

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Nº 79

P

P

E

Q



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Produção de goma xantana a partir de soro de leite por
Xanthomonas campestris pv. *campestris* LFR-4**

Sara Horácio de Oliveira

PPEQ – Programa de Pós-Graduação
em Engenharia Química
CEP. 50740-521 – Cidade
Universitária – Recife – PE
Telefaxes: 0-xx-81-21267289

Recife/PE

Novembro / 2005

**PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA A PARTIR DE SORO
DE LEITE POR *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* PV.
*CAMPESTRIS***

SARA HORÁCIO DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Engenharia Química.

Área de concentração: Processos Biotecnológicos

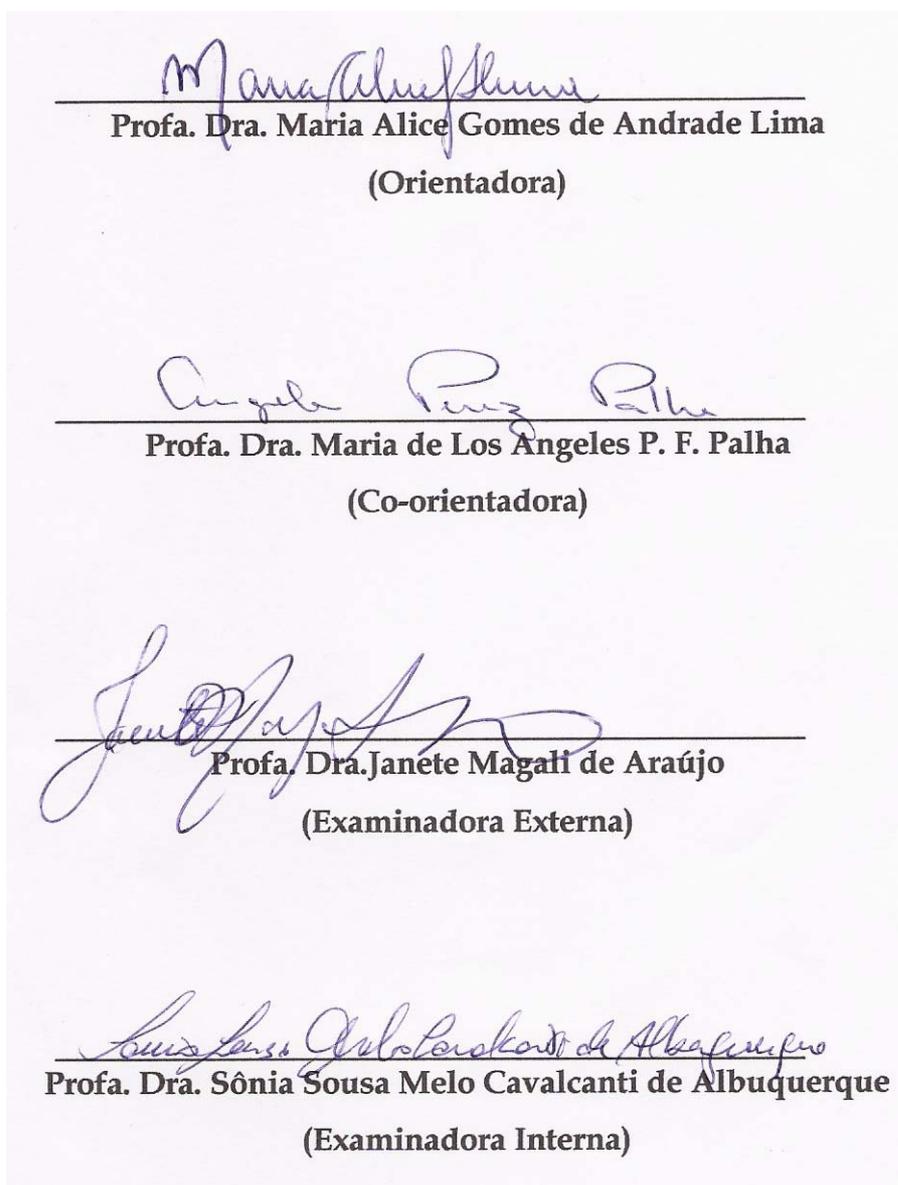
Orientadoras: Profa. Dra. Maria Alice G. de Andrade Lima

Profa. Dra. Maria de Los Angeles P. F. Palha

Recife - PE

Novembro- 2005

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 03 de Novembro de 2005 pela banca examinadora constituída pelos professores:



Dedico esse trabalho a Deus, meu primeiro Pai e Criador, pela sua Fidelidade incondicional na minha vida. Sem sua presença seria impossível buscar o meu lugar ao sol, voar com o vento do novo dia ou ir até o mais alto das montanhas, reencontrar minha esperança.

À meu pai Josias e minha mãe Lizeth, por todo amor e dedicação e por serem exemplos que me estimulam a continuar minha busca.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua Presença na minha vida e por ajudar-me a completar mais esta etapa, das várias que ainda virão na minha vida, colocando no meu caminho pessoas tão especiais, que por isso mesmo são mais do que simples pais, irmãos, orientadores, professores e colaboradores; são verdadeiros amigos. Neste espaço, quero transmitir o meu reconhecimento por toda atenção e ajuda neste período em que estivemos juntos.

As minhas orientadoras Maria Alice Andrade Lima e Maria de Los Angeles Palha pela orientação, dedicação, paciência e estímulo demonstrados em todos os momentos.

Aos professores Sônia Albuquerque, Olga Martins Marques, Irapuan Pinheiro e Yeda Medeiros por seus conselhos, suporte técnico e amizade.

As professoras Sandra Sarmento e Maria Fernanda Pimentel pela valiosa contribuição no estudo da reologia da goma e na elaboração dos planejamentos fatoriais.

As técnicas e amigas do laboratório de Microbiologia, Márcia Marques de Menezes e Maria da Conceição Gomes da Silva pelo suporte técnico e amizade tão importantes neste trabalho.

Ao técnico do Departamento de Engenharia Química, Carlos Ferreira da Silva pelo apoio na parte operacional do meu trabalho.

Ao técnico do Laboratório de Química das Interfaces, Marcelo Francisco Gomes pela ajuda prestada.

À engenheira de minas Jaciara Maria Alves Vieira pela tão valiosa contribuição neste trabalho.

À Chefe Yeda Medeiros, professores e funcionários do Departamento de Engenharia Química pelo apoio e aprendizagem durante este trabalho.

Ao programa de Pós-graduação do Departamento de Engenharia Química (DEQ/UFPE) nas pessoas dos professores coordenadores César Abreu, inicialmente, e Nelson Medeiros pelo apoio recebido.

Aos secretários da Pós-graduação, Flávio e Voleide pelo apoio concedido.

À CAPES, pelo apoio financeiro

As minhas companheiras de laboratório: Andreza, Ana Fabricia, Charlene, Edivania, Eudínice, Fabricia, Lívia, Manuela e Michele, pelo companheirismo.

Aos meus colegas de mestrado, Ângela, Lysandreia, Suenia, Suzana, Fábio, Felipe, Jean, Renato e Sidney pela amizade que fez com que superássemos os momentos difíceis.

As amigas que cruzaram o meu caminho, Glorinha e Paula pelo carinho.

Aos Anjos que Deus colocou em meu caminho para me auxiliar nos momentos em que precisei e me levantar nas horas em que estive triste. Nestes se incluem Ernesto, Lysandreia, Marilda, Suenia e Suzana.

As minhas irmãs e amigas Andréia (cunha) Ericka, Flávia, Golda, Iلسinha, Luisa, Silsa, Vládía e Vanessa que compartilharam comigo os choros e as alegrias deste trabalho.

Ao meu irmão e amigo Samuel Horácio por todo carinho e força.

Às Famílias Bacic, Ferreira Cavalcante, Hwang, Vilela,, Zanardi, Torres Muniz que me adotaram como filha.

À minha Família por todo carinho e compreensão.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	v
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1 – INTRODUÇÃO	1
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
2.1 – Polissacarídeos	7
2.2 – Gomas	12
2.2.1 – Gomas Microbianas	17
2.3 – Goma Xantana	18
2.4 – Microrganismo produtor de goma xantana	24
2.5 – Biossíntese	28
2.6 – Produção de Goma Xantana	31
2.7 – Propriedades Reológicas da Goma Xantana	51
3 – MATERIAIS E MÉTODOS	64
3.1 – Etapas da pesquisa	64
3.2 – Microrganismos	64
3.3 – Meios de cultivo	65
3.3.1 – Meios de cultura para manutenção das linhagens	65
3.3.2 – Meios de cultura para seleção das linhagens	66
3.3.3 – Meios de cultura para avaliação da linhagem selecionada (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>) em diferentes fontes de carbono e condições de cultivo.	66
3.3.3.1 – Meios de cultura para o planejamento fatorial 2 ³	66
3.3.3.2 – Meios de cultura para o planejamento fatorial 2 ²	67
3.3.4 – Meios de cultura para avaliação da Influência de nutrientes na produção de goma xantana	68
3.3.5 – Meios de cultura para produção de goma xantana em reator	69
3.4 – Experimentos	69
3.4.1 – Seleção das linhagens	69
3.4.2 – Avaliação da linhagem selecionada (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> LFR-4) em diferentes fontes de carbono e condições de cultivo	70
3.4.2.1 – Planejamento Fatorial 2 ³	70
3.4.2.2 – Planejamento Fatorial 2 ²	72
3.4.3 – Influência de nutrientes na produção de goma xantana em meio de soro de leite	73
3.4.3.1 – Readaptação da linhagem <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> LFR-4	74
3.4.4 – Produção de Goma Xantana em Reator	75
3.3.4.1. – Produção de goma xantana em meio de soro de leite (28g/L e 50g/L de lactose acrescido de extrato de levedura)	75
3.3.4.2 — Produção de goma xantana em meio de soro de leite (49,0 g/L de lactose sem extrato de levedura)	77
3.3.5 – Recuperação e Purificação da Goma Xantana	77
3.3.6 – Determinações Quantitativas para Acompanhamento do Processo Fermentativo	78
3.3.6.1 – Teor de Lactose	78
3.3.6.2 – Teor de Sacarose	78
3.3.6.3 – Teor de Xantana	79

