

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**

**MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO  
LEITE E DERIVADOS**

**LOUISE CRISTINE CÂNDIDO DA SILVA**

**UTILIZAÇÃO DO SORO DE LEITE EM BIOPROCESSO PARA A  
PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA**

JUIZ DE FORA

2017

LOUISE CRISTINE CÂNDIDO DA SILVA

**UTILIZAÇÃO DO SORO DE LEITE EM BIOPROCESSO PARA A  
PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora:

Profa. Dra. Miriam Aparecida de Oliveira Pinto

Co-orientadores:

Profa. Dra. Mirian Pereira Rodarte

Prof. Dr. Humberto Moreira Húngaro

JUIZ DE FORA

2017

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

da Silva, Louise Cristine Candido.

Utilização do soro de leite em bioprocesso para a produção de goma xantana / Louise Cristine Candido da Silva. -- 2017.

81 p. : il.

Orientadora: Miriam Aparecida de Oliveira Pinto

Coorientadores: Mirian Pereira Rodarte, Humberto Moreira

Húngaro

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, 2017.

1. Xanthomonas campestris. 2. Goma xantana. 3. Soro de leite. 4. Bioprocesso. I. Pinto, Miriam Aparecida de Oliveira, orient. II. Rodarte, Mirian Pereira, coorient. III. Húngaro, Humberto Moreira, coorient. IV. Título.

# Utilização do Soro de Leite em Bioprocesso para a Produção de Goma Xantana

LOUISE CRISTINE CÂNDIDO DA SILVA

ORIENTADOR (A):

Miriam Aparecida de Oliveira Pinto

Dissertação de Mestrado submetida ao Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

Aprovada em 23 de fevereiro de 2017.



---

Prof. Dr. Silvio Silvério da Silva  
Universidade de São Paulo – USP Lorena



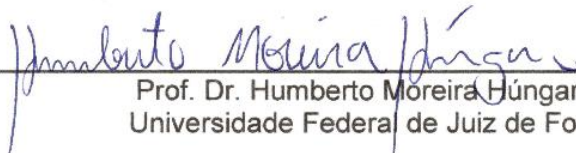
---

Prof. Dr. Cláudio Furtado Soares  
Instituto de Laticínios Cândido Tostes - EPAMIG



---

Profª. Drª. Mirian Pereira Rodarte  
Universidade Federal de Juiz de Fora



---

Prof. Dr. Humberto Moreira Húngaro  
Universidade Federal de Juiz de Fora



---

Profª. Drª. Miriam Aparecida de Oliveira Pinto  
Universidade Federal de Juiz de Fora

## AGRADECIMENTOS

A Deus;

Aos meus amados pais Nelson Elemar Cândido e Lys Mary Bileski Cândido por serem meus exemplos, por me ensinarem, incentivarem e apoiarem em todos os momentos me permitindo sonhar e alcançar aquilo com que sonhei.

Ao meu marido Marcílio Rodrigues da Silva, meu amor, meu companheiro e amigo que abraçou comigo esse desafio e me apoiou em todos os momentos.

Ao meu amado filho Nicolas Cândido Rodrigues da Silva por ter sido capaz de compreender minha ausência e sempre me fazer sorrir, mesmo depois de muitas noites mal dormidas.

Aos meus sogros José Antônio Rodrigues e Maria Aparecida Rodrigues, pelo apoio de sempre.

Aos meus irmãos Marcus Vinícius Cândido e Cláudia Luciane Cândido por estarem sempre comigo apesar da distância.

À Universidade Federal de Juiz de Fora e ao Programa de Mestrado Profissional de Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados e aos professores que ministraram as disciplinas cursadas.

À FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Ao Laticínio Coalhada's na pessoa da Sra. Louise de Souza da Fonseca e da Srta. Flávia pela disponibilidade e gentileza no fornecimento do soro de leite utilizado no experimento.

À Dra. Suzete A.L. Destéfano, Curadora do IBSBF de Campinas e ao Curador da Coleção de Culturas da Embrapa Clima Temperado pelo envio das estirpes bacterianas.

À minha orientadora Miriam Aparecida de Oliveira Pinto e aos meus co-orientadores, Humberto Moreira Húngaro e Mirian Pereira Rodarte, por tudo que me ensinaram, por toda ajuda, paciência e amizade.

À equipe do Laboratório de Análises de Alimentos e Águas meu muito obrigada. Em especial os professores Humberto Moreira Húngaro, Miriam Aparecida de Oliveira Pinto e Marco Antônio Moreira Furtado e meus colegas Vanessa dos Santos Temponi e Felipe Gomes da Costa Oliveira.

À equipe do Laboratório de Espectroscopia de Materiais do Departamento de Física da UFJF pela orientação e auxílio na realização das análises, em especial a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria José Valenzuela Bell e a Dr<sup>a</sup>. Mariana Brandão.

À equipe do Laboratório Multiusuário do Departamento de Farmácia UFJF-Campus Governador Valadares, especialmente aos professores Ângelo Márcio Leite Denadai, Priscilla Lima Sequetto, Jeferson Gomes da Silva, Wesley William G. Nascimento e Sandra Bertelli R. de Castro, ao TAE Juliano Rocha Pereira e a aluna

de mestrado Kátia Almeida, muito obrigada pela acolhida, pela paciência e todo o apoio na realização das análises.

Aos meus colegas do mestrado pela amizade, incentivo e bons momentos compartilhados.

A minha querida amiga Martha Eunice de Bessa, exemplo de força e perseverança.

À minha querida amiga Marianna Miranda Furtado, que começou todo esse trabalho, e também às alunas Carolina Brito e Ana Flávia Werneck que me ajudaram a continuá-lo e a concluí-lo.

Enfim, agradeço a todos que de alguma maneira contribuíram e auxiliaram durante a realização desse trabalho.

## RESUMO

O soro de leite resultante da fabricação de queijos muitas vezes é descartado como resíduo no meio ambiente. Entretanto, por conter lactose, proteínas e sais, se destaca como um substrato que pode ser aproveitado em diversos processos biotecnológicos como, por exemplo, a produção de goma xantana. A goma xantana é um polímero bacteriano sintetizado por bactérias do gênero *Xanthomonas*, amplamente utilizado como espessante e emulsificante em diversos segmentos industriais. O uso do soro de leite em substituição aos substratos convencionais possibilita uma redução nos custos de produção da goma xantana, além de ser uma alternativa ecologicamente interessante. O objetivo desse trabalho foi produzir e caracterizar gomas xantana sintetizadas por estirpes de *Xanthomonas campestris* utilizando como substrato dois meios de cultivo: soro de leite esterilizado (SLE) e soro de leite desproteínizado (SLD). Foram utilizadas as estirpes de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* n. 1182 (Xc1182), pv. *campestris* n. 1866 (Xc1866), pv. *mangiferaeindicae* n. 1230 (Xc1230) e pv. *pruni* n. 2414 (Xc2414). O soro de leite utilizado no experimento não foi adicionado de suplementos e o inóculo bacteriano foi produzido em um meio a base de lactose, o que diferencia o presente estudo da grande maioria dos trabalhos publicados que utilizaram soro de leite para produção de goma xantana. As gomas xantana produzidas (GEs) foram analisadas quanto à massa obtida e caracterizadas quanto à cor, o comportamento reológico e o perfil espectral no infravermelho próximo (NIR) utilizando-se como controle uma goma xantana padrão. A maior produção de goma xantana obtida foi de 7,89 g/L para a estirpe Xc1230 no SLD e a menor foi de 3,65 g/L para a estirpe Xc1866 no SLE. No SLD não houve diferença significativa na produção de goma xantana entre as estirpes. No SLE a produção de goma xantana foi significativamente maior para as estirpes Xc1182 e Xc1230. A estirpe Xc2414 foi a única que apresentou diferenças significativas de produção entre os meios de cultivo testados (6,08 g/L no SLD e 4,09 g/L no SLE). Na análise de cor observou-se que houve influência do meio de cultivo utilizado, sendo que as GEs produzidas no SLD apresentaram maior semelhança em relação à cor da goma padrão. Na análise reológica as gomas xantana produzidas apresentaram comportamento reológico de fluido pseudoplástico, entretanto não houve diferença entre estirpes ou entre os meios de cultivo testados. Observou-se uma equivalência dos espectros NIR das amostras experimentais para cada meio de cultivo testado, embora ambas tenham apresentado diferenças em relação à amostra padrão. As diferenças observadas indicam a necessidade de uma etapa de purificação das amostras experimentais. Os resultados obtidos indicaram vantagens na utilização do processo de desproteínização do soro, principalmente no que se refere à cor do biopolímero obtido. O estudo realizado possibilitou a geração de conhecimentos úteis aplicáveis no desenvolvimento de trabalhos que visem o aprimoramento das metodologias de obtenção e de caracterização de goma xantana a partir de soro de leite.

**Palavras-chave:** Fermentação; *Xanthomonas campestris*; espessante; reologia; espectroscopia NIR; colorimetria.

## ABSTRACT

Whey resulting from cheese production is often disposed of in the environment as waste. However, due to its composition (rich in lactose, proteins and salts), it stands out as a substrate that can be used in various biotechnological processes. Xanthan gum is a biopolymer used mainly as thickener and emulsifier in several industrial segments, synthesized by bacteria of the genus *Xanthomonas*. The use of alternative substrates such as cheese whey, besides being an environmentally friendly alternative, can reduce the costs of xanthan gum production. The objective of this work was to produce and characterize xanthan gums synthesized by strains of *Xanthomonas campestris* using two culture media: sterile whey (SW) and deproteinized whey (DW). The strains of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* n. 1182 (Xc1182), pv. *campestris* n. 1866 (Xc1866), pv. *mangiferaeindicae* n. 1230 (Xc1230) and pv. *pruni* n. 2414 (Xc2414) were applied. The whey used in the experiment was not supplemented and the bacterial inoculum was produced in a lactose-based medium, which differentiates the present study from the vast majority of published studies that used whey to produce xanthan gum. The xanthan gums produced (XGs) were analyzed for the mass obtained and were characterized by color, rheological behavior and near infrared spectral profile (NIR) using a standard xanthan gum as the control. The highest xanthan gum production was 7.89 g.L<sup>-1</sup> in DW for Xc1230 strain. The lowest production was 3.65 g.L<sup>-1</sup> in SW for Xc1866 strain. In DW there was no significant difference in the production amount of xanthan gum between the strains. In SW the production of xanthan gum was significantly higher for strains Xc1182 and Xc1230. The amount of xanthan gum produced by Xc2414 was significantly higher in DW (6.08 g.L<sup>-1</sup>) than in SW (4.09 g.L<sup>-1</sup>). The culture medium influenced the color analysis results, and the XGs produced in the DW presented greater similarity to the color of the standard gum. In the rheological analysis, the XGs showed pseudoplastic fluid behavior. However, there was no difference between strains or between culture media tested. An equivalence of the NIR spectra of the experimental samples was observed between the culture media tested, although both showed differences from the standard sample. The differences observed suggest the need for a purification step with the experimental samples. The results indicate an advantage of the use of deproteinized whey, related to the color of the biopolymer obtained. The study generated useful knowledge applicable to the development of improved methods for the obtention and characterization of xanthan gum from whey.

**Keywords:** Fermentation; *Xanthomonas campestris*; thickener; rheology; NIR spectroscopy; colorimetry.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fotomicrografia de células de <i>Xanthomonas campestris</i> .....	19
Figura 2 – Estrutura química primária da goma xantana.....	20
Figura 3 – Etapas do bioprocesso para produção de goma xantana .....	24
Figura 4 – Modelo tridimensional CIEL*a*b*. .....	32
Figura 5 – Representação gráfica do fluxo laminar de um líquido submetido à uma força de escoamento entre duas placas (fluxo de <i>Couette</i> ). .....	35
Figura 6 – Comprimento de onda (nm) de ligações químicas no espectro de infravermelho próximo.....	38
Figura 7 – Soro de leite <i>in natura</i> utilizado no estudo .....	41
Figura 8 – Processo de desproteínização do soro de leite.....	42
Figura 9 – Reação do ácido 3,5-dinitrosalicílico com a lactose.....	44
Figura 10 – Rêometro utilizado na leitura das amostras de goma xantana.....	47
Figura 11 – Espectroscópio de Infravermelho utilizado na obtenção do espectro no NIR das amostras de GE e GC. ....	48
Figura 12 – Diferença total de cor ( $\Delta E^*$ ) das gomas xantana experimentais em relação à goma xantana padrão.....	55
Figura 13 – Viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento para as amostras de goma xantana experimentais e de goma xantana padrão .	56
Figura 14 – Espectro no infravermelho próximo da goma xantana comercial e das gomas xantana produzidas no SLE.....	59
Figura 15 – Espectro no infravermelho próximo da goma xantana comercial e das gomas xantana produzidas no SLD. ....	60
Figura 16 – Análise de componentes principais das componentes PC1 e PC2 dos espectros no infravermelho próximo (números de onda entre 9000 e 4000 $\text{cm}^{-1}$ ). .....	62

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Exemplos de biopolímeros com estrutura química composta por polissacarídeos .....	15
Tabela 2 – Uso de goma xantana em diferentes segmentos industriais de acordo com a propriedade tecnológica e a quantidade permitida. ....	22
Tabela 3 – Composição centesimal do soro de leite <i>in natura</i> .....	29
Tabela 4 – Produção de goma xantana (g/L) por diferentes estirpes de <i>Xanthomonas</i> sp. no SLE e SLD.....	51
Tabela 5 – Valores obtidos para a produção de goma xantana a partir de estirpes de <i>Xanthomonas campestris</i> utilizando resíduos agroindustriais como fonte de carbono. ....	52
Tabela 6 – Valores médios dos parâmetros colorimétricos referentes às amostras das gomas xantana experimentais produzidas no SLE e no SLD e da amostra de goma xantana controle. ....	53
Tabela 7 – Valores calculados para o índice de consistência (K) e para o índice de comportamento (n) através do ajuste das curvas de fluxo à equação de Ostwald-de-Wealle. ....	57

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>13</b>
2.1	GERAL	13
2.2	ESPECÍFICOS	13
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>14</b>
3.1	BIOPOLÍMEROS	14
3.2	GOMA XANTANA	16
3.2.1	Bactérias produtoras de goma xantana	18
3.2.2	Estrutura química da goma xantana	20
3.2.3	Principais usos e aplicações da goma xantana	21
3.2.4	Bioprocesso para obtenção de goma xantana	22
3.2.4.1	<i>Fatores de produção</i>	23
3.2.5	Substratos tradicionais e alternativos	27
3.2.5.1	<i>Soro de leite</i>	28
3.3	CARACTERIZAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS	30
3.3.1	Colorimetria	31
3.3.2	Reologia	34
3.3.3	Espectroscopia no infravermelho próximo	37
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>40</b>
4.1	PRODUÇÃO DE GOMA XATANA EM SORO DE LEITE	40
4.1.1	Microrganismos	40
4.1.2	Meios de cultivo	40
4.1.2.1	<i>Meio de cultivo mínimo para produção do inóculo</i>	41
4.1.2.2	<i>Meios de cultivo à base de soro de leite</i>	41
4.1.2.3	<i>Análise composicional do soro de leite</i>	43
4.1.3	Preparo do inóculo	45
4.1.4	Fermentação	45
4.1.5	Precipitação, recuperação e cálculo da produção de goma xantana	46
4.2	CARACTERIZAÇÃO DA GOMA XANTANA	46
4.2.1	Determinação do perfil colorimétrico	47
4.2.2	Reologia	47
4.2.3	Espectroscopia no infravermelho próximo	48

4.2.4 Análise dos dados .....	49
4.3 APOIO FINANCEIRO.....	49
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>50</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO SORO DE LEITE .....	50
5.2 PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA A PARTIR DE MEIO DE CULTIVO ALTERNATIVO .....	51
5.3 CARACTERIZAÇÃO DA GOMA XANTANA .....	53
5.3.1 Colorimetria .....	53
5.3.2 Reologia.....	56
5.3.3 Espectroscopia no infravermelho próximo .....	58
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>64</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>66</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os polissacarídeos despertam interesse em diversas áreas do conhecimento devido às suas características estruturais, propriedades reológicas e aplicabilidade nas indústrias de alimentos, farmacêutica, petrolífera, têxtil e agrícola (DIAZ VENDRUSCOLO; J. VENDRUSCOLO, 2004; PALANIRAJ; JAYARAMAN, 2011; GOSWAMI; NAIK, 2014). Apresentam grande importância na indústria de alimentos onde são utilizados como espessantes, emulsificantes e estabilizantes nos mais diversos produtos.

A goma xantana é um exopolissacarídeo sintetizado por bactérias do gênero *Xanthomonas* que se destaca como um dos mais importantes polissacarídeos de origem bacteriana produzidos em escala industrial (PETRI, 2015). Sua biossíntese requer essencialmente carbono, nitrogênio e fósforo (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). No processo de produção industrial o substrato utilizado é um dos fatores que impacta significativamente no custo de obtenção da goma xantana (FREITAS; ALVES; REIS, 2011; KRANDENBURG et al., 1999; YOO; HARCUM, 1999). Esse fato estimula o desenvolvimento de pesquisas que tenham como objetivo avaliar fontes alternativas de substratos visando à diminuição do custo de produção a partir do aproveitamento de resíduos agroindustriais (BRANDÃO et al., 2008; MENEZES et al., 2012; REIS et al., 2010; SAVVIDES; SIFAS; HATZINIKOLAOU, 2016).

A agroindústria brasileira gera grandes quantidades de resíduos e subprodutos que podem ser aproveitados como fontes alternativas de substratos em bioprocessos para obtenção de goma xantana. O soro de leite, especialmente no estado de Minas Gerais, destaca-se como um importante subproduto da indústria de lácteos que pode ser empregado nos processos de biossíntese de polímeros bacterianos (OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012).

Diversos estudos vêm sendo realizados a fim de avaliar e aprimorar a síntese de goma xantana utilizando o soro de leite como substrato alternativo. Entretanto, a composição do meio de cultivo utilizado pode interferir na qualidade da goma xantana obtida, a qual pode apresentar variações especialmente no rendimento, na cor e na pureza. Além disso, a quantidade e a qualidade da goma xantana também pode variar em virtude da estirpe bacteriana utilizada (GUTIERREZ; ALEGRE, 2015; NIKNEZHAD et al., 2015; SAVVIDES et al., 2012;

HSU, 2011; SILVA et al., 2009; MESOMO et al., 2009; NERY et al., 2008; NITSCHKE; RODRIGUES; SCHINATTO, 2001).

Desse modo, a realização de pesquisas para avaliar a produção de goma xantana e a seleção de estirpes bacterianas capazes de sintetizar esse polímero a partir de soro de leite permite ampliar os conhecimentos nessa área da biotecnologia. Adicionalmente a formulação e o tratamento prévio do meio de cultura auxiliam na obtenção de um produto que atenda aos padrões de qualidade. A aquisição desses conhecimentos possibilitará aprimorar o processo produtivo da goma xantana com uma consequente melhora nas características do biopolímero obtido. Nesse contexto, o presente estudo se propôs a contribuir com a geração de conhecimentos na área de bioprocessos ao testar estirpes de *Xanthomonas campestris* quanto à sua capacidade de sintetizar goma xantana utilizando como substrato soro de leite submetido a diferentes tratamentos e ao avaliar a qualidade das mesmas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Produzir e caracterizar gomas xantana a partir de estirpes de *Xantomonas campestris* utilizando dois meios de cultivo à base de soro de leite.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- Produzir e quantificar as gomas xantana sintetizadas por quatro estirpes de *Xanthomonas campestris* em meio de cultivo à base de soro de leite;
- Comparar a produtividade da goma xantana obtida a partir de dois meios de cultivo à base de soro de leite;
- Caracterizar as gomas xantana produzidas quanto ao perfil colorimétrico;
- Avaliar o perfil espectral no infravermelho próximo (NIR) das gomas xantana;
- Determinar as propriedades reológicas das gomas xantana produzidas.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 BIOPOLÍMEROS

Os biopolímeros são estruturas químicas poliméricas constituídas por unidades repetidas de monômeros que são produzidas por todos os organismos vivos. Dentre os principais exemplos de biopolímeros podem ser citados os nucleotídeos que formam o ácido desoxirribonucleico (DNA) e o ácido ribonucleico (RNA), os aminoácidos que formam as proteínas e os monossacarídeos que formam os polímeros de carboidratos ou polissacarídeos (KUMAR et al., 2007; VERT et al., 2012; WILEY, 2000,).

Em termos de composição química os polissacarídeos são formados por diversos resíduos de açúcares simples (monossacarídeos) unidos uns aos outros por ligações glicosídicas (IZYDORCZYK; CUI; WANG, 2005).

Os polissacarídeos consistem em um importante grupo de biopolímeros que podem ser obtidos de plantas, sementes, algas, bactérias, fungos e animais e destacam-se por suas propriedades estruturais e características de grande interesse tecnológico e comercial devido a sua vasta aplicabilidade em inúmeros produtos e processos industriais. Em virtude de suas propriedades estabilizantes, emulsificantes, espessantes e gelificantes recebem, muitas vezes, a denominação de hidrocolóides ou gomas (DONOT et al., 2012; IZYDORCZYK; CUI; WANG, 2005; TIRREL; A. TIRREL, 1996).

Por definição gomas são moléculas de alto peso molecular que apresentam características hidrofílicas ou hidrofóbicas, com propriedades coloidais e capacidade de aumentar a viscosidade de soluções ou produzir géis na presença de solventes compatíveis (DOSSIÊ gomas, 2015; GOSWAMI; NAIK, 2014).

O mercado global de polissacarídeos de interesse industrial ainda é dominado pelos biopolímeros extraídos a partir de fontes vegetais. Entretanto, o interesse por produtos sintetizados por microrganismos vem aumentando significativamente (FREITAS; ALVES; REIS, 2011; NWODO; GREEN; OKOH, 2012).

Na Tabela 1 estão relacionados alguns dos principais exemplos de gomas naturais utilizadas como aditivos na indústria de alimentos.



Tabela 1 – Exemplos de biopolímeros com estrutura química composta por polissacarídeos

Fonte	Biopolímero	Espécie produtora
Exsudatos de plantas terrestres	Goma arábica ou acácia	<i>Acacia senegal</i>
	Goma karaya	<i>Sterculia urens</i>
	Goma adraganta	<i>Astragalus gummifer</i> e outras espécies de leguminosas asiáticas
Endosperma de sementes	Goma locusta, jataí ou LGB	<i>Ceratonia siliqua</i>
	Goma guar	<i>Cyamopsis tetragonolobus</i>
	Goma tara	<i>Cesalpia spinosa</i>
Extrato de plantas marinhas	Alginato	Algas marrons (ex.: <i>Laminaria digitata</i> ou <i>Macrosystis puryfera</i> )
	Agar	Algas vermelhas (ex.: <i>Gracilariaceae</i> e <i>Gelidium</i> )
	Carragena	Algas vermelhas (ex.: <i>Chondrus crispus</i> e <i>Gigantia mamillosa</i> )
Produto de bioprocessos mediados por microrganismos	Goma xantana	<i>Xanthomonas campestris</i>
	Gelana	<i>Pseudomonas elodea</i>
	Curdulana	<i>Alcaligenes fecalis</i>
	Dextrana	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Modificação química de produtos vegetais (hidrocolóides)	Pectinas	Cascas de diversas espécies de frutos cítricos, maçã, entre outros.
	Gomas celulósicas	Celulose

Fonte: AS grandes gomas (2011); DOSSIÊ gomas (2015); GOSWAMI e NAIK (2014).

