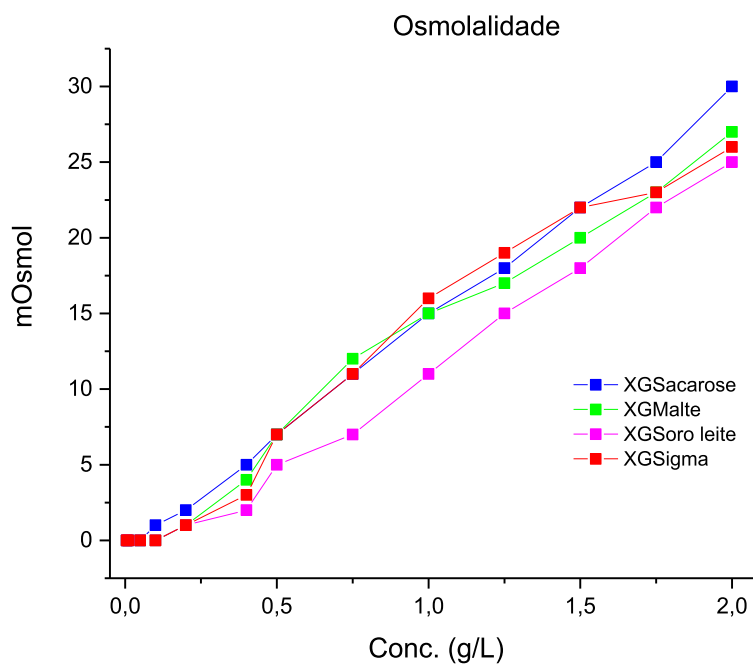
Fonte: Knauer, (2022).

Os osmômetros, equipamentos que medem a osmolalidade, disponíveis comercialmente, contam com medições de pressão de vapor (VPO) e ponto de congelamento (FPO). São equipamentos fáceis de operar, que proporcionam resultados rápidos, utilizando um volume mínimo de amostra. A aplicabilidade do FPO é limitada pela solubilidade de solutos, diminuindo exponencialmente com sua temperatura. Dessa forma, o soluto pode precipitar em decrescentes temperaturas. É indicado para soluções aquosas de baixa viscosidade e amostras sem partículas em suspensão (GUERRERO et al., 2017).

A Figura 44 apresenta os valores de osmolalidade em função da concentração das XGs. Observa-se que para todas XGs a osmolalidade aumentou com o aumento da concentração. Entre 0,5 g/L e 1,0 g/L a XGM e XGSac apresentou osmolalidade próxima a XGS, indicando que o número de moléculas é praticamente igual. Acima de 1,10 g/L o número de moléculas da XGS aumenta e volta a cair em 1,75 g/L ao se comparar com

XGM. Na concentração de 2,0 g/L é visível que o número de moléculas é maior em XGSac > XGM > XGS > XGSL. Sugere-se que essas diferenças podem estar relacionadas com a estrutura da goma, tipo de fonte de carbono, condições do processamento e cepa bacteriana. Apesar das diferenças encontradas nas medidas de osmolaridade, a similaridade das curvas condiz com a similaridade de comportamento das amostras.

Figura 44 - Osmolalidade em função da concentração das XGs.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

6.2 Complexo Sulfadiazina de sódio/Goma xantana produzida com resíduo

Considerando o sucesso na biossíntese de goma xantana a partir de resíduo de malte, citado acima, tivemos um segundo objetivo de obter um sistema de liberação controlada a partir do fármaco sulfadiazina de sódio.

Nesse sentido, foram realizadas caracterizações físico-químicas no intuito de compreender suas interações intermoleculares, bem como avaliar o perfil antimicrobiano do complexo.

No estado sólido, o complexo SDZ-Na/XGM foi caracterizado por FTIR, análises térmicas (TGA e DTA), comparando os resultados com aqueles obtidos para a XGM, SDZ-Na e a mistura mecânica SDZ-Na+XGM. A atividade antimicrobiana dos complexos também foi avaliada.

Em solução/suspensão, a formação do complexo foi caracterizada por medidas de potencial zeta, calorimetria de titulação isotérmica (para determinar os parâmetros termodinâmicos) e titulação viscosimétrica.

A atividade antimicrobiana dos complexos também foi avaliada contra os microrganismos *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *Salmonella*, por meio de estudos cinéticos de crescimento.

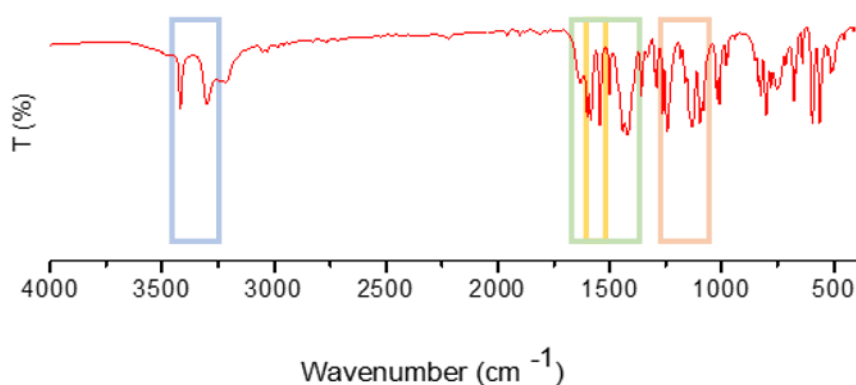
6.2.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier

A FTIR foi utilizada para identificar, por comparação, as novas interações intermoleculares entre SDZ-Na e XGM que podem alterar a distribuição eletrônica dos

núcleos ao serem incorporadas, gerando uma intensificação ou diminuição do movimento vibratório de grupos funcionais que são refletidas no espectro como deslocamento, aumento ou redução da intensidade de bandas. Assim, é possível definir sua composição e estrutura química, detectando suas semelhanças ou diferenças (SUÁREZ et al., 2014).

A Figura 45 apresenta o espectro da SDZ-Na com seus principais grupos funcionais e respectivos números de onda.

Figura 45 - Espectro FTIR da SDZ-Na correlacionando com seus principais grupos funcionais



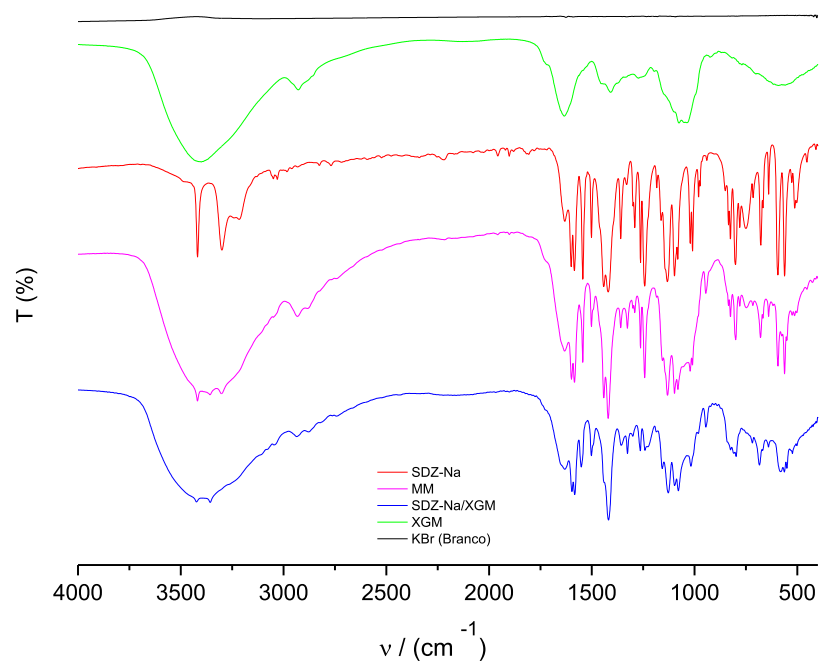
cm-1	Grupo funcional
3413; 3290	N-H
1625 – 1430	C=C
1605 – 1504	C=N
1370 – 1335; 1170 – 1155	S=O

Fonte: O autor (2022).

O espectro da SDZ-Na exibiu quatro bandas características. A primeira em 3413 e 3290 cm^{-1} atribuída a deformação axial dos grupos da ligação N-H da amina primária. A segunda em 1625-1430 representando anéis aromáticos e atribuídas a deformação

axial de C=C, sobrepondo a terceira banda 1605-1504 atribuídas a deformação axial de C=N do anel nitrogenado. A quarta banda característica está entre 1370-1325 e 1170-1155 cm^{-1} atribuídas à deformação axial simétrica e assimétrica do S=O (BOATENG ET AL., 2015; SHAO ET AL., 2015; DING ET AL., 2021). A Figura 46 apresenta os espectros de FTIR da SDZ-Na, XGM, MM e complexo SDZ-Na/XGM na região de 4000 a 400 cm^{-1} .

Figura 46 - Espectro na região do infravermelho da Sulfadiazina de sódio (SDZ-Na), XGM (goma xantana bagaço de malte), mistura mecânica (SDZ-Na+XGM) e complexo (SDZ-Na/XGM)



Fonte: O autor (2021).

O espectro de MM mostrou que não ocorreram mudanças significativas nas posições das principais bandas observadas para XGM e SDZ-Na. O perfil observado é

justificável pela sobreposição das bandas oriundas de XGM e SDZ-Na. Pequenas alterações de bandas encontradas podem ser justificadas pela pressão exercida no momento de formação da pastilha para análise no equipamento. A MM demonstrou que o produto obtido apresenta características físico-químicas diferentes do que apenas uma mistura de dois componentes isolados, sendo necessário um tempo de contato entre as espécies em solução, para que a interação ocorra.

As principais bandas nos espectros das amostras são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Principais bandas observadas na região do infravermelho para SDZ-Na, XGM, MM e complexo SDZ-Na/XGM

Composto	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{C-H})$	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C=C})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{S=O})$	$\nu(\text{C-O})$
XGM	--	2931	3409	1418	--	--	--	1072
SDZ-Na	3413; 3290	--	--	--	1625 - 1430	1603 - 1504	1375 - 1335; 1175 - 1155	--
MM	3420; 3354	--	--	--	1622 - 1432	1602 - 1503	1360 - 1334; 1163 - 1137	--
Complexo SDZ-Na:XGM	3422; 3358	--	--	--	1623 - 1426	1601 - 1499	1361 - 1334; 1158 - 1129	--

Fonte: O autor (2022).