3.3.6.4 – Determinação da Biomassa	79
3.3.6.5 – Viscosidade aparente do mosto	79
3.3.7 – Cinética do processo fermentativo	80
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
4.1 – Seleção da Linhagem.....	82
4.2 – Avaliação da linhagem selecionada em diferentes fontes de carbono e condições de cultivo	84
4.2.1 – Experimento fatorial 2^3 utilizando soro de leite e sacarose como substratos.....	84
4.2.2 – Experimento fatorial 2^2 utilizando soro de leite e sacarose como substratos.....	90
4.3 – Influência de nutrientes na produção de goma xantana em meio de soro de leite.	92
4.3.1 – Experimento I	93
4.3.2 – Adaptação da linhagem selecionada ao meio de soro de leite.....	95
4.3.3 – Experimento II.....	96
4.4 – Produção de Goma Xantana em Reator.....	97
4.4.1 – Efeitos da composição de meios de soro de leite na produção da goma xantana.....	99
4.5 – Estudo cinético da produção de xantana	105
4.6 – Comportamento reológico do mosto fermentado	107
5 – CONCLUSÕES	117
6 – REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	119
APÊNDICES	128
APÊNDICE A	129
APÊNDICE B.....	130
APÊNDICE C.....	131
APÊNDICE D	146
ANEXOS	149
ANEXO A	150
ANEXO B	152

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura da xantana.....	19
Figura 2 – Micrografia de <i>Xantomonas campestris</i> (x 12.000).....	27
Figura 3 – Placa de cultivo de <i>Xantomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	27
Figura 4 – Catabolismo da glicose via Entner-Doudoroff e via pentose-fosfato em <i>Xanthomonas campestris</i> (1: hexoquinase, 2: glucose-6-P desidrogenase, 3: 6-P-gluconato desidratase, 4: CDPG aldolase, 5: Gliceraldeído-3-P desidrogenase, 6: P-glicerato quinase, 7: P-gliceromutase, 8: enolase, 9: piruvato quinase, 10: 6-P-gluconato desidrogenase, 11: P-pentose isomerase, 12: P-pentose epimerase, 13: transcetolase, 14: transaldolase, 15: transcetolase) (Esgalhado, 1997).....	29
Figura 5 – Caminho proposto para biossíntese da xantana (Glc: glucose, Man: manose, Ac: acetila, CoA: coenzima A, GlcA: ácido glucurônico, PEP: fosfoenolpiruvato, Pir: piruvato) (Ielpi <i>et al.</i> , 1993).....	30
Figura 6 – Fluxograma do processo de produção de xantana.....	40
Figura 7 – Representação gráfica para a definição de viscosidade.....	52
Figura 8 – Curvas de escoamento de alguns tipos de fluidos: (a) newtoniano; (b) binghamiano ou plástico ideal; (c) pseudoplástico; (d) dilatante e (e) pseudoplástico com limite de escoamento.....	55
Figura 9 – Curvas de viscosidade de fluido: (a) newtoniano; (b) binghamiano ou plástico ideal; (c) pseudoplástico e (d) dilatante.....	57
Figura 10 – Curva de escoamento para o modelo Herschell-Buckley.....	62
Figura 11 – Etapas desenvolvidas na pesquisa.....	64
Figura 12 – Fermentador BIOSTAT B utilizado no experimento.....	76
Figura 13 – Diagrama das respostas médias do planejamento 2^2 , para % R utilizando o soro de leite (R_1) como substrato.....	88
Figura 14 – Produção de goma xantana em diferentes meios.....	93
Figura 15 – Aspecto da goma xantana após o processo de recuperação e purificação.....	98
Figura 16 – Produção de goma xantana, biomassa e consumo de substrato ao longo do tempo.....	106
Figura 17 – Evolução dinâmica da concentração de xantana no meio de soro de leite.....	108
Figura 18 – Parâmetros reológicos versus concentração de xantana para as primeiras 48h de processo.....	108
Figura 19 – Parâmetros reológicos versus concentração de Xantana para o intervalo de processo 60 a 144 h.....	109
Figura 20 – Curva de viscosidade para amostras colhidas no intervalo de processo de 0-36 h.....	110
Figura 21 – Curva de viscosidade para amostras no período de tempo de processo 72 -120 h.....	110
Figura 22 – Curvas de escoamento (Tempo de processo: 0-48 h).....	111
Figura 23 – Curvas de escoamento (Período de processo: 72-120 h).....	112
Figura 24 – Variação do limite de escoamento com a concentração de xantana.....	112
Figura 25 – Parâmetro de modelo de Bingham para amostras obtidas no intervalo de 0-48 h de processo.....	114
Figura 26 – Parâmetro de modelo Herschell-Buckley.....	115
Figura 27 – Parâmetro de modelo Ostwald de Waele.....	116
Figura 28 – Curva da concentração de células.....	146

Figura 29 – Curva de concentração de lactose.	147
Figura 30 – Curva da concentração de sacarose.	148

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação das gomas industriais em função da origem.....	13
Tabela 2 – Principais gomas industriais	14
Tabela 3 – Passos chaves para típica produção de xantana.....	39
Tabela 4 – Condições operacionais usadas para produzir xantana.....	44
Tabela 5 – Classificação dos fluidos de acordo com o seu comportamento reológico.	60
Tabela 6 – Meios de cultura para produção de goma xantana.....	68
Tabela 7 – Meios para produção.....	69
Tabela 8 – Variáveis e níveis estudados no planejamento experimental 2^3 utilizando soro de leite e sacarose para produção de goma xantana.	71
Tabela 9 – Matriz de planejamento 2^3	71
Tabela 10 – Variáveis e níveis no planejamento experimental 2^2 utilizando soro de leite (R_1) e sacarose (R_2) como substratos para a produção de goma xantana.	72
Tabela 11 – Matriz de planejamento 2^2	73
Tabela 12 – Indução da linhagem da bactéria <i>X. campestris</i> LFR-4 ao meio de soro de leite.	75
Tabela 13 – Seleção das linhagens em meios de lactose e soro de leite.....	82
Tabela 14 – Matriz e resultados do experimento fatorial 2^3 , utilizando soro de leite (R_1) e sacarose (R_2) como substratos em termos de % de rendimento.	85
Tabela 15 – Experimentos para estimar o erro experimental, utilizando soro de leite (R_1) e sacarose (R_2) como substratos, em termos de % de rendimento.	85
Tabela 16 – Efeitos estimados para o experimento fatorial 2^3 , utilizando soro de leite (R_1) e sacarose (R_2) como substratos.	86
Tabela 17 – Matriz e resultados do experimento fatorial 2^2 , utilizando soro de leite (R_1) e sacarose (R_2) como substratos, em termos de % de rendimento.	87
Tabela 18 – Efeitos estimados para o experimento fatorial 2^2 , utilizando soro de leite (R_1) e sacarose (R_2) como substratos, em termos de % de rendimento.	87
Tabela 19 – Matriz e resultados do experimento fatorial 2^2 , utilizando soro de leite (R_1) e sacarose (R_2) como substratos, em termos de % de rendimento.	90
Tabela 20 – Efeitos estimados para o experimento fatorial 2^2 , utilizando soro de leite (R_1) e sacarose (R_2) como substratos.	91
Tabela 21 – Comparação dos resultados obtidos em diferentes meios de soro de leite.....	94
Tabela 22 – Indução da linhagem da bactéria <i>X. campestris</i> LFR-4 ao meio de soro de leite.	96
Tabela 23 – Comparação dos resultados obtidos em diferentes meios de soro de leite.....	97
Tabela 24 – Parâmetros obtidos para as diferentes composições dos meios utilizados.	100
Tabela 25 – Parâmetros para modelo de Bingham.	114
Tabela 26 – Parâmetros de modelo para Herschell-Buckley.....	115
Tabela 27 – Parametros de modelo Ostwald de Waele	116
Tabela 28 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (50 g de lactose, com extrato de levedura) e 168 horas de processo.	129
Tabela 29 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (28 g de lactose, com extrato de levedura) e 96 horas de processo.	130
Tabela 30 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 0 horas de processo.....	131
Tabela 31 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 12 horas de processo.....	132

Tabela 32 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 24 horas de processo.....	133
Tabela 33 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 36 horas de processo.....	134
Tabela 34 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 48 horas de processo.....	135
Tabela 35 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 60 horas de processo.....	136
Tabela 36 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 72 horas de processo.....	137
Tabela 37 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 84 horas de processo.....	138
Tabela 38 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 96 horas de processo.....	139
Tabela 39 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 108 horas de processo.....	140
Tabela 40 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 120 horas de processo.....	141
Tabela 41 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 144 horas de processo.....	142
Tabela 42 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 156 horas de processo.....	143
Tabela 43 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 168 horas de processo.....	144
Tabela 44 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 216 horas de processo.....	145

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

FDA	Food and Drug Administration
Inoc.	Inóculo
Lac.	Lactose
N	concentração normal
NRRL	Northern Regional Research Laboratories
pv.	Patovar
vvm	volume de oxigênio por volume de meio.
Y_p/s	Coefficiente de conversão substrato-produto
Y_x/s	Coefficiente de conversão substrato-célula
S_0	Concentração de açúcar inicial
S_f	Concentração de açúcar final
$S_0 - S_f$	Consumo de açúcar na fermentação
P_0	Concentração do produto inicial
P_f	Concentração do produto final
X_0	Concentração de células inicial
X_f	Concentração de células final
$\eta_{a \text{ final}}$	Viscosidade aparente final
t_{processo}	Tempo de processo

RESUMO

A goma xantana é sem dúvida um dos mais importantes biopolímeros comerciais obtidos por fermentação através da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. O seu êxito no mercado deve-se, sem dúvida, às suas características reológicas e de estabilidade, sendo empregada nas indústrias de alimentos, petrolífera e petroquímica, agroquímica e farmacêutica. As fontes de carbono preferenciais para a produção da xantana são a glicose, o amido e a sacarose. Entretanto, alguns trabalhos de pesquisa sugerem fontes alternativas para a produção da goma. O soro de leite, resultante da fabricação de queijos, vem sendo estudado para a produção da xantana. O emprego de resíduos industriais em bioprocessos permite a utilização de substratos de baixo custo, agregando valor comercial e minimizando os graves problemas de impacto ambiental. Neste trabalho, foram utilizadas sete linhagens da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* com o objetivo de avaliar a produção da goma xantana tendo como substrato o soro de leite suplementado com sais minerais. Para produção de goma foi selecionada a linhagem da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4. Com a linhagem selecionada, foi avaliado os parâmetros capazes de influenciar o rendimento do processo e os nutrientes essenciais ao meio de soro de leite. Os experimentos foram conduzidos em fermentador BIOSTAT B (B. Braun Biotech Internacional) com 2 L de capacidade útil contendo 1500mL de meio de produção. O biorreator é do tipo tanque agitado, equipado com rotor de disco de seis pás, controles de aeração, temperatura, pH e antiespumante. Com relação ao estudo realizado para avaliar a potencialidade de produção de xantana, foram levados em consideração os parâmetros fator de conversão de substrato em produto $Y_{p/s}=0,62\text{g/g}$ $\mu_{\text{max}}=0,030\text{h}$, viscosidade final do mosto fermentado de 2.981,38 cP. A linhagem LFR-4 exibiu capacidade viscosificante de 214.8 cP/g.L⁻¹. O mosto fermentado apresentou comportamento típico para fluido pseudoplástico. Os resultados obtidos sugerem que a linhagem selecionada apresenta potencial para produção de xantana tendo como substrato o soro de leite.