Embora ainda não sejam os mais utilizados, os polissacarídeos obtidos a partir de microrganismos apresentam vantagens em relação aos de origem vegetal, uma vez que sua produção requer um espaço físico menor e não está susceptível às condições de plantio e cultivo vegetal. Além disso, possuem maior uniformidade em suas propriedades físico-químicas, as quais podem ser modificadas e aprimoradas por meio do controle de parâmetros no processo produtivo, dentre os quais estão o pH, temperatura, aeração e a composição do meio de produção (LUVIELMO; SCAMPARINI, 2009; MARCOTTE; TAHERIAN; HAMASWAMY, 2001; REIS et al., 2010).

Os biopolímeros produzidos por microrganismos são classificados em polissacarídeos de superfície ou membrana (LPS), polissacarídeos capsulares (CPS) e exopolissacarídeos (EPS) em função das características de síntese e distribuição na estrutura celular (BECKER, 2015; DONOT et al., 2012; SCHMID; SIEBER; REHM, 2015). Os EPS são sintetizados e secretados para o ambiente externo da célula bacteriana, podendo ser recuperados de maneira eficiente a partir do meio de cultivo fermentativo. Em termos de função biológica, os EPS atuam em

vários mecanismos como, por exemplo, resposta imune, adesão, infecção, resistência à desidratação e transdução de sinais (BAZAKA et al., 2011).

Por definição, os EPS são polímeros de monossacarídeos de alto peso molecular. Sua biossíntese, composição, estrutura química e propriedades funcionais têm sido amplamente estudadas. Apesar disso, existem poucos EPS explorados comercialmente como é o caso da dextrana, da gelana, da curdulana e da goma xantana (KRANENBURG et al., 1999; KUMAR et al., 2007; VIJAYENDRA e SHAMALA, 2013). Do ponto de vista econômico e de volume de produção, a goma xantana destaca-se como o polissacarídeo bacteriano de maior importância comercial (MORRIS, 2006; PETRI, 2015).

### 3.2 GOMA XANTANA

A goma xantana é um heteroexopolissacarídeo secretado por bactérias fitopatogênicas do gênero *Xanthomonas*. Apresenta caráter ácido e é constituída de unidades de repetição formadas por pentassacarídeos. As propriedades reológicas, que permitem a formação de soluções viscosas mesmo em baixas concentrações (0,05-1,0%), o comportamento pseudoplástico, a resistência à degradação enzimática e a estabilidade em uma ampla faixa de temperatura, pH e concentração de sais, fazem desse biopolímero um dos mais importantes polissacarídeos de origem microbiana utilizados no mundo (FARIA et al., 2011; HUBLIK, 2012). Possui a capacidade de interagir com outros polímeros promovendo alterações nas propriedades da mistura, como, por exemplo, o aumento na viscosidade, formação de géis fortes e alteração no balanço das cargas (SWORN, 2011). Além disso, seu custo de produção é inferior ao dos polímeros sintéticos, não é tóxico e é biodegradável (HUBLIK, 2012; PETRI, 2015; RAO; BHARATI; AKILA, 2014).

Em termos de áreas de aplicação, seu mercado global abrange o ramo de petróleo e gás, alimentos e bebidas, produtos farmacêuticos, cosméticos, químicos, têxtil, agropecuários e outros. A indústria de exploração de petróleo e o setor de alimentos e bebidas são os que contribuem de maneira mais significativa para a constante expansão da demanda mundial da goma xantana (BECKER et al., 1998; SYNDICATE market research, 2016). No ano de 2015, a indústria de alimentos e bebidas foi um dos segmentos que mais impactaram no consumo mundial de goma xantana (ZION market research, 2016). De acordo com um estudo conduzido pela

*Grand View Research*, o mercado mundial da goma xantana está em constante expansão, com uma previsão de rendimento em torno de 987,7 milhões de dólares americanos em 2020 (RONČEVIĆ et al., 2016). O uso desse biopolímero já está consolidado em inúmeros produtos e processos em diferentes segmentos industriais ao redor do mundo (CASAS; SANTOS; GRACÍA-OCHOA, 2000; ZION MARKET RESEARCH, 2016).

No que se refere à regulamentação internacional para o uso desta substância em alimentos a goma xantana está catalogada no *International Numbering System for Food Additives* sob o número INS 415 e é classificada como agente estabilizante, espumante, espessante e emulsificante (FAO/WHO..., 2016). Seu uso foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 1969. Em 1980, foi aprovado também na Europa pelo *Scientific Committee on Food* (SCF) e adicionado à lista de emulsificantes e estabilizantes sob o código E-415 (GARCIA-OCHOA et al., 2000). Em 1986 o *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – JECFA* (Comitê da Organização Mundial de Saúde de Especialistas na área de Aditivos Alimentares) alterou o requisito da ingestão diária aceitável (ADI) para “não especificado”, ou seja, sem uma quantidade limite, confirmando a segurança desse aditivo alimentar. (DOSSIÊ estabilizantes, 2016; FAO/WHO expert committee on food additives, 2016; HUBLIK, 2012).

No Brasil o uso da goma xantana em alimentos é regulamentado pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n. 45, de 03 de novembro de 2010, que dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF). As quantidades permitidas variam de acordo com as normas BPF de cada tipo de alimentos (BRASIL, 2010). Considerando as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS), sobre a importância das denominações comuns para as substâncias farmacêuticas e as regras de nomenclatura e de tradução para fármacos ou medicamentos foi aprovada a Resolução da Diretoria Colegiada RDC n. 61, de 21 de setembro de 2007 que incluiu a goma xantana na lista das Denominações Comuns Brasileiras (DCB) de 2006. Conforme esta resolução a goma xantana recebeu o número DCB 9628; Nome aprovado: goma xantana. CAS 11138-66-2; Classificação da substância: adjuvante (BRASIL, 2007).

### 3.2.1 Bactérias produtoras de goma xantana

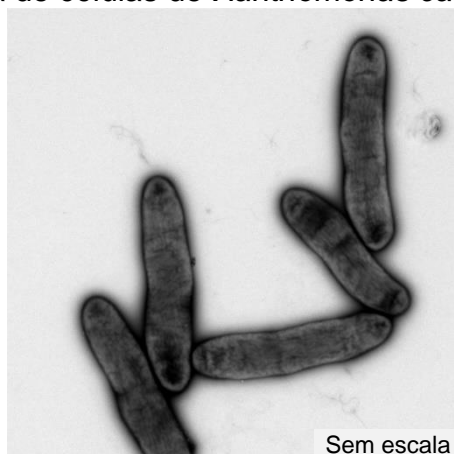
O gênero *Xanthomonas* pertence à família *Xanthomonadaceae*, e está inserida na subdivisão *Gamma* do filo *Proteobacteria*. Constitui um importante grupo de bactérias fitopatogênicas (BUTTNER; BONAS, 2010; EUZÉBY, 2016).

O gênero *Xanthomonas* está dividido em 29 espécies e seis subespécies, as quais podem estar divididas em distintos patovares (EUZÉBY, 2016; RYAN et al., 2011). Patovar é a designação dada a uma estirpe ou a um grupo de estirpes bacterianas que apresentam características muito similares. A classificação em patovares permite diferenciar as subespécies do gênero *Xanthomonas* em função de suas características de patogenicidade e colonização do hospedeiro (GIBLOT-DUCRAY et al., 2009; PARKINSON et al., 2007; SADDLER; BRADBURY, 2015; YOUNG et al., 2001). Por exemplo, *X. axonopodis* pv. *passiflorae* causa doenças no maracujá, *X. axonopodis* pv. *citri* em plantas cítricas e *X. campestris* pv. *campestris* é responsável pela podridão negra nas crucíferas (EUZÉBY, 2016; TONIN, 2012).

O termo *Xanthomonas* deriva do grego *xanthos* que significa amarelo e *monas* que significa entidade (RYAN et al., 2011). No crescimento em meio sólido esse grupo de bactérias apresenta colônias geralmente amarelas, lisas, brilhantes e mucoides (BRADBURY, 1984). A cor amarela é devido a presença do pigmento "xanthomonadina" e a consistência viscosa das colônias é resultado da excreção do EPS conhecido como goma xantana (RAMEZANI et al., 2013; SADDLER; BRADBURY, 2015). Todas as espécies fitopatogênicas de bactérias do gênero *Xanthomonas* são capazes de sintetizar a goma xantana. A principal função biológica desse EPS é promover a adesão celular e proteger a célula bacteriana contra a desidratação (BECKER, 2015; BECKER et al., 1998; DONOT et al., 2012).

As bactérias do gênero *Xanthomonas* são bacilos gram-negativos curtos, retos, isolados ou em pares (Figura 1), e medem entre 0,4 a 0,7  $\mu\text{m}$  de largura e 0,8 a 2  $\mu\text{m}$  de comprimento. São móveis e possuem um único flagelo com aproximadamente 1,7 a 3,0  $\mu\text{m}$  de comprimento (SADDLER; BRADBURY, 2015).

Figura 1 – Fotomicrografia de células de *Xanthomonas campestris*



Fonte: MOSER (2014).

Em termos bioquímicos, estas bactérias apresentam resultados positivos para o teste da catalase e podem produzir gás sulfídrico ( $H_2S$ ). São negativas para urease, oxidase, nitrato-redutase, indol e acetoina. Seu crescimento é inibido por cloreto de sódio (NaCl) a 6% p/v e glicose a 30% p/v (SADDLER; BRADBURY, 2015). Além disso, hidrolisam proteína, celulose, pectina, amido e Tween 80 (SHARMA; GAUTAM; WADHAWAN, 2014). São capazes de utilizar carboidratos e ácidos orgânicos como única fonte de carbono, e apresentam metabolismo respiratório estritamente aeróbico. As bactérias deste gênero necessitam basicamente de uma fonte de carboidrato (preferencialmente glicose), de uma fonte de nitrogênio, de minerais e de amino ácidos como o glutamato ou a metionina. A temperatura ótima de crescimento está entre 20 a 30 °C, com um mínimo de 4 °C e máximo de 39 °C. (SADDLER; BRADBURY, 2015). O pH ideal de crescimento está na faixa de 6,5 a 7,5 e em pH abaixo de 4,5 ocorre inibição do crescimento (SWINGS; CIVEROLO, 1993).

Entre as espécies do gênero *Xanthomonas*, *X. campestris* é a mais estudada e utilizada na produção de goma xantana (SHERLEY; PRIYADHARSHINI, 2015). A goma xantana comercial é obtida a partir de estirpes de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, em especial a NRRL B-1459 (HUBLIK, 2012). Entretanto outras espécies e patovares incluindo *X. pelargonii*; *X. citri* pv. *citri*; *X. campestris* pv. *mangiferaeindicae*, *X. campestris* pv. *juglandis*, *X. campestris* pv. *pruni*, *X. axonopodis* pv. *manihotis*, *X. melonis*, e *X. arboricola* pv. *pruni*, foram estudadas e utilizadas para a produção desse biopolímero em escala laboratorial (BORGES et

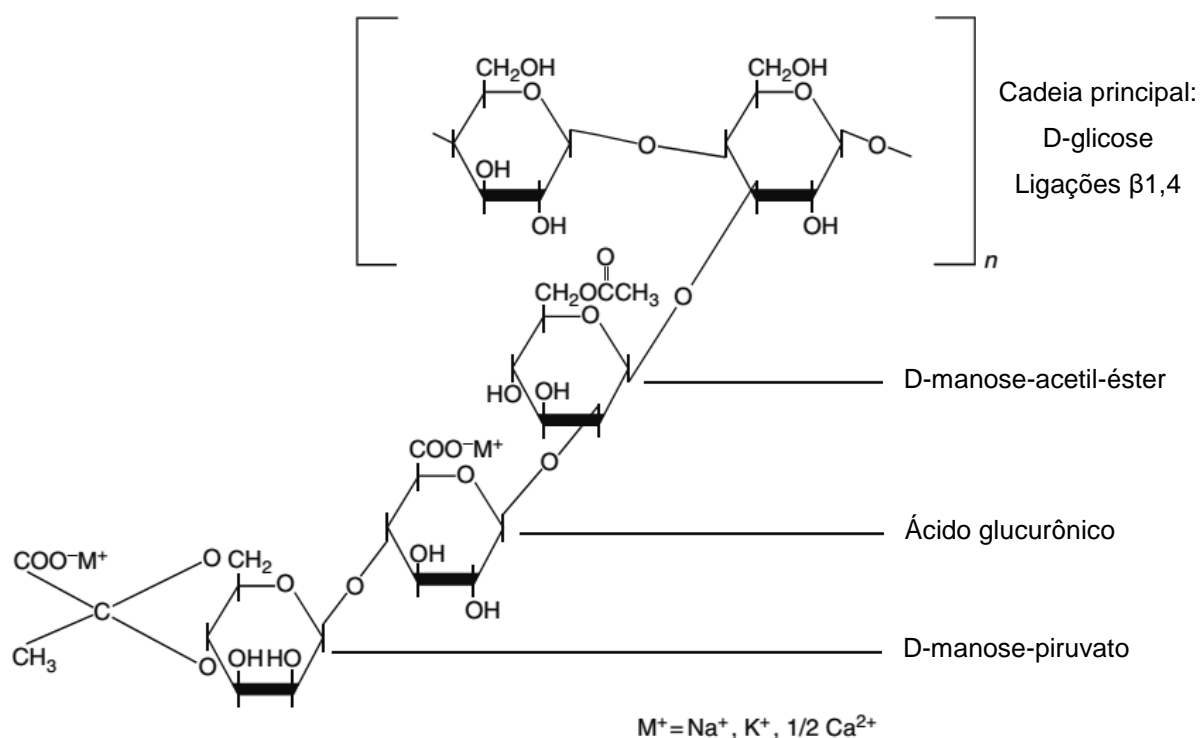
al., 2009; LOPES et al., 2015; NIKNEZHAD et al., 2016; RAMEZANI et al., 2013; ROTTAVA et al., 2009).

### 3.2.2 Estrutura química da goma xantana

A goma xantana é classificada como um heteroexopolissacarídeo bacteriano ramificado, aniônico, de caráter ácido, produzido por fermentação, empregando bactérias da espécie *Xanthomonas campestris* (BRANDÃO et al., 2008).

Como pode ser observado na Figura 2, a molécula de goma xantana apresenta uma estrutura primária formada por uma cadeia principal composta por duas unidades de D-glicose com ligação  $\beta$ -1,4 e uma cadeia lateral contendo duas unidades de manose separadas por um ácido glucurônico. A proporção molar desses compostos é de 2:2:1 respectivamente (HARDING et al., 1993; JANSSON; KENNE; LINDBERG, 1975; VÖRHOLTER et al., 2008). A D-manose terminal apresenta um resíduo de ácido pirúvico ligado nas posições 4 e 6 e na D-manose não terminal observa-se um grupo acetil na posição 6 (GARCIA-OCHOA et al., 2000; SUTHERLAND, 1982).

Figura 2 – Estrutura química primária da goma xantana.



Legenda:  $M^+$  - sítio de ligação de cátions.  
Fonte: HUBLICK (2012).

Seu peso molecular está na faixa de 500 a 2000 quilodaltons (kDa) (DEY et al., 2014; DONOT et al., 2012; SWORN, 2011). Devido à sua estrutura química possui a capacidade de interagir com cátions como sódio ( $\text{Na}^+$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ) e cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ), alterando o equilíbrio das cargas em uma solução (KLAIC et al., 2016). Os grupos piruvato e ácido glucurônico também influenciam nas interações da molécula de goma xantana com diversos solventes conferindo a ela interessantes características reológicas (ROY et al., 2014). Além disso, o estado conformacional da molécula tem um papel fundamental na estabilidade e aplicação tecnológica das soluções formadas por esse biopolímero (DARIO et al., 2011; RENAUD; BELGACEM; RINAUDO, 2005).

### 3.2.3 Principais usos e aplicações da goma xantana

As características físico-químicas da goma xantana tornam este biopolímero um produto com diversas aplicações na indústria incluindo o aumento da viscosidade de soluções, a capacidade de formação de filmes e o encapsulamento de medicamentos (FARIA et al., 2011; ROSALAM; ENGLAND, 2006).

A RDC n. 45/2010 da ANVISA estabelece limites máximos para o uso desse ingrediente em alimentos apenas para massas alimentícias. As quantidades utilizadas não podem ser superiores a um grama de goma xantana por 100 gramas de produto. Estabelece ainda que, assim como os demais aditivos autorizados por essa resolução, somente poderá ser utilizada nas categorias de alimentos e nas funções permitidas nos Regulamentos Técnicos MERCOSUL específicos e seguindo as BPFs (BRASIL, 2010).

Em alimentos, a goma xantana é utilizada principalmente como espessante e estabilizante de emulsões e suspensões. Particularmente na indústria de alimentos é empregada para promover o aumento da viscosidade de soluções aquosas, e como agente dispersante, emulsificante, modificador reológico e aditivo alimentar. Também é usada em várias aplicações químicas, tais como: adesivos, esmaltes cerâmicos, fluídos de perfuração, compostos de fundição, tintas e revestimentos, pesticidas, emulsões de látex e têxteis (DOSSIÊ espessantes, 2016; RAMASAMY et al., 2011; ZION market research, 2016). Na Tabela 2 estão descritos alguns produtos e processos nos quais a goma xantana é aplicada.

Tabela 2 – Uso de goma xantana em diferentes segmentos industriais de acordo com a propriedade tecnológica e a quantidade permitida.

Segmento	Produto	Propriedade tecnológica	Quantidade permitida
Alimentos e bebidas	Sopas creme	Espessante	q.s.
	Xaropes e coberturas para sorvetes e sobremesas	Espessante	q.s.
	Leite de coco	Espessante	q.s.
	Geleias de frutas com teores reduzidos de ingredientes	Espessante	q.s.
	Bebidas prontas à base de frutas	Estabilizante	0,2 g/100 mL
	Pães	Espessante/emulsionante (substituto do glúten)	q.s.
Farmacêutico	Medicamentos líquidos como antibióticos e xaropes	Agente suspensor	n.a.
Agricultura	Herbicidas	Estabilizante de suspensões	n.a.
	Pesticidas		
	Fertilizantes		
	Fungicidas		
Exploração de petróleo	Fluídos perfurantes*	Espessante	n.a.

q.s. – *quantum satis*. Segundo a RDC 45/2010 da ANVISA (BRASIL, 2010) os aditivos cujas quantidades apresentam a especificação q.s. poderão ser utilizados na quantidade necessária para obtenção de efeito tecnológico esperado.

n.a. – não se aplica.

\* - fluído altamente viscoso utilizado para retirada de detritos de escavação e para lubrificação e resfriamento das sondas de perfuração de poços de petróleo e gás.

Fonte: O autor (2016).

### 3.2.4 Bioprocesso para obtenção de goma xantana

Os bioprocessos são mecanismos biológicos através dos quais organismos vivos ou seus metabólitos (enzimas, por exemplo) são utilizados para converter um substrato em um produto. Esses substratos podem ser provenientes de plantas, animais ou microrganismos. Muitos produtos alimentícios, químicos e farmacêuticos são obtidos a partir de bioprocessos. Exemplos desses produtos são produtos de panificação e bebidas fermentadas, o álcool e antibióticos (DORAN, 1995).

A produção da goma xantana pode ser considerada um exemplo clássico de bioprocessos no qual as bactérias do gênero *Xanthomonas* convertem, por meio de um processo fermentativo, um substrato (glicose) em um produto (goma xantana). O processo fermentativo envolve o cultivo controlado de estirpes selecionadas de microrganismos ou células vivas em um meio de cultivo que contenha os nutrientes necessários ao metabolismo celular. Ocorre então o consumo dos nutrientes disponíveis no meio de cultivo e a formação de produtos (metabólitos) de interesse que podem ser anticorpos, proteínas ou biopolímeros, como a goma xantana. A



eficiência desse processo depende do controle adequado dos fatores de produção a fim de garantir a qualidade do produto final (McNEIL et al., 2013).

#### 3.2.4.1 Fatores de produção

Os fatores de produção devem ser bem estabelecidos e adequadamente controlados com o objetivo de garantir as características do polímero sintetizado e alcançar volumes de produção desejáveis. A composição, estrutura, biossíntese e propriedades funcionais da goma xantana podem variar dependendo da estirpe, do substrato e das condições de produção empregadas (MENEZES et al., 2012). Os fatores que influenciam diretamente nesse bioprocessos envolvem a estirpe bacteriana empregada, o modo de operação do reator (contínuo ou em batelada), a composição química, os parâmetros de temperatura, pH e oxigenação do meio de fermentação, bem como o solvente utilizado na recuperação da goma (BORGES; VENDRUSCOLO, 2008; GARCÍA-OCHOA et al., 2000; LOPES et al., 2015).