O espectro do complexo SDZ-Na/XGM é possível observar que houve modificações do perfil das bandas como desaparecimento, fusão, deslocamento e intensificação, mudando o perfil do espectro. Dentre algumas, destacam-se: desaparecimento da banda em 3204 cm^{-1} (referente grupos da ligação N-H) provavelmente devido a formação de um novo padrão de ligações de hidrogênio; desaparecimento da banda em 1228 cm^{-1} sugerindo confinamento de ligações C-N na XGM; deslocamento da banda em 1163 cm^{-1} para 1154 cm^{-1} atribuído a vibração da ligação S=O; desaparecimento da banda a 850 cm^{-1} atribuído à vibração de ligação C-H do anel aromático. Essas mudanças sugerem que houve formação do complexo no estado sólido e a estrutura da XGM ao se ligar a SDZ-Na, foi preservada, mantendo a estabilidade do complexo. As principais modificações e atribuições das bandas do complexo SDZ-Na/XGM estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 – Principais modificações observadas no FTIR para o complexo SDZ-Na/XGM

Complexo SDZ-Na/XGM (cm⁻¹)	Modificação	Atribuição
1550	Deslocamento para 1543 cm ⁻¹	Deformação axial de C=C
1293	Desaparecimento	Vibração da ligação C-N
1229	Desaparecimento	Vibração da ligação C-N
1154	Deslocamento para 1163 cm ⁻¹	Vibração da ligação S=O
943	Intensificação	Deformação angular de C=O de ác. carboxílicos
850	Desaparecimento	Vibração de ligação C-H do anel aromático
747	Desaparecimento	Deformação angular grupo etila

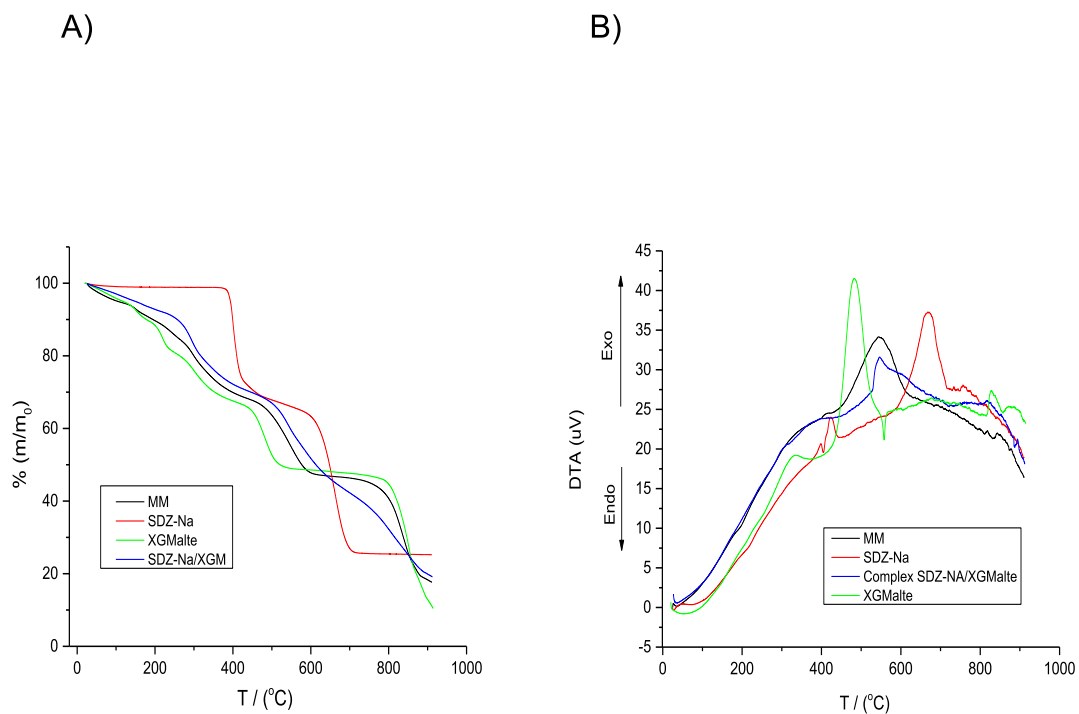
Fonte: O autor (2022).

6.2.2 Análises térmicas (curvas TGA e DTA)

As análises TGA e DTA foram utilizadas para caracterizar o perfil térmico em comparação com a mistura mecânica e os componentes puros. É possível determinar a pureza, avaliar a estabilidade, as transições de fase (evaporação, fusão e sublimação) e ainda eventos como decomposição, desidratação, oxidação ou redução (DELRIVO et al., 2012; MOREIRA, 2018). São técnicas muito utilizadas em estudos de compatibilidade entre formulações farmacêuticas (OLIVEIRA et al., 2011). A TGA fornece informações sobre a variação de massa em função da temperatura e a DTA fornece o fluxo de calor resultante da diferença de temperatura entre a referência e a amostra, determinando eventos endotérmicos e exotérmicos (IONASHIRO, 2005).

A Figura 47 A e B apresentam as curvas de TGA e DTA da SDZ-Na, XGM, MM e complexo SDZ-Na. Na Tabela 7 estão os eventos com as porcentagens de perda de massa e temperaturas.

Figura 47 – A) Curvas de TGA da SDZ-Na, XGM, MM e complexo SDZ-Na/XGM. B) Curvas de DTA da SDZ-Na, XGM, MM e complexo SDZ-Na/XGM



Fonte: O autor (2022)

Tabela 7 - Eventos térmicos atribuídos a SDZ-Na, complexo SDZ-Na:XGM, MM e XGM

Material	1° Perda de massa (%) e atribuição	Temp. (°C)	2° Perda de massa (%) e atribuição	Temp. (°C)	3° Perda de massa (%) e atribuição	Temp. (°C)	4° Perda de massa (%) e atribuição	Temp. (°C)
SDZ-Na	3 Desidratação	35-378	30 Decomposição	378-530	41 Decomposição	530-720	26 Estabilidade	>720
XGM	12 Desidratação	35-195	25 Decomposição	195-450	18 Decomposição	450-785	32 Carbonização	>785
MM	10 Desidratação	35-260	21 Decomposição	260-482	39 Decomposição	482-815	30 Carbonização	>815
Complexo SDZ-Na/XGM	10 Desidratação	35-254	22 Decomposição	270-486	30 Decomposição	486-753	38 Carbonização	>753

Fonte: O autor (2022).

A curva de TGA da SDZ-Na apresenta uma estabilidade térmica de 35° a 378 °C. Uma pequena primeira perda de massa de 3 % é atribuída a desidratação de moléculas de água adsorvidas. A segunda perda de massa de 30 % ocorre entre 378 a 530 °C e a terceira perda de massa de 40 % ocorreu entre 530 a 720 °C. Ambas foram atribuídas à decomposição. Após 720 °C houve estabilidade que pode estar relacionada a material inorgânico. Um evento endotérmico a 405 °C observado na curva de DTA, pode ser atribuído a fusão, seguido de decomposição. Os picos exotérmicos em 422 °C e 667 °C estão associados a decomposição da molécula.

A curva de TGA da XGM relatada anteriormente, mostra eventos com 4 perdas de massa atribuídos a desidratação (até 195 °C), decomposição (até 785 °C) e carbonização (> 785 °C).

A curva de TGA da MM mostra semelhança com a curva XGM, porém, com menor perda de massa até 482 °C, que provavelmente pode estar relacionado a presença de matéria inorgânica (sais) em ambas amostras. A primeira perda de massa de 10% ocorreu entre 35 ° a 260 °C, a segunda perda de 22 % entre 260 ° e 462 °C, a terceira de 38 % entre 462 ° a 815 °C, todas atribuídas a decomposição de moléculas da mistura. Acima de 630 °C houve uma estabilização, e a carbonização ocorreu após 815 °C com perda de massa de 30 %. Na curva de DTA observa-se um pico exotérmico em 545 °C corroborando com os dados da TGA da XGM em que houve estabilidade térmica. Ao comparar com a curva de TGA do complexo é possível ver que essa estabilidade ocorre entre 600 ° e 766 °C, já no complexo isso não aconteceu. Em ambos, esse evento é atribuído à decomposição da amostra indicando que não houve interação da mistura mecânica de cada componente.

Assim como a MM, a curva de TGA do complexo SDZ-Na/XGM apresentou 4 perdas de massa. A primeira perda foi de 10 % entre 35 ° a 254 °C atribuída à desidratação, a segunda de 22 % entre 254 ° a 486 °C e a terceira de 30 % entre 486 °C a 753 °C atribuídas a decomposição de suas moléculas e uma quarta de 38 % acima de

753 °C atribuída à carbonização. O pico exotérmico em 545 °C observado na curva de DTA desse complexo coincide com o pico endotérmico da XGM e com pico exotérmico da MM, sendo atribuído a estabilidade da XGM e decomposição da MM e complexo SDZ-Na/XGM.

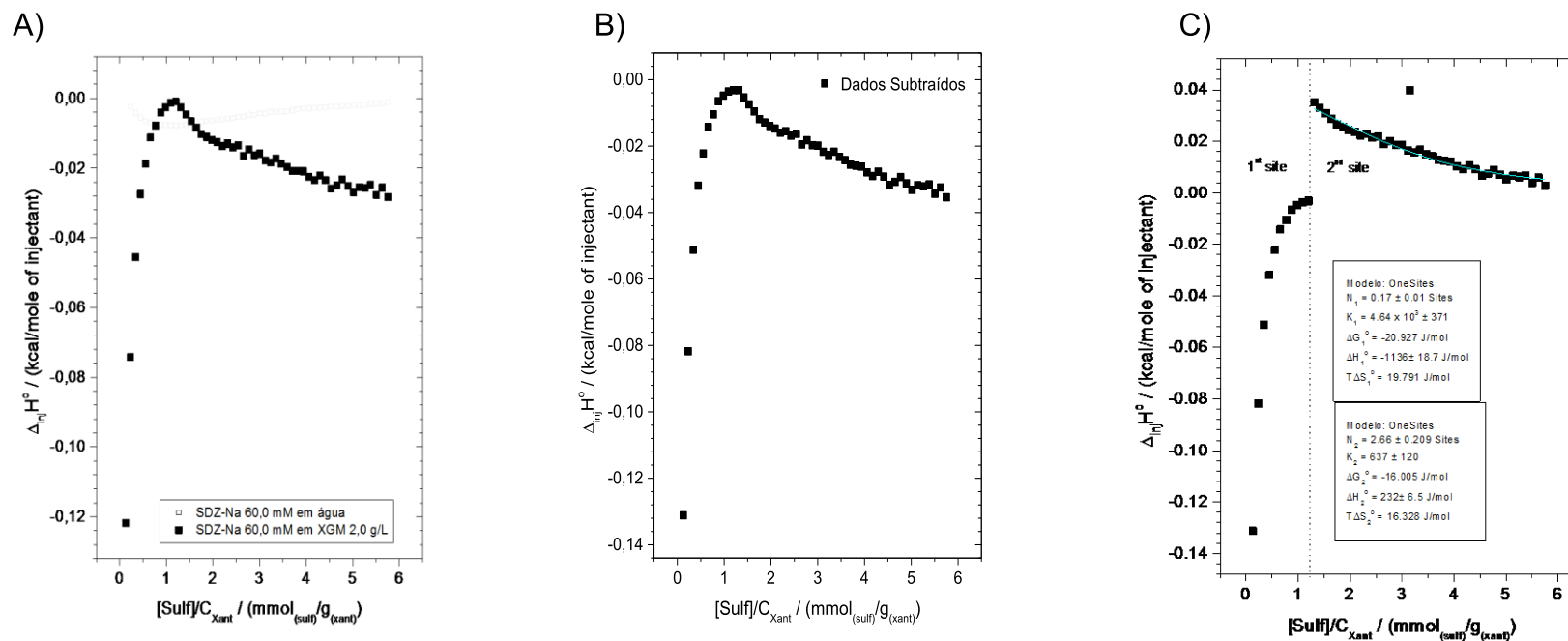
É possível sugerir que houve interação entre XGM e SDZ-Na que possam ser causadas por interações eletrostáticas e por isso apresentam características térmicas diferentes dos seus precursores.

6.2.3 Calorimetria de titulação isotérmica

A calorimetria de titulação isotérmica foi utilizada para investigar as interações moleculares entre SDZ-Na e XGM. Essa análise foi importante para caracterização dos compostos formados, permitindo a determinação da energia livre de Gibbs (ΔG°), estequiometria de complexação (N), variação de entalpia (ΔH°) e entropia ($T\Delta S^\circ$) e constante de associação (K) nos fornecendo um perfil termodinâmico completo da interação molecular (SELVA et al, 2010, SUÁREZ et al., 2014). Com a formação do complexo ocorre liberação de calor (comportamento exotérmico) e a cada injeção de SDZ-Na (titulante), a quantidade de moléculas de XGM (titulado) diminui ao longo da titulação, formando menos compostos e liberando menos calor.

Na Figura 48 A, B e C está representada a curva de titulação de SDZ-Na 60 mmol em XGM 2,0 g/L. Uma titulação com o branco foi executada (Figura 48 A) e subtraído do ensaio (Figura 48 B) visando excluir efeitos de interação soluto-soluto, soluto-solvente e solvente-solvente e avaliar somente a interação SDZ-Na/XGM. Considerando o perfil complexo da curva, ela foi decomposta para fazer o ajuste não linear nas duas regiões mostradas na (Figura 48C). Os valores termodinâmicos da interação estão apresentados na Tabela 7.