Palavras-chave: Xantana, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, soro de leite, gomas microbianas.

ABSTRACT

Undoubtedly one of the most important commercial biopolymers obtained through the fermentation of the bacterium *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* is the xanthan gum. Its commercial success is due to its characteristics of rheology and of stability, being used at the industry of: food, petroliferous and petrochemical, agrochemical and druggist. The favorite carbon sources for the production of the xanthan are the glucose, the starch and sucrose. However, some works of research suggest alternative sources to produce the gum. The whey, result of the manufacture of cheeses, is being studied for the production of the xanthan. The use of industrial residues in bioprocesses allows the use of a low cost substratum, adding commercial value and minimizing the serious problems of environmental impact. In this work, seven strain of the bacterium *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* had been used with the objective to evaluate the production of the xanthan gum having as substratum the whey supplemented with mineral salt. To produce the gum was selected the strain of the bacterium *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4. The experiments were lead at a bioreactor BIOSTAT B (B. Braun International Biotech) with use capacity of 2 L including 1500mL of production media. The bioreactor is of the type agitated tank, equipped with record rotor of six shovels, aeration control, temperature, pH and antifoaming. Concerning to the carried through study to evaluate the potential to produce xanthan, were considered the parameters of factor of conversion of substratum in product $Y_p/s=0,62g/g$ $\mu_m=0,030h$, final viscosity of the leavend of 2.981,38 cP. The LFR-4 strain showed viscosity capacity of 214.8 cP/g.L⁻¹. Leavend presented typical behavior for a pseudo plastic fluid. The obtained results suggest that the selected strain presents potential for xanthan production having as substratum the whey.

Keywords: Xanthan, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, whey, microbial gums.

1 – INTRODUÇÃO

Xantana ou goma xantana é o nome comum de um exopolissacarídeo microbiano produzido por processo fermentativo através da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

A descoberta da goma xantana aconteceu em 1950, no Northern Regional Research Laboratories (NRRL), órgão de pesquisa do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, que fez um trabalho intensivo para seleção de uma coleção de culturas de microrganismos que fossem capazes de fazer biossíntese de produtos gomosos solúveis em água de importância comercial. O trabalho foi realizado levando-se em conta que havia nos Estados Unidos um mercado importante para novas gomas solúveis em água, para complementar ou substituir o mercado existente de gomas naturais extraídas de algas (alginatos), árvores (goma arábica), sementes (goma de alfarroba) e de cereais (amido). A maioria destes produtos, derivados de plantas e algas, tinha o fornecimento e a qualidade variável em função da estação, condições climáticas adversas, entre outros. Também foi considerada a grande produção de amido de milho dos Estados Unidos, matéria prima, que poderia facilmente ser usada para conversão à xarope de glicose, usado em processos fermentativos para obtenção de gomas microbianas (WOICIECHOWSKI, 2001).

A goma xantana sintetizada pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* NRRL B-1459, foi extensivamente estudada por causa das suas propriedades funcionais únicas, cujas aplicações se dão no campo, alimentício, farmacêutico, cosmético, têxtil, petrolífero, entre outros (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2004; LETISSE; LINDLEY; ROUX, 2003).

A produção comercial da goma xantana iniciou-se aproximadamente em 1964. Hoje, os maiores produtores da xantana são a Merck e a Pfizer nos Estados Unidos, Rhône Poulenc e Sanofi-Elf na França e Jungbunzlauer na Áustria (GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000). A produção mundial, anual da xantana é em torno de 30.000 toneladas, correspondendo a um mercado de U\$\$ 408 milhões (KALOGIANNIS *et al.*, 2003). Aproximadamente 22% dessa produção é usada na indústria do petróleo. O consumo da goma xantana nos Estados Unidos tem uma taxa de crescimento anual entre 5 e 10% (YOO & HARCUM, 1999). O Brasil é importador dessa goma pagando US\$ 15-18/kg. O mercado atual segundo a ABIA (Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos) é de 2000 toneladas/ano, sendo 50% das importações para a indústria de alimentos e o restante para indústrias farmacêuticas e cosméticas principalmente (NETO, 2003).

A xantana é completamente atóxica, tendo sido aprovada pela FDA (Food and Drug Administration) dos EUA desde 1969 como aditivo em alimentos. No Brasil, a adição de xantana em alimentos foi autorizada em 1965 pelo Decreto Lei nº 55.871, da Legislação Brasileira de Alimentos (SCHIMIDELL *et al.*, 2001).

As aplicações da goma xantana na indústria de alimentos são muito amplas: é empregada para controlar a viscosidade, textura, retenção de aromas, suspensão de sólidos e estabilização de emulsões. Os usos fora da indústria de alimentos incluem agentes de suspensão e espessante em pasta de dentes, desodorantes (gel), impressão em tecidos, suspensão de compostos químicos de uso agrícola e aumento na recuperação de petróleo (SCHIMIDELL *et al.*, 2001).

Devido à importância dessa goma, muitos estudos têm sido conduzidos com o objetivo de melhorar as linhagens, os meios de cultivo e os processos de extração e purificação. A literatura referente à produção de xantana cita o uso de glicose, amido

ou sacarose como fontes de carbono preferenciais. Os meios de cultura estudados visam o aproveitamento de resíduos industriais ou a valorização da matéria prima regional.

Existe atualmente um grande envolvimento de autoridades e governos, em âmbito mundial, no sentido de minimizar as perdas e os desperdícios no setor produtivo industrial, como meio de diminuir custos de produção, otimizar o uso de recursos naturais, e principalmente, controlar a poluição ambiental. O aproveitamento de resíduos agrícolas, industriais, agroindustriais e domésticos tem sido uma ação importante para atingir esta meta (WOICIECHOWSKI, 2001).

A utilização de resíduos industriais em bioprocessos permite obter substratos alternativos de baixo custo para processos fermentativos, além de auxiliar na resolução de problemas ambientais graves. No mundo, em vários laboratórios e institutos de pesquisa, têm sido desenvolvidos processos utilizando resíduos industriais para obtenção de produtos de alto valor comercial, como etanol, cogumelos comestíveis, enzimas, ácidos orgânicos, aminoácidos, metabólitos secundários e outros (WOICIECHOWSKI, 2001). Nos laboratórios do país, inúmeros estudos estão sendo realizados com o objetivo de viabilizar substratos alternativos para processos biotecnológicos, na obtenção de produtos de alto valor comercial. Entre eles podemos citar a produção de etanol a partir de batata refugo (MACARI, 1996 apud WOICIECHOWSKI, 2001, p.1), cogumelos comestíveis a partir de casca de café (BEUX, 1995 apud WOICIECHOWSKI, 2001, p.1), ácidos orgânicos tais como o ácido cítrico (KOLICHESKI, 1995 apud WOICIECHOWSKI, 2001, p.1), ácido fumárico (SOCCOL, 1994; CARTA, 1998 apud WOICIECHOWSKI, 2001, p.1) produzidos a partir de bagaço de mandioca.

A produção comercial da goma xantana é feita tradicionalmente através da fermentação de xarope de glicose com bactérias da espécie *Xanthomonas campestris. pv. campestris*. Com relação à utilização de meios não-convencionais para a produção de xantana, pode-se ressaltar alguns estudos interessantes desenvolvidos por Liakopoulou-Kyriakides (1999); Kalologiannis *et al.* (2003) e Woiciechowski *et al.* (2003). Ainda em relação ao uso de fontes não-convencionais para a produção do biopolímero, alguns trabalhos foram realizados tendo como matéria-prima soro proveniente de indústrias lácteas. Entre os trabalhos desenvolvidos os pesquisadores Schwartz & Bodie (1985); Nitschke *et al.* (1997; 2001) e Yang *et al.* (2002) conseguiram produzir goma xantana em meio de soro de leite.

O soro é um potente agente de poluição que pode provocar a destruição da flora e da fauna devido à sua alta demanda biológica de oxigênio (DBO) que é de cerca de 30.000 a 50.000 mg de oxigênio por litro de soro. Este valor é aproximadamente 100 vezes maior do que um esgoto doméstico. Uma fábrica com produção média de 10.000 L de soro por dia polui o equivalente a uma população de 5.000 habitantes (RICHARDS, 2004).

Em média, a fabricação de um quilo de queijo necessita de 10L de leite e, dependendo da água utilizada na fábrica, recuperam-se de 9 a 12L de soro. Considerando que a produção de queijos no Brasil, encontra-se em torno de 450 mil toneladas/ano, isto corresponde a 4.050.000 toneladas de soro de queijo; o qual possui em sua composição 6,9 % de sólidos totais (0,6 % de sais minerais, 0,3 % de gordura, 0,9 % de proteínas, 5 % de lactose, 0,1 % de ácido láctico resultante da fermentação da lactose). Esse volume equivale a, aproximadamente, 24.300t de sais minerais, 36.450t de proteínas, 12.150t de gordura e 202.500t de lactose, isto

mostra que o problema relacionado à poluição é bem mais sério do que se imagina. Descartar o soro sem um tratamento eficiente, não é só um crime previsto por lei, mas é também rejeitar uma matéria-prima que possui excelente potencial de reaproveitamento (RICHARDS, 2004). O aproveitamento dos resíduos também reduz os custos operacionais do processo fermentativo de produção da xantana.