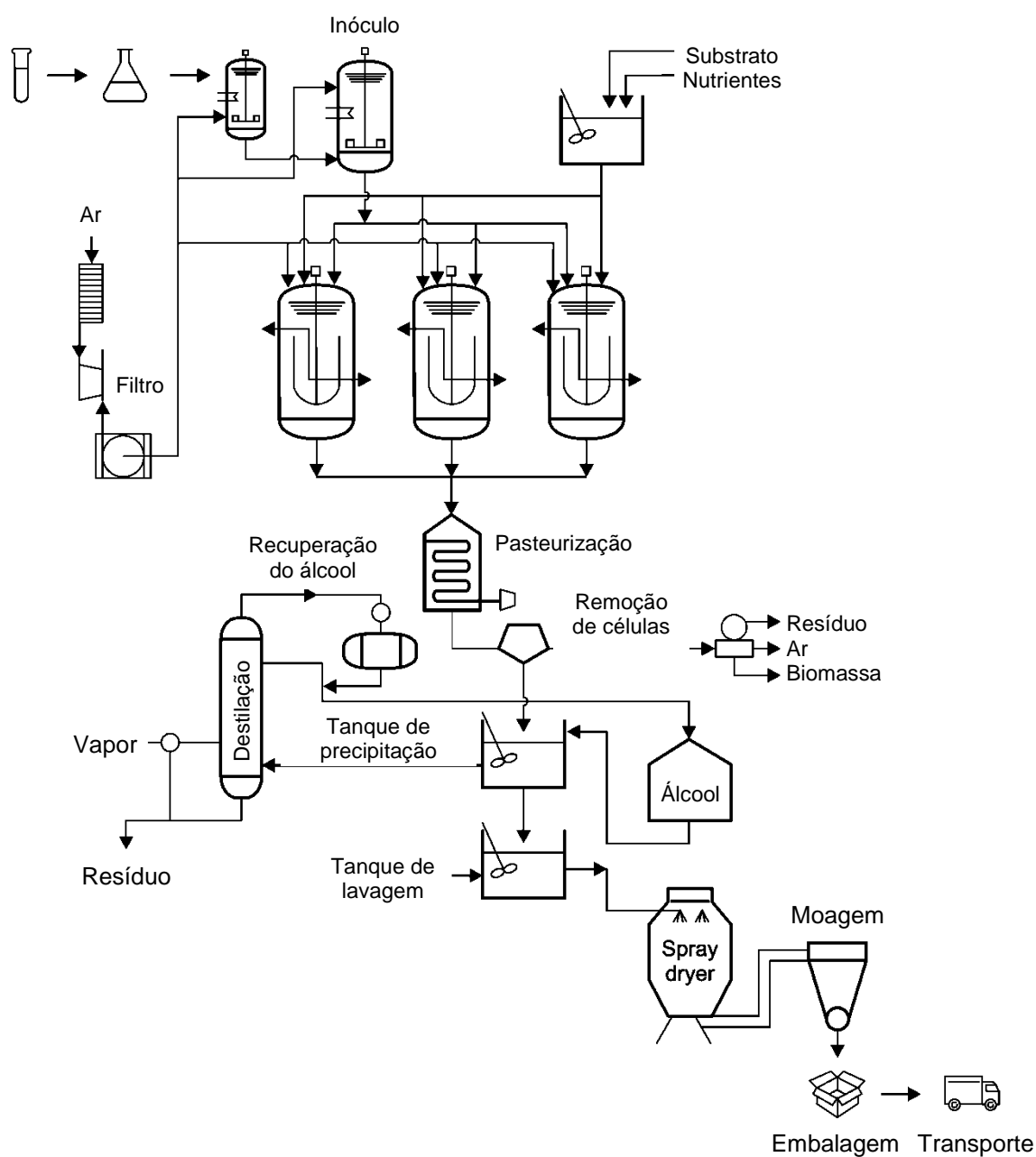
O bioprocessos de obtenção da goma xantana (Figura 3) é composto por distintas etapas que abrangem a preparação do inóculo, fermentação, pasteurização, remoção das células, recuperação por precipitação, separação, secagem e moagem da goma (GARCIA-OCHOA et al., 2000; PALANIRAJ; JAYARAMAN, 2011).

Um dos fatores que influencia de maneira mais significativa as características físico-químicas do polímero sintetizado é a estirpe de *Xanthomonas* empregada. A goma poderá apresentar diferentes proporções de unidades monossacarídicas e de grupos acetato e piruvato, dependendo da estirpe empregada no processo. Essa variação na composição química irá influenciar nas ligações intra e intermoleculares alterando assim as propriedades reológicas da goma xantana (BECKER, 2015; BECKER et al., 1998; GARCIA-OCHOA et al., 2000; IELPI; COUSO; DANKERT, 1993).

A fim de avaliar as características da goma xantana produzida por diferentes estirpes de *Xanthomonas*, Rottava e colaboradores (2009) testaram dez estirpes quanto à produtividade e propriedades reológicas. O meio de cultivo utilizado era composto (em g/L) por 2,5 de  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ; 5,0 de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,006 de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 2,0 de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,0024 de  $\text{FeCl}_3$ ; 0,002 de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,002 de  $\text{ZnSO}_4$  e 50,0 de sacarose. Foi observado que as estirpes que apresentaram maior produção de

goma xantana foram as estirpes *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* 1230 (8,93 g/L), *X. campestris* pv. *campestris* 254 (9,49 g/L) e *X. campestris* pv. *campestris* 1078 (9,67 g/L), sendo que a estirpe *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* 1230 foi a que apresentou valores mais elevados de viscosidade aparente, seguida pela estirpe *X. axonopodis* pv. *manihotis* 1182.

Figura 3 – Etapas do bioprocesso para produção de goma xantana



Fonte: LOPES et al., 2015.

Outro requisito do processo fermentativo é o modo de operação do reator empregado no processo. Na produção industrial da goma xantana são utilizados diferentes tipos de reatores que podem operar de modo contínuo ou em batelada (ROSALAN; ENGLAND, 2006; VUYST; LOO; VANDAMME, 1987). No modo contínuo o meio de cultura é constantemente renovado no reator, permitindo a manutenção das condições nutricionais e de processamento e a produção ininterrupta de goma xantana. O risco de contaminação do sistema é o ponto crítico nesse modo de operação. Na produção em batelada é utilizado um sistema fechado no qual as condições são controladas, mas não ocorre a troca do meio de cultivo. Nesse sistema o aumento da viscosidade a longo do processo pode interferir na oxigenação e na disponibilidade de nutrientes para as células. Além disso, o volume de produção é limitado pelo tamanho do reator utilizado. De maneira geral o modo de produção em batelada é o mais amplamente utilizado na indústria (BECKER et al., 1998; ROSALAN; ENGLAND, 2006; SEVIOUR et al., 2011; SHERLEY; PRIYADHARSHINI, 2015; VUYST; LOO; VANDAMME, 1987).

A composição do meio de cultura é um fator que poderá influenciar na estrutura molecular da goma xantana e no rendimento do processo produtivo (ROSALAN; ENGLAND, 2006). Em termos nutricionais a célula bacteriana necessita de uma fonte de carbono, de nitrogênio e de micronutrientes como fosfato, potássio, magnésio, ferro e cálcio para sintetizar a goma xantana (HUBLIK, 2012; KHOSRAVIDARANI et al., 2009; LOPES et al., 2015). A biossíntese da goma xantana é favorecida e regulada pela relação entre os níveis de carbono e nitrogênio no meio de cultivo (FREITAS; ALVES; REIS, 2011). Diversos estudos demonstraram que a relação entre os teores de carbono e nitrogênio tem mais influência na produção de goma xantana do que os teores de cada uma desses compostos de isoladamente, uma vez que a proporção C/N durante a fase de produção deve ser menor do que na fase de crescimento (GARCIA-OCHOA et al., 2000; SOUW; DEMAINE, 1979). O tipo do carboidrato utilizado como fonte de carbono também deve ser levado em consideração uma vez que demanda a síntese de enzimas e a ativação de vias catabólicas específicas. Com relação ao rendimento, a sacarose, a maltose e o amido solúvel são as fontes de carbono que apresentam melhores resultados (LEELA; SHARMA, 2000).

Para a maioria das bactérias produtoras de EPS a temperatura ótima de crescimento e produção de goma xantana está entre 28 e 30 °C (GIAVASIS, 2013).

Os resultados de pesquisas realizadas a fim de avaliar os efeitos da variável temperatura na produção de goma xantana indicam que a temperatura de 28 °C é a mais adequada (BORGES; VENDRUSCOLO, 2008; GARCIA-OCHOA et al., 2000; GOMASHE; DHARMIK; FUKE, 2013; PSOMAS; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES; KYRIAKIDIS, 2007).

Existe um consenso entre os autores que níveis de pH em torno de 7,0 são os mais adequados tanto para o desenvolvimento celular quanto para o metabolismo bacteriano (BARUA et al., 2016; LOPES et al., 2015). Os resultados dos estudos realizados nessa área permitem concluir que níveis de pH na faixa de 6 a 8 são os ideais para obtenção da goma xantana. Em valores de pH abaixo de 5,0 a excreção da goma xantana é drasticamente reduzida (CASAS; SANTOS; GARCIA-OCHOA, 2000; ESGALHADO; ROSEIRO; COLLAÇO, 1995; GUMUS et al., 2010; SHERLEY; PRIYADHARSHINI, 2015).

Uma vez que a produção da goma xantana é um processo estritamente aeróbico, é fundamental que os níveis de oxigênio do meio de cultura sejam adequados para garantir a eficiência da fermentação (DONOT et al, 2012; FREITAS; ALVES; REIS, 2011). O aumento da viscosidade devido à produção de goma xantana ao longo do processo produtivo interfere na disponibilidade do oxigênio sendo, portanto, desejável o uso de sistemas que permitam a aeração e/ou agitação do meio de cultivo (BORGES; VENDRUSCOLO, 2008; GARCIA-OCHOA et al., 2000; KHOSRAVI-DARANI et al., 2011; PSOMAS; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES; KYRIAKIDIS., 2007; SEVIOUR et al., 2010).

Em relação ao tempo do processo fermentativo, estudos demonstraram que a produção de goma xantana, assim como as quantidades de acetil e piruvil e o peso molecular aumentam ao longo do tempo de produção. Em geral, são utilizados processos entre 72 e 120 horas não havendo um consenso entre os autores em relação a qual o melhor tempo de fermentação, em virtude da influência dos demais fatores de produção (CASAS; SANTOS; GRACIA-OCHOA, 2000; NERY et al., 2008; PSOMAS; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES; KYRIAKIDIS, 2007; SHU; YANG, 1990; TAIT; SUTHERLAND; CLARKE-STURMAN, 1986). Borges et al. (2008) encontraram uma diferença significativa para a produção de goma xantana entre 54 e 66 horas de fermentação. De acordo com a maioria dos autores a manutenção do processo fermentativo está diretamente relacionada ao crescimento celular e a quantidade de substrato disponível (GILANI et al., 2011). A partir do momento em que o

crescimento celular começa a reduzir e ocorre a exaustão do substrato disponível o processo de biossíntese reduz drasticamente (LETISSE et al., 2001; SEVIOUR et al., 2011)

Embora a produção da goma xantana seja um processo industrial já estabelecido, a crescente demanda do mercado de goma xantana tem estimulado a pesquisa de novas linhagens que apresentem um maior potencial produtivo (AS grandes gomas, 2011). Os principais desafios incluem o aprimoramento do uso de substratos alternativos com rendimento, custo e qualidade satisfatórios, a adequada remoção das células microbianas (purificação), o reaproveitamento do solvente e, até, alterações na estrutura do biopolímero, visando um aprimoramento de suas propriedades.

O meio de cultura empregado como substrato corresponde a aproximadamente 30% do custo total de produção da goma xantana. Deste modo, a adequação da composição desse meio, principalmente em relação à concentração e fonte de carbono contribui para a redução dos custos de produção. Além disso, um meio adequadamente formulado conduzirá à obtenção de uma goma xantana de melhor qualidade (BORGES; VENDRUSCOLO, 2008; CASAS; SANTOS; GARCOA-OCHOA, 2000; GARCIA-OCHOA et al., 1998; KHOSRAVI-DARANI et al., 2011).

### 3.2.5 Substratos tradicionais e alternativos

A glicose, a sacarose e o amido são os substratos convencionais utilizados como fontes de carbono preferenciais para a produção de biopolímeros na indústria. O processo produtivo a partir dessas fontes de carbono já está bem estabelecido. Contudo, diversos subprodutos e matérias primas da indústria de alimentos e/ou da agroindústria têm sido empregados para obtenção de bioprodutos em virtude da disponibilidade e baixo custo. Os resíduos da indústria de soja, o soro de leite, a água de maceração de milho, o xarope de milho, a levedo de destilaria entre outros são exemplos de fontes alternativas de nutrientes para a produção de biopolímeros (NITSCHKE; RODRIGUES; SCHINATTO, 2001; PELIZER; PONTIERI; MORAES, 2007).

A utilização de resíduos agroindustriais torna-se economicamente importante devido à possibilidade de redução dos custos nos processos industriais, como no

caso da produção da goma xantana, e também auxilia na redução do impacto ambiental gerado pelo descarte desses resíduos no ambiente (LOPES et al., 2015).

Segundo a Empresa de Pesquisa Energética (EPE), vinculada ao Ministério das Minas e Energias, a produção agrícola no Brasil teve um crescimento de 54% entre os anos de 2005 e 2010 e conseqüentemente houve um aumento na produção dos resíduos agrícolas, que em 2010 era estimado em 250 milhões de toneladas (EPE, 2014).

A obtenção de goma xantana a partir de fontes alternativas tem sido extensivamente estudada com o intuito de diminuir os custos da produção desse polímero, permitindo assim, o aproveitamento de resíduos agroindustriais como fontes de carbono economicamente interessantes (NIKNEZHAD et al., 2015). Nesse contexto o soro de leite (SL) destaca-se como um resíduo agroindustrial de grande importância uma vez que representa 85-95% do volume do leite utilizado na indústria de lácteos e apresenta uma demanda biológica de oxigênio (DBO) entre 27-60 kg/m<sup>3</sup>. A elevada DBO desse produto está diretamente relacionada aos níveis de lactose (39-60 kg/m<sup>3</sup>) presentes no SL. O descarte inadequado desse resíduo no meio ambiente gera sérios prejuízos ecológicos (NIKNEZHAD et al., 2015; PRAZERES; CARVALHO, RIVAS, 2012; SAVVIDES; KATSIFAS; HATZINIKOLAOU, 2012). A utilização do SL como fonte de carbono pode ser uma interessante alternativa para redução dos custos de produção da goma xantana e redução do impacto ambiental causado pelo descarte desse resíduo no meio ambiente (CHATTERJEE; GUHA, 2014; NERY et al., 2008).

### 3.2.5.1 *Soro de leite*

Segundo o Decreto nº 1.812, de 8 de fevereiro de 1996, da Presidência da República, entende-se como "soro de leite" o líquido residual obtido a partir da coagulação do leite, destinado à fabricação de queijos e caseína (BRASIL, 1996). O SL apresenta coloração verde-amarelado e contém 55% dos nutrientes do leite, incluindo a lactose, proteínas solúveis, lipídeos e sais minerais (NITSCHKE; RODRIGUES; SCHINATTO, 2001). O SL pode ser classificado como soro doce ou soro ácido dependendo do modo como a caseína é precipitada. Se a precipitação for realizada através de coagulação enzimática com renina obtêm-se o soro doce. Quando são utilizadas substâncias ácidas no processo de coagulação como o ácido

lático, por exemplo, obtêm-se o soro ácido, o qual pode conter lactato de cálcio (LO; ARGIN-SOYSAL; HSU, 2007).

Na Tabela 3 são apresentados os valores da composição química média do SL *in natura*.

Tabela 3 – Composição centesimal do soro de leite *in natura*

Componente	Unidade	Soro doce	Soro ácido
Água	%	93–94	94–95
Matéria seca	%	6–6,5	5–6
Lactose	%	4,5–5	3,8–4,3
Ácido láctico	%	traços	>0,8
Proteínas totais	%	0,8–1,0	0,8–1,0
Proteínas do soro	%	0,6–0,65	0,6–0,65
Ácido cítrico	%	0,1	0,1
Minerais	%	0,5–0,7	0,5–0,7
pH		6,4–6,2	5,0–4,6
Acidez titulável	°SH*	aprox. 4	20–25

\* - graus Soxhlet.

Fonte: LO; ARGIN-SOYSAL; HSU (2007).

O descarte do SL diretamente nos cursos de água é um procedimento inadequado de acordo com a legislação ambiental. (SILVA, 2011). Nas últimas décadas existe um consenso entre a comunidade científica de que os subprodutos da indústria de laticínios podem ser convertidos em produtos de alto valor agregado. A proteína isolada do SL é um exemplo bem sucedido e com muitas aplicações comerciais de um produto com alto valor agregado obtido a partir do SL (CORTEZ, 2013; TEIXEIRA, 2010).

Outra possível aplicação do SL é seu aproveitamento como substrato em processos biotecnológicos. Entretanto, após ser submetido a determinados tratamentos térmicos, como por exemplo, a esterilização em autoclave, o SL apresenta aspecto turvo com coloração marrom devido à degradação dos açúcares na presença das proteínas, resultando na formação de melanoidinas. Esse escurecimento pode interferir nas características do produto de fermentação obtido quando do uso do SL esterilizado como substrato.

No processo de biossíntese da goma xantana, por exemplo, a coloração do biopolímero pode variar de acordo com a fonte de carbono utilizada. Em estudo realizado por Nery e colaboradores (2008), esses pesquisadores observaram que a goma xantana obtida a partir de sacarose apresentou uma coloração mais clara do que a obtida com o SL, provavelmente devido à ocorrência da reação de *Maillard*. Uma vez que a formação de melanoidinas ocorre na presença de calor a partir da

reação da lactose com as proteínas a desproteíntização do SL é um processo que pode contribuir para minimizar os efeitos da reação de *Maillard* (HÚNGARO et al., 2011). Além disso, permite a separação das proteínas de alto valor nutricional, presentes nesse subproduto, que podem ser aproveitadas para outros fins comerciais (CHATTERJEE; GUHA, 2014; NIKNEZHAD et al., 2015).

No que se refere ao uso do SL como substrato para produção de goma xantana um dos fatores limitantes é a baixa capacidade de utilização da lactose como fonte de carbono pelas estirpes de *Xantomonas* uma vez que a expressão de  $\beta$ -galactosidase nesses microrganismos é reduzida (YANG; WO; TSENG, 2002). Assim, a seleção de estirpes capazes de crescer em meio contendo lactose é um fator a ser considerado quando o SL for utilizado como substrato para a produção de goma xantana. Entretanto, Nery et al. (2008) empregaram o SL como substrato para a produção de goma xantana e obtiveram um rendimento três vezes maior em relação à produção convencional constituída de sacarose como fonte de carbono. Diniz, Druzian e Audibert (2012) observaram que o meio fermentativo composto de SL apresentou produtividade de goma xantana 1,2 vezes maior do que com meio com glicose, 1,6 vezes com resíduo de casca de cacau e 1,5 vezes com sacarose.

O aproveitamento do SL em processos fermentativos como a produção de goma xantana é viável uma vez que esse substrato apresenta uma composição rica em nutrientes, o que beneficia a produção desse biopolímero, além de reduzir o impacto ambiental em consequência do aproveitamento de um resíduo altamente poluente (MESOMO et al., 2009; NERY et al., 2008; NIKNEZHAD et al., 2015). A goma xantana consumida no Brasil é importada, desse modo, a obtenção de conhecimentos referentes ao aproveitamento do SL como substrato para produção desse biopolímero podem favorecer o desenvolvimento de tecnologias que permitam ao Brasil se tornar um país capaz de suprir sua demanda tecnológica por esse produto (COSTA et al., 2014; MENEZES et al., 2012).

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS

Diversas técnicas podem ser empregadas com o objetivo de determinar as características de um determinado produto. Essas técnicas permitem conhecer as propriedades físicas, químicas, sensoriais e de aplicabilidade de uma substância.



Podem ainda ser utilizadas como ferramentas no controle de qualidade de produtos e processos.

### 3.3.1 Colorimetria

De acordo com Gomes (2013) a cor pode ser definida como a percepção visual da interação da luz com um determinado objeto. Essa interação depende das características da fonte luminosa, das características do material e da fisiologia e anatomia do órgão da visão do observador (BOTELHO et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2003). O olho humano é sensível às radiações eletromagnéticas compreendidas entre 400 e 750 nm e detecta as diferentes faixas de estímulo colorido dentro desse intervalo de comprimento de onda. A visão humana é capaz de detectar três diferentes estímulos de cor: vermelho, verde e azul, que são percebidas e decodificadas no cérebro. Assim, qualquer cor pode ser composta pela combinação do vermelho, verde e azul (SILVA, 2006).

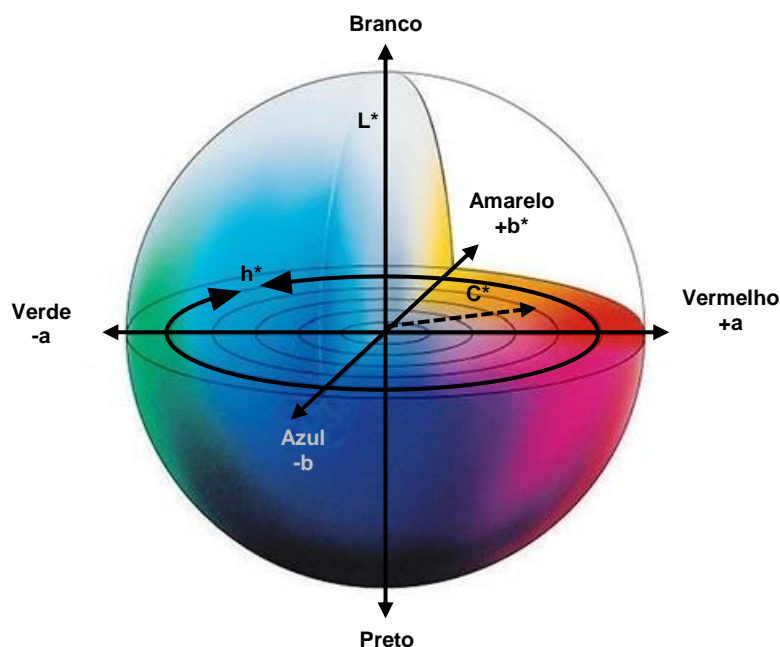
A cor dos produtos alimentícios e seus ingredientes é uma importante característica utilizada no controle de qualidade de produtos e processos. A cor muitas vezes é um critério decisivo de aceitação ou rejeição de um produto pelos consumidores. O impacto visual causado pela cor muitas vezes se sobrepõe ao gerado por outros atributos de aparência e odor uma vez que é o primeiro a ser percebido pelo observador. Esse atributo físico que deve ser levado em consideração quando, por exemplo, um aditivo é adicionado a uma formulação. É desejável que esse aditivo não interfira em determinadas características do produto final. Com base nesse conceito existem estudos como o realizado por Demirci; Yilmaz; A. Demirci (2014) no qual os pesquisadores avaliaram o efeito da adição de diferentes tipos de gomas, incluindo a goma xantana, nos parâmetros de cor de almôndegas adicionando diferentes quantidades das gomas ao produto a fim de verificar qual a quantidade máxima a ser adicionada de forma a não alterar a cor original das almôndegas.

Entretanto, por ser um atributo subjetivo e percebido de maneira diferente por cada observador é difícil de ser padronizado e mensurado (AMORIM; GONÇALEZ; CAMARGOS, 2013; FARAONI et al., 2008; OLIVERIA et al., 2003). Existem hoje metodologias e equipamentos de medição, que permitem representar numericamente as cores que podem ser percebidas através da visão. De modo geral

são baseados no conceito dos três estímulos de cor (vermelho, azul e verde) e permitem a medida dos parâmetros de cor de modo não subjetivo. Hoje existem instrumentos de medição de cor bastante precisos conhecidos como colorímetros (RIBEIRO, 2006; STANGERLIN et al., 2013).

A *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIE) é a autoridade mundial na ciência de luz e cor. Através de estudos realizados por diversos colaboradores dessa instituição foram definidos três espaços de cor para permitir a comunicação e expressão das cores em termos numéricos. Esses espaços recebem a denominação de CIEXYZ, CIEL\*C\*h e CIEL\*a\*b\* (GARCIA et al., 2014; KONICA minolta, [2014?]). O sistema CIELAB é o modelo internacional mais amplamente utilizado para medida e designação das cores. Esse sistema também conhecido como L\*a\*b\*, é expresso por um diagrama tridimensional (Figura 4) no qual a cor percebida pela visão humana é decomposta nas coordenadas L\*, a\*, b\*, C\* e h\* (LEME et al., 2015; RIBEIRO, 2006; SILVA, 2006).