Figura 48 - ITC da SDZ-Na (60 mmol em H₂O) em solução de XGM (2,0 g/L) a 25 °C



Legenda: ITC: Calorimetria de titulação isotérmica; SDZ-Na: Sulfadiazina de sódio; *N*: Estequiometria; *K*: Constante de associação; ΔH° : Variação de entalpia; $T\Delta S^\circ$: Variação da energia entrópica; ΔG° : Variação da energia livre de Gibbs.

Fonte: O autor (2022).

Tabela 8 – Parâmetros termodinâmicos de interação entre SDZ-NA e XGM a 25 °C

Complexo	<i>N</i>	<i>K</i>	ΔG° (J/mol)	ΔH° (J/mol)	$T\Delta S^\circ$ (J/mol)
Sítio 1 SDZ-Na	0,17 ± 0,01	4,64x10 ³ ± 371	-20.927	-1.136 ± 18,7	19.791
Sítio 2 SDZ-Na	2,66 ± 0,209	637±120	-16.005	232± 6,5	16.328

Fonte: O autor (2022).

A titulação mostrou que houve 2 regimes de interação onde a estequiometria do complexo formado foi de 0,17:1 (0,17 mmol SDZ-Na para cada 1 g de XGM, sendo o valor *N* de 0,17 ± 0,01 no primeiro regime de interação e 2,66:1 (2,66 mmol SDZ-Na para cada 1 g de XGM) com valor *N* de 2,66 ± 0,209 no segundo regime de interação.

No primeiro, os dados termodinâmicos forneceram informações de que o processo de complexação espontâneo ($\Delta G^\circ < 0$), é exotérmico ($\Delta H^\circ < 0$) e direcionado por entropia ($T\Delta S^\circ > 0$), apresentando por isso maior constante *K* de afinidade (4,64 x 10³ ± 371), refletindo em interações mais fortes e que geralmente, possuem maior valor de (ΔG°) (BOUCHEMAL, 2012). Processos exotérmicos indicam a formação de ligações estáveis entre a SDZ-Na e XGM sendo encontrado o valor negativo de entalpia ($\Delta H^\circ = -1.136 \pm 18,7$). O alto valor de entropia ($T\Delta S^\circ = 19.791$) leva a uma desordem que pode ser explicada pela dessolvatação de moléculas com consequente liberação de moléculas de água para o meio que ganham graus de liberdade rotacionais e translacionais responsáveis pelo estado final de desordem ser maior que o estado inicial, garantindo assim a espontaneidade da interação (SELVA et al, 2010).

No segundo, a SDZ-Na ligada dificulta a entrada de moléculas, mostrando pelos dados termodinâmicos que o processo de complexação é espontâneo ($\Delta G^\circ < 0$), endotérmico ($\Delta H^\circ = 232 \pm 6,5$), direcionado por entropia ($T\Delta S^\circ = 16.328$) e apresentando menor constante de afinidade *K* = 637±120 do que no primeiro regime de interação. Os dados termodinâmicos da segunda complexação sugerem que a afinidade da SDZ pelas

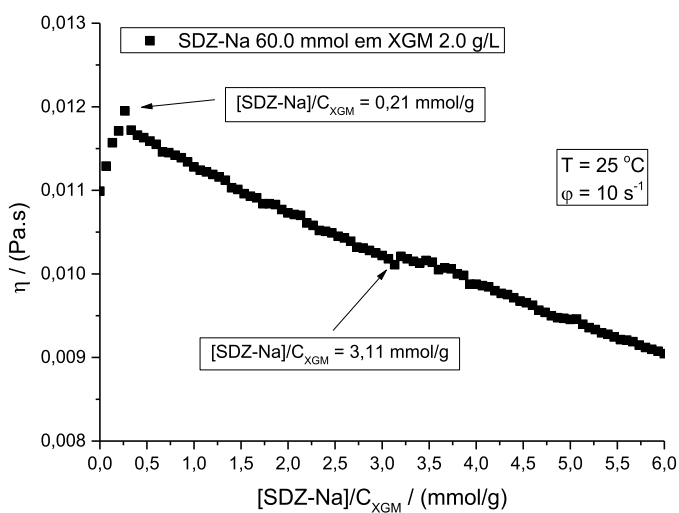
moléculas de xantana seja principalmente direcionada por segregação da molécula do meio aquoso para a superfície das macromoléculas, gerando dessolvatação de íons e moléculas de água, que ganham liberdade rotacional e translacional.

6.2.3.1 Interação SDZ-Na/XGM por reologia estacionária

A formação do complexo SDZ-Na/XGM também foi monitorada por titulação viscosimétrica, injetando 63 μL de solução de SDZ-Na a 60 mmol (41 titulações manuais de 6,3 μL) em 1,5 mL de solução de XGM a 2,0 g/L à 25 °C e taxa de cisalhamento de 100 s^{-1} .

Conforme Figura 49, é possível observar que a viscosidade aumenta até 0,012 Pa.s a uma concentração de 0,21 mmol/g, sendo esse valor próximo ao determinado pelo ITC (0,17 mmol/g). Depois disso a viscosidade diminui constantemente com uma pequena inflexão a 3,11 mmol/g. No início as moléculas de XGM estão livres e estão envoltas por moléculas de água, formando assim ligações de hidrogênio ou interações íon-água e outras moléculas, resultando em formação de rede de interações, explicando os maiores valores de viscosidade. Com a adição de SDZ-Na, ocorre interações com a macromolécula, provavelmente por ligações de hidrogênio, ocorre a quebra de rede e formação de precipitado que altera a estrutura do fluido que antes era uma rede contínua e passa a ser uma solução formada por agregados discretos, fazendo com que a viscosidade caia constantemente com a adição de SDZ-Na.

Figura 49 - Curva de titulação viscosimétrica de 60,0 mmol de SDZ-Na em 2,0 g/L de XGM à 25 °C e taxa de cisalhamento a 100 s⁻¹

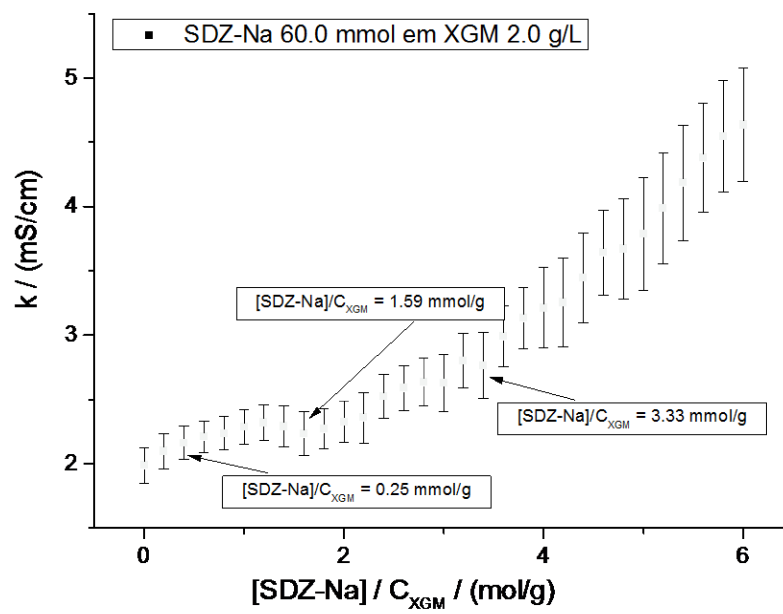


Fonte: O autor (2022).

6.2.3.2 Interação SDZ-Na/XGM por titulação condutimétrica

Na Figura 50 estão apresentados os valores de condutividade em função da concentração de SDZ-Na/XGM (mmol/g). Como observado, a condutividade aumenta em função do aumento da concentração porque a SDZ-Na é um eletrólito (ZHANG & LIU, 2011). Contudo, é possível observar que a resposta não foi linear, com a condutividade aumentando com diferentes taxas. Nas concentrações em 1,59 e 3,33 mmol/g observa-se inflexões, associadas às estequiometrias descritas anteriormente (BHATTARAI et al., 2017; KARAYIL et al., 2016).

Figura 50 - Curva de condutividade de 60 mmol de SDZ-Na em 2,0 g/L de XGM à 25°C



Fonte: O autor (2022).

6.2.4 Ensaios antimicrobianos

6.2.4.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

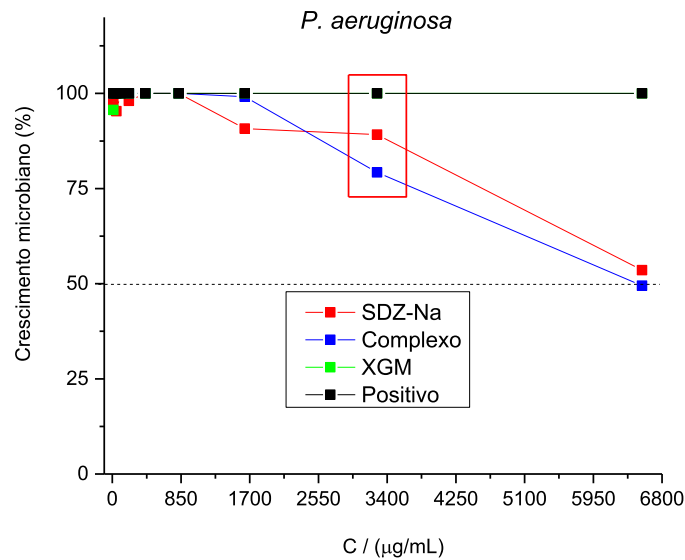
Após a caracterização do complexo SDZ-Na/XGM, foram realizados experimentos biológicos. Inicialmente, foi efetuado experimento visando a determinação da CIM, ou seja, a menor concentração do fármaco que fosse capaz de inibir o crescimento microbiano após incubação por 24 h. O procedimento foi realizado com objetivo de avaliar se a capacidade do fármaco e complexo formado, inibisse o crescimento de *S. aureus* (Gram positivo), *E. coli.*, *P. aeruginosa* e *Salmonella* (Gram negativo). Foi observado que para todos os microrganismos testados, tanto para o fármaco puro quanto para o complexo e somente XGM, não houve CIM em nenhuma faixa de concentração aplicada. O controle negativo não apresentou atividade microbiana para nenhuma das linhagens testadas.

Na literatura existem vários trabalhos referente a determinação de concentração mínima inibitória de Sulfadiazina de Prata (SDZ-Ag) associada a outros fármacos frente a microrganismos de referência (Davolli et al., 2018; Zhang et al., 2020; Ekstrand et al, 2022). Em relação a Sulfadiazina de sódio, Zhou et al. (2019) mostraram que em associação com perimetamina trata casos não congênitos causados por *Toxoplasma Gondii*. Da Silva et al. (2021) avaliou a atividade antimicrobiana e físico-química associada a ciclodextrinas frente a vários microrganismos.

O fato de não mostrar CIM detectável por microdiluição, não significa que o fármaco (SDZ-NA), o complexo (SDZ-Na/XGM) e a XGM, não possam ser ativos contra os microrganismos testados. Na Figura 51 é possível observar que houve redução do crescimento microbiano para cepa de *P. aeruginosa*, em concentrações acima de 1500 µg/mL. A cepa foi mais sensível para SDZ-Na e complexo SDZ-Na/XGM, inibindo respectivamente 48 % e 52 % da atividade microbiana em concentrações acima de 6000

$\mu\text{g/mL}$. Enquanto que somente a XGM, não houve inibição em toda faixa de concentração testada.

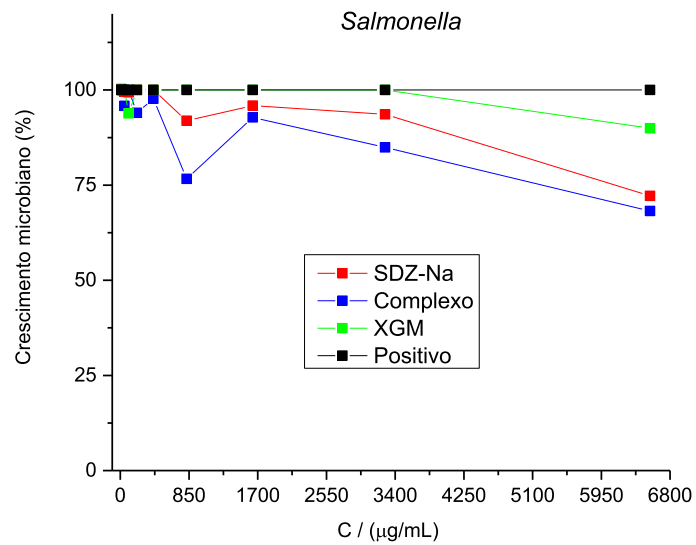
Figura 51 - Crescimento microbiano de *P. aeruginosa* frente SDZ-Na, SDZ-Na/XGM e XGM



Fonte: O autor (2022).