Os primeiros trabalhos relacionados ao uso da lactose como fonte de carbono para produção da goma xantana, mostrou que este açúcar não era utilizado por *Xanthomonas* (CHARLES & RADJAI, 1977). Uma possível explicação para a não utilização da lactose se deve ao fato de que a β -galactosidase destas bactérias apresentava baixa afinidade pela lactose (FRANK & SOMKUTI, 1979).

O primeiro trabalho desenvolvido com soro de leite integral como fonte de carbono para produção de xantana, em que a lactose foi consumida e o meio tornou-se viscoso foi feito por Schwartz & Bodie em 1985, este consistiu em adaptar a bactéria ao meio de soro. Foram desenvolvidas também, por técnicas de clonagem, linhagens de *Xanthomonas campestris* com capacidade de metabolizar a lactose (EKATERINIADOU *et al.*, 1994; PAPOUTSOPOULOU *et al.*, 1994).

Nitschke *et al.* (1997) selecionaram linhagens de *Xanthomonas campestris* pela capacidade de utilizar a lactose e produzir a xantana em meio contendo soro integral e sais minerais. Os pesquisadores concluíram que a matéria-prima pode ser usada como substrato alternativo para a fermentação e que investigações adicionais deveriam ser conduzidas para avaliar as características químicas da goma e a viabilidade industrial do processo. Continuando nesta linha de pesquisa, Nitschke *et al.* (2001) utilizaram um isolado de *Xanthomonas campestris*, selecionado de trabalho anterior, para avaliar a produção de xantana em diferentes

meios de cultura à base de soro de leite. Dentre as formulações testadas, o meio de soro integral produziu maior viscosidade e concentração final de xantana.

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar a produção da goma xantana utilizando uma linhagem selecionada de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* que é capaz de utilizar o soro de leite, agregando valor comercial a esse resíduo industrial, altamente poluente, se descartado sem tratamento prévio.

Os objetivos específicos no desenvolvimento do trabalho foram:

- Selecionar uma linhagem de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*;
- Avaliar a linhagem selecionada em diferentes fontes de carbono e condições de cultivo;
- Estudar a Influência de nutrientes na produção de goma xantana em meio de soro de leite;
- Produzir xantana com a linhagem *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4 selecionada entre as estudadas;
- Estudar a cinética do processo;
- Caracterizar a reologia do mosto fermentado.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – Polissacarídeos

Polissacarídeos são carboidratos formados pela união de mais de 10 monossacarídeos (açúcares simples). Até esse valor a molécula é considerada como oligossacarídeo. Quando compostos por um único resíduo de açúcar são chamados de homopolissacarídeos, enquanto que aqueles compostos por 2 ou mais diferentes tipos de resíduos de açúcar são chamados de heteropolissacarídeos (GARRET & GRISHAM, 1995).

Uma característica importante dos polissacarídeos é a sua carga iônica. São classificados como aniônicos, neutros ou catiônicos. Exemplos de polissacarídeos microbianos aniônicos incluem a xantana, a fosfomanana e o alginato, enquanto levana, escleroglucana, pululana, dextrana e curdulana são caracterizados como polissacarídeos neutros. Segundo Margaritis & Pace (1985), estas propriedades decorrem da presença de grupamentos como carboxilas, fosfatos e sulfetos.

Polissacarídeos, geralmente, não têm peso molecular definido e consistem de uma mistura de moléculas de alto peso molecular (TORTORA *et al.*; 2000).

Assim como os monossacarídeos, estas moléculas apresentam grande afinidade pela água (GLAZER & NIKAIDO, 1995). A dissolução ocorre por um processo contínuo de hidratação, com substituição das ligações polímero-polímero, por ligações polímero-solvente. As interações, nestes casos, são relativamente fracas, do tipo pontes de hidrogênio. Em geral a facilidade com que um polissacarídeo se dissolve, depende não somente de sua estrutura primária

(composição química), mas também da conformação da cadeia polimérica no solvente considerado (LOPES, 1996).

Segundo Garret & Grisham (1995) a unidade predominante na maioria dos polissacarídeos é a D-glicose. Também são encontrados polissacarídeos de D-manose, D-frutose, D e L-galactose, D-xilose e L-arabinose. Outros açúcares, como L-ramnose e L-fucose podem também estar presentes.

Polissacarídeos são utilizados para modificar as características de escoamento de fluidos, para estabilizar suspensões, floculação de partículas, encapsulação de materiais e produção de emulsões. Existem outros exemplos de funções como o aumento na recuperação de óleo (GLAZER & NIKAIDO, 1995).

Segundo Chandrasekaran & Radha (1997), ao contrário das proteínas e ácidos nucléicos, os polissacarídeos são extremamente valorizados entre os biopolímeros pelo potencial de formar uma diversidade de ligações entre sucessivos monossacarídeos repetidos na cadeia principal e, também, por possuírem capacidade de acomodar cadeias laterais de mono e oligossacarídeos em suas ramificações, o que resulta em estruturas tridimensionais complexas.

De acordo com Fentanes (1985), os microrganismos produzem, pelo menos, três tipos diferentes de polissacarídeos: estruturais, como alguns constituintes da parede celular; intracelulares de reserva, como o glicogênio e extracelulares. Os extracelulares podem ser encontrados sob duas formas diferentes: os que formam uma capa ao redor dos microrganismos, denominados de capsulares e aqueles que se solubilizam em um meio de cultivo aumentando substancialmente a viscosidade do caldo de fermentação, denominados de mucos. Estes são os mais interessantes do ponto de vista industrial.

Freqüentemente admite-se, apesar da inexistência de provas, que as células formadoras de muco sejam produto da mutação de células originalmente capsuladas que tenham perdido um sítio de ligação, um receptor específico ou mesmo uma enzima de ligação (BEHRENS; KLIMA; FIEDLER, 1980; ALVES, 1991).

Os microrganismos capazes de produzir polissacarídeos do tipo muco são alvo de maior interesse, uma vez que estes polissacarídeos, sendo mais facilmente recuperados do meio de fermentação, apresentam conseqüentemente maior potencial de comercialização (MARGARITIS & PACE, 1985).

Os exopolissacarídeos bacterianos têm sido ao longo de muitos anos objeto de inúmeros estudos, mas apesar do grande esforço despendido, muito pouco é conhecido sobre o papel "in vivo" destes polímeros. Funções quase triviais vêm sendo propostas, para as quais é surpreendente que as células bacterianas gastem tanta energia e manifestem mecanismos genéticos e de regulação tão complexos em sua síntese (MORRIS *et al.*, 1979; ALVES, 1991).

Considera-se que o papel dos exopolissacarídeos produzidos por bactérias fitopatogênicas é o de proteção das espécies contra a dessecação e outras condições adversas (HOLZWARTH, 1976). Esta visão pode ser reforçada pelo fato de que muitas dessas bactérias, apesar de não formarem esporos, serem extraordinariamente resistentes, sendo capazes de sobreviver longos períodos sob condições secas e também pelo sucesso da preservação de outras espécies de bactérias no estado seco, com o uso destes polissacarídeos (ALVES, 1991).

O exopolissacarídeo parece ser essencial à patogenicidade do microrganismo (RAMIREZ *et al.*, 1988) e o dano provocado na espécie atingida parece ser mais o

resultado do bloqueio do suprimento de nutrientes, devido à viscosidade criada pelo polímero, do que de uma toxicidade química específica (ALVES, 1991).

Os polissacarídeos extracelulares podem apresentar, varias funções, tais como (GLAZER & NIKAIDO, 1995):

- proteção do microrganismo contra a desidratação;
- formação de barreira prevenindo a ação de vírus, fagócitos, amebas e anticorpos no ataque a sítios específicos na parede celular;
- complexando e neutralizando toxinas agressoras ou íons metálicos tóxicos;
- reserva de carbono e energia;
- interagindo com células de animais ou plantas numa relação patogênica ou simbiótica específica.

A função biológica do polissacarídeo pode ser mais sutil e refinada do que se tem presumido. Foi observado que em solução e em conformação ordenada, o exopolissacarídeo produzido pela bactéria *Xanthomonas campestris*, interage cooperativamente com outras cadeias de polissacarídeos, existindo uma ligação específica, ou “reconhecimento”, com componentes típicos da parede celular vegetal, como a galactomanana, o que poderia sugerir uma parte da relação hospedeiro-patógeno. Esta interação, inclusive, não é restrita à galactomanana, mas ocorre, em diferentes graus, com outros polissacarídeos que possuem a ligação β -1,4 na cadeia principal, característica da parede celular dos vegetais, como a glucomanana e a própria celulose, que mostra até uma interação apreciavelmente mais forte do que as galactomananas (MORRIS, 1979; ALVES, 1991).

Os exopolissacarídeos são produzidos largamente por bactérias e microalgas e, menos freqüentemente, por leveduras e fungos filamentosos (ROLLER & DEA, 1992). Os polímeros de origem bacteriana apresentam maior viabilidade industrial e comercial. Entretanto, apenas uma pequena parcela tem sido comercializada, apesar da potencialidade para substituir as gomas obtidas de plantas e algas marinhas (ROSEIRO *et al.*, 1992; ROLLER & DEA, 1992; LOPES & ANDRADE, 1995).

Segundo Schimidell *et al.* (2001) os polissacarídeos obtidos de microrganismos são uma alternativa válida, pois possuem propriedades similares aos tradicionais e, em alguns casos, mais vantagens, por possuírem propriedades específicas, que os qualificam para o desenvolvimento de novos produtos.

Em decorrência da grande diversidade bacteriana, do rápido crescimento e da versatilidade nutricional, estes microrganismos se destacam como fonte promissora na produção de biopolímeros. De acordo com Sutherland (1990), os polímeros microbianos apresentam alto grau de regularidade, uma vez que estão isentos de flutuações de ordem climática ou sazonais, fato raro de ocorrer nos polissacarídeos obtidos a partir de outras fontes.

Os polissacarídeos microbianos apresentam grande interesse comercial como membro da classe dos biopolímeros ou gomas industriais que são amplamente usados como espessantes, estabilizantes, gelificantes, emulsificantes, agentes de suspensão e de floculação nas indústrias alimentícias, petrolíferas, farmacêuticas, cosméticas, tintas, têxteis e de produtos agrícolas (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000). Estes biopolímeros são, na sua maioria, compostos atóxicos, biodegradáveis, produzidos extracelularmente por microrganismos não patogênicos a partir de

fermentações em batelada com eficiência próxima a 50 % na conversão do substrato (KAY *et al.*, 1993).