Figura 4 – Modelo tridimensional CIEL\*a\*b\*.



Legenda: L\* - luminosidade; a\* - coordenada cromática a\* (-verde/+vermelho); b\* - coordenada cromática (-azul/+amarelo); h\* - ângulo de tonalidade; C\* - índice de saturação.

Fonte: Adaptado de KÔNICA Minolta, [2014?].

Na Figura 4 a luminosidade ( $L^*$ ) é representada pela escala vertical e apresenta valores que variam de 0 a 100, na qual 100 corresponde ao branco e o zero corresponde ao preto. Para as coordenadas  $a^*$  e  $b^*$  os valores variam de  $+a^*$  (60) à  $-a^*$  (-60), correspondendo as variações de tonalidade do vermelho ao verde, e de  $+b^*$  (60) à  $-b^*$  (-60) variando do amarelo ao azul. O índice de saturação da amostra ou croma ( $C^*$ ) é um fator que expressa a saturação ou intensidade da cor, não possuindo uma faixa específica de variação numérica e é medido pela distância a partir do eixo central. O ângulo de matiz ( $h^0$ ), expresso em graus *Hue*, indica a cor observável. Seu valor é medido em graus na rotação do plano horizontal e inicia no eixo  $+a^*$ , em que  $0^0$  corresponde a coordenada  $+a^*$  (vermelho),  $90^0$  corresponde a coordenada  $+b^*$  (amarelo),  $180^0$  corresponde a coordenada  $-a^*$  (verde), e  $270^0$  corresponde a coordenada  $-b^*$  (azul) (KONICA Minolta, [2014?]; ZANUNCIO; FARIAS; SILVEIRA, 2014).

A análise dos parâmetros de cor deve ser realizada utilizando todos os atributos do sistema CIE Lab. Os atributos de cor não devem ser analisados utilizando as coordenadas de maneira isolada, uma vez que o ângulo de tonalidade ( $h^*$ ) e o índice de saturação ( $C^*$ ) são medidas derivadas de  $a^*$  e  $b^*$  e determinados pelas equações:

$$C^* = \sqrt{[(a^*)^2 + (b^*)^2]} \quad (1)$$

$$h^* = \text{tg}^{-1} \times \frac{b^*}{a^*} \quad (2)$$

Fonte: RIBEIRO (2006).

Em estudo realizado para quantificação de cor em frutos, Mendonza, Dejmeke e Aguilera (2006) sugeriram que o sistema  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  é mais indicado para analisar alimentos com superfícies curvas, embora os resultados devessem comparados a uma amostra controle. Nesse caso, torna-se fundamental o emprego do conceito da diferença total de cor. A diferença total de cor é a comparação numérica entre os dados das coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  da amostra e do padrão. Ela indica as diferenças absolutas nas coordenadas de cor conhecidas como Deltas ( $\Delta$ ). Os Deltas para  $L^*$  ( $\Delta L$ ),  $a^*$  ( $\Delta a$ ) e  $b^*$  ( $\Delta b$ ) podem ser negativos (-) ou positivos (+). A diferença total, Delta E ( $\Delta E$ ), todavia, é sempre positiva. Essas variações são expressas da seguinte maneira:  $\Delta L^*$  = diferença em claro e escuro (+ = mais claro, -

= mais escuro),  $\Delta a^*$  = diferença em vermelho e verde (+ = mais vermelho, - = mais verde),  $\Delta b^*$  = diferença em amarelo e azul (+ = mais amarelo, - = mais azul) e  $\Delta E^*$  = diferença total de cor, obtida através da equação:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_a^* - L_p^*)^2 + (a_a^* - a_p^*)^2 + (b_a^* - b_p^*)^2} \quad (3)$$

Legenda:  $\Delta E^*$  = diferença total de cor;  $L_a^*$  - luminosidade da amostra;  $L_p^*$  - luminosidade do padrão;  $a_a^*$  - coordenada  $a^*$  da amostra;  $a_p^*$  - coordenada  $a^*$  do padrão;  $b_a^*$  - coordenada  $b^*$  da amostra;  $b_p^*$  - coordenada  $b^*$  do padrão.

Fonte: KONICA Minolta, [2014?].

### 3.3.2 Reologia

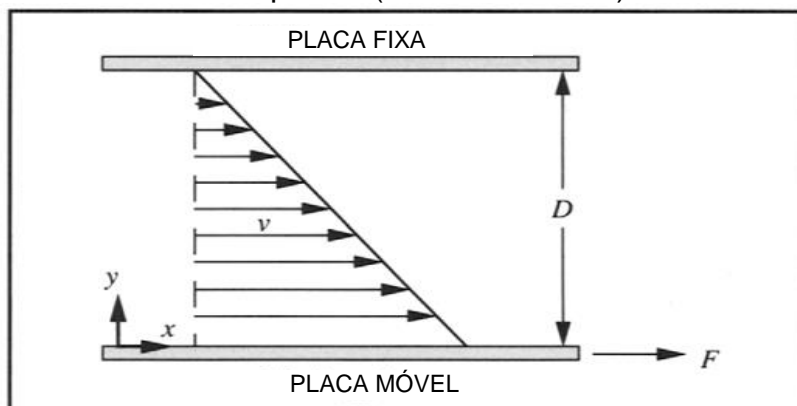
A reologia é a ciência que estuda os fenômenos físicos relacionados às propriedades mecânicas da matéria quando essa é submetida a uma força capaz de causar uma deformação. (deMAN, 1999).

Conhecer as propriedades reológicas de uma determinada substância é de grande importância para diversos processos industriais. Na indústria de alimentos, por exemplo, alimentos mais viscosos como o iogurte necessitarão que o sistema seja dimensionado para ser capaz de exercer a força necessária para permitir o escoamento do mesmo ao longo do sistema de produção (DORAN, 1995).

A força necessária para causar a deformação em um corpo é chamada de força de cisalhamento. Considerando que todo corpo apresenta uma determinada massa e volume, tem-se que a força de cisalhamento por unidade de área é a tensão de cisalhamento ( $\tau = F/A$ ). Essa força é sempre tangencial à superfície do objeto e é expressa em unidade Pascal (Pa). Tanto corpos sólidos como líquidos e gasosos podem apresentar alterações estruturais quando sujeitos a uma determinada tensão de cisalhamento (deMAN, 1999; FOX et al., 2000).

Os líquidos ou fluidos caracterizam-se como substâncias que sofrem deformação contínua enquanto estiverem sujeitos a uma tensão de cisalhamento. A representação gráfica dessas variáveis pode ser observada na Figura 5.

Figura 5 – Representação gráfica do fluxo laminar de um líquido submetido à uma força de escoamento entre duas placas (fluxo de *Couette*).



Legenda: D – distância entre as placas; v – gradiente de velocidade; F – força exercida pela placa móvel.

FONTE: DORAN (1995).

O gradiente de velocidade ( $\frac{dv}{dy}$ ) entre as duas placas é chamado de taxa de cisalhamento ( $\gamma$ ) e é diretamente proporcional a força exercida pela placa móvel ( $\frac{dv}{dy} \propto F$ ). Considerando que  $\tau$  relaciona a força por unidade de área então pode-se concluir que  $\tau \propto \frac{dv}{dy}$ . A proporcionalidade entre essas duas grandezas indica a reação contrária que o fluido exerce em relação à força de cisalhamento. A reação exercida pelo fluido recebe o nome de viscosidade ( $\eta$ ).

Matematicamente a relação entre essas três grandezas pode ser definida pela equação:  $\eta = \frac{d\tau}{d\gamma} = \frac{F/A}{dv/dx}$ . A viscosidade é medida em Pascal por segundo ( $\text{Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ ) uma vez que relaciona a força exercida sobre o líquido e a velocidade de escoamento do mesmo (DORAN, 1995).

Os fluidos cuja viscosidade permanece constante independente da tensão de cisalhamento são chamados de fluido newtonianos. Os fluidos cuja viscosidade varia com o aumento da tensão de cisalhamento são classificados como não newtonianos (DIAZ et al., 2004).

A viscosidade de fluidos não newtonianos depende da tensão de cisalhamento e nesse caso recebe a denominação de viscosidade aparente ( $\eta_{ap}$ ). Estudos nos quais se avaliou a qualidade de gomas xantana produzidas por diferentes estirpes de *Xanthomonas campestris* a viscosidade aparente foi o

parâmetro reológico mais utilizado (COSTA et al., 2014; REIS et al., 2010; TORRESTIANA; FUCIKOVSKY; GALINDO et al., 1990).

O comportamento reológico de fluidos não-newtonianos pode ser descrito por modelo matemáticos que relacionam os valores de tensão de cisalhamento e taxa de deformação de um determinado composto. Dentre os modelos mais comumente utilizados estão o de Ostwald-de-Waelle ou da Lei da Potência definido pela equação  $\tau = K(\dot{\gamma})^n$  e o modelo de Hershel-Bulkley definido pela equação  $\tau = \tau_0 + K(\dot{\gamma})^n$ , onde  $\tau$  é a tensão de cisalhamento (media em Pa),  $\tau_0$  é tensão inicial de escoamento,  $K$  é o índice de consistência,  $\dot{\gamma}$  é a taxa de deformação e  $n$  é o índice de comportamento (BEZERRA, 2000). Os fluidos cuja viscosidade aparente diminui com o aumento da tensão de cisalhamento são denominados pseudoplásticos e apresentam valores de  $\eta$  menores que um (AQUINO et al., 2014).

Devido às suas características reológicas as soluções de goma xantana são classificadas como fluidos pseudoplásticos. Isso significa que após a aplicação de uma força (tensão de cisalhamento) a viscosidade inicial das soluções é instantaneamente reestabelecida. Além disso, são estáveis mesmo em baixas concentrações ou quando submetidas a variações de pH e temperatura (BANDALUSENA; ZIMMERMAN; JUNGBUNZLAUER group, 2015; REES, 2009). Essas características possibilitam uma ampla aplicação desse biopolímero nos mais diversos produtos e processos. Um exemplo de aplicação é a formulação de soluções cosméticas com micropartículas sólidas em suspensão. As características reológicas da goma xantana melhoram a liberação de sabor e a sensação tátil bucal, garantem um bom espalhamento e aderência do produto final e facilitam os processos de mistura, bombeamento e pulverização (PEREIRA et al., 2007; JUNGBUNZLAUER group, 2015).

Entretanto, o uso de métodos para a avaliação dos parâmetros reológicos deve fazer parte do controle de qualidade do processo de produção da goma xantana uma vez que essas características são determinadas por sua composição química, a qual depende das condições de fermentação, estirpe bacteriana utilizada, fonte de carbono, temperatura e tempo de fermentação (CASAS; SANTOS; GARCIA-OCHOA, 2000; NERY et al., 2008; NITSCHKE; RODRIGUES; SCHINATTO, 2001; SHUTERLAND, 1982; SOUW; DEMAIN, 1979).

### 3.3.3 Espectroscopia no infravermelho próximo

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) é uma técnica que apresenta diversas vantagens em relação a outros métodos químicos, uma vez que consome pouco tempo, não é destrutivo, e requer pouca ou nenhuma preparação da amostra. O custo analítico é baixo, uma vez que não necessita de reagentes e requer pouco tempo para efetuar a leitura da amostra permitindo a realização de diversos ensaios em um pequeno espaço de tempo (CASALE et al., 2015).

A NIRS fornece informações sobre a estrutura química de uma molécula com base nos sinais captados pelo infravermelho em virtude das vibrações das ligações moleculares. Consiste numa metodologia adotada para detectar similaridades ou diferenças estruturais (SÁ; FARIA; CARDOSO, 2009; SAKANE et al., 2011). Quase a totalidade das vibrações captadas no NIRS são resultantes da vibração das ligações de estiramento da molécula de hidrogênio com outros compostos.

A região da radiação infravermelha está compreendida entre 780 nm a 100000 nm e está subdividida em: infravermelho próximo (780 a 2500 nm), infravermelho médio (2500 a 50000 nm) e infravermelho distante (50000 nm a 100000 nm) (VIANA, 2008). A posição dos picos no espectro de absorção na região do infravermelho próximo pode estar indicada em comprimento de onda (medido em nm) ou em número de onda (medido em  $\text{cm}^{-1}$ ). O número de onda (número de comprimentos de onda) é uma grandeza física inversamente proporcional ao comprimento de onda (SHENK; WORKMAN; WESTERHAUS, 2007).

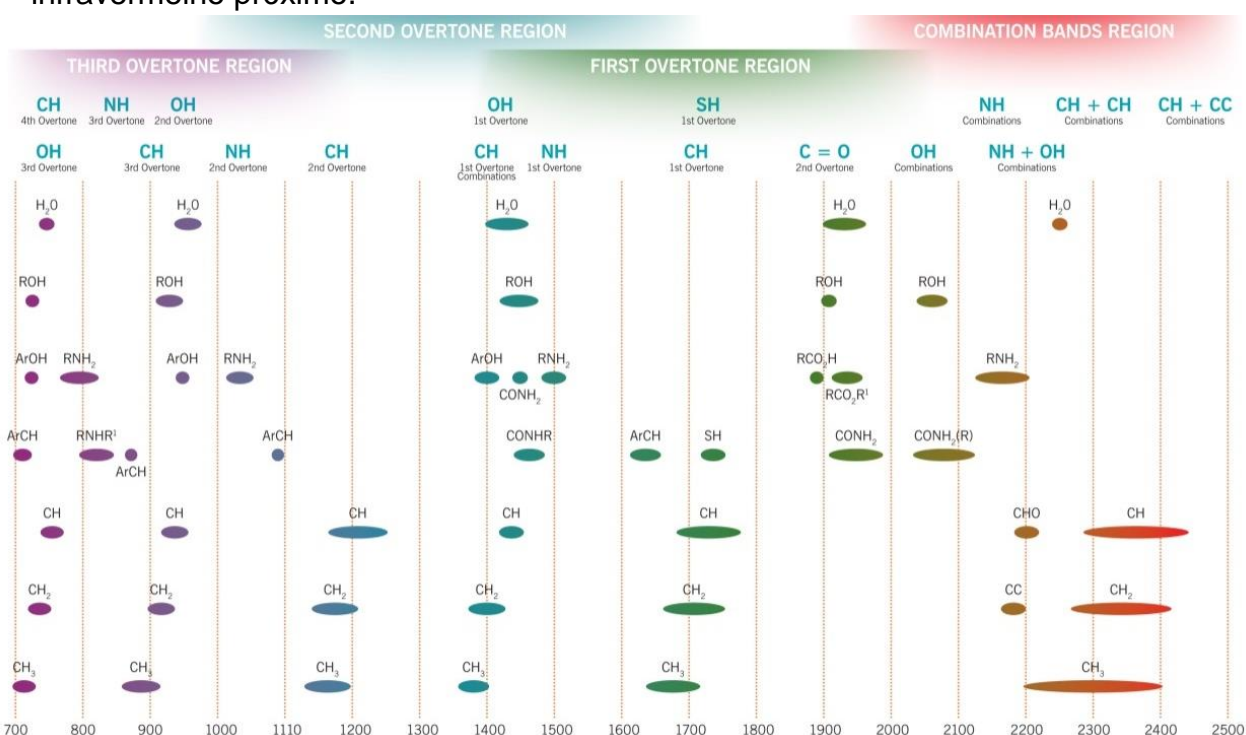
A faixa do espectro NIR compreende as bandas de absorção correspondentes aos sobretons, combinações e vibrações das ligações fundamentais C–H, O–H e N–H (BOKOBZA, 1998; LIMA et al., 2009).

Somente ligações químicas que apresentam momento dipolar resultante diferente de zero irão apresentar absorção no infravermelho. A molécula de goma xantana possui uma estrutura química com diversas ligações de hidrogênio, o que permite a análise de suas propriedades químicas e físicas por espectroscopia no infravermelho próximo (SONG et al., 2015; BOKOBZA, 1998).

Na Figura 6 são apresentados alguns exemplos de ligações químicas que podem ser percebidas na análise do NIRS em diferentes regiões de comprimentos ou de números de onda.

As diferentes ligações químicas entre o hidrogênio e os átomos de carbono, oxigênio e nitrogênio variam em termos de força e da quantidade de energia necessária para promover a vibração molecular e permitir a transição de um nível de energia para outro. Essa variação de energia é observada no espectro como uma série de absorções em diferentes comprimentos de onda. Pela observação do espectro é possível deduzir quais vibrações estão ocorrendo e, por tanto, elaborar a estrutura molecular ou o grupo de átomos presentes na molécula (DAVIES, 2016).

Figura 6 – Comprimento de onda (nm) de ligações químicas no espectro de infravermelho próximo.



Referências: Ellis, J.W. (1928) Molecular Absorption Spectra of Liquids Below 3 m, *Trans. Faraday Soc.* 1928, 25, pp. 888-898.  
 Goddu, R.F and Delker, D.A. (1960) Spectra-structure correlations for the Near-Infrared region. *Anal. Chem.*, vol. 32 no. 1, pp. 140-141.  
 Goddu, R.F. (1960) Near-Infrared Spectrophotometry, *Advan. Anal. Chem. Instr.* Vol. 1, pp. 347-424.  
 Kaye, W. (1954) Near-infrared Spectroscopy; I. Spectral identification and analytical applications, *Spectrochimica Acta*, vol. 6, pp. 257-287.  
 Weyer, L. and Lo, S.-C. (2002) Spectra-Structure Correlations in the Near-infrared, In *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, Vol. 3, Wiley, U.K., pp. 1817-1837.  
 Workman, J. (2000) *Handbook of Organic Compounds: NIR, IR, Raman, and UV-Vis Spectra Featuring Polymers and Surfactants*, Vol. 1, Academic Press, pp. 77-197.

Fonte: ASD (2013).

O uso da NIRS tem se tornado ao longo dos últimos anos uma ferramenta eficiente que pode ser amplamente utilizada no controle de qualidade de produtos e processos na indústria de alimentos (ALANDER et al., 2013; HUANG et al., 2008; LUYPART; MASSART; HEYDEN, 2007).

Dentre os estudos realizados com esse propósito Song e colaboradores (2015) conduziram experimentos no qual a técnica do NIRS foi utilizada como um método alternativo para determinação da massa molecular de amostras de goma



xantana. Os resultados mostraram que o método proposto pode ser adequado para aplicações práticas em fábricas como uma boa alternativa para a determinação rápida do peso molecular de amostras de goma xantana no processo de produção.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 PRODUÇÃO DE GOMA XATANA EM SORO DE LEITE

#### 4.1.1 Microrganismos

Foram utilizadas as estirpes *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* n° 1182 (Xc1182), *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* n° 1866 (Xc1866) e *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* n° 1230 (Xc1230) adquiridas da Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico - IBSBF de Campinas/SP e a estirpe *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* n° 2414 (Xc2414) da Coleção de Culturas da Embrapa Clima Temperado - ECT de Pelotas/RS.

As estirpes foram reativadas segundo protocolo encaminhado pelos institutos fornecedores. Após a reativação foram estocadas em temperatura de -17 °C, em microtubos tipo *Eppendorf*, contendo caldo TSB com glicerol.

Para a realização do experimento, um microtubo de cada estirpe foi retirado do freezer e, após atingir a temperatura ambiente as bactérias foram repicadas em placas de Petri com ágar nutriente. As placas foram incubadas em estufa a 30 °C/48h. Após a verificação do crescimento das colônias, as estirpes foram repicadas em tubos com ágar nutriente inclinado e incubadas em estufa a 30 °C/48h. Os tubos foram mantidos refrigerados a 4 °C, com repiques, a cada 15 dias, visando a manutenção das características do microrganismo durante a realização do experimento.

#### 4.1.2 Meios de cultivo

No processo de produção de goma xantana foram utilizados um meio mínimo para a preparação do inóculo e dois meios de cultivo à base de soro de leite.

#### 4.1.2.1 Meio de cultivo mínimo para produção do inóculo

Para a preparação do inóculo utilizou-se um meio de cultivo mínimo (MM) contendo: 1,5% de lactose; 0,5% de fosfato dibásico de potássio ( $K_2HPO_4$ ); 0,2% de cloreto de amônia ( $NH_4Cl$ ); 0,1% de cloreto de sódio ( $NaCl$ ); 0,01% de sulfato de magnésio ( $MgSO_4$ ); 0,1% de extrato de levedura (NITSCHKE; RODRIGUES, 2000). Com exceção da lactose, os reagentes foram pesados, diluídos em água e o pH ajustado para  $7,0 \pm 0,2$ . Em seguida o meio foi esterilizado em autoclave a  $121\text{ }^\circ\text{C}$  por 15 minutos e armazenado em geladeira. A solução de lactose foi preparada separadamente com concentração de 10% (p/v), esterilizada em autoclave a  $121\text{ }^\circ\text{C}$  por 15 minutos, armazenada em geladeira e adicionada asépticamente ao meio no momento do uso.

#### 4.1.2.2 Meios de cultivo à base de soro de leite

Os meios de cultivo foram preparados a partir de SL *in natura*, proveniente da fabricação de queijo Minas Padrão, de coagulação enzimática de leite pasteurizado, sem adição de corante ou sal, não desproteínizado e não diluído (Figura 7). O SL foi doado pelo Laticínio Coalhada's, localizado na rua Dr. Francisco Álvares de Assis, nº 1000 – Retiro, Juiz de Fora – Minas Gerais.

Figura 7 – Soro de leite *in natura* utilizado no estudo



Fonte: O autor (2016).

Após a coleta no laticínio o SL foi submetido a dois tratamentos distintos: esterilização (SLE) e desproteíntização por acidificação com posterior esterilização (SLD). Após os tratamentos, os meios de cultivo foram armazenados em freezer e mantidos a  $-17\text{ }^{\circ}\text{C}$  até a sua utilização no processo fermentativo.

O SLE foi obtido por processo de esterilização segundo a metodologia descrita por Nery et al., 2008. O SL *in natura* foi distribuído em frascos âmbar, perfazendo um volume de 600 mL por frasco, e esterilizado e autoclave por vapor úmido a  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  por um período de 15 minutos.

Para obtenção do SLD foi realizado um processo de desproteíntização, segundo metodologia descrita por Húngaro et al., 2011.

No processo de desproteíntização do SL uma solução de ácido clorídrico 2N foi adicionada ao SL *in natura* até a obtenção de pH 4,3. Em seguida a mistura foi aquecida até a formação de coágulos de proteína. O SL foi então resfriado, em banho de gelo, até atingir a temperatura ambiente, filtrado em algodão e acondicionado em frascos âmbar, perfazendo um volume de 600 mL por frasco. Os frascos foram esterilizados em vapor úmido a  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos (Figura 8).

Figura 8 – Processo de desproteíntização do soro de leite



Fonte: O autor (2016).