A Figura 52 mostra redução do crescimento microbiano para cepa de *Salmonella*, em concentrações acima de 1000 $\mu\text{g/mL}$. A cepa foi mais sensível para SDZ-Na e complexo SDZ-Na/XGM, inibindo respectivamente 28 % e 32 % da atividade microbiana em concentrações acima de 6000 $\mu\text{g/mL}$. Fato curioso ocorreu com a XGM em concentrações acima de 6000 $\mu\text{g/mL}$, inibindo em torno de 11% o crescimento microbiano desse microrganismo. Isso pode estar relacionado a sua capacidade de formar gel, tornado o meio mais viscoso e dificultando o acesso de nutrientes para o crescimento microbiano.

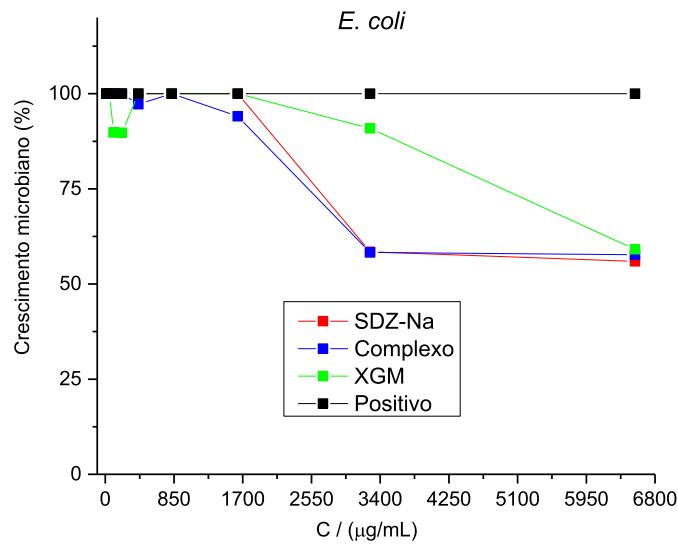
Figura 52 - Crescimento microbiano de *Salmonella* frente SDZ-Na, SDZ-Na/XGM e XGM



Fonte: O autor (2022).

A Figura 53 mostra redução do crescimento microbiano para cepa de *E.coli*, em concentrações acima de 3000 µg/mL. A cepa foi mais sensível para SDZ-Na e complexo SDZ-Na/XGM, inibindo respectivamente 35 % e 44 % da atividade microbiana em concentrações acima de 6000 µg/mL. Da mesma forma que ocorreu para a cepa de *Salmonella*, aqui, a XGM em concentrações acima de 6000 µg/mL, inibiu 44 % do crescimento microbiano igualando ao complexo SDZ-Na/XGM.

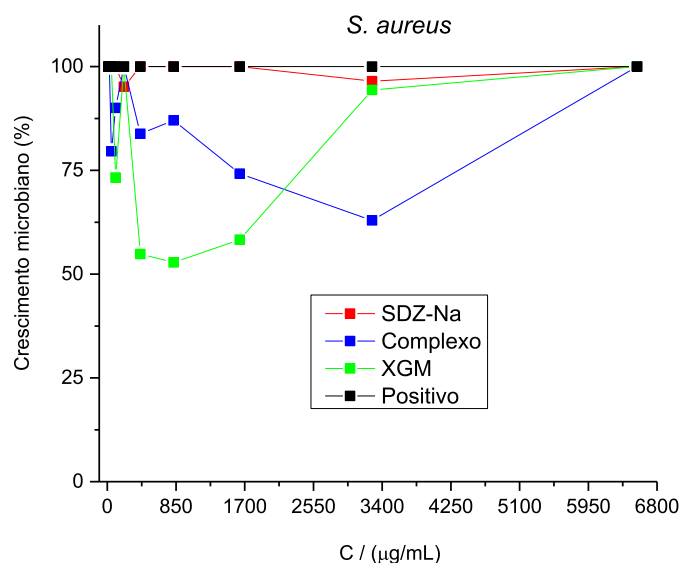
Figura 53 - Crescimento microbiano de *E. coli* frente SDZ-Na, SDZ-Na/XGM e XGM



Fonte: O autor (2022).

A Figura 54 mostra redução do crescimento microbiano para cepa de *S. aureus*, em concentrações acima de 60 $\mu\text{g/mL}$. Houve oscilação na inibição de crescimento desse microrganismo frente a XGM e complexo SDZ-Na/XGM até concentração de 3500 $\mu\text{g/mL}$. Acima dessa concentração, o microrganismo voltou a desenvolver chegando ao ponto de não haver inibição em concentrações acima de 6000 $\mu\text{g/mL}$. Outro fato curioso, é que somente a SDZ-Na, não foi capaz de inibir o crescimento microbiano em toda faixa de concentração testada.

Figura 54 - Crescimento microbiano de *S. aureus* frente SDZ-Na, SDZ-Na/XGM e XGM



Fonte: O autor (2022).

6.2.4.2 Investigação da cinética de crescimento

Diante dos dados apresentados, apesar de não ter sido possível a determinação do CIM, foi possível observar que o complexo SDZ-Na/XGM apresentou maior capacidade inibitória, já que as curvas de crescimento em função da concentração mostraram que os microrganismos têm menor desenvolvimento na presença do complexo.

Para melhor entendimento do processo de crescimento dos microrganismos, foram realizados estudos cinéticos na presença do complexo, SDZ-Na e XGM, medindo a absorbância em relação ao tempo de incubação, durante 24 h. Nos experimentos, foi utilizada a concentração fixa de 3276 µg/mL para todos os ensaios.

As curvas de crescimento foram modeladas por regressão não linear, utilizando a Equação 1 INSERIR A EQUAÇÃO descrita acima no programa Microcal Origin® 9.0, com modelo cinético de primeira ordem “Não Estruturado Logístico”.

A Tabela 9 mostra os valores dos ajustes obtidos pelo modelo logístico utilizando regressão não linear utilizando o software Microcal Origin 9.0.

Conforme valores da Tabela 9, as variáveis A e k_x , para o complexo (SDZ-Na/XGM) possuem os menores valores em relação aos outros compostos. Considerando que essas variáveis estão diretamente relacionadas com a inibição e velocidade de crescimento do microrganismo, respectivamente, o complexo demonstrou que a capacidade de tornar o meio mais viscoso e com possibilidade de formar gel, pode retardar o crescimento do microrganismo por dificultar o acesso a nutrientes necessários para seu desenvolvimento. Apesar de não ter sido encontrado a CIM para os compostos, é nítido que o complexo SDZ-Na/XGM seja capaz de desacelerar o crescimento dos microrganismos, além de reduzir a carga bacteriana.

Tabela 9 - Variáveis cinéticas determinadas por modelo logístico da SDZ-Na, SDZ-Na/XGM e XGM contra *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *E.coli* e *Salmonella*

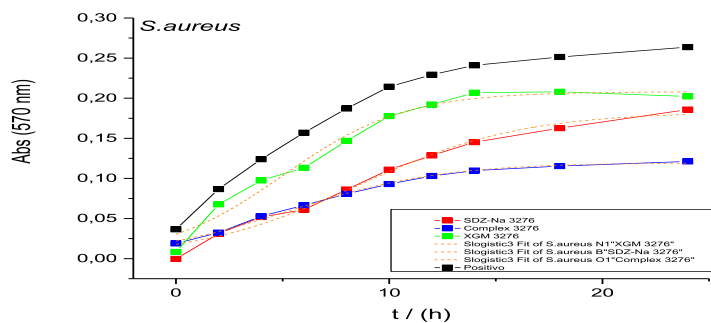
Microrganismo	Composto	A	b	Kx
<i>S.aureus</i>	SDZ-Na	0,183	9,229	0,280
	Complexo	0,119	4,458	0,259
	XGM	0,208	5,856	0,350
<i>P.aeruginosa</i>	SDZ-Na	0,323	23,215	0,293
	Complexo	0,291	18,470	0,262
	XGM	0,422	13,397	0,265
<i>E.coli</i>	SDZ-Na	0,387	10,712	0,293
	Complexo	0,353	7,224	0,266
	XGM	0,415	3,143	0,358
<i>Salmonella</i>	SDZ-Na	0,540	4,682	0,200
	Complexo	0,447	4,267	0,189
	XGM	0,533	5,855	0,204

Fonte: O autor (2022).

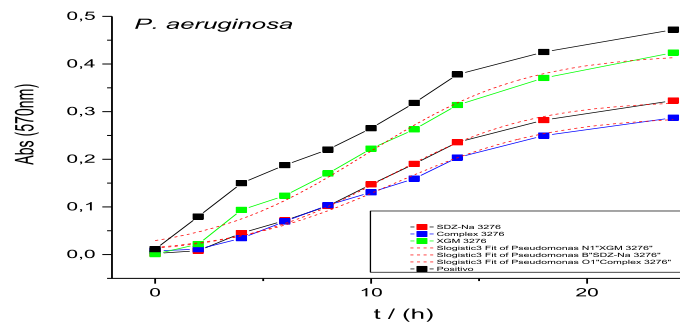
Nas Figuras 55 A,B,C e D observam-se que o complexo (SDZ-Na/XGM) foi o que mais inibiu o crescimento de *S.aureus*, *P.aeruginosa* e *Salmonella* em relação ao fármaco puro (SDZ-Na) e a XGM. Em relação a *E.coli*, a maior inibição ocorreu com o fármaco (SDZ-Na), seguido do complexo.

Figura 55 - Cinética de inibição de crescimento de frente SDZ-Na, complexo e XGM, ambos na concentração de 3276 µg/mL. A) *S. aureus* B) *P. aeruginosa* C) *Salmonella* D) *E. coli*.

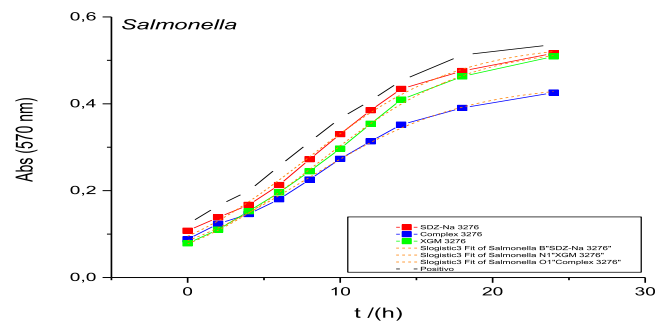
A)



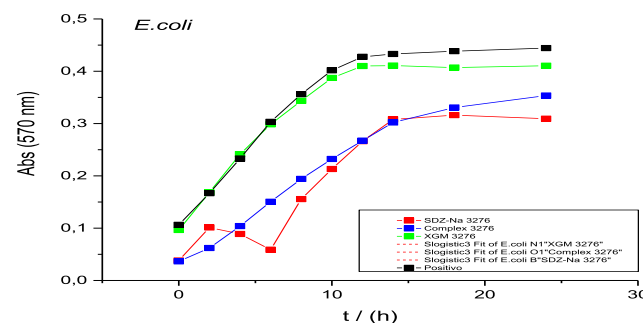
B)



C)



D)



7 CONCLUSÕES

~~No presente trabalho, a goma xantana foi biossintetizada a partir de resíduo de cervejaria.~~ A composição centesimal do bagaço de malte hidrolisado mostrou que os teores de carboidratos, proteínas, lipídios e cinzas encontrados, foram suficientes para o crescimento celular e produção da goma. Dessa forma, a relação C:N de 10,3:1 foi viável para produção de XGM e XGSac utilizando a cepa *X.campestris* IBSBF 629 permitindo inferir que o bagaço de malte é um substrato adequado, principalmente por ser de baixo custo e por não necessitar de suplementos adicionais durante o processo fermentativo, que pode ser utilizado para produção de gomas xantanas.