2.2 – Gomas

As gomas são polissacarídeos de alto peso molecular de caráter hidrofóbico ou hidrofílico com propriedades coloidais, em solventes apropriados podem formar gel ou suspensões altamente viscosas. O termo aplica-se a uma variedade de substâncias, que incluem gomas vegetais, borrachas, proteínas, polímeros naturais ou quimicamente modificados e polímeros sintéticos, incluindo hidrocarbonetos de alto peso molecular. Entretanto é usado tecnicamente pelas indústrias referindo-se aos polissacarídeos de origem vegetal ou microbiano e seus derivados de alto peso molecular, que, quando solubilizados em água fria ou quente, produzem suspensões ou soluções viscosas, podendo formar géis em baixas concentrações (WHISTLER, 1993).

Mucilagem são polissacarídeos de origem vegetal que se dissolvem completamente em água e que não gelificam, embora apresentem viscosidade elevada em solução (WHISTLER, 1993). O termo resina é designado para os exsudatos vegetais de peso molecular médio ou alto, poucos solúveis em água, e nem sempre de natureza glicídica, sendo, em geral, misturas complexas de várias substâncias (LOPES, 1989).

As gomas industriais classificam-se em três grandes grupos: naturais, modificadas ou semi-sintéticas e sintéticas (FENTANES, 1985). A Tabela 1 mostra os tipos e origens destes polissacarídeos.

Tabela 1 – Classificação das gomas industriais em função da origem.

TIPO	ORIGEM	GOMAS
NATURAIS	Exsudatos de plantas terrestres	→ arábica, alcatira, caraia, etc
	Extratos de plantas terrestres	→ pectina
	Sementes	→ guar, alfarroba, tamarindo
	Algas marinhas	→ ágar, alginatos, carragenana
	Amido de tubérculos	→ tapioca
	Gomas microbianas ou Biossintéticas	→ dextrana, xantana, gelana, pululana, escleroglucana dentre outras
MODIFICADAS OU SEMI-SINTÉTICAS	Celulose	→ Carboximetilcelulose, metilcelulose, hidroxietilcelulose
	Amido	→ Dextrina, xantato de amilose, hidroxietilamido
	Extrato de origem animal	→ Derivados hidrossolúveis da quitina
SINTÉTICAS	Derivadas da petroquímica.	→ Álcool polivinílico, sais do ácido poliacrílico polivinilpirrolidona, poli-carboxivinil, polímeros de óxido de etileno.

Fonte: Lima (1999, p. 10).

A Tabela 2 mostra as principais gomas industriais, origem, estrutura, efeito, reologia e principais aplicações.

Tabela 2 – Principais gomas industriais

Tipos	Origem	Estrutura	Efeito	Comportamento Reológico	Aplicação
Goma acácia ou arábica	Seiva exsudada seca de galhos e troncos da árvore Acácia, da África subsaariana	Cadeias de galactose, L-ramnose, arabinopiranoose, ácidos glucurônicos e proteína	Estabilizante, Emulsificante, Espessante e Fibra natural solúvel	Conc. < 30% comportamento Newtoniano, Conc. > 30% comportamento pseudoplástico	Confeitos industrializados, encapsulação de aromas e bebidas
Goma guar	Endosperma de sementes da leguminosa Cyamopsis tetragonolobus	Galactose Resíduos de manose	Espessante	Comportamento pseudoplástico	Sorvetes, congelados, molhos, rações e explosivos
Locust Bean Gum (LBG)	Endosperma de sementes da sempre-viva Ceratonia silíqua	Galactose Resíduos de manose	Espessante, Gelificante (em blendas)	Comportamento pseudoplástico Gelante	Congelados, sorvetes, rações, desodorizador de ar
Pectinas	Polpa de maçã ou cascas de cítricos	Ácido galactopiranosilurônico parcialmente esterificado com metanol	Gelificante, espessante	Gel resiliente suave	Geléias, doces, produtos lácteos ácidos, proteção de proteínas em lácteos ácidos
Alginatos	Algas pardas (feofíceas laminaria)	Ácido manurônico, Ácido gulurônico	Espessante Gelificante	Comportamento pseudoplástico Gel resiliente	Sorvetes e congelados, produtos para massas, pasta de dente, cosméticos

Tabela 2 – Principais gomas industriais (continuação).

Tipos	Origem	Estrutura	Efeito	Comportamento Reológico	Aplicação
Carragenanas	Algas vermelhas (rodofíceas kappaphycus e Eucheuma)	Resíduos de galactose sulfatada e 3,6-anidrogactose	Gelificante, Espessante	Pequenos e elásticos géis com histerese (fração kappa) Gel resiliente sem histerese (fração iota) Gel suave na presença de proteínas lácteas (fração lambda)	Sobremesas lácteas achocolatados, molhos sorvetes e congelados, pasta de dente, cosméticos e rações
Goma xantana	Biopolímero produzido pela fermentação industrial de um carboidrato pela bactéria <i>Xanthomonas campestris</i>	Glicose, manose, resíduos de ácido glucurônico, acetila e piruvato	Espessante, Emulsificante, Agente de suspensão e Estabilizante	Comportamento pseudoplástico Gel resiliente e aderente	Molhos, pasta de dente, pães, cosméticos, produtos agrícolas, tintas, perfuração de petróleo
Goma gelana	Biofermentação a partir do microrganismo <i>Sphingomonas elodea</i>	Glicose, ácido glucurônico e rhamnose	Gelificante Espessante	Gel fluido sem histerese	Doces, geléias gelatinas, bebidas lácteas
Ágar-ágar	Algas vermelhas (rodofíceas Gelidium e gracilaria)	Mistura de agarose e agarpectina	Gelificante Espessante	Gelante	Doces de massas, geléias, agente solidificante

Tabela 2 – Principais gomas industriais (continuação).

Tipos	Origem	Estrutura	Efeito	Comportamento Reológico	Aplicação
Goma Tara	Endosperma da semente do fruto da árvore peruana <i>Caesalpinea spinosa</i>	Galactose; Manose	Espessante Estabilizante	Comportamento pseudoplástico Gelante	Confeitos, coberturas, molhos, bebidas e panificação
Celulose microcristalina (MCC)	Fibras de celulose	Cadeia de beta 1,4 glicosídico e unidades de anidrogucose	Estabilizante Gelificante Espessante		Achocolatados, molhos, confeitos
Carboximetilcelulose (CMC)	Reação de celulose alcalina com cloroacetato de sódio	Éter de celulose solúvel em água	Espessante Estabilizante	Gel sem histerese	Sorvetes, bebidas lácteas
Gelatina	Peles e ossos bovinos e ovinos	Proteína rica em glicina	Gelificante	Gel elástico sem histerese	Doces, sobremesas lácteas, defumados, molhos embutidos, fármacos

Fonte: Furtado (2004).

2.2.1 – Gomas Microbianas

As gomas microbianas são polissacarídeos extracelulares produzidos por microrganismos. Foram introduzidas mais recentemente no mercado por possuírem propriedades *sui generis* que em alguns casos, superam em características funcionais às gomas de origem vegetais, de algas e sintéticas (LIMA, 1999).

Apesar da grande quantidade de gomas microbianas citadas na literatura, só a xantana, a dextrana, a escleroglucana, a gelana e a welana são comercializadas. Isto porque um novo polissacarídeo deve ter notáveis vantagens técnicas para que possa substituir, a custos similares, algumas das gomas existentes, já que o processo de comercialização de um novo biopolímero é extremamente custoso e lento. Este fato repercute no preço final do mesmo e limita o desenvolvimento e introdução de novos produtos em grandes companhias com alta capacidade financeira e técnica. (WHISTLER, 1993; FENTANES, 1985).

A dextrana é um polissacarídeo extracelular ramificado de glicose, sintetizado por uma enzima extracelular da bactéria *Leuconostoc mesenteroides* em processo descontínuo tendo a sacarose como substrato. Após a precipitação com etanol ou metanol, a dextrana é hidrolisada e isolada por fracionamento. A dextrana é utilizada como componente inerte ultra-puro em produtos farmacêuticos e em derivados do plasma sanguíneo, além de ser empregada pelas indústrias alimentícia, cosmética e fotográfica. Historicamente foi o primeiro polissacarídeo microbiano produzido industrialmente (WHISTLER, 1993).

Segundo Schimidell *et al.* (2001), as gomas microbianas têm como principal desvantagem o elevado custo de produção e como vantagens:

- maior controle de pureza e peso molecular;

- independem de fatores que prejudiquem a oferta das gomas, tais como condições climáticas, contaminação marítima, falha nas colheitas, entre outros;
- uso de matérias primas regionais;
- capacidade de controle das características dos microrganismos produtores, com o fim de melhorar a produção ou produzir polissacarídeos com propriedades especiais.

2.3 – Goma Xantana

A Xantana é um heteropolissacarídeo polianiônico, solúvel em água quente ou fria e de elevado peso molecular, produzido por bactérias do gênero *Xanthomonas*, sob condições aeróbias a 28 °C, aproximadamente. O meio de cultura consiste principalmente de glicose ou sacarose como fonte de carbono, fontes de nitrogênio, fósforo e traços de outros minerais. O pH deve ser mantido próximo ao da neutralidade. O polímero é sintetizado, principalmente ao cessar o crescimento microbiano. O tempo médio de fermentação é de 48 a 96 h, sendo então o caldo esterilizado para eliminar o microrganismo, que é um fitopatógeno. Uma vez as células eliminadas, a xantana é precipitada com álcool ou sais quaternários de amônio ou separada por ultrafiltração (SCHIMIDELL *et al.*, 2001).

Na Figura 1 observa-se a unidade estrutural da goma xantana que é constituída por uma unidade pentassacarídica composta por glicose, manose e ácido glucurônico na proporção 2:2:1, além dos grupamentos substituintes, acetila e piruvato. A cadeia principal desta goma é formada por unidades de β -D-glicose, ligadas através das posições 1 e 4. A estrutura química do esqueleto polimérico é, portanto, idêntica à da celulose (MARZOCCA *et al.*, 1991; MORRIS *et al.*, 1993).