#### 4.1.2.3 *Análise composicional do soro de leite*

A análise composicional do SL para lactose, gordura, proteínas e cinzas e a determinação do pH foram realizadas em triplicata tanto para o SL *in natura* quanto para os meios à base de SL.

##### **Lactose**

A concentração de lactose foi determinada por meio da metodologia da reação dos açúcares redutores com o ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) descrita por Miller (1959). Uma curva padrão de lactose com concentrações de 0, 50, 100, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800 e 2000 mg/L foi utilizada como referência.

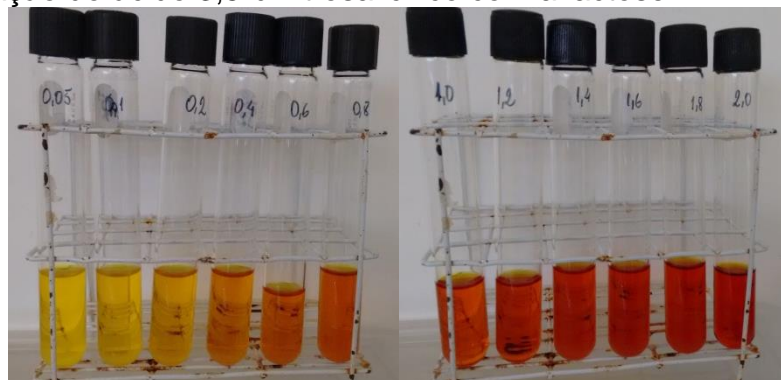
Para o preparo do reagente dissolveu-se 10g de DNS em 200 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 2 N. Em seguida preparou-se, sob constante agitação e aquecimento, uma solução com 300 g tartarato de sódio e potássio (Sal de la Rochelle) em 500 mL de água purificada, à qual adicionou-se a solução do DNS. O reagente preparado foi transferido para um balão volumétrico de 1 L e o volume completado com a água purificada. O balão volumétrico foi envolto em papel alumínio e armazenado em temperatura ambiente em local ao abrigo da luz.

Para a obtenção da curva de calibração foram pipetados, em tubos de ensaio devidamente identificados, 1 mL das soluções de lactose, nas diferentes concentrações, e 1 mL do reagente DNS. Após homogeneização os tubos foram colocados em banho-maria com água em ebulição durante 5 minutos. Terminado o período de reação os tubos foram imediatamente retirados da fervura e resfriados em banho de gelo. Após resfriados adicionou-se 8 mL de água purificada (Figura 9) e realizou-se a leitura espectrofotométrica em 540 nm (Espectrofotômetro LibraS12 Biochrom), utilizando-se a solução com concentração de 0,00 g/L de lactose como branco. A concentração de lactose nas amostras de SL foi determinada segundo a mesma técnica, utilizando-se 1 mL de SL diluído com água purificada na proporção de 1:25.

O princípio deste método baseia-se na redução, em solução alcalina, do ácido 3,5-dinitrosalicílico. O composto resultante desta reação, o ácido 3-amino-5-nitrossalicílico, tem uma cor vermelho-acastanhada cuja intensidade da cor, medida

a 540 nm, é proporcional à concentração de açúcares redutores da solução original (MILLER, 1959).

Figura 9 – Reação do ácido 3,5-dinitrosalicílico com a lactose



Fonte: O autor (2016).

### **Gordura**

A gordura foi determinada segundo a técnica descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2005) utilizando o lactobutirômetro de Gerber em uma centrífuga ITR BT8 (velocidade 200 g). A metodologia consiste na quebra de emulsão do SL pela adição de ácido sulfúrico e álcool isoamílico. O ácido sulfúrico dissolve as proteínas e a lactose do leite aumentando a densidade da fase aquosa. A gordura é então liberada e sua separação acontece pela ação do álcool amílico e pela centrifugação. Uma vez que a gordura é totalmente separada, o resultado é obtido por leitura direta na haste graduada do butirômetro, registrado volumetricamente e indicado como percentagem de massa. A leitura é feita na escala da própria vidraria após centrifugação e incubação do butirômetro a 65 °C por 5 minutos (LANAGRO, 2014).

### **Proteínas**

As proteínas do SL e dos meios de cultivo foram dosadas através de método automatizado, utilizando o aparelho *Sprint Rapid Protein Analyser* (CEM Corporation). A dosagem de proteínas foi realizada a partir de 10 gramas de amostra seguindo as recomendações do fabricante.

### **Cinzas**

A quantidade de cinzas foi determinada segundo técnica descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2005). Este método consiste na calcinação das amostras em

mufla (Jung, modelo 0712), a 500°C. O teor de cinzas foi cálculo pela seguinte equação:

$$\text{Teor de cinzas (\%m/v)} = 100 \times \frac{(\text{peso final} - \text{peso inicial})}{\text{peso da amostra}}$$

### **pH**

Para determinação do pH foi utilizado o pHmetro digital (Digimed) calibrado com soluções tampão pH 4,00 e pH 7,00.

#### 4.1.3 Preparo do inóculo

Foram preparadas alíquotas de 60 mL de MM, em erlenmeyer de 100 mL, para cada uma das quatro estirpes de *Xanthomonas campestris* avaliadas. Em cada erlenmeyer foram adicionadas três alçadas calibradas (10 µL/alçada) da estirpe previamente cultivada em ágar nutriente por 30 °C/24h. Os inóculos foram incubados à temperatura de 30 °C, com agitação orbital de 150 rotações por minuto (rpm) por um período de 24 horas em incubadora *shaker* tipo orbital (Cienlab). Após o período de incubação, foi realizada a padronização da absorbância do inóculo para uma densidade ótica (DO) de 0,300 a 600 nm (Espectrofotômetro LibraS12 Biochrom), equivalente a uma concentração de  $1 \times 10^8$  unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL). A diluição do inóculo foi realizada utilizando o SL correspondente a cada tratamento.

#### 4.1.4 Fermentação

Após descongelamento, alíquotas de 90 mL do SLE e SLD foram distribuídos em erlenmeyers de 250 mL. A estes foi adicionado 10 mL dos inóculos já padronizados com DO 0,300, perfazendo um volume total 100 mL. O cultivo foi realizado em triplicata, a 30 °C e agitação de 150 rpm por 72 horas.

Alíquotas de cada um dos meios de cultivo, não inoculadas, foram submetidas às mesmas condições do processo fermentativo a fim de verificar a produção de algum tipo de precipitado que pudesse ser considerado como goma xantana e interferir no cálculo da produção.

#### 4.1.5 Precipitação, recuperação e cálculo da produção de goma xantana

Para precipitação da goma xantana produzida adicionou-se ao fermentado etanol 96 °GL na proporção de 3:1. O polissacarídeo precipitado foi recuperado por filtração a vácuo, utilizando-se o suporte para filtro Millipore utilizando membrana de tecido de poliéster (77.48W PW com abertura da malha de 77 µm), previamente secas em estufa a 60 °C por 1 hora e pesadas. As membranas com a goma xantana foram levadas para estufa à 60 °C e secas até peso constante. A quantidade de goma xantana recuperada foi calculada através da diferença entre o peso final e inicial da membrana.

A fim de verificar a possível formação de precipitados derivados de proteínas do SL amostras não inoculadas, submetidas aos mesmos procedimentos dos SLs testados, foram adicionadas de etanol 96 °GL na proporção de 3:1. Essas amostras foram identificadas como controle negativo e, seguindo o mesmo procedimento adotado para as amostras de goma xantana, foram secas e pesadas e suas massas descontadas da goma xantana obtida nos testes.

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DA GOMA XANTANA

As gomas xantana experimentais (GE) obtidas a partir da fermentação dos meios D, E pelas estirpes Xc1182, Xc1230, Xc1866 e Xc2414 foram caracterizadas quanto ao perfil colorimétrico, perfil espectral no infravermelho próximo e reologia.

Uma amostra de goma xantana grau *United States Pharmacopeia* (USP), com granulometria de 200 mesh da marca Synth<sup>®</sup>, foi utilizada como padrão de referência nos testes de perfil colorimétrico, perfil espectral no infravermelho próximo e reologia. Para fins de identificação ao longo do experimento essa goma xantana passou a ser denominada de goma controle (GC).

As amostras de GE foram trituradas em almofariz de vidro e padronizadas em tamis de 500 µm com malha de 35 mesh. A GC foi utilizada sem nenhuma preparação adicional.



#### 4.2.1 Determinação do perfil colorimétrico

Para a obtenção do perfil colorimétrico, foi utilizado o colorímetro da marca Chroma Meter, modelo CR-400, obtendo assim a leitura direta da reflectância das coordenadas de luminosidade ( $L^*$ ); coordenada  $a^*$  ( $a^*$ ), coordenada  $b^*$  ( $b^*$ ) e o cálculo do ângulo de tonalidade ( $h$ ) e índice de saturação ( $C$ ), empregando a escala CIEL<sup>\*</sup> $a^*b^*$ . A medida de cor foi realizada em triplicata, com homogeneização das amostras no intervalo de cada medida e a média das três leituras foi utilizada como valor para o parâmetro com iluminante padrão D65 e ângulo de observação de 10°, seguindo a metodologia definida pelo fabricante.

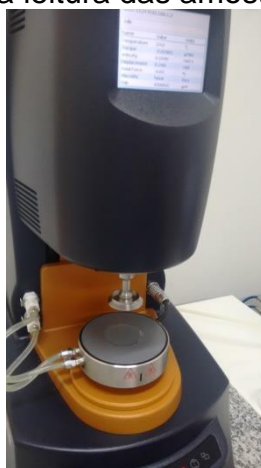
#### 4.2.2 Reologia

As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário do Curso de Farmácia do Campus Avançado de Governador Valadares da Universidade Federal de Juiz de Fora.

O comportamento reológico das soluções de xantana, a uma concentração de 200 mg/L, foi investigada a 25 °C através de reologia estacionária utilizando um reômetro híbrido DHR-1 da *T.A Instruments*<sup>®</sup> (Figura 7).

As amostras de goma foram pesadas e diluídas em água MiliQ na concentração de 200 mg/L e deixadas em banho de ultrassom à 40 °C por 2 horas, até a completa solubilização da goma xantana.

Figura 10 – Rêometro utilizado na leitura das amostras de goma xantana



Fonte: O autor, (2016).

Os dados obtidos para as curvas de fluxo foram ajustados ao modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência) para confirmar o comportamento pseudoplástico das soluções de goma xantana (MESOMO et al., 2009).

#### 4.2.3 Espectroscopia no infravermelho próximo

As análises foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia de Materiais do Departamento de Física da Universidade Federal de Juiz de Fora. As amostras de GE e de GC foram analisadas por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), no modo de absorbância, utilizando o equipamento *MPA Sample Compartment, Bruker*<sup>®</sup> com resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ . Para realização das leituras as amostras foram compactadas em pellets com 13 mm de diâmetro e 0,5 mm de espessura (Figura 11).

Figura 11 – Espectroscópio de Infravermelho utilizado na obtenção do espectro no NIR das amostras de GE e GC.



Fonte: O autor (2016).

O espectro foi obtido por meio do Software OPUS<sup>®</sup> para os comprimentos de ondas compreendidos na faixa de  $4000\text{-}12000\text{ cm}^{-1}$ , com 32 leituras (scans). Cada *pellet* foi analisado em ambos os lados. A média dessas leituras foi utilizada para a composição do espectro. A linha de base foi removida a fim de remover interferências na interpretação dos dados.

A porção do espectro compreendida entre  $10000\text{ a }12000\text{ cm}^{-1}$  foi eliminada por não conter informações relevantes à análise efetuada. Os espectros foram interpretados qualitativamente, analisando o perfil espectral das amostras. Foi

utilizada uma amostra de GC com o intuito de obter uma referência de padrão espectral para a GE analisada.

#### 4.2.4 Análise dos dados

O experimento foi conduzido em esquema fatorial com delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições para cada combinação de meio e estirpe, totalizando 24 amostras.

Os dados obtidas para os parâmetros de produção, cor e reologia foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelos testes t-Student, a 5% de significância.

Os perfis espectrais foram avaliados visualmente por meio da comparação entre as GEs e a GC para os comprimentos de onda correspondentes as ligações C-H, O-H e N-H em termos de semelhanças e diferenças. Em complementação a análise visual foi realizada a análise de componentes principais (PCA) para avaliar por meios estatísticos as diferenças entre os perfis espectrais das GEs. Para tanto, foram utilizados os valores do espectro de absorção normalizado, com média centralizada, de cada uma das amostras de GEs. Os cálculos foram realizados utilizando-se o software MATLAB<sup>®</sup> com 10 componentes principais (PCs).

### 4.3 APOIO FINANCEIRO

O presente estudo foi desenvolvido com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, conforme projeto aprovado sob o n° APQ FAPEMIG 02124-13.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DO SORO DE LEITE

O SL utilizado nesse experimento apresentou 48 g/L de lactose, 0,5% de gordura, 0,73% de proteínas, 0,58% (m/v) de cinzas e pH de 6,22. Segundo Yang, Wu e Tseng (2002), o SL apresenta em sua composição cerca de 4-5% de lactose e 0,8-1% de proteínas. Nery et al. (2008) obtiveram para o SL proveniente do processamento de queijo muçarela, cerca de 0,5% para gordura, 0,5% cinzas, 3,5 % para carboidratos e 2% para proteínas. Os resultados obtidos no presente estudo são próximos aos relatados na literatura e as variações podem ser atribuídas aos diferentes tipos de leite utilizados, alimentação do gado leiteiro e processos envolvidos na fabricação do queijo, como o tratamento térmico e ingredientes (WIT, 2001; MIZUBUTI, 1994).

O resíduo obtido na determinação das cinzas representa a quantidade de matéria inorgânica presente no SL. Além da fonte de carbono, os minerais como os sais de sódio e amônio também são fatores importantes para a produção de goma xantana uma vez que atuam no processo de crescimento e multiplicação celular (SOUW; DEMAIN, 1979).

No SLD foi realizada a redução do pH inicial do SL com o intuito de diminuir a ocorrência de reação de escurecimento não enzimático (reação de *Maillard*) entre a lactose e as proteínas do SL durante o processo de esterilização. Após o tratamento de esterilização simples (SLE) e o de desproteínização seguida de esterilização (SLD), observou-se o escurecimento de ambos os meios quando comparados com o SL *in natura*, entretanto o escurecimento foi visualmente mais intenso no SLE, possivelmente, devido à maior produção de melanoidinas (HÚNGARO et al., 2011; NERY et al., 2008).

O escurecimento observado visualmente no SLD foi menor do que o observado no SLE. Isso se deve, possivelmente, à eficiência do processo de desproteínização, que promoveu a redução da quantidade de proteínas de 0,7% para 0,2% e à redução da ocorrência da reação de *Maillard* em pH ácido.

A desproteínização do SL antes de seu uso como meio de cultivo, além de reduzir o escurecimento do soro, permite que a proteína obtida (de alto valor

nutricional) possa ser utilizada para diferentes propósitos como, por exemplo, o preparo de formulações infantis (NIKNEZHAD et al., 2015).

## 5.2 PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA A PARTIR DE MEIO DE CULTIVO ALTERNATIVO

A Tabela 5 apresenta os dados referentes à produção das GEs obtidas para cada estirpe avaliada no SLE e SLD. A massa de precipitado obtida nos controles negativos foi descontada no cálculo da produção da GE. As massas obtidas foram 0,03 g/L para o SLD e 0,22 g/L para o SLE. Parte desse precipitado corresponde às proteínas residuais dos meios. A formação de precipitados de proteína em meios à base de SL também foi observada por Nery et al. (2008).

Tabela 4 – Produção de goma xantana (g/L) por diferentes estirpes de *Xanthomonas* sp. no SLE e SLD.

ESTIRPES	MEIOS	
	SLE	SLD
Xc1182	6,72 ± 1,10 Aa	5,11 ± 0,09 Aa
Xc1230	7,89 ± 0,47 Aa	6,07 ± 1,02 Aa
Xc1866	3,65 ± 0,50 Ba	5,19 ± 0,14 Aa
Xc2414	4,09 ± 1,37 Bb	6,08 ± 1,45 Aa

Valores seguidos por letras minúsculas diferentes na mesma linha e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa pelo teste *t-Student* ao nível de significância de 5%.

Legenda: SLD – soro de leite desproteínizado; SLE – soro de leite esterilizado; Xc – *Xanthomonas campestris*.

Fonte: O autor (2017).

Foi observada uma interação significativa entre as estirpes e os meios utilizados ( $p < 0,05$ ). A quantidade de goma xantana produzida pela estirpe Xc2414 foi significativamente menor no SLE do que no SLD ( $p < 0,05$ ). Para as demais estirpes não foi verificada diferenças significativas em função do meio de cultivo utilizado.

No SLD não houve diferença significativa na produção de goma xantana pelas estirpes estudadas. Entretanto, no tratamento com o SLE observou-se uma influência significativa da estirpe utilizada, sendo que a produção de goma xantana das estirpes Xc1182 e Xc1230 foram superiores em relação à das estirpes Xc1866 e Xc2414 ( $p < 0,05$ ).

Na Tabela 6 são apresentados resultados de outros estudos que avaliaram a produção de goma xantana em SL por algumas das estirpes utilizadas nesse trabalho.

Tabela 5 – Valores obtidos para a produção de goma xantana a partir de estirpes de *Xanthomonas campestris* utilizando resíduos agroindustriais como fonte de carbono.

Estirpe	Fonte de carbono	Produção (g/L)	Referência
Xc1866	Soro de leite	12,36	Nery et al., 2008
Xc1230 Xc1182	Soro de leite	8,93 7,99	Rottava et al., 2009
Xc1182	Soro de leite	12,01	Diniz et al., 2012
Xc1230 Xc1182	Soro de leite	14,36 17,89	Silva et al., 2009
Xc1182	Soro de mandioca	11,72	Brandão, Esperidião e Druzian, 2010
Xc1866		6,79	
Xc1182 Xc1866	Caldo de cana	33,54 14,23	Brandão et al., 2008

Fonte: O autor (2017).

Os dados de produção de goma xantana obtidos no presente estudo foram inferiores aos reportados na literatura em estudos que utilizaram soro de leite como substrato. Uma possível explicação seria que nesses estudos o inóculo bacteriano foi preparado em um meio de cultivo ao qual foi adicionado glicose. Quando o inóculo foi adicionado ao meio de produção ainda continha glicose residual (em torno de 1%). Essa glicose residual pode ter contribuído para a produção de goma xantana. Além disso, nos estudos citados na Tabela 6, os meios à base de soro foram suplementados com ureia e/ou fosfato de potássio e/ou sulfato de magnésio.

Uma vez que, com exceção da estirpe Xc2414, os resultados de produção de goma xantana obtidos para o SLE e SLD não apresentaram diferenças significativas não haveria a necessidade de desproteínizar e esterilizar o SL se fosse considerada apenas a quantidade de goma xantana obtida. Entretanto, outros fatores interferem nas características da goma xantana e também devem ser levados em consideração. Nesse contexto, a fim de caracterizar o polímero obtido pelas diferentes estirpes e meios de cultivo foram realizadas as análises de cor, reologia e espectroscopia no infravermelho próximo.

## 5.3 CARACTERIZAÇÃO DA GOMA XANTANA

### 5.3.1 Colorimetria

Os dados referentes aos parâmetros de luminosidade ( $L^*$ ), coordenada cromática  $a^*$  ( $a^*$ ), coordenada cromática  $b^*$  ( $b^*$ ), índice de saturação ( $C^*$ ) e ângulo de tonalidade ( $h^*$ ) das GEs e da GC são apresentados na Tabela 7.

Observou-se que não houve interação significativa ( $p > 0,05$ ) entre os fatores estirpe e meio para nenhum dos parâmetros de cor avaliados ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  e  $h^*$ ), o que permite uma avaliação de cada um dos fatores de forma independente.

Os valores de luminosidade ( $L^*$ ) das gomas xantana produzidas no SLE apresentaram valores inferiores em relação aos obtidos no SLD, ou seja, as gomas xantana produzidas no SLE são mais escuras. Esse fato se justifica pela formação de melanoidinas em decorrência da reação de *Maillard* (NERY et al, 2008), a qual foi mais intensa no SLE, que apresentou teores de proteína mais elevados do que os do SLD. Pela comparação entre as estirpes observou-se uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a Xc1182 e a Xc1230, sendo que a Xc1182 apresentou valores de  $L^*$  mais altos, indicando ser mais clara do que a Xc1230. Não foram observadas diferenças significativas entre as estirpes Xc2414 e Xc1866.

Tabela 6 – Valores médios dos parâmetros colorimétricos referentes às amostras das gomas xantana experimentais produzidas no SLE e no SLD e da amostra de goma xantana controle.

Estirpe	Meio	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$
Xc1182	D	83,09 ± 1,53	2,99 ± 0,80	16,40 ± 1,82	16,68 ± 1,93	79,83 ± 1,59
Xc1230		72,72 ± 5,24	6,15 ± 0,64	25,50 ± 1,42	26,20 ± 1,58	76,82 ± 1,15
Xc1866		80,79 ± 1,23	2,44 ± 0,29	23,36 ± 0,20	23,49 ± 0,20	84,05 ± 0,73
Xc2414		79,37 ± 5,22	3,12 ± 1,25	21,67 ± 5,23	21,92 ± 5,46	82,38 ± 2,75
Xc1182	E	70,31 ± 6,92	6,35 ± 2,22	23,55 ± 4,22	24,36 ± 4,70	75,22 ± 2,27
Xc1230		66,98 ± 2,93	7,97 ± 1,59	27,83 ± 1,69	28,96 ± 2,05	74,12 ± 2,18
Xc1866		64,10 ± 2,15	6,17 ± 0,20	30,96 ± 0,74	31,57 ± 0,69	78,73 ± 0,60
Xc2414		66,79 ± 2,42	7,79 ± 1,10	29,57 ± 1,89	30,59 ± 2,09	75,29 ± 1,19
GC		91,33 ± 0,06	-0,02 ± 0,05	12,24 ± 0,15	12,24 ± 0,15	90,10 ± 0,21

Legenda:  $L^*$  - luminosidade;  $a^*$  - coordenada cromática  $a^*$  (-verde/+vermelho);  $b^*$  - coordenada cromática  $b^*$  (-azul/+amarelo);  $C^*$  - índice de saturação;  $h^*$  - ângulo de tonalidade; Xc n° – *Xanthomonas campestris* seguida pelo número da estirpe; SLD – soro de leite desproteínizado e esterilizado; SLE – soro de leite esterilizado; GE – gomas xantana experimentais; GC – goma xantana padrão.

Fonte: O autor (2017).

As GEs obtidas no SLE apresentaram valores superiores aos das GEs obtidas no SLD ( $p < 0,05$ ) para a coordenada de tonalidade  $a^*$ . Valores maiores indicam uma tendência maior para a região de tonalidade vermelha. Os valores mais elevados foram os da GE produzida pela Xc1230 ( $p < 0,05$ ). As demais estirpes não apresentaram diferenças significativas para a coordenada  $a^*$  ( $p > 0,05$ ).