Os dados obtidos através de FTIR confirmaram que a XGM apresentou similaridade com os mesmos grupamentos químicos da XGS e que a cepa *X. campestris* IBSBF 629 pode ser utilizada para produção de XGs, com reprodutividade do processo, a partir de fontes de carbono alternativas.

As análises térmicas mostraram que gomas XGM e XGSac apresentaram maior estabilidade térmica quando comparadas com XGSL e XGS. Sugere-se que essa diferença está associada a etapa de recuperação por precipitação, que pode levar à incorporação de diferentes quantidades de cátions ou a mudanças estruturais provocadas por diferentes fontes de carbono.

Os valores de potencial zeta, sugerem boa estabilidade coloidal a baixas concentrações e que em concentrações elevadas, interações não iônicas passam a dominar, já que o potencial zeta tendeu para zero para todas as amostras.

A reologia estacionária mostrou que a XGM, XGSac, XGSL e XGS comportam-se como fluidos pseudoplásticos, uma vez que a viscosidade diminuiu com aumento da taxa de cisalhamento que é característico de soluções poliméricas de polissacarídeos microbianos. Ao fixar uma taxa, a viscosidade da XGM, foi praticamente a mesma da

XGSac, mostrando que o bagaço de malte apresenta mesma capacidade espessante e confirmando seu potencial biotecnológico para fabricação de gomas, com redução nos custos de produção e impacto ambiental.

A reologia oscilatória dos módulos G' e G'' em função da varredura de amplitude de deformação, mostrou que todas as gomas apresentaram formação de rede viscoelástica com interações entre as estruturas com ramificações suficientes para o entrelaçamento molecular e rigidez ao fluido, com módulos $G'' > G'$ predominando o caráter viscoso (fluídico). Também apresentaram uma faixa linear onde foi possível a determinação da LVE, sugerindo que acima dessas amplitudes de deformação, as gomas se desestruturam até serem totalmente escoadas.

Os valores do fator de amortecimento ($\tan\delta$) também em função da amplitude de deformação para XGM, XGSac e XGSL, foram maiores que 1, confirmando o comportamento viscoso (fluídico) até 100% de deformação, depois o comportamento fica elástico, ou seja, mais rígido. A XGM demonstrou maior rigidez entre elas, por apresentar menores valores na faixa de 0 a 10% de deformação. Assim, a XGM demonstrou ter potencial efeito espessante em baixo e alto cisalhamento.

A reologia oscilatória dos módulos G' e G'' em função da frequência angular mostrou que os valores dos módulos de todas as gomas, aumentaram com a frequência, indicando formação de rede tridimensional demonstrando a natureza viscoelástica e predominância do caráter fluídico ($G'' > G'$) sendo valores em módulos $XGS > XGM > XGSac > XGSL$.

Os valores de fator de amortecimento ($\tan\delta$) em função da frequência angular mostraram que para XGS, o $\tan\delta > 1$ em quase toda a faixa varrida e com baixa dependência da frequência e comprovaram que esse fluido é relativamente inerte ao cisalhamento, dentro da faixa varrida. Dessa forma, reforçam a hipótese de que a XGM tenha elevado potencial espessante, especialmente em elevadas frequências de cisalhamento, o que é feito normalmente em agitadores industriais.

Com os resultados obtidos na caracterização do complexo SDZ-Na/XGM estabeleceram-se novas interações, tanto em solução quanto no estado sólido. Os espectros de absorção na região do infravermelho demonstraram diferenças significativas dos padrões de bandas do complexo, quando comparados às substâncias puras. O aumento da estabilidade térmica do complexo no SDZ-Na/XGM foi percebido nas análises de TGA e DTA.

Não foi detectável CIM por microdiluição nos microrganismos testados, mas não significa que o fármaco, o complexo SDZ-Na/XGM e a XGM, não possam ser ativos. Houve uma redução aproximada de 50% do crescimento microbiano quando utilizando o complexo SDZ-Na/XGM.

8 REFERÊNCIAS

ABBASZADEH, A ; LAD, M ; JANIN, M ; MORRIS, G.A ; MACNAUGHTAN, W ; SWORN, G ; FOSTER, T.J A novel approach to the determination of the pyruvate and acetate distribution in xanthan. **Food Hydrocolloids**, v.44, pp.162-171, 2015.

AHMAD, S.; AHMAD, M.; MANZOOR, K.; PURWAR, R.; IKRAM, S.; A review on latest innovations in natural gums based hydrogels: Preparations & applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.136, pp.870-890, 2019.

AHMAD, T.; AADIL, R.M.; AHMED, H. ; RAHMAN, U.U. ; SOARES, B.C.V. ; SOUZA, S.L.Q.; PIMENTEL, ; SCUDINO, ; GUIMARÃES, J.T.; ESMERINO, E.A. ; FREITAS, M.Q. ; ALMADA, R.B. ; VENDRAMEL, S.M.R.; SILVA, M.C.; CRUZ ,A.G.;Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. **Trends in Food Science & Technology** , v. 88, pp. 361-372, 2019

AKAR, T; ACVI, M.; DUSUNCELI, F. **Barley**: Post-harvest operations, 2004.

ANWAR, M. ; PERVAIZ, F.; SHOUKAT, H. ; NOREEN, S. ; SHABBIR, K. ; MAJEED, A. ; IJAZ,S.Formulation and evaluation of interpenetrating network of xanthan gum and polyvinylpyrrolidone as a hydrophilic matrix for controlled drug delivery system.(Report) **Polymer Bulletin**, v.78(1), p.59(22), 2021.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**. 16th ed. Washington, 1995.

AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. **Biotecnologia**: alimentos e bebidas produzidos por fermentação. 4. re.v. 5. Edgard Blücher : São Paulo, 1993.

ANTUNES, A.E.C.; MOREIRA, A.S.; VENDRUSCOLO, J.L.S.; VENDRUSCOLO, C.T. .Screening of *Xanthomonas campestris* pv *pruni* strains according to their production of xanthan and its viscosity and chemical composition. **Brazilian Journal Food Technology**, v.6, pp. 317-322, 2003.

ASGHAR, L.; CHURE, C.; CHANDRAN,S. Colon Specific Delivery of Indomethacin: Effect of Incorporating pH Sensitive Polymers in Xanthan Gum Matrix Bases. **AAPS PharmSciTech**, v.10(2), pp.418-429, 2009.

ASSIS, D. J., BRANDÃO, L. V., COSTA, L. A. S., FIGUEIREDO, T. V. B., SOUSA, L. S., PADILHA, F. F., & DRUZIAN, J. I. A study of the effects of aeration and agitation on the properties and production of xanthan gum from crude glycerin derived from biodiesel using the response surface methodology. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.172(13), 2769–2785. 2014.

ATKINSON, B., MAVITUNA, F. **Biochemical engineering and biotechnology handbook**. 2. ed., Basingstock: MacMillan, 1991.

BAGUL, R.; MAHAJAN, V.; DHAKE, A. New approaches in nanoparticulate drug delivery system: A review. **International Journal of Current Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 2, p. 29–38, 2012.

BAJIĆ, B.Z.; VUČUROVIĆ, D.G.; DODIĆ, S.N.; GRAHOVAC, J.A.; DODIC, J.M. Process model economics of xanthan production from confectionery industry wastewaters. **Journal of Environmental Management**, Volume 203, Part 3, 1 Pages 999-1004, 2017.

BALMAYOR, E. ; AZEVEDO, H.; REIS, R. Controlled Delivery Systems: From Pharmaceuticals to Cells and Genes, **Pharmaceutical Research**, v.28(6), pp.1241-1258, 2011.

BALOGUN, A.O.; SOTOUDEHNIKARANI, F.; MCDONALD, A.G.; Thermo-kinetic, spectroscopic study of brewer's spent grains and characterisation of their pyrolysis products. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.127 pp. 8-16, 2017.

BALTA, I.; LINTON, M.; PINKERTON, L.; KELLY, C.; WARD, P.; STEF, L.; PET, I.; HORABLAGA, A.; GUNDOGDU, O.; CORCIONIVOSCHI, N.; The effect of natural antimicrobials on the *Campylobacter coli* T6SS+/- during in vitro infection assays and on their ability to adhere to chicken skin and carcasses, **International Journal of Food Microbiology**, v.338, 2021.

BARNES, H.A., J.F. HUTTON, AND K. WALTERS, **An Introduction to Rheology**. Elsevier. 1989.

BARNES H.A., *A Handbook of Elementary Rheology*. 2000.

BATT, C.A.; TORTORELLO, M.; **Encyclopedia of Food Microbiology**, 2 edition, v1. 2014.

BEEBIGAMUKAMA, D.; MOCHOGE, B.; KORIR, N.K.; FIABOE, K; NAKIMBUGWE, D; KHAMIS, F.M.; SUBRAMANIAN, S.; WANGU, M.M.; DUBOIS, T.; EKESI, S.; TANGA, C.M.; Low-cost technology for recycling agroindustrial waste into nutrient-rich organic fertilizer using black soldier fly. **Waste management (Elmsford)**, v.119, pp.183-194, 2021.

BELMESSIERI, D.; GOZLAN, C.; DUCLOS, M.; MOLINIER, V.; AUBRY, J.; DUMITRESCU, O.; LINA, G; REDL, A; DUGUET, N; LEMAIRE, M. Synthesis, surfactant properties and antimicrobial activities of methyl glycopyranoside ethers. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.128, pp.98-10610, 2017.

BERTHOMIEU, C.; HIENERWADEL, R. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. **Photosynthesis Research**, v. 101, n. 2, p. 157-170, 2009.

BHATIA S.K., KUMAR N., BHATIA R.K. Stepwise bioprocess for exopolysaccharide production using potato starch as carbon source. **3 Biotech**. v.5, p.735–739, 2015.

BHATTARAI, A.; YADAV, A.K.; SAH, S.K.; DEO, A. Influence of methanol and dimethyl sulfoxide and temperature on the micellization of cetylpyridinium chloride. **Journal Of Molecular Liquids**, Biratnagar, v. 242, p.831-837, set. 2017

BILA, J.; MORTENSEN, C.N.; ANDRESEN, M.; VICENTE, J.G.; WULFF, E.G.; Xanthomonas campestris pv. campestris race 1 is the main causal agent of black rot of Brassicas in Southern Mozambique. **African Journal of Biotechnology**. v.12 (6) ,602-610,2013.

BIELI, B. C.; MARQUES, D.R.; MARCHI, L.B.; QUELHAS, J.O.F.; CHINELLATO, M.M.; MONTEIRO, C.C.F.; MONTEIRO, A.R.G.. Produção de snack extrusado com adição de farinha de bagaço de malte. **Revista Tecnológica**: Edição Especial 2014, Maringá, p.321-326, jan. 2015.

BOATENG,J; BURGOS-AMADOR, R.; OKEKE,O.; PAWAR, H. Composite alginate and gelatin based bio-polymeric wafers containing silver sulfadiazine for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, V.79, 2015.

BOREL, L. D.M.S ; FILHO, A. M. R ; XAVIER, T.P. ; LIRA, TAISA S. ; BARROZO, M. A.S.; An investigation on the pyrolysis of the main residue of the brewing industry. **Biomass & Bioenergy**, September, v.140, 2020.

BORGES,C.D.; VENDRUSCOLO, C.T. Xanthan Gum: characteristics and operational conditions of production **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 171-188, jul./dez. 2008.

BOUCHEMAL, K.; MAZZAFERRO, S. How to conduct and interpret ITC experiments accurately for cyclodextrin-guest interactions. **Drug Discovery Today**, v.17, n.11-12, p.623- 62, 2012.

BOUGHOUGAL, A ; CHERCHALI, F. Z.; MESSAI, A.; ATTIK, N.; DECORET, D.; HOLOGNE, M.; SANGLAR, C.; PILET, G.; TOMMASINO, J. B.; LUNEAU, D. New model of metalloantibiotic: synthesis, structure and biological activity of a zinc(ii) mononuclear complex carrying two enrofloxacin and sulfadiazine antibiotics. **New Journal of Chemistry**, v.42(18), pp.15346-15352, 2018.