Com relação às cadeias laterais, estas são constituídas por duas unidades de D-manose e uma de ácido-D-glucurônico, e estão ligadas de modo alternado às unidades de D-glicose (manose-ácido glucurônico-manose). A unidade terminal da ramificação, β -D-manose, está ligada ao átomo de carbono C-4 do ácido β -D-glucurônico, e este, por sua vez, liga-se à posição O-2 da α -D-manose. A cadeia lateral une-se ao esqueleto polimérico pelo átomo de carbono C-3 da β -D-glicose (JANSSON *et al.*, 1975; HOLZWARTH, 1976). O grupamento acetila está ligado ao átomo de oxigênio do C-6 da α -D-manose interna, enquanto o piruvato está preso ao oxigênio ligado aos carbonos 4 e 6 da β -D-manose. Aproximadamente metade dos resíduos da manose terminal contém ácido pirúvico ligado pelo carbono cetônico ao oxigênio das posições 4 e 6 (HOLZWARTH, 1976; IELPI *et al.*, 1993).

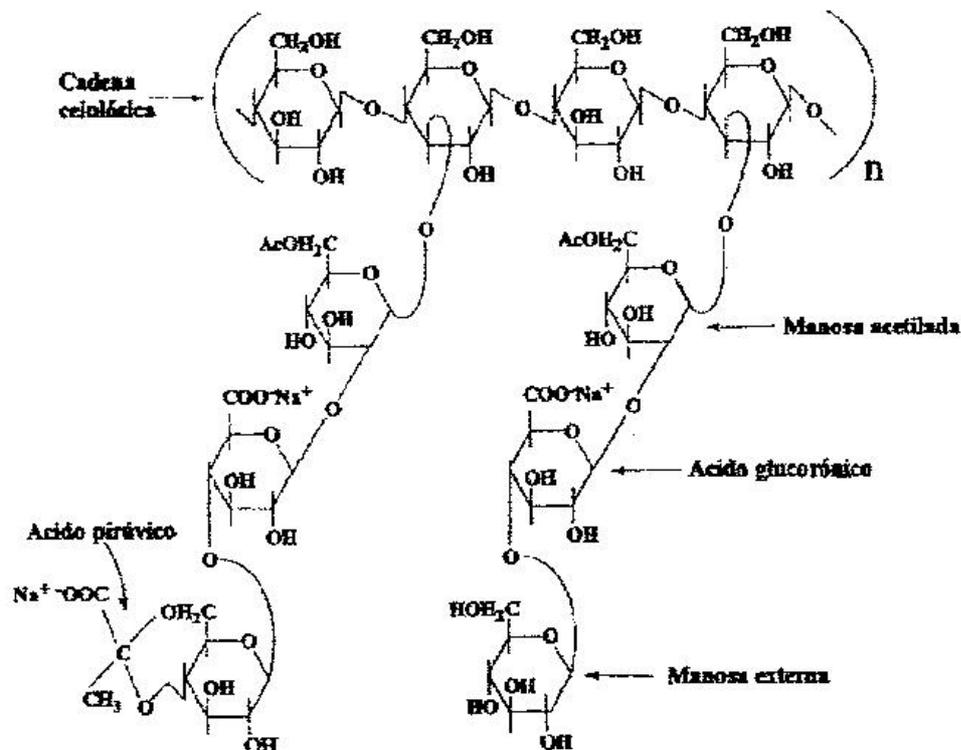


Figura 1 – Estrutura da xantana.

Fonte: Azuaje & Sánchez (1999, p. 202).

Embora a estrutura básica da goma xantana esteja definida, muitos estudos mostram que variações nas condições de cultivo e na variedade da bactéria *Xanthomonas campestris* utilizada, além dos processos pós-fermentativos empregados para a recuperação do biopolímero podem variar a composição da molécula do polímero produzido, particularmente com relação aos teores de piruvato e acetila (PETERS *et al.*, 1993; LIMA, 1999). A fórmula $[C_{35}H_{49}O_{29}]_n$ geralmente é aceita como a da molécula de xantana (JARMAN & PACE, 1984; SUTHERLAND, 1990).

Da mesma forma que a estrutura proposta, uma faixa de peso molecular tem sido reportada para as moléculas de goma xantana. Em função da técnica usada, pesos moleculares de 2×10^6 a 20×10^6 Da foram obtidos (GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000).

A sua estrutura ramificada (Figura 1) e seu alto peso molecular conferem a xantana uma alta viscosidade, mesmo em baixas concentrações. Em relação às propriedades reológicas, as soluções de xantana mostram um comportamento pseudoplástico, ou seja, a viscosidade diminui com o aumento da deformação do fluido. A viscosidade das soluções praticamente não se altera com a temperatura entre 4 e 93 °C, com o pH entre 1 e 13 e com forças iônicas equivalentes a concentrações de cloreto de sódio entre 0,05 e 1 %. Existe plena compatibilidade com uma grande variedade de insumos utilizados industrialmente, como metais, ácidos, sais agentes redutores, outros texturizantes, solventes, enzimas, surfactantes e conservantes. Uma propriedade importante da goma xantana é que em conjunto com galactomananas (goma guar e goma de algaroba) apresenta um aumento sinérgico de viscosidade (a viscosidade final é maior que a soma das viscosidades individuais) e formam géis termorreversíveis (SCHIMIDELL *et al.*, 2001).

Como resultado dessas propriedades, a goma xantana é um ótimo agente de suspensão, estabilizante, espessante e emulsificante, sendo largamente utilizada como tal em diversos tipos de indústrias (WOICIECHOWSKI, 2001; www.patagon.8m.com/Xanthana.html, 2005).

Na indústria têxtil é usada como agente de suspensão e espessante de tintas empregadas nos processos de estampagem, o que permite maior controle da migração de cor no tecido e uma maior nitidez no motivo (ALVES, 1991; WHISTLER, 1993).

Na fabricação de cerâmicas é empregada como agente ligante e útil também na etapa de desmontagem das peças. Quando adicionada à tintas e adesivos tem capacidade de proporcionar-lhes o aumento do poder de aderência (SOUZA, 1994).

Nos produtos de uso agrícola, a xantana é utilizada como agente de suspensão em fertilizantes, inseticidas, herbicidas, fungicidas e como agente controlador de dispersão de produtos que são aplicados por meio de pulverização (ALVES, 1991; www.patagon.8m.com/Xanthana.html, 2005).

A indústria de alimentos é uma grande consumidora de xantana desde a sua liberação para uso como aditivo alimentar pela “Food and Drug Administration” (FDA). Neste contexto, é de grande importância o seu alto poder estabilizante, assim como a sua estabilidade a variações de pH e temperatura (ALVES, 1991).

A goma xantana é, isoladamente ou em conjuntos com outras gomas, utilizada em produtos alimentícios como espessante e estabilizante de suspensões e emulsões, sendo capaz de manter a perfeita homogeneidade destas. É usada, por exemplo, em sorvetes, maioneses, temperos e molhos, queijos e produtos derivados, xaropes, bebidas de frutas ou à base de leite, coberturas, recheios, sopas

e caldos desidratados. Associada à goma de alfarroba fornece uma mistura gelificante ideal para produtos como geléias, pudins, bolos, pães e para o preparo industrial de polpa de frutas. Uma aplicação interessante é na formação de filmes protetores durante o processo de industrialização de alimentos congelados, reduzindo o risco de contaminação durante o processo de descongelamento (ALVES, 1991; FURTADO, 2004).

A goma xantana apresenta uma tendência marcante de interagir com polissacarídeos que apresentem ligações do tipo β -D (1-4), especialmente LBG (goma de alfarroba), goma guar e manana. Isto é de grande interesse, porque embora em condições normais, por exemplo, nem a xantana nem LBG gelifiquem sozinhas. Géis podem ser obtidos tendo-se uma concentração total, destes dois polissacarídeos, de 1 % ou menos (ALVES, 1991).

Por não apresentar efeitos tóxicos ou induzir à reações alérgicas, é utilizada também como emulsificante e estabilizante em produtos cosmético-farmacêuticos, tais como: cremes hidratantes, loções tônicas, tinturas para cabelo e dentifrícios (ALVES, 1991; www.patagon.8m.com/Xanthana.html, 2005).

No processo de perfuração de poços de petróleo são usadas suspensões aquosas contendo argila e outros materiais coloidais, chamadas lamas de perfuração, que são empregadas na lubrificação de brocas e também para contrabalançar a pressão do óleo ascendente. A lama deve possuir características lubrificantes e pseudoplásticas e relativa estabilidade a mudanças de temperatura. Muitas formulações de lama incluem a goma xantana como agente espessante nas suspensões aquosas (ALVES, 1991).

Outra aplicação da goma xantana na produção de petróleo é sua utilização nas recuperações terciárias do óleo bruto. Durante a recuperação primária, a pressão natural do reservatório é reduzida, sendo necessária à injeção de água ou gás para manutenção da pressão. Neste ponto da produção, mais da metade do óleo se mantém nos poros da rocha matriz. A recuperação deste óleo residual é então, o objetivo dos métodos terciários. Soluções de goma xantana têm sido usadas com sucesso nestas operações, devido à sua extrema plasticidade, resistência à degradação a elevadas temperaturas e concentrações de sais. A goma xantana atua como emulsificante, aumentando a eficiência de contato entre a solução aquosa e o óleo retido na rocha (ALVES, 1991; WHISTLER, 1993). Essas características favorecem sua potencial aplicação em um grande número de processos industriais, nos quais estão envolvidos o escoamento e o bombeamento de fluidos (SOUZA, 1994).

Muitas das propriedades descritas para a goma xantana podem ser atribuídas ao seu alto peso molecular, à capacidade de formação de agregados moleculares, assim como às diferentes conformações que podem assumir em solução (ALVES, 1991).

A goma xantana sofre uma transição conformacional ordenada para desordenada, dependendo da temperatura, força iônica, pH, bem como do conteúdo em piruvato e acetila (LIMA, 1999).

Na conformação ordenada, as cadeias laterais envolvem o esqueleto polimérico produzindo uma estrutura rígida semelhante a um bastão. Comprovou-se que este arranjo estrutural da goma xantana é responsável pela alta estabilidade em solução e pela resistência à degradação em presença de sais e temperaturas moderadas. A conformação desordenada é provocada pelo aquecimento de

soluções de xantana, normalmente acima de 60 °C, ou por sua dissolução em água destilada, propiciando a quebra de interações entre as cadeias laterais e o esqueleto polimérico. Nesta conformação, caracterizada por uma maior flexibilidade das moléculas, há um conseqüente aumento hidrodinâmico, fazendo com que o polímero apresente uma viscosidade maior (ALVES, 1991).