As GEs obtidas no SLE apresentaram valores superiores aos das GEs obtidas no SLD para a coordenada de tonalidade  $b^*$  ( $p < 0,05$ ). Valores mais elevados indicam uma tendência maior para a região de tonalidade do amarelo. A GE produzida pela Xc1182 apresentou valores inferiores aos das gomas produzidas pelas demais estirpes ( $p < 0,05$ ), ou seja, tende menos à região de tonalidade do amarelo.

Em termos do índice de saturação ( $C^*$ ) as gomas xantana produzidas no SLE apresentaram valores superiores aos das GEs obtidas no SLD ( $p < 0,05$ ), indicando estarem mais distantes do eixo central no diagrama de cores. A goma xantana produzida pela Xc1182 apresentou valores inferiores às demais estirpes testadas ( $p < 0,05$ ).

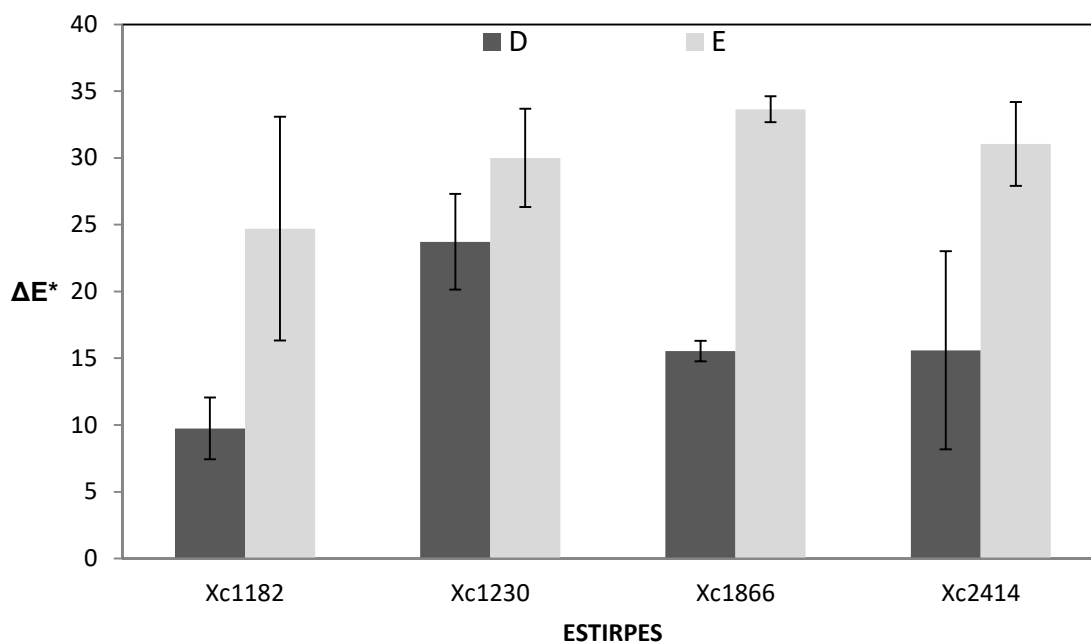
Na análise do ângulo de tonalidade ( $h^*$ ) observou-se que as GEs obtidas no SLD apresentaram valores superiores aos das GEs obtidas no SLE ( $p < 0,05$ ), embora todos tenham ficado localizados entre os ângulos correspondentes ao vermelho (0 graus) e o amarelo (90 graus). Entre as estirpes testadas, a Xc1866 foi a que apresentou valores mais elevados, diferindo dos resultados das demais GEs ( $p < 0,05$ ). As GEs obtidas a partir da Xc1182 e da Xc1230 não apresentaram diferenças significativas para o parâmetro  $h^*$  ( $p > 0,05$ ). O ângulo de tonalidade das GEs produzidas pelas estirpes Xc1282 e Xc2414 não diferiu estatisticamente ( $p > 0,05$ ).

Considerando a importância da utilização de padrões de controle para aprimorar a avaliação das diferenças entre os parâmetros de cor entre os meios utilizados (MENDOZA; DEJEMEK; AGUILERA, 2006) foi determinado o valor da diferença total de cor ( $\Delta E^*$ ), utilizando como referência uma GC (Figura 12).

A análise da  $\Delta E^*$  é uma importante ferramenta que pode ser adotada no controle de qualidade de produtos e processos. A utilização dessa ferramenta demanda o estabelecimento da margem de variabilidade aceitável para os parâmetros de cor em relação aos de uma amostra padrão (LAWLESS; HEYMANN, 2010).



Figura 12 – Diferença total de cor ( $\Delta E^*$ ) das gomas xantana experimentais em relação à goma xantana padrão.



Legenda:  $\Delta E^*$  - diferença total de cor; Xc n° – *Xanthomonas campestris* seguida pelo número da estirpe; D – meio desproteinizado; E – meio esterilizado.

Fonte: O autor, (2017).

Os resultados do  $\Delta E^*$  (diferença total de cor entre as GEs e a GC) para as amostras obtidas no SLE foram superiores ( $p < 0,05$ ) aos das amostras obtidas no meio D, para todas as estirpes testadas. Esse fato demonstra a eficiência no processo de desproteíntização uma vez que as GEs obtidas a partir do SLD apresentam menos diferença em relação à cor da GC do que as GEs obtidas a partir do SLE.

A estirpe que apresentou a menor diferença total de cor (menor valor de  $\Delta E^*$ ) em relação à GC foi a Xc1182 ( $p < 0,05$ ). Entre as GEs obtidas no SLD a estirpe Xc1230 foi a que mais diferiu da GC. No SLE não houve diferença entre as estirpes testadas.

A análise do parâmetro de luminosidade permitiu concluir que a goma xantana produzida no SLD foi mais clara e, portanto, mais interessante para aplicação industrial. A análise da diferença total de cor entre as GEs e a GC demonstrou que a estirpe Xc1182 foi a que mais se aproximou da cor da goma padrão.

Não foram encontrados dados na literatura pesquisada e na ficha técnica da goma comercial, utilizada nesse estudo, no que se refere aos parâmetros de cor. Os

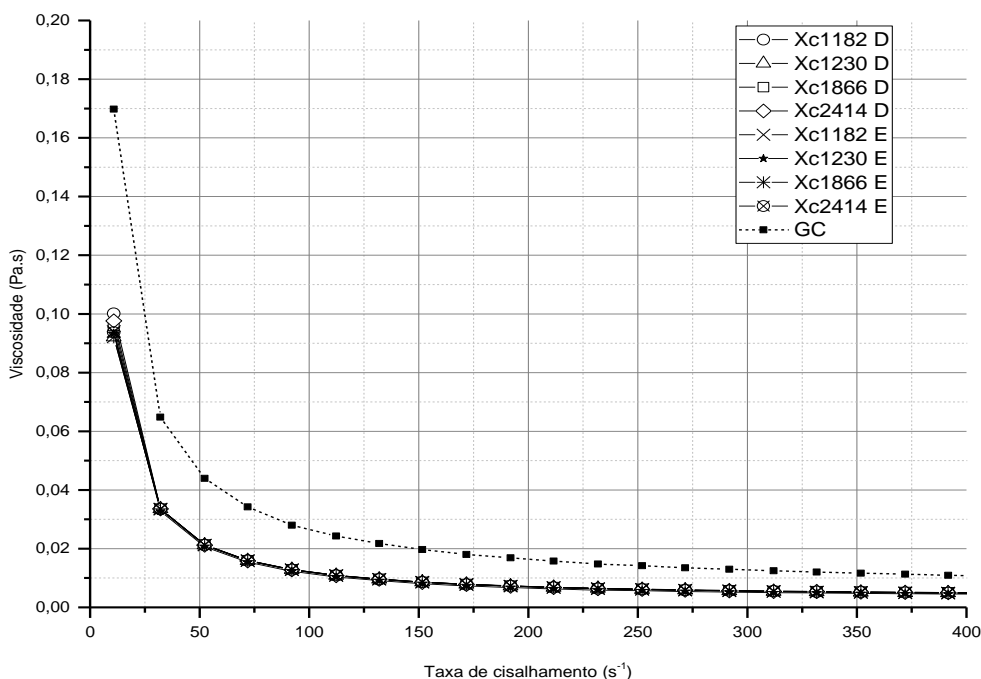
dados inéditos gerados no presente estudo podem servir como referência para trabalhos futuros.

### 5.3.2 REOLOGIA

Os dados obtidos por meio da análise reológica das GEs e da GC são apresentados na Figura 13.

Ao analisar as curvas de viscosidade em função da taxa de cisalhamento (Figura 13) das amostras de GEs e da GC observou-se que todas apresentaram comportamento de fluido não newtoniano e pseudoplástico, uma vez que o aumento na taxa de cisalhamento aplicada resultou na diminuição da viscosidade. Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com outros trabalhos que demonstraram que soluções de goma xantana apresentam comportamento pseudoplástico e são classificadas como fluídos não newtonianos (DÁRIO et al., 2011; MESOMO et. al., 2009; SCHRAMM, 2006).

Figura 13 – Viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento para as amostras de goma xantana experimentais e de goma xantana padrão



Legenda: Xc n° – *Xanthomonas campestris* seguida pelo número da estirpe; D – soro de leite desproteínizado e esterilizado; E – soro de leite esterilizado; GC – goma xantana padrão.

Fonte: O autor (2017).

A Tabela 8 apresenta os resultados dos parâmetros de índice de consistência (K) e de índice de comportamento ( $n$ ) obtidos através do ajuste das curvas de fluxo à equação de Ostwald-de-Wealle.

Tabela 7 – Valores calculados para o índice de consistência (K) e para o índice de comportamento ( $n$ ) através do ajuste das curvas de fluxo à equação de Ostwald-de-Wealle.

Estirpe	Meio	K (Pa.s <sup>n</sup> )	n (adimensional)	r <sup>2</sup>
Xc1182	D	0,021 ± 0,003	0,773 ± 0,020	0,93 ± 0,005
Xc1230		0,022 ± 0,002	0,767 ± 0,005	0,93 ± 0,001
Xc1866		0,024 ± 0,001	0,758 ± 0,012	0,93 ± 0,002
Xc2414		0,025 ± 0,003	0,748 ± 0,021	0,93 ± 0,005
Xc1182	E	0,021 ± 0,002	0,777 ± 0,014	0,93 ± 0,003
Xc1230		0,026 ± 0,007	0,731 ± 0,055	0,92 ± 0,008
Xc1866		0,026 ± 0,005	0,774 ± 0,038	0,93 ± 0,004
Xc2414		0,023 ± 0,002	0,760 ± 0,017	0,93 ± 0,005
GC	-	0,206 ± 0,0005	0,519 ± 0,003	0,95 ± 0,0002

Legenda: Xc n° – *Xanthomonas campestris* seguida pelo número da estirpe; D – soro de leite desproteínizado e esterilizado; E – soro de leite esterilizado; GC – goma xantana padrão. K - índice de consistência;  $n$  - índice de comportamento; r<sup>2</sup> – correlação.

Fonte: O autor (2017).

Os dados obtidos permitiram o ajuste ao modelo da equação de Ostwald-de-Wealle com correlação em torno de 93%. Os resultados do índice de escoamento ( $n$ ) foram inferiores a 1. Valores de  $n$  menores que 1 indicam que os fluídos analisados apresentam comportamento pseudoplástico. Não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre as amostras experimentais, entretanto todas as GEs apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação à GC. Os resultados obtidos indicaram que a consistência (K) da GC foi superior a das amostras experimentais.

Os valores obtidos para as variáveis K e  $n$  no presente trabalho são próximos aos do trabalho realizado por Bandalusena, Zimmerman e Rees (2009), no qual foram obtidos valores de  $K = 0,015 \pm 0,001$  e  $n = 0,67 \pm 0,01$  em uma solução de goma xantana comercial com concentração de 0,01% (m/v). Nery et al. (2008) obtiveram valores de  $k = 0,023$  e  $n = 0,515$  em uma solução de goma xantana diluída a 0,5% (m/v) para uma estirpe *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*.

Nas condições do presente estudo não foram observadas diferenças significativas em relação aos parâmetros reológicos entre as estirpes e os meios testados. Em outros estudos foram encontradas diferenças entre estirpes testadas,

porém o processo fermentativo ou as estirpes diferiram dos que foram utilizados nesse trabalho (NERY et al., 2008; ROTTAVA et al., 2009).

### 5.3.3 Espectroscopia no infravermelho próximo

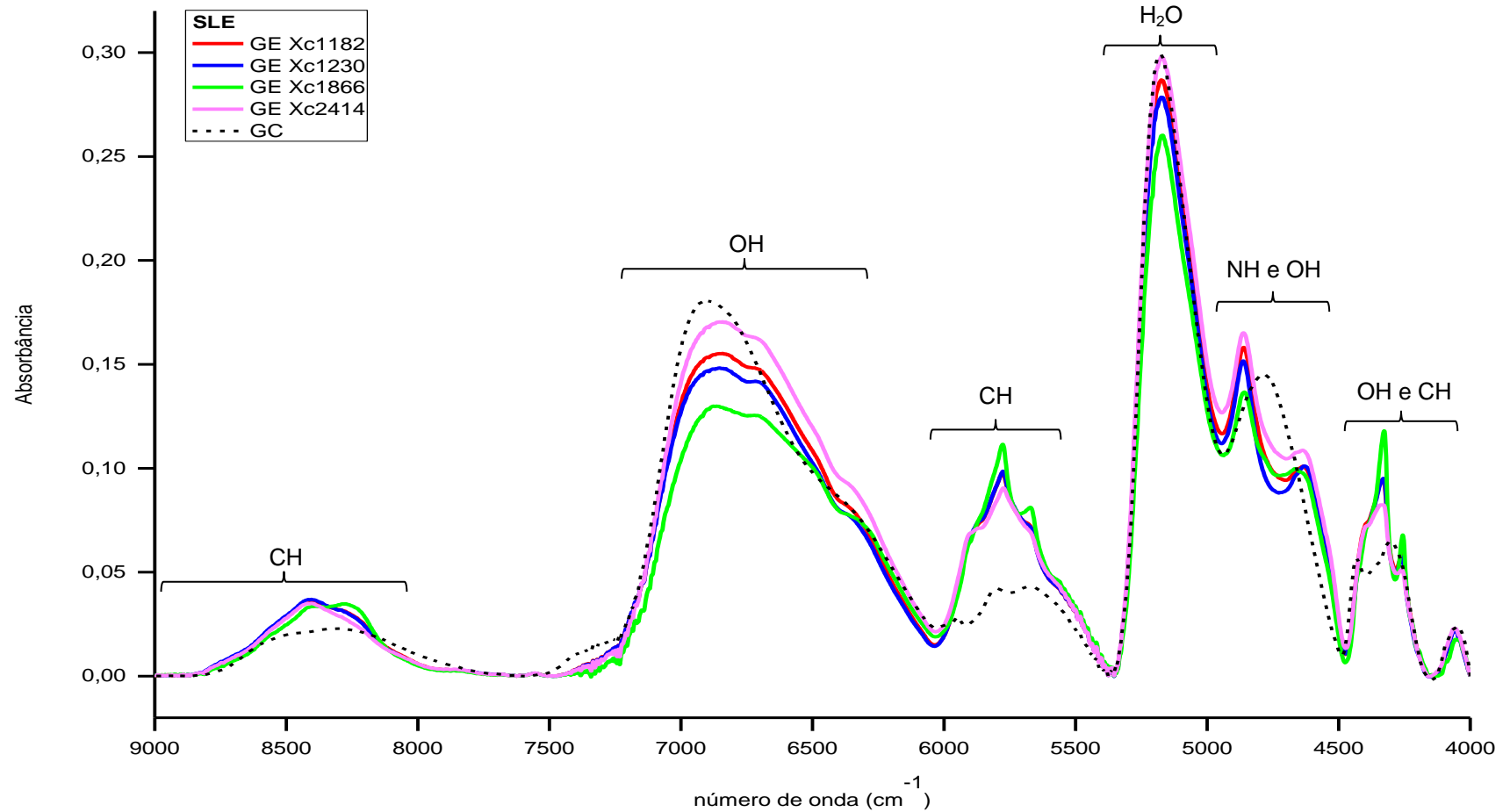
O perfil espectral de absorbância NIR correspondente às quatro estirpes cultivadas no SLE e SLD e o perfil da GC estão representados nas Figuras 14 e 15.

Ambos os espectros fornecem informações quanto à presença de ligações O-H e C-H, que estão presentes em grandes quantidades na estrutura química da goma xantana, com grupos funcionais OH, CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> e bandas de absorção que representam vibrações de estiramento, rotação e torção dessas ligações químicas. Por meio da análise do perfil espectral é possível avaliar as semelhanças e diferenças entre a estrutura das GEs e da GC.

Os espectros possuem perfis semelhantes em termos da presença e formatos dos picos entre todas as amostras avaliadas, denotando uniformidade na geração do produto de interesse. Quando comparadas à GC foram observadas diferenças em relação à posição e ao formato de alguns dos picos, provavelmente devido à presença de água ou outros resíduos provenientes dos meios de cultura.

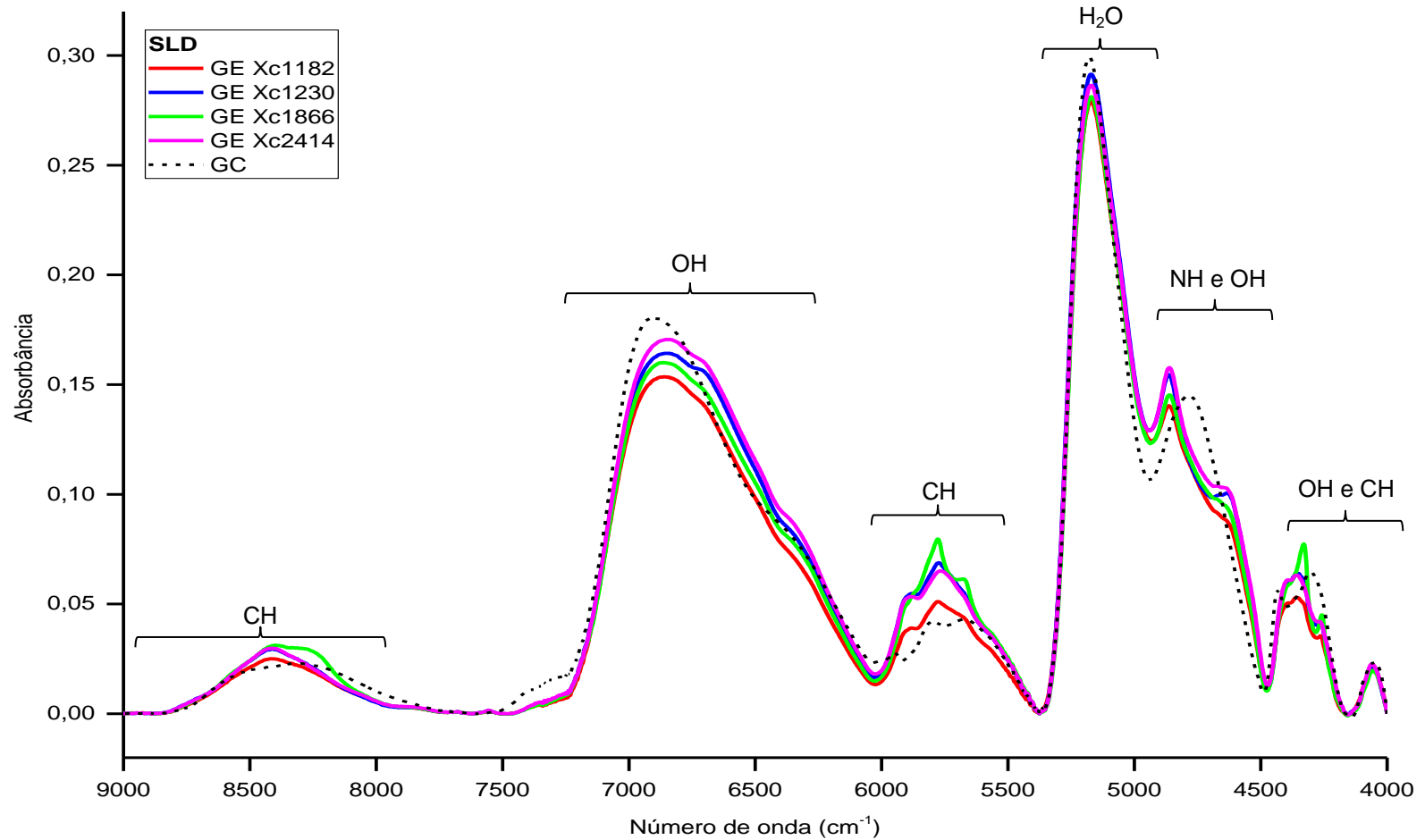
É possível observar bandas características da ligação O-H, as quais podem indicar entre outros a presença de água na estrutura molecular da goma xantana. A presença de excesso de umidade nas amostras pode interferir na utilização destas ligações para determinar diferenças entre as amostras analisadas. As bandas correspondentes a essas ligações estão localizadas nas regiões compreendidas entre 6000 e 7200 cm<sup>-1</sup>, 4900 e 5200 cm<sup>-1</sup> e 4000 e 4800 cm<sup>-1</sup> (MAGALHÃES, 2014; SHENK; WORKMAN; WESTERHAUS, 2007; SONG et al., 2015). Para todos os espectros é possível observar a presença dessas bandas. As variações do espectro nessas regiões podem ocorrer porque as moléculas de água no NIRS apresentam bandas de absorção largas que podem interferir na intensidade ou na forma dos picos (ALBUQUERQUE, 2004).

Figura 14 – Espectro no infravermelho próximo da goma xantana comercial e das gomas xantana produzidas no SLE.



Legenda: SLE – soro de leite esterilizado; (—) *X. campestris* pv. *manihotis* n° 1182; (—) *X. campestris* pv. *mangiferaeindicae* n° 1230; (—) *X. campestris* pv. *campestris* n° 1866; (—) *X. campestris* pv. *pruni* n° 2414 e (---) Goma xantana comercial Synth.  
 Fonte: O autor (2017).

Figura 15 – Espectro no infravermelho próximo da goma xantana comercial e das gomas xantana produzidas no SLD.



Legenda: SLD – soro de leite desproteínizado; (—) *X. campestris* pv. *manihotis* n° 1182; (—) *X. campestris* pv. *mangiferaeindicae* n° 1230; (—) *X. campestris* pv. *campestris* n° 1866; (—) *X. campestris* pv. *pruni* n° 2414 e (---) Goma xantana comercial Synth.  
 Fonte: O autor (2017).

Foram observadas algumas diferenças entre as amostras indicando a presença de um número maior de ligações ou uma vibração diferente nas ligações C-H nas regiões correspondentes aos números de onda em 4300 e 8300  $\text{cm}^{-1}$  (segundo sobreton do estiramento C-H) e em 5800  $\text{cm}^{-1}$  (primeiro sobreton do estiramento C-H) (MAGALHÃES, 2014; SHENK; WORKMAN; WESTERHAUS, 2007; SONG et al., 2015).