BRANDÃO, L.V.; NERY, T.B.R.; MACHADO, B.A.S.; ESPERIDIÃO, M.C.A; DRUZIAN, J.I.. Production of xanthan gum obtained from sugarcane. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28(Supl.): 217-222, dez. 2008.

BRANDAO, L. V.; ESPERIDIAO, M. C. A.; DRUZIAN, J.I.; Utilização do soro de mandioca como substrato fermentativo para a biosíntese de goma xantana: viscosidade aparente e produção. **Polímeros**. v.20, n.3, pp.175-180, 2010.

BRASIL. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária (EMBRAPA). Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 93. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2005. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/187100>. Acesso em 15/11/2020.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Programa Nacional de Resíduos Sólidos**. Brasília, 2010. 102 p.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (ALICEWEB). Secretaria de Comércio Exterior. **Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior via Internet**: AliceWeb. 2020. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/29278>>Acesso em: 07/03/2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Anuário da cerveja: 2019. Secretária de Defesa Agropecuária. 20 p. Brasília, 2019. BRASIL. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)**. IBGE prevê novo recorde na safra em 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/agricultura-e-pecuaria/2020/05/ibge-preve-safra-novo-recorde-na-safra-em-2020>.

BRASIL. **Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI)**. Disponível em: <https://gru.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController>. Acesso em: 21/01/21

BROWN, M.E. **Introduction to thermal analysis**. Hot topics in thermal analysis and calorimetry. Springer, Dordrecht. V.1, 2004. https://doi.org/10.1007/0-306-48404-8_10

BRUNCHI, C.E.; BERCEA, M.; MORARIU, S.; DASCALU, M. Some properties of xanthan gum in aqueous solutions: effect of temperature and pH. **Journal of Polymer Research**, v. 23, n. 7, p. 123, 2016.

CALDERINI, A.; PESSINE, F. Synthesis and characterization of inclusion complex of the vasodilator drug minoxidil with β -cyclodextrin. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 60, n. 3-4, p. 369-377, 2008.

CARRARA, E.; PFEFFER, I.; ZUSMAN, O.; LEIBOVICI, L.; PAUL, M. Determinants of inappropriate empirical antibiotic treatment: systematic review and meta-analysis. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.51 pp. 548-553, 2018.

CATALÁN-MATAMOROS, D.; PARIENTE, A.; ELÍAS-PÉREZ, C. What we know about media communication on antibiotics and antimicrobial resistance: A systematic review of the scientific literature. **Patient Education and Counseling**, v.102(8), pp.1427-1438, 2019.

CHIA-HUA, H.S.U; Y. MARTIN, L.O. Characterization of xanthan gum biosynthesis in a centrifugal, packed-bed reactor using metabolic flux analysis. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 1617-1625, 2003.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. **Reference method for both dilution antifungal susceptibility testing of yeast**. CLSI document M27-A3. Wayne PA. 2015; v.28(14):40p.

COELHO, M.A.Z.; LEITE, S.G.F.; ROSA, M.F.; FURTADO, A.A.L. Aproveitamento de resíduos agroindustriais: produção de enzimas a partir da casca de coco verde. Publisher: **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 33-42, jan./jun. 2001.

CORDEIRO, L.C.; EL-AOUAR, A.A.; GUSMÃO, R.P.; CHARACTERIZATION OF THE BAGASSE COMING FROM MALT BEER. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 7, n. 3, p. 20-22, 2012.

COSTA, T. J; INÔ, M.M.O; KUNZ, V.R.; BARROS, F.C.; Reaproveitamento de resíduos sólidos da indústria cervejeira: bagaço de malte extrusado para a produção de produtos alimentícios. Vieira, V.B.; Piovesan, N. (Org.). **Avanços e desafios da Nutrição 4**. Ponta Grossa, PR. Editora Atena, 2019.

DA SILVA, J. ; CARDOSO, L. ; ASSIS, D.J. ; GOMES, G. ; OLIVEIRA, M. ; SOUZA, C; DRUZIAN, J. Xanthan Gum Production by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* IBSBF 1866 and 1867 from Lignocellulosic Agroindustrial Wastes. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.186(3), pp.750-763, 2018.

DAVID, G.F.; PEREZ, V.H.; JUSTO, O.R.; CUBIDES, D.C.; CARDONA, C.A.; HRISTOV, J. Glycerol bioconversion un unconventional magnetically assisted bioreactor seeking whole cell biocatalyst (intracellular lipase) production. **Chemical Engineering Research and Design**, (3) 243-252, 2016.

DELRIVO, A.; ZOPPI, A.; LONGHI, M. R. Interaction of sulfadiazine with cyclodextrins in aqueous solution and solid state. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1980– 1988, 2012.

DEMIRCI, A. S. et al. Xanthan gum biosynthesis using *Xanthomonas* isolates from waste bread: Process optimization and fermentation kinetics. **LWT Food Science and Technology**, v. 101, p. 40–47, 2019.

DING, C.; ZHOU, C.; FAN, Y.; LIU, Q.; ZHANG, H.; WU, Z. Electrospun polylactic acid/sulfadiazine sodium/proteinase nanofibers and their applications in treating frostbite. **J Appl Polym Sci**. V. 139, 2021.

DINIZ, D. M.; DRUZIAN, J.I.; AUDIBERT, S. Production of Xanthan Gum by *Xanthomonas campestris* Strains Native From Bark Cocoa or Whey. **Polímeros**, v.22, n. 3, p. 278-281, 2012.

DMITRIENKO, S.G.; KOCHUK, E.V.; APYARI, V.V.; TOLMACHEVA, V.V.; ZOLOTOV, Y.A. Recent advances in sample preparation techniques and methods of sulfomanides detection – A review. **Analyticheskaya Khimiya**, v.850, pp. 6-25, 2014.

DUMITRIU, R.; PROFIRE, L.; NITA, L.; DRAGOSTIN, O.; GHETU, N.; PIEPTU, D.; Sulfadiazine-Chitosan Conjugates and Their Polyelectrolyte Complexes with Hyaluronate Destined to the Management of Burn Wounds. **Materials**, v.8(1), pp.317-338, 2015.

DRUZIAN, J.I.; PAGLIARINI, A. P.. Xanthan gum production by fermentation from residue of apple juice. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27(1): 26-31, 2007.

ELELLA, M.H. A.; GODA, E. S.; GAB-ALLAH, M. A.; HONG, S. E.; PANDIT, B.; LEE, S.; GAMAL, H.; REHMAN, A.; YOON, K.R. Xanthan gum-derived materials for applications in environment and eco-friendly materials: A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 2020.

EUZÉBY J.P. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet. **Int. J. Syst. Bacteriology**, v. 47, p. 590-592, 1997. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. 2016.

FAHAD, M.M.; ALKHUZAIE, M.G.A.; ALI, S.F. Recent advances in sulfadiazine's preparation, reactions and biological applications. **Eurasian Chemical Communications**. V.3, p. 383-39, 2021.

FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives: eighty-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. **WHO technical report series**, Switzerland, Geneva. n. 1000. 2016.

FANAERI, M. A.; VAZIRI, B. M. Modeling of temperature gradients in packed-bed solid-state bioreactors. **Chemical Engineering and Processing**, v. 48, p. 446–451, 2009.

FARIA, S.; DE OLIVEIRA P. C.L.; DE MORAIS S.A. L; TERRONES, M.G.H.; DE RESENDE, M. M.; DE FRANÇA, F.P.; CARDOSO V.L.; Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth. **Carbohydrate Polymers**, v.86(2), 469–476, 2011.

FERNANDES, A. F.; PEREIRA, J; GERMANI,.; OIANO-NETO. Efeito da substituição parcial da farinha de trigo por farinha de casca de batata (*Solanum Tuberosum* Lineu). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, suppl., p. 56-65, 2008.

FULIAS, A.; VLASE, G.; LEDETI, I.; Ketoprofen-cysteine equimolar salt Synthesis, thermal analysis, PXRD and FTIR spectroscopy investigation. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 121, p.1087–1091,2015.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 7, p. 549-579, 2000

GENG, S. et al. Molecular interaction of ctDNA and HSA with sulfadiazine sodium by multispectroscopic methods and molecular modeling. **Luminescence**, v.28, n.5, p.785-792, 2012.

GHERNAOUT, D. Controlling Coagulation Process: From Zeta Potential to Streaming Potential. **American Journal of Environmental Protection**, v. 4, n. 5, 2015.

GHASHGHAEI, T. SOUDI, M.R. HOSEINKHANI, S.. Optimization of xanthan gum production from grape juice concentrate using Plackett-Burman design and response surface methodology. **Applied Food Biotechnology**, 3 (1) pp. 15-23, 2016.

GILANI, S.; NAJAFPOUR, G.; HEYDARZADEH, H.; ZARE H. Kinetic models for xanthan gum production using *Xanthomonas campestris* from molasses. **Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly**, 17 (2) pp. 179-187, 2011.

GIOLITO, I.; IONASHIRO, M. A nomenclatura em análise térmica–parte II. **Cerâmica**, v. 34, n. 225, p. 163-164, 1988.

GOMES, A.F.C.; MARINHO, J.L.G.; SANTOS, J.P.L.; Numerical simulation of drilling fluid behavior in different depths of an oil well. **Brazilian Journal of Petroleum and Gas**. v. 13, n. 4, p. 309-322, 2019.

GONÇALVES, G.C.; NAKAMURA,P. K.; VEIT, M. T.; FIAMETTI, K. G. ; SILVA, G. M. C. . Produção e caracterização de carvão ativado granulado e bio-óleo a partir dos resíduos da indústria cervejeira, XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, Volume 1, Pages 8237-8245, 2015.

GONDIM, T. S. ; PEREIRA, R. G.; FIAUX, S. B. Xanthan gum production by *Xanthomonas axonopodis* pv. *mangiferaeindicae* from glycerin of biodiesel in different media and addition of glucose. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 41, 2019.

GOODWIN, J.W.; HUGHES R.W.; **Rheology for chemists: an introduction**. Royal Society of Chemistry. 2008.

GLOBAL MARKET INSIGHTS, 2020. **Biopolymer Coatings Market**. Accessed from: <https://www.gminsights.com/toc/detail/xanthan-gum-market> (Accessed 19 may 2020).

GRATTONI, A.; CANAVESE, G.; MONTEVECCHI, F.M.; FERRARI, M. Fast Membrane Osmometer as Alternative to Freezing Point and Vapor Pressure Osmometry. **Analytical Chemistry**, v.80(7), p. 17 – 22, 2008.

GUERRERO,S.; PASTOR,J.; TVARIJONAVICIUTE,A.; CERON, J.J.;BALESTRA,G;CALDIN,M. Analytical validation and reference intervals for freezing point depression osmometer measurements of urine osmolality in dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation** Vol. 29(6) 791–796, 2017.

GUPTA, R.K., **Polymer and composite rheology**. CRC Press. 2000.

HABIBI, H.; KHOSRAVI-DARANI, K.; Effective variables on production and structure of xanthan gum and its food applications: A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.10, P. 130-140, 2017.

HASHEMI, M. M.; AMINLARI, M.; MOOSAVINASAB, M. Preparation of and studies on the functional properties and bactericidal activity of the lysozyme–xanthan gum conjugate. **LWT-Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 594-602, 2014.

HOLT, J. G. et al.; **Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology**. 9 ed. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1994.

HONARY, S.; ZAHIR, F.; Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano-Drug Delivery Systems - A Review (Part 2). **Tropical Journal Of Pharmaceutical Research**, v. 12(2), pp.255-264, 2013.

HUBLIK, G. ‘Xanthan’. In: Moeller, M. and Matyjaszewski, K. (Eds.). Polymer science: a comprehensive reference, Netherlands: **Elsevier Science & Technology**, pp. 221-229. 2012

HUI, L.; LUNCHAO, D.; HONG, W.; YAJUN, C.; FENGHE, W.; SHENGTIAN, Z.; Photolysis of sulfadiazine under UV radiation: Effects of the initial sulfadiazine concentration, pH, NO₃⁻ and Cd²⁺. **Chemical Physics Letters**, v. 739, 2020.