Verificou-se ainda que a goma xantana pode apresentar-se em conformação ordenada sob duas formas: a nativa, caracterizada por forte interação entre as cadeias laterais e o esqueleto polimérico, e a forma desnaturada, originada do aquecimento do polímero em forma nativa, acima da temperatura de transição conformacional, T_m (temperatura na qual as frações moleculares das formas ordenadas e desordenada são iguais na solução), e subseqüente resfriamento. Na forma desnaturada, a goma xantana apresenta um padrão alternativo, no qual as ramificações envolvem a cadeia principal com maior volume livre, o que favorece uma estrutura macromolecular mais estendida e como resultado, uma viscosidade mais elevada do que na forma nativa é observada. Foi constatado, ainda, que as formas nativa e desnaturada possuem o mesmo peso molecular e que, após a T_m , assumem uma conformação desordenada idêntica. Devido a isto, as diferentes propriedades hidrodinâmicas e reológicas observadas para cada uma das formas ordenadas são atribuídas unicamente a diferentes arranjos intramoleculares (ALVES, 1991; LIMA, 1999).

2.4 – Microrganismo produtor de goma xantana

A goma xantana comercial é produzida normalmente por linhagens de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, entretanto, outros pathovares além do *campestris*, produzem eficientemente exopolissacarídeos, como: *phaseoli*,

malvacearum, *carotae*, *citrumelo*, *juglandis*, além de outras espécies do gênero *Xanthomonas* (*Xanthomonas fragariae*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) (BECKER *et al.*, 1998).

As bactérias do gênero *Xanthomonas* pertencem à família *Pseudomonaceae*. Os membros desta família caracterizam-se claramente por formas alongadas de longitude curta ou média. São Gram-negativas com um único flagelo ou grupos de flagelos, não-esporuladas, aeróbias e heterotróficas. Muitas espécies são encontradas na natureza e habitam comumente o solo e a água. Os representantes mais conhecidos são *Pseudomonas*, *Xanthomonas* e *Acetobacter* (WOICIECHOWSKI, 2001).

Segundo Bradbury (1984) o gênero *Xanthomonas*, apresenta células em forma de bastonetes, Gram-negativas tendo em média de 0,4 a 0,7 μm de largura por 0,7 a 1,8 μm de comprimento e ocorrem, predominantemente, isoladas. São móveis apresentando um único flagelo polar. As colônias são geralmente lisas, viscosas e amarelas, resultantes da produção de um pigmento insolúvel em água conhecido como xantomadinas, altamente características do gênero, pois não são encontradas em outras bactérias. Embora a presença do pigmento seja um parâmetro usado para a identificação, a sua ausência não exclui o gênero *Xanthomonas*, tendo em vista que *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* e algumas linhagens da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *ricini* ocorrem naturalmente como organismos não pigmentados.

Estes microrganismos possuem metabolismo energético aeróbio, quimiorganotróficas, sendo capazes de utilizar como fonte de carbono diversos carboidratos e sais de ácidos orgânicos. Normalmente, requerem metionina, glutamato e triptofano em várias combinações como fatores de crescimento. Utilizam

melhor os sais de amônio do que os nitratos como fonte de nitrogênio. O teste da oxidase é negativo ou fraco e é catalase positiva (SOUZA, 1994).

Comumente alcalinizam o leite e desprendem H₂S como resultado do seu metabolismo. Produzem ácidos a partir de monossacarídeos ou dissacarídeos (WOICIECHOWSKI, 2001).

Através da coloração com Índia Ink, tem sido possível observar cápsulas em bactérias *Xanthomonas campestris* (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000). Muitas linhagens têm suas células circundadas por abundante material capsular, cuja presença pode ser verificada tanto em seu habitat, como em meios artificiais contendo carboidratos utilizáveis. Colônias mucosas de *X. fragariae* e *X. campestris* produzem grandes quantidades desse polissacarídeo extracelular o qual é denominado goma xantana (SOUZA, 1994).

Todas as bactérias do gênero *Xanthomonas* são fitopatógenos e infectam uma grande variedade de plantas, inclusive algumas de interesse agrícola, como repolho, couve, alface e feijão causando necrose, murchamento e apodrecimento de diversas plantas. As lesões nos vegetais são freqüentemente de cor amarelo forte e de consistência viscosa (HOLT *et al.*, 1994; GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000).

As bactérias do gênero *Xanthomonas* podem invadir a planta através da superfície da folha, quando uma chuva pesada causa infiltração de água, ou pelo talo, através de “feridas” causadas por insetos ou dano mecânico, e a doença é descrita como sistêmica, ou seja, a bactéria pode locomover-se pelo sistema vascular, passando para as células que podem ser eventualmente colonizadas (ALVES, 1991).

A Figura 2 mostra a bactéria *Xanthomonas campestris*:

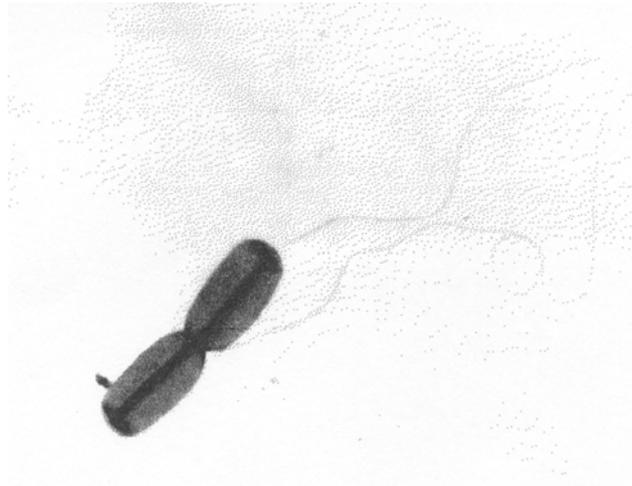


Figura 2 – Micrografia de *Xantomonas campestris* (x 12.000).

Fonte: Garcia-Ochoa *et al.* (2000, p. 554).

As células crescem em tubos inclinados de meio sólido complexo (ex. YMA), por 24 à 48h, na faixa de temperatura de 25 à 28 °C. As culturas são mantidas, neste meio, sob refrigeração a 4 °C, e devem ser transferidas para meio fresco a cada 14 dias, para prevenir a inativação das linhagens (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000).

A Figura 3 mostra o aspecto visual da placa de cultivo da *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.



Figura 3 – Placa de cultivo de *Xantomonas campestris* pv. *campestris*.

Fonte: Neto (2003).

As bactérias *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* produzem um grande número de enzimas extracelulares, tais como glicanases, celulasas, poligalacturonato liases, amilases e proteases, com diferenças significativas entre os vários "pathovares". Alguns trabalhos têm demonstrado que a síntese e excreção destas enzimas são essenciais ao processo de fitopatogenicidade (GOUGH *et al.*, 1988).

2.5 – Biossíntese

As principais rotas metabólicas envolvidas para formação de xantana por *Xanthomonas campestris* envolvem a via de Entner-Doudoroff, que cataboliza cerca de 80 % da glicose disponível até piruvato, o qual segue para o ciclo do ácido tricarboxílico e a via da pentose-fosfato que metaboliza a glicose remanescente (ZAGALLO & WANG, 1967; ROSEIRO *et al.*, 1993). Estas duas rotas metabólicas são, então, associadas, as cadeias laterais da xantana, os grupamentos piruvato e acetila, são derivadas do fosfoenolpiruvato e acetilCoA (Figura 4).

A síntese da goma xantana requer a formação de precursores ativados como UDP-glicose, UDP-ácido glucurônico e GDP-manose, seguida da transferência seqüencial destes açúcares ao lipídeo isoprenóide (carreador) para formar a unidade repetida do pentassacarídeo difosfato-lipídeo. A seguir, ocorre a adição dos grupamentos acetila e piruvato, e, posteriormente, esta unidade monomérica é então polimerizada (HARDING *et al.*, 1993). Os precursores da xantana estão livremente solúveis no citoplasma e podem ser facilmente canalizados para a biossíntese do polímero (IELPI *et al.*, 1983; SUTHERLAND, 1990; IELPI *et al.*, 1993).