De acordo com a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), a goma xantana pode conter em sua estrutura até 1,5% de nitrogênio (JECFA, 1999). No espectro NIR a amostra de goma xantana comercial não apresentou picos evidentes de absorção correspondentes a ligações N-H. Entretanto, as amostras de GEs em ambos os meios preparados a partir de SL apresentaram resíduos de proteína em sua composição. É possível observar nos dois espectros (Figuras 14 e 15) que aproximadamente na região de número de onda 4650  $\text{cm}^{-1}$  existe um suave pico que indica a presença de ligações N-H em todas as estirpes avaliadas.

Vários fatores podem justificar a diferença estrutural entre as GEs e a GC. Entre esses fatores podem ser citados: a composição do meio de cultivo e as estirpes de microrganismos utilizadas, que influenciam na quantidade de grupos acetil e piruvil presentes na estrutura da goma xantana (ALMEIDA, 2010; NERY et al., 2008). Na literatura estão descritas variações nos tamanhos e pesos moleculares de goma xantana em função do processo fermentativo empregado (ALMEIDA, 2010; SONG et al., 2015). A GC, por ser um reagente analítico grau USP, foi submetida a uma etapa de purificação e padronização. As GEs não passaram por um processo semelhante, justificando a presença de interferentes em sua estrutura que podem ser percebidas nos espectros NIR.

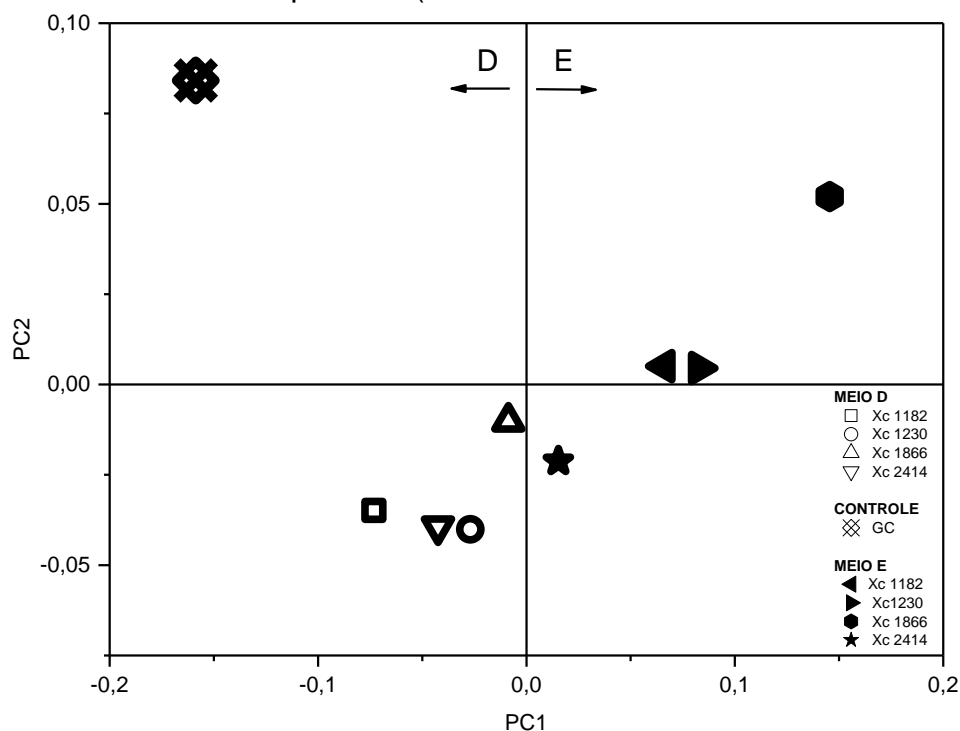
Na Figura 16 está apresentado o gráfico com o resultado da análise de componentes principais (PCA) no qual é possível observar a distribuição das amostras de GEs e da GC em termos de suas diferenças e semelhanças.

As quatro primeiras componentes acumularam um total de 98,9% da variância total (PC1: 72,6%; PC2: 16,3%; PC3: 5,2%; PC4: 4,8%). O gráfico foi plotado a partir das duas primeiras componentes que juntas somaram 88,9% da variância total.

As GEs produzidas a partir de um mesmo meio apresentaram grau de similaridade. As amostras produzidas no SLD tenderam a se agrupar na região de

PC1 negativa enquanto as amostras produzidas no SLE tenderam a se agrupar na região de PC1 positiva. Essa separação indica diferenças na composição química das gomas xantana obtidas no SLE e no SLD. Também foi possível observar que as GEs obtidas no SLD agruparam-se mais do que as amostras obtidas a partir do SLE. Esse fato pode ser justificado pela maior presença de interferentes do SLE oriundos das proteínas do SL.

Figura 16 – Análise de componentes principais das componentes PC1 e PC2 dos espectros no infravermelho próximo (números de onda entre 9000 e 4000  $\text{cm}^{-1}$ ).



Legenda: SLE – soro de leite esterilizado; SLD – soro de leite desproteínizado e esterilizado; GC – goma comercial; Xc 1182 - *X. campestris* pv. *manihotis* n° 1182; Xc 1230 - *X. campestris* pv. *mangiferaindicae* n° 1230; Xc 1866 - *X. campestris* pv. *campestris* n° 1866; Xc 2414 - *X. campestris* pv. *pruni* n° 2414.

Fonte: O autor (2017).

Na análise das componentes principais PC1xPC2 (Figura 16) observou-se que as amostras de goma xantana experimentais apresentaram alto grau de separação em relação à GC. Esse fato evidencia as diferenças estruturais entre as gomas experimentais e a goma controle, que podem ser oriundas da ausência de uma etapa de purificação nas GEs.

Não foram encontrados na literatura pesquisada trabalhos que utilizassem conjuntamente as metodologias de NIRS e análise de componentes principais aqui empregadas para comparar gomas xantana experimentais em relação a uma goma



padrão. Entretanto SONG e colaboradores (2015) utilizaram a técnica de NIRS com o objetivo de comparar a massa molecular de diferentes gomas xantana. Esses autores obtiveram resultados bastante satisfatórios no que se refere à possibilidade do emprego da NIRS em estudos para comparação e controle de qualidade de gomas xantana obtidas a partir de diferentes tratamentos.

## 6 CONCLUSÕES

- Foi possível produzir goma xantana nos dois meios de cultivo à base de soro de leite a partir das quatro estirpes de *Xanthomonas campestris* testas;
- A produção de goma xantana pela estirpe Xc2414 foi a única influenciada pelo meio de cultivo à base de soro de leite utilizado, com uma menor produção no SLE;
- No SLD não foi observada influencia da estirpe testada em relação à quantidade de goma xantana produzida;
- No SLE a quantidade de goma xantana produzida foi influenciada pela estirpe testada, sendo observada uma maior produção pelas estirpes Xc1182 e Xc1230;
- A caracterização do perfil colorimétrico demonstrou haver influência entre o meio utilizado e a cor das GEs. As gomas xantana produzidas a partir do SLD apresentaram uma menor diferença de cor em relação à GC. Esse resultado demonstrou a eficiência do processo de desproteinização do soro no que se refere à produção de goma xantana com características de cor mais próximas à GC;
- A análise reológica permitiu verificar que as GEs e a GC apresentaram comportamento reológico compatível com o descrito na literatura. Além disso as GEs não apresentaram diferenças para nenhum dos parâmetros reológicos analisados em função da estirpe ou do meio de cultivo utilizado;
- Os espectros NIR das amostras de GEs apresentaram perfis semelhantes para todas as estirpes e meios testados,. Entretanto foi possível constatar diferenças entre as GEs e a GC, indicando a necessidade de uma etapa de purificação das amostras experimentais;
- A análise das componentes principais indicou haver maior homogeneidade entre as amostras obtidas a partir do SLD em comparação ao SLE.
- Os resultados obtidos permitem concluir que o SLD apresentou vantagens em relação ao SLE, principalmente no que se refere ao parâmetro de cor das GEs. Entretanto, não foram observadas diferenças entre as quatro estirpes testadas;

- O estudo realizado permitiu produzir conhecimentos que serão úteis para o desenvolvimento de novos trabalhos visando o aprimoramento das metodologias de obtenção de biopolímeros bacterianos a partir de soro de leite.

## REFERÊNCIAS

ALANDER, J.T.; BOCHKO, V.; MARTINKAUPPI, B.; SARANWONG, S.; MANTERE, T. A Review of Optical Nondestructive Visual and Near-Infrared Methods for Food Quality and Safety. **International Journal Of Spectroscopy**, v. 2013, p.1-36, 2013.

ALBUQUERQUE, Jackson da Silva. **Desenvolvimento de um sensor óptico para a determinação de hidrocarbonetos aromáticos em águas empregando a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)**. 2004. 111f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

ALMEIDA, M. S. **Avaliação e caracterização de goma xantana sintetizada a partir de resíduos aquícolas e de glicerol como fonte de carbono**. 2010. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) - Universidade Tiradentes, 2010.

AMORIM, P. G. R.; GONÇALEZ, J. C.; CAMARGOS, J. A. A. Propriedades da madeira de *Pinus caribaea* e *Eucalyptus grandis* estimadas por colorimetria. **Cerne**, v. 19, n. 3, p. 461-466, 2013.

AQUINO, A.C. de; LIMA, C.S.; FEITOSA, F.X.; GALLÃO, M.I.; PINTO, G.A.; SANT'ANA, H.B. Chromatographic, rheological and cytochemistry evaluation of “bacuri” pulp (*Platonia insignis* MART.). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 32, n. 1, p.33-46, 30 jun. 2014.

ASD. Analytical Spectral Devices, Inc. **Near-infrared Absorption Bands Chart**. 08 ago. 2013. Disponível em: [https://cdn2.hubspot.net/hub/45853/file-244381196-pdf/docs/near-ir\\_absorption\\_bands\\_chart.pdf?t=1481819676897](https://cdn2.hubspot.net/hub/45853/file-244381196-pdf/docs/near-ir_absorption_bands_chart.pdf?t=1481819676897). Acesso em: 01/12/2016.

AS GRANDES Gomas. **Aditivos & Ingredientes**. n. 79. Jun. 2011. São Paulo: Editora Insumos Ltda. Disponível em: [http://aditivosingredientes.com.br/upload\\_arquivos/201604/2016040916455001460595241.pdf](http://aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201604/2016040916455001460595241.pdf). Acesso em: 22/11/2016.

BANDALUSENA, H.C.H.; ZIMMERMAN, W.B.; REES, J.M. Microfluidic rheometry of a polymer solution by micron resolution particle image velocimetry: a model validation study. **Measurement Science And Technology**, v. 20, n. 11, p.1-9, 14 out. 2009.

BARUA, R.; ALAM, M.J.; SALIM, M.; ASHRSFEE, T.Z. Small scale production and characterization of xanthan gum synthesized by local isolates of *Xanthomonas campestris*. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 54, p. 151–155, 2016.

BAZAKA, K.; RUSSELL, J.; CRAWFORD, R. J.; NAZARENKO, E. L.; IVANOVA, E. P. Bacterial extracellular polysaccharides, In: Linke, D and Goldman. A. (Eds.), **Advances in experimental medicine and biology, springer science and business media**. Springer, p. 213-226, 2011.

BECKER, A.; KATZEN, F.; PÜHLER, A.; IELPI, L. Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 50, n. 2, p. 145–152, 1998.

BECKER, A. Challenges and perspectives in combinatorial assembly of novel exopolysaccharide biosynthesis pathways. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 687, 2015.

BEZERRA, J.F.M.V. **Comportamento reológico da polpa de manga (*Mangifera indica* L-Keit)**. 2000. 182f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

BOKOBZA, L. Near infrared spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v.6, n.1, p.3-17, 1998.

BORGES, C.D.; DE PAULA, R.C. M.; FEITOSA, J.P.A.; VENDRUSCOLO, C.T. The influence of thermal treatment and operational conditions on xanthan produced by *X. arboricola* pv *pruni* strain 106. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 2, p. 262–268. 2009.

BORGES, C.D.; MOREIRA, A.S; VENDRUSCOLO, C. T.; AYUB, M.A.Z. Influence of agitation and aeration in xanthan production by *Xanthomonas campestris* pv *pruni* strain 101. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 40, n. 2, p. 262–268. 2009.

BORGES, C.D.; VENDRUSCOLO, C. T. Goma xantana: características e condições operacionais de produção. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v.29, 171-188, 2008.

BOTELHO, M. R.; DALMOLIN, R. S. D.; PEDRON, F. A.; AZEVEDO, A. C.; RODRIGUES, R. B.; MIGUEL, P. Medida da cor em solos do Rio Grande do Sul com a carta de Munsell e por colorimetria. **Ciência Rural**, v. 36, n.4, p. 1179-1185, 2006.

BRADBURY, J.F. **Genus II: *Xanthomonas campestris***. In: Manual of systematic bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore, London, p. 1199-1210, 1984.

BRANDÃO, L.V.; ESPERIDIÃO, 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, p.175-180, set. 2010.

BRANDÃO, L.V.; NERY, T.B.R.; MACHADO, B. A. S.; ESPERIDIÃO, M. C. A.; DRUZIAN, J. I. Produção de goma xantana a partir do caldo de cana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 217-222. 2008.

BRASIL. Decreto nº 1.812, de 8 de fevereiro de 1996. Altera dispositivos do Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, que aprovou o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, alterado pelo Decreto nº 1.255, de 25 de junho de 1962. **Presidência da República**. Brasília, DF.

\_\_\_\_\_. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 45, de 03 de novembro de 2010. Dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF). **ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília, DF.

\_\_\_\_\_. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 61, de 21 de setembro de 2007. Aprova, na forma do Anexo, as inclusões na Lista DCB 2006, das Denominações Comuns Brasileiras (DCB). **ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília, DF.

BUTTNER, D.; BONAS, U. Regulation and secretion of *Xanthomonas* virulence factors. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 34, p. 107–133, 2010.

CASALE, M.; BAGNASCO, L.; GIORDANI, P.; MARIOTTI, M.; MALASPINA, P. NIR spectroscopy as a tool for discriminating between lichens exposed to air pollution. **Chemosphere**, v. 134, p. 355-360, 2015.

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

CHATTERJEE, S.; GUHA, A.K. A study on biochemical changes during cultivation of *Rhizopus oryzae* in deproteinized whey medium in relation to chitosan production **Letters in Applied Microbiology**, v. 59, p. 155-160, 2014.

COSTA, L.A. S.; CAMPOS, M.I.; DRUZIAN, J.I.; OLIVEIRA, A. M.; OLIVEIRA JUNIOR, E.N.; CORPORATION, H.P. Biosynthesis of Xanthan gum from fermenting shrimp shell: Yield and apparent viscosity. **International Journal of Polymer Science. International Journal of Polymer Science**, v. 2014 Article ID 273650, 8 p., 2014.

DARIO, A.F.; HORTÊNCIA, L.M.A.; SIERAKOWSKI, M.R.; QUEIROZ NETO, J.C.; PETRI, D.F.S. The effect of calcium salts on the viscosity and adsorption behavior of xanthan. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 669–676, 2011.

DAVIES, A. M. C. **An introduction to Near Infrared (NIR) Spectroscopy**. Disponível em: <https://www.impublications.com/content/introduction-near-infrared-nir-spectroscopy>. Acesso em: 10/12/2016.

deMAN, J. M. **Principles of Food Chemistry**. Third Edition. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland, 1999.

DEMIRCI, Z.O.; YILMAZ, I.; DEMIRCI, A.Ş. Effects of xanthan, guar, carrageenan and locust bean gum addition on physical, chemical and sensory properties of meatballs. **Journal Of Food Science And Technology**, v. 51, n. 5, p.936-942, 18 nov. 2011.

DEY, S.; MAZUMDER, B.; CHATTOPADHYAY, S.; DAS, M.K., SINHA, S., GANGULY, S., De, K., MISHRA, M. Polymers derived from *Xanthomonas campestris* and *Cyamopsis tetragonolobus* used as retardant materials for the formulation of sustained release floating matrix tablet of atenolol. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, n. 1, p. 346-356, 2014

DIAZ, P. S.; VENDRUSCOLO, C. T.; VENDRUSCOLO, J. L. S. Reologia de Xantana: uma revisão sobre a influência de eletrólitos na viscosidade de soluções aquosas de goma xantana. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v.25, n.1, p.15-28, 2004.

DINIZ, D. D. M.; DRUZIAN, J. I.; AUDIBERT, S. Proução de Goma Xantana por cepas nativas de *Xanthomonas campestris* a partir de casca de cacau ou soro de leite. **Polímeros**. v. 22, n. 3, p. 278-281, 2012.

DONOT, F.; FONTANA, A.; BACCOU, J.C.; SCHORR-GALINDO, S. Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 951–962, 2012.

DORAN, P.M. **Bioprocess Engineering Principles**. Elsevier Science & Technology Books. 1995.

DOSSIÊ Estabilizantes. **Food Ingredients Brasil**. n. 38. jun.-jul.-ago. 2016. p. 36-66. São Paulo: Editora Insumos Ltda. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/548.pdf>. Acesso em: 20/11/2016.

DOSSIÊ Gomas. **Food Ingredients Brasil**. n. 32. Dez. 2104 / jan.-fev., 2015. p. 28-48. São Paulo: Editora Insumos Ltda. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/441.pdf>. Acesso em: 20/11/2016.

EPE – EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. **Nota Técnica DEA 15/14 Inventário Energético de Resíduos Rurais**. Rio de Janeiro: Ministério de Minas e Energia, Governo Federal. Out 2014. Disponível em: [http://www.epe.gov.br/mercado/Documents/S%C3%A9rie%20Estudos%20de%20Energia/DEA%2015%20-%2014%](http://www.epe.gov.br/mercado/Documents/S%C3%A9rie%20Estudos%20de%20Energia/DEA%2015%20-%2014%20)

20-%20%20Invent%C3%A1rio%20Energ%C3%A9tico%20de%20Res%C3%ADduos%20Rurais.pdf. Acesso em: 15/12/2016.

ESGALHADO, M.E.; ROSEIRO, J.C.; COLLAÇO, M.T.A.. Interactive effects of pH and temperature on cell growth and polymer production by *Xanthomonas campestris*, **Process Biochemistry** v. 30, n. 1, p. 667-671, 1995.

EUZÉBY J.P. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v. 47, p. 590-592, 1997. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. 2016. Disponível em: <http://www.bacterio.net/xanthomonas.html>. Acesso em: 01/12/2016.

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.

FARAONI, A. S.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; LAUREANO, J. Efeitos dos métodos de conservação, tipos de embalagem e tempo de estocagem na coloração de polpa de manga “Ubá” produzida em sistema orgânico. **Revista Ceres**. v. 55, p. 504-511, 2008.

FARIA, S.; PETKOWICZ, C. L.O.; 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, n. 2, p.469-476, ago. 2011.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of Cheese Science**. Aspen Publishers Inc.: Gaithersburg, Maryland. 2000.

FRANK, J.F., SOMKUTI, G.A. General properties of beta-galactosidase of *Xanthomonas campestris*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.38, p.554–556. 1979.

FREITAS, F.;ALVES, V.D.;REIS, M.A.M. Advances in bacterial exopolysaccharides: From production to biotechnological applications. **Trends in Biotechnology**, v. 29, n. 8, p. 388–398, 2011.

FU, J. F.; TSENG, Y. H. Construction of lactose-utilizing *Xanthomonas campestris* and production of xanthan gum from whey. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 4, p.919-923. 1990.

GARCIA, R. A.; OLIVEIRA, N. S.; NASCIMENTO, A. M.; SOUZA, N. D.; Colorimetria de madeiras dos gêneros *Eucalyptus* e *Corymbia* e sua correlação com a densidade. **Cerne**, v. 20, n. 4, p. 509-517, 2014.



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.

GARCIA-OCHOA, F.; SANTOS, V.E.; ALCON, A. Metabolic structured kinetic model for xanthan production. **Enzyme And Microbial Technology**, v. 23, n. 1, p.75-82, jul./ago. 1998.

GIAVASIS, I. Production of microbial polysaccharides for use in food. **Microbial Production Of Food Ingredients, Enzymes And Nutraceuticals**, p.413-468, 2013.

GIBLOT-DUCRAY, D. X.; MAREFAT, A.; GILLINGS, M. R.; PARKINSON, N. M.; BOWMAN, J. P.; OPHEL-KELLER, K.; TAYLOR, C.; FACELLI, E.; SCOTT, E. S. Proposal of *Xanthomonas translucens* pv. *pistaciae* pv. nov., pathogenic to pistachio (*Pistacia vera*). **Systematic and Applied Microbiology**, v. 32, n. 8, p. 549–557, 2009.

GILANI, S.I.; NAJAFPOUR, G.D.; HEYDARZADEH, H.D.; ZARE, H. Kinetic models for xanthan gum production using *Xanthomonas campestris* from molasses. **Chemical Industry And Chemical Engineering Quarterly**, v. 17, n. 2, p.179-187, 2011.

GOMASHE, A. V.; DHARMIK, P. G.; FUKU, P. S. Optimization and production of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* NRRL-B-1449 from sugar beet molasses. **The International Journal of Engineering and Science** v.2, n. 5, pp. 52-55. 2013.

GOMES, J. F. S. **Padronização de metodologia para caracterização de cor por imagem aplicada à seleção de frutas**. 2013. 256f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013.

GOSWAMI, S., NAIK, S. Natural gums and its pharmaceutical application. **Journal of Scientific and Innovative Research**, v. 3, n. 1, pp. 112-121. 2014.

GUMUS, T.; SUKRU DEMIRCI, A.; MIRIK, M.; ARICI, M.; AYSAN, Y. Xanthan gum production of *Xanthomonas* spp. Isolated from different plants. **Food Science and Biotechnology**, v. 19, n. 1, pp. 201–206. 2010.

GUTIERREZ, J.S.; ALEGRE, R.M. Produção de goma xantana por *X. campestris* ATCC 13951 utilizando soro de queijo desproteinado. **Revista Ion**, v. 28, n. 2, p. 69-77., 2015.

HARDING, N.E.; RAFFO, S.; RAIMONDI, A.; CLEARY, J.M.; IELPI, L. Identification, genetic and biochemical analysis of genes involved in synthesis of sugar nucleotide precursors of xanthan gum. **Journal of General Microbiology**, v. 139, pp. 447–457. 1993.

HUANG, H.; YU, H.; XU, H.; YING, Y. Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. **Journal Of Food Engineering**, v. 87, n. 3, p.303-313, ago. 2008.

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

HÚNGARO H.M.; CALIL, N.O.; FERREIRA, A.S.; CHANDEL, A.N.; SILVA, S.S. Fermentative production of ribonucleotides from whey by *Kluyveromyces marxianus*: effect of temperature and pH. **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 5, p. 958-964, 2011.