HYUN, K.; KIM, S.H. ; AHN, K.H.; LEE, S.J. Large amplitude oscillatory shear as a way to classify the complex fluids. **J. Nonnewton Fluid Mech.**, v.107, pp. 51-65, 2002.

IONASHIRO, M. G. Fundamentos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial. **Giz Editorial**, São Paulo, 2005.

JAZINI, M.; FEREDOUNI, E.; KARIMI, K.; Microbial xanthan gum production from alkali-pretreated rice straw. **RSC Advances**, v. 7(6),p. 3507–3514, 2017.

KATHERINE, R.F ; MUTHUKUMARAN, C. ; SHARMILA, G. ; MANOJ KUMAR, N. ; TAMILARASAN, K. ; JAIGANESH, R. Xanthan gum production using jackfruit-seed-powder-based medium: optimization and characterization. **Bio Tech**, v. 7(4), pp.1-10, 2017.

KAUSHIK, P.D.; DOWLING, K.; BARROW, C.J.; ADHIKARI, B.; Complex coacervation between flaxseed protein isolate and flaxseed gum. **Food Research International**, v. 72, 91–97, 2015.

KASZUBA, M., et al. High-concentration zeta potential measurements using light-scattering techniques. Philosophical Transactions of the Royal Society. **Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 368, n. 1927, p. 4439-4451, 2010.

KIM, Y.R. Modeling of Asphalt Concrete. **The MacGraw-Hill Companies**, ed.1, 2009.

KISS, G.; HANSSON, H.C.. **Atmospheric Chemistry and Physics Discuss**. V.4. 7667-7689, 2004,

KIYOSAWA, K. Theoretical and experimental studies on freezing point depression and vapor pressure deficit as methods to measure osmotic pressure of aqueous polyethylene glycol and bovine serum albumin solutions, **Biophysical chemistry**, v.104, pp. 171-188, 2003.

KLAIC, P. M. A.; NUNES A. M.; MOREIRA, A. DA S.; VENDRUSCOLO, C. T.; RIBEIRO, A. S.; Determination of Na, K, Ca and Mg in xanthan gum: Sample treatment by acid digestion. **Carbohydrate Polymers**.v. 83, 2011.

KNAUER. **Freezing point osmometer**. Disponível em: knauer.net/en/Systems-Solutions/Osmometry. Acesso em: 01/03/2022.

KUMAR, A., RAO, K. M., AND HAN, S. S. Application of xanthan gum as polysaccharide in tissue engineering: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 180, 128–144. 2018.

LARSSON, M.; DUFFY, J. An Overview of Measurement Techniques for Determination of Yield Stress **ANNUAL TRANSACTIONS OF THE NORDIC RHEOLOGY SOCIETY**, VOL. 21, 2013

LEITE, D. O.; PRADO, R. J.; Infrared spectroscopy: a presentation for high school students. **Revista brasileira de Ensino de Física**, v.34, n 2, 2504, 2012

LI, P.; LI, T.; ZENG, Y.; LI, X.; JIANG, X.; WANG, Y.; XIE, T.; ZHANG, Y. Biosynthesis of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* LREL1-1 using kitchen waste as the sole substrate. **Carbohydrate Polymers**, 2016.

LI, Y.; XIANG, D.; WANG, B. ; GONG, X. Oil-in-Water emulsions stabilized by ultrasonic degraded polysaccharide complex. **Molecules**, v. 24, 2019.

LI, H., SIGIAN, Z., FANG, L., WEI, L. & RONGSHENG, Z. Fighting against COVID-19: Innovative strategies for clinical pharmacists. **Res Social Adm Pharm**, v.17(1), p.1813-1818, 2021.

LOPES, B.D.; LESSA, V.L.; SILVA, B.M.; CARVALHO, M.A.D.; SCHNITZLER, E.; LACERDA, L.G. Xanthan gum: properties, production conditions, quality and economic perspective. **Journal Of Food And Nutrition Research**, v. 54(3), pp.185-194, 2015.

LUVIELMO, M.M.; SCAMPARINI, A.R.P.. Xanthan gum: Production, recovery, properties and application. **Estudos tecnológicos - v. 5, nº 1: 50-67, 2009.**

MACKENZIE, R. C. 1979. Nomenclature in Thermal Analysis, part IV. **Thermochemica Acta**, 28: 1-6.

MACOSKO, C. W.; Rheology: principles, measurements and applications. New York: **Wiley – VCH**, 1994.

MALIK, N.S. ; AHMAD, M. ; MINHAS, M.U. ; TULAIN, R. ; BARKAT, K. ; KHALID, I. ; KHALID, Q. Chitosan/Xanthan Gum Based Hydrogels as Potential Carrier for an Antiviral Drug: Fabrication , Characterization, and Safety Evaluation. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, 2020.

MALKIN, A.I.; MALKIN, A.Y.; ISAYEV A.I.; Rheology: concepts, methods & applications. **ChemTec Publishing**, 2006.

MALVERN. **Dynamic Light Scattering: An Introduction in 30 Minutes**. 2020. Disponível em: <https://www.malvernpanalytical.com/en/learn/knowledge-center/technical-notes/TN101104DynamicLightScatteringIntroduction>. Acesso em: 24/08/20

MARCUZZO, L.L.; Importance of epiphytic populations in the epidemiology of bacterial diseases. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. Lages, v.8, n.2, p. 146-151, 2009.

MARTÍN-ALFONSO, J.E.; CUADRIA, A.A.; BERTA, M.; STADING, M. Relation between concentration and shear-extensional rheology properties of xanthan and guar gum solutions. **Carbohydrate Polymers**. V.181, P. 63-70, 2018.

MARTINS, F. A; MARTIM, T.; CORRÊA, A. M; OLIVEIRA, F.F. A PRODUÇÃO DO ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO A PARTIR DO BAGAÇO DACANA-DE-AÇÚCAR. **Revista Latino-Americana de Inovação e Engenharia de Produção**, v. 2, n. 3, 2014.

MATOS, A. T.; Tratamento e Aproveitamento Agrícola de Resíduos Sólidos. Viçosa, Minas Gerais: **Editora UFV**, 2014.

MATSUYAMA, S. ; KAZUHIRO, M. ; NAKAUMA, M. ; FUNAMI, T. ; NAMBU, Y. ; MATSUMIYA, K.; MATSUMURA, Y.; Stabilization of whey protein based emulsions via complexation with xanthan gum under acidic conditions. **Food hydrocolloids**, v. 111, 2021.

MAYER, L.; VENDRUSCOLO, C.T.; SILVA, W.P.; MOURA, A.B. Produção, propriedades reológicas e composição química da xantana produzida por *Xanthomonas axonopodis* pv *phaseoli*. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.2, p. 87-95, 2008.

MENEZES, E.C.O.; VIEIRA, P.H.F.; Aglomeração industrial, governança e meio ambiente: conceitos e premissas da abordagem do desenvolvimento territorial sustentável. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**. Editora UFPR, v. 24, p. 101-118, 2011.

MENEZES, J. ET AL.; Produção biotecnológica de goma xantana em alguns resíduos agroindustriais, caracterização e aplicações. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 8, n. 8, p. 1761-1776, 2012.

MESOMO, M.; SILVA, M.F.; BONI, G.; PADILHA, F.F.; MAZUTTI, M.; MOSSI, A.; DE OLIVEIRA, D.; CANSIAN, R.L.; DI LUCCIO, M.; TREICHEL, H.; Xanthan gum produced by *Xanthomonas campestris* from cheese whey: production optimisation and rheological characterisation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89(14), pp.2440-2445, 2009.

MIGUEL, A.C.A.; et al. Aproveitamento agroindustrial de resíduos sólidos provenientes do melão minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.3, pp.733-737, 2008.

MISHRA A. AND JHA B.; **Microbial Exopolysacchrides**. In: Rosenberg E, DeLong EF, Thompson F, Lory S, Stackebrandt E (Eds.), *The Prokaryotes: Applied Bacteriology and Biotechnology*, 4th ed. Springer Berlin Heidelberg, pp. 179–192, 2013.

MOREIRA, A. M. S. et al. Hydrophobic nanoprecipitates of β -cyclodextrin/ivermectins inclusion compounds reveal insecticide activity against *Aedes aegypti* larvae and low toxicity against fibroblasts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 28, p. 7275- 7285, 2018.

MORRIS, E.R.; Ordered conformation of xanthan in solutions and “weak gels”: Single helix, double helix e or both?. **Food Hydrocolloids**, v. 86,18-25, 2019.

MOSTAFA, N.A.; FARAG, A.A.; ABO-DIEF, H.M.; TAYEB, A.M. Production of biodegradable plastic from agricultural wastes. **Arabian Journal of Chemistry**, pp. 546-553. v. 11, 2018.

MUDOI, P., BHARALI, P., KONWAR, B.K.; Study on the effect of pH, temperature and aeration on the cellular growth and xanthan production by *Xanthomonas campestris* using waste residual molasses. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, v. 3(135), 1-6, 2013.

MUKHOPADHYAY, P.AND PRAJAPATI, A.K.; Quercetin in anti-diabetic research and strategies for improved quercetin bioavailability using polymer-based carriers – a review. **RSC Advances**, v. 118, 2015

MUSARA,C.; POTE,W. Application of osmometry in quality analysis of milk. **Journal Food Science Technology**. V.51(3), p.606–610, 2014.

NEJADMANSOURI, M.; RAZMJOOEI, M.; SAFDARIANGHOMSHEH,R.; SHAD, E.; DELVIGNE,F.; KHALESI,M. Semi-continuous production of xanthan in biofilm reactor using *Xanthomonas campestris*. **Journal of Biotechnology**, V. 328, P. 1-11, 2021.

NERY, T. B. R. et al. Biosynthesis of xanthan gum from the fermentation of milk whey: Productivity and viscosity. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 1937-1941, 2008.

NERY, T. B. R.; DA CRUZ, A.J.G.; DRUZIAN, J.I.; Use of Green Coconut Shells as an Alternative Substrate for the Production of Xanthan Gum on Different Scales of Fermentation. **Polímeros**, v. 23, n. 5, p. 602-607, 2013.

NIKNEZHAD, S.V.; ASADOLLAHI M.A.; ZAMANI, A.; BIRIA, D.; DOOSTMOHAMMADI. M. Optimization of xanthan gum production using cheese whey and response surface methodology. **Food Science and Biotechnology**, v. 24 (2) pp. 453-460, 2015.

NOGUEIRA, S.H.; XAVIER, A.R.E.O.; XAVIER, M.A.S.; CARVALHO, A.A.; MONÇÃO, G.A.; BARRETO, N.A.P.; Antibacterial: main classes, mechanisms of action and resistance. **Montes Claros**, v. 18, n.2 , 2016.

OLIVA-NETO, P.; CARIGNATTO, C.R.R.; LIMA, V.M.G., CARVALHO, A.F.A. Produção biotecnológica do biopolímero goma xantana. **Microbiologia in Foco**, n.15, p.14-22, 2011.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.

OZDAL, M.; KURBANOGLU; E.B.;Valorisation of chicken feathers for xanthan gum production using *Xanthomonas campestris* MO-03 J. **Genetic Engineering and Biotechnology**, v.16, p. 259-263, 2018.

PALANIRAJ, A. ; JAYARAMAN, V. .Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. **Journal of Food Engineering**, v.106, pp. 1-12, 2011.

PANZARINI, N.H.; RABBERS, A.; TRINDADE, J. L. F. da; MATOS, E. A. S. A. de; CANTERI, M. H. G., BITTENCOURT, J. V. M. Elaboração de Bolo de Mel Enriquecido com Fibras do Bagaço da Indústria Cervejeira. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 1, p. 1154-1164, 2014.

PAPAGIANNPOULOS, A.; SOTIROPOULOS, K.; RADULESCU, A.; Scattering investigation of multiscale organization in aqueous solutions of native xanthan **Carbohydrate Polymers**, 153 pp. 196-202, 2016.

PATEL, J. ; MAJI, B. ; MOORTHY, N. S. H. N. ; MAITI, S.; Xanthan gum derivatives: review of synthesis,properties and diverse applications. **RSC Advances**, v. 10(45), pp.27103-27136 2020.

PECORA, R. **Dynamic light scattering**: applications of photon correlation spectroscopy. Springer Science & Business Media, 2013.

PEREIRA, E.L; FERRAZ, A.T; Bioprocesses for the production of xanthan gum using agro-industrial waste as raw materials. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 14, n. 2, p. 756-776, ago./dez. 2016

PETRI, D.F. S.; Xanthan gum: A versatile biopolymer for biomedical and technological applications. **Journal of Applied Polymer Science**, 15, v. 132(23),2015.

POOJA, D. et al. Xanthan gum stabilized gold nanoparticles: characterization, biocompatibility, stability and cytotoxicity. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 1-9, 2014.

PORTES, J.; AZEREDO, N.; SIQUEIRA, P.; DE SOUZA, T.; FERNANDES, C.; HORN, A.; CANDELA, D.; DE SOUZA, W.; DAMATTA, R.; SEABRA, S.; A new iron(III) complex-containing sulfadiazine inhibits the proliferation and induces cystogenesis of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology Research**, v. 117(9), pp.2795-2805, 2018.

PRASERTSRI, S. ; LAGARDE, F. ; RATTANASOM, N. ; SIRISINHA, C. ; DANIEL, P.; Raman spectroscopy and thermal analysis of gum and silica-filled NR/SBR blends prepared from latex system. **Polymer Testing**, v. 32(5), pp.852-861, 2013.

RANGANATHAN, S.; DUTTA, S.; MOSES, J.A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Utilization of food waste streams for the production of biopolymers. **Heliyon**, v. 6(9), 2020.

REIS, E.C; Almeida, M; Cardoso, J.C.; Pereira, M.A; Oliveira, C.B.Z; Venceslau, E.M; Druzian, J.I; Mariano, R; Padilha, F.F. Biopolymer Synthesized by Strains of *Xanthomonas* Isolate from Brazil Using Biodiesel-Waste, **Macromolecular Symposia**, v. 296, p. 347–353, 2010.

REINER, M.; **The Deborah number**. *Physics Today*, v.17, n.1, p.62, 1964.

REINOSO, D ; MARTÍN-ALFONSO, M.J ; LUCKHAM, P.F ; MARTÍNEZ-BOZA, F.J Rheological characterisation of xanthan gum in brine solutions at high temperature **Carbohydrate polymers**, v. 203, pp.103-109, 01 January 2019.

RIBEIRO, R. C. De A.; BARRETO, S.M.A.G.; OSTROSKY, E.A.; ROCHA-FILHO, P.A.; VERÍSSIMO, L.M.; FERRARI, M.; Production and characterization of cosmetic nanoemulsions containing *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill extract as moisturizing agent. **Molecules**, v. 20, 2492-2509, 2015.

RODRIGUES, L. M. ; JANUARIO, J. G.B. ; DOS SANTOS, S. S. ; BERGAMASCO, R. ; MADRONA, G. S; Microcapsules of 'jabuticaba' byproduct: Storage stability and application in gelatin. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, p.424, 2018.

ROJAS, R. ; NISHIDOMI, S. ; NEPOMUCENO, R. ; OSHIRO, E. ; DE CASSIA C. F. R. Glutamate transport and xanthan gum production in the plant pathogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, pp.1-8, 2013.

RONČEVIĆ, Z.; GRAHOVAC, J.; DODIĆ, S.; VUČUROVIĆ, D.; DODIĆ, J.. Utilisation of winery wastewater for xanthan production in stirred tank bioreactor: Bioprocess modelling and optimisation. **Food and Bioproducts Processing**. v. 117, p. 113-125, 2019.

ROSALAM, S.; ENGLAND, R. Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas campestris* sp. **Enzyme and Microbial Technology**, v.39, (2), pp. 197-207, 2006.

SADDLER, G.S.; BRADBURY, J.F.; **Xanthomonas**, **Bergey's Man. Syst. Archaea Bact.**, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, pp. 1-53, 2015.

SAHA, D.; BHARRACHARYA, S.; Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. **Journal of Food Science and Technology**, v.47, p. 587-597, 2010.

SALAH, R.B., CHAARI, K.; BESBES, S.; KTARI, N.; BLECKER, C.; DEROANNE, C.; ATTIA, H. Optimisation of xanthan gum production by palm date (*Phoenix dactylifera* L.) juice by-products using response surface methodology. **Food Chemistry**, v.121(2):627–633, 2010.

SALIM, S.; KAMALASANAN, K.; Controlled drug delivery for alopecia: A review. **Journal of Controlled Release**, Vol.325, pp.84-99, 2020.

SAMPAIO, I.C.F.; CRUGEIRA, P.J.L.; SOARES, L.G.P.; DOS SANTOS, J.N.; ALMEIDA, P.F.; PINHEIRO, A.L.B.; JUNIOR, L.S.. Composition of Xanthan gum produced by *Xanthomonas campestris* using produced water from a carbonated oil field through Raman spectroscopy. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v.13, 112052, 2020.

SANTOS, M. S.; RIBEIRO, F. M. **Cervejas e Refrigerantes**. CETESB, 2005.

SARA, H., YAHOU, M.M., LEFNAOUI, S., ABDELKADER, H., MOULAI-MOSTEFA, N.; New alkylated xanthan gum as amphiphilic derivatives: Synthesis, physicochemical and rheological studies. **Journal of Molecular Structure**, v.1207, 2020.

SCHMID, J.; SIEBER, V.; REHM, B. Bacterial exopolysaccharides: biosynthesis pathways and engineering strategies. **Frontiers in Microbiology**, v.26, 2015.

SCOPUS, Disponível em:
<https://www.scopus.ez25.periodicos.capes.gov.br/term/analyzer.uri?sid=6a232855885473fcfbdd5d5e51475b1&origin=resultlist&src=s&s=TITLE-ABS>. Acesso em 02/05/2021.

SELVA, L. R. et al. Recent trends and some applications of isothermal titration calorimetry in biotechnology. **Biotechnology Journal**, v. 5, n. 1, p.85-98, 2010.

SHAO,W.; LIU,H.;LIU,X.;WANG,S.;WU,J.;ZHANG,R.;MIN,H.;HUANG,M. Development of silver sulfadiazine loaded bacterial cellulose/sodium alginate composite films with enhanced antibacterial property. **Carbohydr Polym**.V.8, 2015

SHARMA, S.; ALFATAH, MD ; BARI, V. K ; RAWAL, Y. ; PAUL, S. ; GANESAN;Sphingolipid Biosynthetic Pathway Genes FEN1 and SUR4 Modulate Amphotericin B. **Resistance Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58(4), p.2409, 2014.

SEESURIYACHAN, P.; KUNTIYA, A.; HANMOUNGJAI, P.; TECHAPUN, C.; CHAIYASO, T.; LEKSAWASDI,N.;Optimization of Exopolysaccharide Overproduction by *Lactobacillus confusus* in Solid State Fermentation under High Salinity Stress. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.76(5), pp.912-917, 2012.

SILVA, M.F; FORNARI, R. C.G ; MAZUTTI, M. A ; DE OLIVEIRA, D. ; PADILHA, F.F. ; CICHOSKI, A.J.;CANSIAN,R.L.;DILUCCIO,M.;TREICHEL,H.Production and characterization of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. **Journal of Food Engineering**, v.90(1), pp.119-123, 2009.

SILVA, P. V. da. Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Compostos de Inclusão Formados Entre Sulfadiazina de Sódio e Ciclodextrinas. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) – **Universidade Federal de Itajubá**, Itajubá, 77 p.,2015.

SINDCERV – Disponível em: <https://www.sindicerv.com.br/o-setor-em-numeros>. Acesso: 14/01/2021.

SOLEYMANPOUR, Z.; NIKZAD,M.; TALEBNIA,F.; NIKNEZHAD, S.V. Xanthan gum production from acid hydrolyzed broomcorn stem as a sole carbon source by *Xanthomonas campestris*. **3 biotech**, v.8(7), 2018.

SOLOMONS, T. W.; GRAHAM, F.; CRAIG, B. **Química Orgânica**, 9th Ed, LTC, (1– 2), 2009.

SOUZA, S.P.M.C.; MORAIS,F.E; SANTOS, E.V.; SILVA, M.L; MARTINEZ-HUITLE, C.A.; FERNANDES,N.S. Determinação do teor de cálcio em comprimido a base de lactato de cálcio utilizado no tratamento de osteoporose. **Química Nova**, v. 35, n.7, p. 1355-1359, 2012.

SPINOSA H.S.; TÁRRAGA K.M.; **Considerações gerais sobre os antimicrobianos**. In. Spinosa HS, Bernardi MM e Górnaiak SL.: Farmacologia Aplicada á Medicina Veterinária. Guanabara Koogan, São Paulo, 5ª Ed pp 409-417, 2011.

SUÁREZ, D. F. et al. Structural and thermodynamic characterization of doxycycline/ β -cyclodextrin supramolecular complex and its bacterial membrane interactions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 118, n. 1, p. 194-201, 2014.

SUJATHA, R.; ATCHAYA,S.; SIVASARAN,A.; KEERDTHE, R.S. Enhancing the geotechnical properties of soil using xanthan gum—an eco-friendly alternative to traditional stabilizers. **Bulletin of Engineering Geology and the Environment**, V.80(2), 2020.

SUTHERLAND, I. W. Novel and established applications of microbial polysaccharides. **Trends in Biotechnology**, v. 16, n. 1, p. 41-46, 1998.

TAMIME, A.Y., Structure of Dairy Products. **Wiley**, 2008.

TOWNSEND, A. K.; WILSON, H. J. Small- and large-amplitude oscillatory rheometry with bead-spring dumbbells in Stokesian Dynamics to mimic viscoelasticity. **Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics**. V. 261, p. 136-152, 2018.

TROMMER, Michael Walter. Avaliação do Ciclo de Vida no Processo de Produção da Cerveja. 2014. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Produção, **Universidade Metodista de Piracicaba**, Santa Bárbara D'oeste, 2014.

USP – **Pharmacopeia of the United States of America** – United States Pharmacopeial Convention, Rockville, 28 Ed. 2006.

VALENTE, B. S. et al. Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 58, n. 1, p. 9-85, abr. 2009.

VENTURINI, W. G. F. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2016.

VICENTE, J.G. ; HOLUB, E.B.; Xanthomonas campestris pv. campestris (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops. **Molecular Plant Pathology**, v.14, pp. 2-18, 2013.

VYAZOVKIN, S.; **Thermal Analysis**, Analytical Chemistry, v. 82, (12), 2010.

XIN, J.; HAN, J.; ZHENG, X.; SHAO, H.; KOLDITZ, O.; Mechanism insights into enhanced trichloroethylene removal using xanthan gummodified microscale zero-valent iron particles. **Journal of Environmental Management**, v.150, pp.420-426, 2015.

ZHANG, X. ; LIU, J. Effect of Arabic Gum and Xanthan Gum on the Stability of Pesticide in Water Emulsion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59(4), p.1308–1315, 2011.

ZHAO, LEI ; PAN, FEI ; MEHMOOD, ARSHAD ; ZHANG, HUIMIN ; UR REHMAN, ASHFAQ ; LI, JIAYI ; HAO, SHUAI ; WANG, CHENGTAO. Improved color stability of anthocyanins in the presence of ascorbic acid with the combination of rosmarinic acid and xanthan gum. **Food Chemistry**, v.351, 2021.

WANG, L. ; XIANG, D. ; LI, C. ; ZHANG, W. ; BAI, X. Effects of lyophilization and low-temperature treatment on the properties and conformation of xanthan gum. **Food hydrocolloids**, v.112, 202

WYATT, N. B.; LIBERATORE, M. W. Rheology and viscosity scaling of the polyelectrolyte xanthan gum. **Journal of Applied Polymer Science**, 114, 4076, 2009.