IELPI, L.; COUSO, R. O.; DANKERT, M. A. Sequential assembly and polymerization of the polyprenol-linked pentasaccharide repeating unit of the xanthan polysaccharide in *Xanthomonas campestris*. **Journal of Bacteriology**. v. 175., n. 9, p. 2490-2500. mai. 1993. American Society of Microbiology.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 2005. São Paulo, 4. ed.

IZYDORCZYK, M.; CUI, S. W.; WANG, Q. Polysaccharide Gums: Structures, Functional Properties, and Applications. **Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications**. Steve W. Cui (Ed.). Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group. 2005.

JANSSON, P. E.; KENNE, L.; LINDBERG, B. Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. **Carbohydrate Research**. v. 45, n. 1, pp. 275–282. 1975.

JECFA-Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. **Xanthan gum monograph**. 1999.

JUNGBUNZLAUER GROUP (Suíça) (Org.). Xanthan gum. **Xanthan Gum**, Basel, v. 55, p.1-6, 2015. Disponível em: <[http://www.jungbunzlauer.com/fileadmin/content/\\_PDF/JBL\\_FO\\_Xanthan\\_Gum\\_2015.pdf](http://www.jungbunzlauer.com/fileadmin/content/_PDF/JBL_FO_Xanthan_Gum_2015.pdf)>. Acesso em: 19 jan. 2017.

KHOSRAVI-DARANI K.; BAGHI G.; HADIAN Z.; HAJI N.; KOMEILI R.; SEYED F.; KOHI KAMALI P. Comparison of bench scale production of xanthan by *Xanthomonas campestris* in solid state and submerged fermentation. **Iranian Journal Nutrition Science & Food Technology**. v. 4, n. 1, pp. 49-56. 2009.

KHOSRAVI-DARANI, K.; REYHANI, F. S.; NAJED, B. N.; FARHADI, B. N. Bench scale production of xanthan from date extract by *Xanthomonas campestris* in

submerged fermentation using central composite design. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 62, p. 13520-13527, 12th October, 2011.

KLAIC, P.M.A., VENDRUSCOLO, C.T., FURLAN, L. AND MOREIRA, A. DA S. Ion exchange as post-fermentative process enhancer of viscosity of xanthan produced by *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*, **Food Hydrocolloids**, v. 56, p. 118–126. 2016.

KONICA MINOLTA. Entendiendo El Espacio de Color CIE L\*a\*b\*. [2014?]. Disponível em: <http://sensing.konicaminolta.com.mx/2014/09/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/>. Acesso em: 26/11/2016.

KRANENBURG, R. V.; BOELS, I. C.; KLEEREBEZEM, M.; VOS, W. M. Genetics and engineering of microbial exopolysaccharides for food: approaches for the production of existing and novel polysaccharides. **Current Opinion In Biotechnology**, v. 10, n. 5, p.498-504, 1 out. 1999.

KUMAR, A.; SRIVASTAVA, A.; GALAEV, I. Y.; MATTIASSON, B. Smart polymers: Physical forms and bioengineering applications. **Progress In Polymer Science**, v. 32, n. 10, p. 1205-1237, out. 2007.

LANAGRO - Laboratório Nacional Agropecuário. Laboratório de Produtos de Origem Animal. Método de Ensaio – MET POA/SLAV/08/03/01. **Determinação de lipídios em leite e produtos lácteos pelo método butirométrico**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Porto Alegre/RS. 2014. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/POA/Leite%20e%20Produtos%20Lacteos/MET%20POA%20SLAV%200803%20Determinacao%20de%20Lipidios%20em%20leite%20e%20produtos%20lacteos%20por%20butirometria.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/POA/Leite%20e%20Produtos%20Lacteos/MET%20POA%20SLAV%200803%20Determinacao%20de%20Lipidios%20em%20leite%20e%20produtos%20lacteos%20por%20butirometria.pdf). Acesso em: 20/08/2016.

LAWLESS, Harry T.; HEYMANN, Hildegard. Introduction. **Food Science Text Series**, p.1-18, 2010.

LEELA, J. K.; SHARMA, G. Studies on xanthan production from *Xanthomonas campestris*. **Bioprocess Engineering**, v. 23, n. 6, p. 687-689, 15 dez. 2000.

LEME, D. S.; OLIVEIRA, E. M.; BARBOSA, B. H. G.; PEREIRA, R. G. F. A.; BORÉM, F. M. **Plataforma digital para mensuração de grãos de café especiais: escala agron obtida através de fotografias**. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 9, 2015, Curitiba. SPCB, Curitiba, p.1-6.

LETISSE, F.; CHEVALLEREAU, P.; SIMON, J.-L.; LINDLEY N.D. Kinetic analysis of growth and xanthan gum production with *Xanthomonas campestris* on sucrose, using sequentially consumed nitrogen sources, **Applied Microbiology and Biotechnology**, 55(4), pp. 417–422. 2001.

LI, P.; LI, T.; ZENG, Y.; LI, X.; JIANG, X.; WANG, Y.; XIE, T.; ZHANG, Y. Biosynthesis of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* LREL-1 using kitchen waste as the sole substrate. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p.684-691, out. 2016.

LIMA, K. M. G.; RAIMUNDO, I. M.; SILVA, A. M. S.; PIMENTEL, M. F. Sensores ópticos com detecção no infravermelho próximo e médio. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1635-1643, 2009.

LO, Y. M.; ARGIN-SOYSAL, S.; HSU, C. H. **Bioconversion of Whey Lactose into Microbial Exopolysaccharides**. In: Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources. Editor: Shang-Tian Yang. Elsevier. 2007. p.559-583

LOPES, B.M.; LESSA, V.L.; SILVA, B.M.; FILHO, M.A.S.C.; SCHNITZLER, E.; LACERDA, L. G. Xanthan gum: properties, production conditions, quality and economic perspective. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 54, n.3, p. 185-194, 2015.

LUVIELMO, M.; SCAMPARINI, A. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 5, n. 1, p.50-67, 25 maio 2009. UNISINOS - Universidade do Vale do Rio Dos Sinos.

LUYPAERT, J.; MASSART, D.I.; HEYDEN, Y. V. Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. **Talanta**, v. 72, n. 3, p.865-883, 15 maio 2007.

MAGALHÃES, D.F. **Aplicações da espectroscopia de infravermelho próximo na monitorização de processos farmacêuticos**. 2014. 110f. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica) – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2014.

MARCOTTE, M.; TAHERIAN, A. R.; RAMASWAMY, H. S. Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. **Food Research International**, v. 34, n. 8, p. 695-703. 2001.

McNEIL, B.; HARVEY, L. M.; ROWAN, N. J.; GIAVASIS, I. **Fermentation monitoring and control of microbial cultures for food ingredient manufacture**. In: Harvey, Linda. Microbial Production of Food Ingredients, Enzymes, and Nutraceuticals. Edited by Brian / Oxford: Woodhead Publishing, 2013.

MENDOZA, F.; DEJMEK, P.; AGUILERA, J. M. Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis. **Postharvest Biology And Technology**, v. 41, n. 3, p.285-295, set. 2006.

MENEZES, J. D. S.; DRUZIAN, J. I.; PADILHA F. I.; SOUZA, R. R. Produção biotecnológica de goma xantana em alguns resíduos agroindustriais, caracterização e aplicações **Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental** v.8 , n. 8, p. 1761-1776, 2012.

MESOMO, M.; FERNANDES, M.S.; BONI, G.; PADILHA, F.F.; MAZUTTI, M.; MOSSI, A.; OLIVEIRA, D.; CANSIAN, R.L.; LUCCIO, M.; TREICHEL, A. Xanthan gum produced by *Xanthomonas campestris* from cheese whey: production optimisation and rheological characterisation. **Journal of The Science of Food And Agriculture**, v. 89, n. 14, p. 2440-2445, nov. 2009.

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

MIZUBUTI, I.Y. Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v. 5, n.1, p.80-94, mar. 1994.

MORRIS, V. J. Bacterial Polysaccharides. In: STEPHEN, Alistair M.; PHILLIPS, Glyn O.; WILLIAMS, Peter A. **Food Polysaccharides and Their Applications**. 2. ed. Boca Raton: Crc Press, 2006. Cap. 12. p. 413-454. Disponível em: <<https://ttnngmai.files.wordpress.com/2012/10/foodpolysaccharidestheirapplications.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2016.

MOSER, R. In: WEILER, J. **Plant pathogen follows a new path**. Press release No.96. jun. 2014. Press Office Ruhr University Bochum. Disponível em: <http://aktuell.ruhr-uni-bochum.de/pm2014/pm00096.html.en>. Acesso em: 27/11/2016.

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

NIKNEZHAD, S. V.; ASADOLLAHI, M. A.; ZAMANI, A.; BIRIA, D. Production of xanthan gum by free and immobilized cells of *Xanthomonas campestris* and *Xanthomonas pelargonii*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p.751-756, jan. 2016.

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 Biotechnology**, v, 24, n. 2, p. 453-460, 2015.

NITSCHKE, M.; RODRIGUES, V. Effect of virulence and serial transfers of *Xanthomonas campestris* on xanthan gum production. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 1, p.58-60, mar. 2000. FapUNIFESP (SciELO).

NITSCHKE, M.; RODRIGUES, V.; SCHINATTO, L. F. Formulação de meios de cultivo à base de soro de leite para a produção de goma xantana por *X. campestris* C7L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p.82-85, jan. 2001.

NWODO, U., GREEN, E., OKOH, A. Bacterial exopolysaccharides: functionality and prospects. **International Journal of Molecular Sciences**, v.13, n. 12, p. 14002–14015, 2012.

OLIVEIRA, A.P.; FRASSON, K.; YAMASHITA, F.; BENASSI, M.T. Medida instrumental de cor em sobremesas lácteas de chocolate: uma técnica de baixo custo e versátil utilizando câmara digital. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6, n.2, p. 191- 196, 2003.

OLIVEIRA, D. F.; BRAVO, C. E. C.; TONIAL, I. B. Soro de leite: um subproduto valioso. **Revista Instituto Cândido Tostes**. 385, 64, 64-71, 2012.

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

PARKINSON N.; ARITUA V.; HEENEY J.; COWIE C.; BEW J.; STEAD D. Phylogenetic analysis of *Xanthomonas* species by comparison of partial gyrase B gene sequences. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, p. 2881-2887. 2007.

PELIZER, L.H.; PONTIERI, M.H.; MORAES, I.O. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, Santiago, Chile. v.2, n.1, p. 118-127. Jan. 2007.

PEREIRA, E.A.; BRANDÃO, E.M.; BORGES, S.V.; MAIA, M.C.A. Effect of xanthan gum addition on the rheological properties of umbu fruit pulp. **Boletim do Centro da Pesquisa e Processamento de Alimentos**. Curitiba, v.25, n. 2, p.285-294, jul./dez. 2007.

PETRI, D. F. S. Xanthan gum: A versatile biopolymer for biomedical and technological applications. **Journal of Applied Polymer Science**, app. 42035, 1-13, 2015.

PRAZERES, A. R.; CARVALHO, F.; RIVAS, J. Cheese whey management: A review. **Journal Of Environmental Management**, v. 110, p.48-68, nov. 2012.

PSOMAS, S.K.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M.; KYRIAKIDIS, D.A. Optimization study of xanthan gum production using response surface methodology. **Biochemical Engineering Journal** v. 35, p. 273–280, 2007.

RAMASAMY, T.; KANDHASAMI, U. D. S.; RUTTALA, H.; SHANMUGAM, S. Formulation and evaluation of xanthan gum based aceclofenac tablets for colon targeted drug delivery. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 2, p.299-311, jun. 2011.

RAMEZANI, A.; JAFARI, M.; GOODARZI, T.; ALAVI, S. M.; SALMANIAN, A. H.; AZIN, M. Lactose consuming strains of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xcc) insight into the emergence of natural field resources for xanthan gum production. **World Journal Of Microbiology And Biotechnology**, v. 30, n. 5, p.1511-1517, 8 dez. 2013.

RAO, M. G.; BHARATHI, P.; AKILA, R. M. A comprehensive review on biopolymers. **Scientific Reviews & Chemical Communications**. v. 4, n. 2, 61-68, 2014.

REIS, E.C.; ALMEIDA, M.; CARDOSO, J.C.; PEREIRA, M. DE A.; DE OLIVEIRA, C.B.Z.; VENCESLAU, E.M.; DRUZIAN, J.I.; MARIANO, R.; PADILHA, F.F. Biopolymer Synthesized by Strains of *Xanthomonas* sp Isolate from Brazil Using Biodiesel-Waste. **Macromolecular Symposia**, v. 296, n. 1, p.347-353, out. 2010.

RENAUD, M.; BELGACEM, M. N.; RINAUDO, M. Rheological behavior of polysaccharide aqueous solutions. **Polymer**, v. 46, p. 12348–12358. 2005.

RIBEIRO, D. M. **Evolução das propriedades físicas, reológicas e químicas durante o amadurecimento da banana ‘prata-anã’**. 2006. 126 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

RONČEVIĆ, Z. Z.; BAJIĆ, B. Ž.; VUČUROVIĆ, D.G.; DODIĆ, S.N.; GRAHOVAC, J.A.; DODIĆ, J.M. **Xanthan production on wastewaters from wine industry**. 2016.

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

ROTTAVA, I.; BATESINI, G.; SILVA, M.F.; LERIN, L.; DE OLIVEIRA, D.; PADILHA, F.F.; TONIAZZO, G.; MOSSI, A.; CANSIAN, R.L.; DI LUCCIO, M.; TREICHEL, H. Xanthan gum production and rheological behavior using different strains of *Xanthomonas* sp. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 1, pp. 65–71. 2009.

ROY, A, COMESSE, S.; GRISEL, M.; HUCHER, N.; SOUGUIR, Z.; RENOU, F. **Hydrophobically Modified Xanthan: An Amphiphilic but Not Associative Polymer**. **Biomacromolecules**. ACS Publications. v. 15. p. 1160-1170. 2014.

RYAN, R.P.; VORHÖLTER, F.J.; POTNIS, N.; JONES, J.B.; SLUYS, M.A.V.; BOGDANOVE, A.J.; DOW, M. Pathogenomics of *Xanthomonas*: understanding bacterium–plant interactions. **Nature Reviews: Microbiology** v. 9, p. 344-355, May 2011.

SÁ, E. M.; FARIA, S.; CARDOSO, V. L.; **Biossíntese de goma xantana avaliada por espectroscopia IV**. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 8., 2009, Uberlândia, Minas Gerais. Resumo estendido, 2009.

- SADDLER, G. S.; BRADBURY, J. F. In: **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Volume Two The Proteobacteria Part B The Gammaproteobacteria Phylum XIV. Xanthomonadales ord. nov. Springer Science + Business Media. pp 63-122. 2015.
- SAKANE, K. K.; CARDOSO, M. A. G.; JUNIOR, M. B.; UEHARA, M. Infrared spectra of creatine. **Revista Univap**, v. 17, n. 29, 2011.
- SAVVIDES, A. L.; KATSIFAS, E. A.; HATZINIKOLAOU, D. G. Xanthan production by *Xanthomonas campestris* using whey permeate medium. **World Journal Microbiology Biotechnology**, 28, 2759-2794, 2012.
- SCHMID, J.; SIEBER, V.; REHM, B. Bacterial exopolysaccharides: biosynthesis pathways and engineering strategies. **Frontiers In Microbiology**, v. 6, p.1-24, 26 maio 2015. Frontiers Media SA.
- SCHRAMM, G. **Reologia e Reometria – Fundamentos Teóricos e Práticos**. São Paulo: Editora Artliber Ltda., 2006. 240 p.
- SEVIOUR, R. J.; McNEIL. B.; FAZENDA, M.L.; HARVEY, L.M. Operating bioreactors for microbial exopolysaccharide production. **Critical Reviews In Biotechnology**. [s.l.], v. 31, n. 2, p.170-185, 5 out. 2011.
- SHARMA, A.; GAUTAM, S.; WADHAWAN, S. Xanthomonas, in **Encyclopedia of Food Microbiology**. Elsevier BV, pp. 811–817. 2014
- SHENK, J.S.; WORKMAN, J.J.; WESTERHAUS, M.O. Application of NIR Spectroscopy to Agricultural Products. **Handbook of Near-Infrared Analysis**, 3. Ed. Donald A. Burns, Emil W. Ciurczak. p. 419-474. 2007.
- SHERLEY, K.I.; PRIYADHARSHINI, R.D. Review on production of xanthan gum in batch and continuous reactors. **International Journal of Chem Tech Research**, v. 8, n.2, p. 711-717, 2015.
- SHU, C. H.; YANG, S. T. Effects of temperature on cell growth and xanthan production in batch cultures of *Xanthomonas campestris*. **Biotechnology Bioengineering** v. 35, p. 454-468.1990.
- SILVA, M. F.; FORNARI, R. C. G.; MAZUTTI, M. A.; OLIVEIRA, D.; PADILHA, F. F.; CICHOSKI, A. J.; CANSIAN, R. L.; DI LUCCIO, M.; TREICHEL, H. Production and characterization of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. **Journal of Food Engeneering**, v. 90, p. 119-123, 2009.
- SILVA, R. A. **Avaliação da perda da coloração artificial de ágatas**. 2006, 98f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Minas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.



SONG, J.; LING, P.; ZANG, H.; LI, L.; WANG, J.; JIN, Y.; SHAO, H.; ZHU, X.; LIU, F.; WANG, F. Development, validation and influence factor analysis of a near-infrared method for the molecular weight determination of xanthan gum. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p.582-588, jan. 2015.

SOUW, P.; DEMAÏN, A. L. Nutritional studies on xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B1459. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 37. N.6. p.1186-1192. jun. 1979.

STANGERLIN, D. M.; COSTA, A. F.; GONÇALEZ, J. C.; PASTORE, T. C. M.; GARLE, A.; Monitoramento da biodeterioração da madeira de três espécies amazônicas pela técnica da colorimetria. **Acta Amazônica**, n.4, v. 43, p. 429 – 438, 2013.

SUTHERLAND, I. W. Biosynthesis of microbial exopolysaccharides. **Advances in Microbial Physiology**. v. 23, p. 80-142, 1982

SWINGS, J.G., CIVEROLO, E.L., **Xanthomonas**, London: Chapman & Hall (Ed.). 1993.

SWORN, G. Xanthan gum – functionality and application, In: Norton, I. T., Spyropoulos, F. and Cox, P. (Eds.), **Practical Food Rheology: an interpretive approach**, Blackwell Publishing Ltd. 2011

SYNDICATE MARKET RESEARCH. **Xanthan Gum Market – Global Industry Perspective**. Comprehensive Analysis and Forecast, 2014 – 2020. 2016. Disponível em: <http://www.syndicatemarketresearch.com/market-analysis/xanthan-gum-market.html>. Acesso em: 26/11/2016.

TAIT, M.I, SUTHERLAND, I.W., CLARKE-STURMAN, A.J. Effect of growth conditions on the production, composition and viscosity of *Xanthomonas campestris* exopolysaccharide, **Journal of General Microbiology**, 132, 1483-1492. 1986.

TIRRELL, J.G.; A TIRRELL, D.. Synthesis of biopolymers: proteins, polyesters, polysaccharides and polynucleotides. **Current Opinion In Solid State And Materials Science**, v. 1, n. 3, p.407-411, jun. 1996.

TONIN, M.F. **Caracterização taxonômica de espécies do gênero Xanthomonas**. 2012. 164f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.

TORRESTIANA, B.; FUCIKOVSKY, L.; GALINDO, E.. Xanthan production by some *Xanthomonas* isolates. **Letters In Applied Microbiology**, v. 10, n. 2, p.81-83, fev. 1990. Wiley-Blackwell.

VERT, M. DOI, Y.; HELLWICH, K-H.; HESS, M.; HODGE, P.; KUBISA, P.; RINAUDO, M.; SCHUÉ, F. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). **Pure And Applied Chemistry**, v. 84, n. 2, p.377-410, 11 jan. Walter de Gruyter GmbH. 2012.

VIANA, L.C. **Uso da espectroscopia no infravermelho para predição de propriedades tecnológicas da madeira de Eucalyptus**. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

VIJAYENDRA, S. V. N.; SHAMALA, T. R. Film forming microbial biopolymers for commercial applications - A review. **Critical Reviews In Biotechnology**, v. 34, n. 4, p.338-357, 6 ago. 2013. Informa Healthcare.

VORHÖLTER, F.-J.; SCHNEIKER, S.; GOESMANN, A.; KRAUSE, L.; BEKEL, T.; KAISER, O.; LINKE, B.; PATSCHKOWSKI, T.; RÜCKERT, C.; SCHMID, J.; SIDHU, V.K.; SIEBER, V.; TAUCH, A.; WATT, S.A.; WEISSHAAR, B.; BECKER, A.; NIEHAUS, K.; PÜHLER, A. The genome of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* B100 and its use for the reconstruction of metabolic pathways involved in xanthan biosynthesis. **Journal of Biotechnol.** 134, 33–45. 2008

VUYST, L.D., LOO, J.V. ;VANDAMME,E.J. Two-step Fermentation Process for Improved Xanthan Production by *Xanthomonas campestris* NRRL-B-1459. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology** v. 39, p. 263-273. 1987.

WILEY, J. **Biopolymers, Survey**. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. 2000.

WIT, J. N. **Lecturer's Handbook on whey and whey products**. Publisher: European Whey Products Association. 2001. Disponível em: <http://ewpa.euromilk.org/nc/publications.html?cid=305&did=2460&sechash=d317866> 9. Acesso em: 04/12/2016.

YANG, T. C.; WU, G. H.; TSENG; Y. H. Isolation of a *Xanthomonas campestris* strain with elevated b-galactosidase activity for direct use of lactose in xanthan gum production. **Letters in Applied Microbiology**, 35, 375–379. 2002.

YOUNG, J.M. BULL, C.T. DE BOER S.H., FIRRAO, G. GARDAN, L. SADDLER G.E., STEAD D.E. ; TAKIKAWA, Y. **International Standards for Naming Pathovars of Phytopathogenic Bacteria**. Committee on the Taxonomy of Plant Pathogenic Bacteria. International Society for Plant Pathology. dez. 2001. Disponível em: [http://www.isppweb.org/about\\_tppb\\_naming.asp](http://www.isppweb.org/about_tppb_naming.asp). Acesso em: 12/12/2016.

ZANUNCIO, A. J. V.; FARIAS, E. S.; SILVEIRA, T. A.; Termorretificação e Colorimetria da Madeira de *Eucalyptus grandis*. **Floresta e Ambiente**, n.1, v. 21, p. 85-90, 2014.

ZION MARKET RESEARCH. **Xanthan Gum Market for Oil and Gas, Food and Beverage, Pharmaceutical, Cosmetics, and Other Applications** - Global Industry Perspective, Comprehensive Analysis, Size, Share, Growth, Segment, Trends and Forecast, 2015 – 2021. 2016. Data do relatório: 26/10/2016. Disponível em: <https://www.zionmarketresearch.com/market-analysis/xanthan-gum-market>. Acesso em: 26/11/2016.