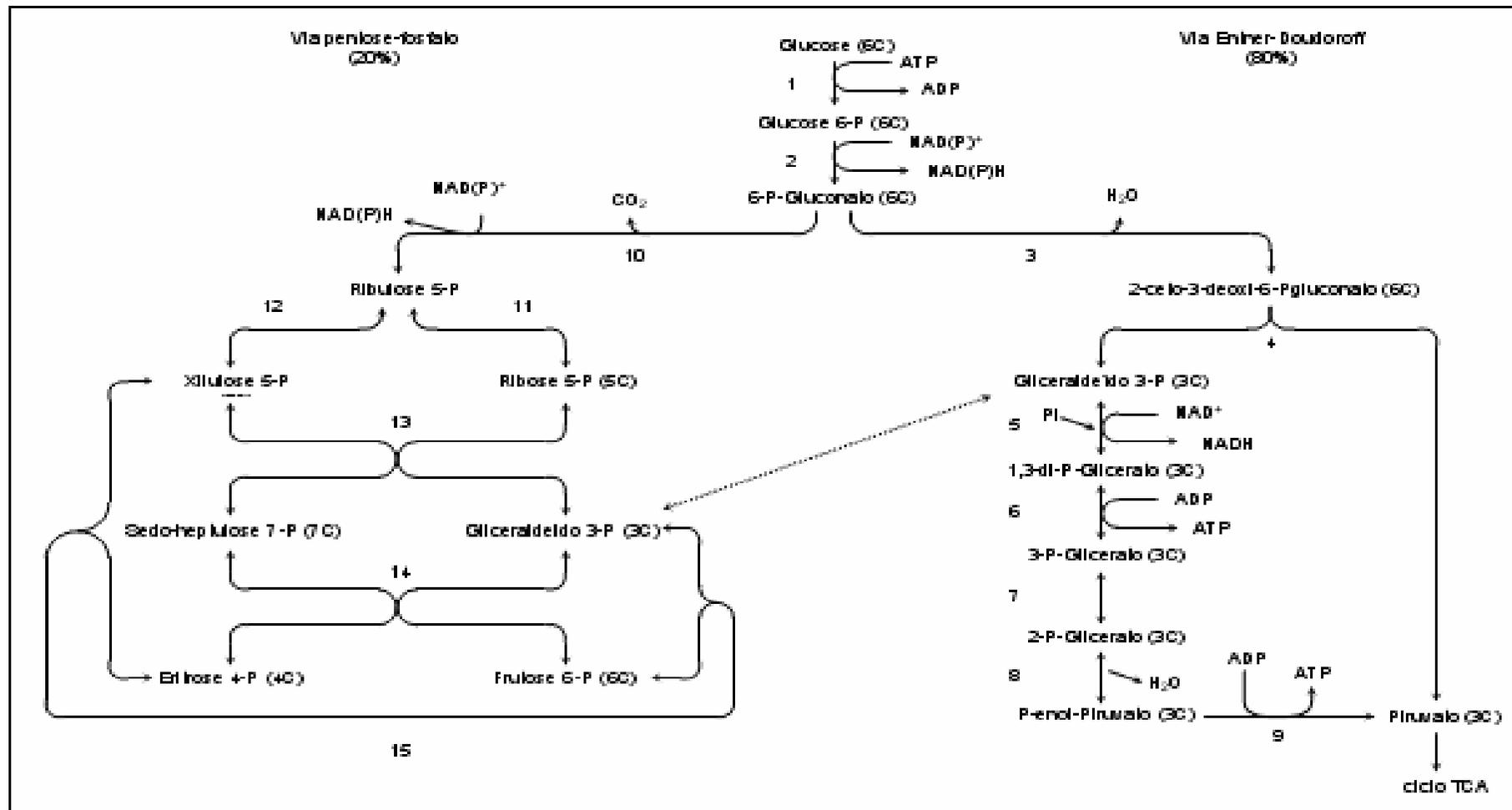


Figura 4 – Catabolismo da glicose via Entner-Doudoroff e via pentose-fosfato em *Xanthomonas campestris* (1: hexoquinase, 2: glicose-6-P desidrogenase, 3: 6-P-gluconato desidratase, 4: CDPG aldolase, 5: Gliceraldeído-3-P desidrogenase, 6: P-glicerato quinase, 7: P-gliceromutase, 8: enolase, 9: piruvato quinase, 10: 6-P-gluconato desidrogenase, 11: P-pentose isomerase, 12: P-pentose epimerase, 13: transcetolase, 14: transaldolase, 15: transcetolase) (Esgalhado, 1997).

A Figura 5 mostra a rota proposta para a síntese de unidades repetidas de xantana e sua polimerização, a qual pode ocorrer no nível da membrana celular. Todos os monossacarídeos, assim como os grupamentos acetila e piruvato, são adicionados seqüencialmente ao lipídio carreador. Assim, D-glicose-1-P é adicionada à UDP-glicose, seguido da transferência de D-glicose, D-manose e acetila. Finalmente, o ácido D-glucurônico, D-manose e piruvato são adicionados para formar a unidade repetida do pentassacarídeo. Este pentassacarídeo inicial é linear e a ramificação somente ocorre quando as unidades repetidas do polissacarídeo são polimerizadas. O mecanismo específico para a regulação do processo molecular da xantana ainda é desconhecido; é provável que ambos dependam da linhagem e das condições sobre as quais o microrganismo é cultivado (SUTHERLAND, 1990).

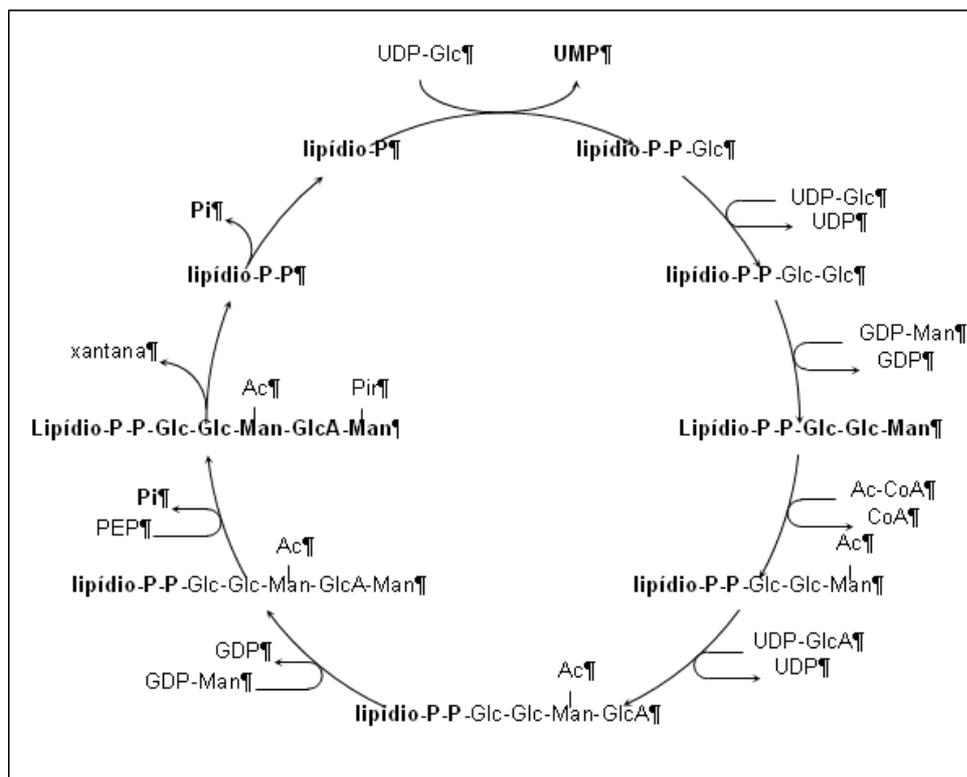


Figura 5 – Caminho proposto para biossíntese da xantana (Glc: glucose, Man: manose, Ac: acetila, CoA: coenzima A, GlcA: ácido glucurônico, PEP: fosfoenolpiruvato, Pir: piruvato) (Ielpi *et al.*, 1993).

O processo de excreção da xantana não está bem esclarecido, entretanto é sugerido que a xantana deve ser liberada do pirofosfato lipídico, o qual é reciclado através de uma desfosforilação, enquanto o polissacarídeo atravessa a membrana externa e é liberado ao meio extracelular (GLAZER & NIKAIDO, 1995).

2.6 – Produção de Goma Xantana

O meio de cultura, a linhagem do microrganismo e as condições operacionais influenciam a produção e a estrutura da xantana produzida (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000; LETISSE; LINDLEY; ROUX, 2003). As condições de processo escolhidas para a produção industrial dependerão não somente do rendimento desejado, como também, do uso final do polímero e, por conseguinte, da qualidade e da finalidade (SUTHERLAND, 1990; SUTHERLAND, 1996).

Para produzir goma xantana, a bactéria *X. campestris* precisa de vários nutrientes, incluindo micronutrientes (potássio, ferro e sais de cálcio) e macronutrientes como fontes de carbono e nitrogênio. Glicose e sacarose são mais freqüentemente usadas como fontes de carbono. A concentração da fonte de carbono afeta a produção da xantana, sendo a concentração de 2 a 4 % preferida pela bactéria. Altas concentrações destes substratos inibem o crescimento. Nitrogênio, um nutriente essencial pode ser fornecido como um composto orgânico ou como uma molécula inorgânica (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000).

Souw & Demain (1979) realizaram os primeiros estudos nutricionais sobre a composição do meio de produção em batelada. Utilizaram diferentes fontes de carbono e nitrogênio e concluíram que as melhores fontes de carbono são açúcares, especialmente glicose e sacarose. A sacarose revelou-se como o melhor substrato para a produção de xantana, sendo ligeiramente superior à glicose. Os melhores

resultados, em termos de peso do polímero/peso do meio fermentado, foram obtidos quando a concentração inicial destes substratos era de 40 g/L. Observaram também que a melhor fonte de nitrogênio era o glutamato a baixas concentrações, sendo, porém, um inibidor de crescimento quando usado em concentrações superiores a 15mM. Encontraram para a linhagem NRRL B-1459 um aumento na produção de xantana quando foram adicionados ácidos orgânicos, como cítrico e succínico, devido à atuação no controle do pH do meio, favorecendo a síntese da goma.

A concentração inicial do substrato no meio de cultivo também foi estudada por vários autores. Lilly *et al.* (1958) obtiveram um fator de conversão de glicose em produto de 79 % para a concentração inicial de glicose de 10 g/L. Já a maior concentração final de polímero (11,2 g/L) foi obtida quando 50 g/L de glicose inicial foram utilizados, mas neste caso o fator de conversão foi de apenas 22 %.

Rogovin *et al.* (1961) testaram concentrações iniciais de glicose de 10 a 100 g/L e perceberam um decréscimo acentuado da conversão em polímero, a medida em que esta era aumentada, sendo a maior conversão, de 90 %, obtida para uma concentração inicial de glicose de 10 g/L. A concentração de polímero no meio cresceu até um limite de glicose inicial de 40 g/L. Experimentaram fazer uma fermentação com concentrações iniciais baixas e adicioná-la aos poucos durante o processo, mas a estratégia não foi bem sucedida, pois o fator de rendimento obtido foi o mesmo de quando a glicose era toda adicionada no início. Concluíram que a concentração de glicose inicial ótima achava-se na faixa de 25 à 30 g/L.

Thonart *et al.* (1985) concluíram que a produção de polímero é dependente da concentração inicial de açúcar, enquanto que o crescimento do microrganismo não depende desta concentração. Foi relatada uma produção decrescente de polímero à

medida que a concentração inicial de glicose foi aumentada, caindo rapidamente à razão polímero/biomassa para concentrações iniciais maiores que 30 g/L.

Norton *et al.* (1984) perceberam uma dependência linear da viscosidade final com a concentração inicial de glicose, que foi estudada na faixa de 12,5 a 20,0 g/L. Os pesquisadores observaram que fermentações com concentrações iniciais de glicose acima de 20 g/L são complicadas pela alta viscosidade apresentada e por problemas de mistura, que reduzem a conversão e aumentam o tempo de processo. Na realidade, foi constatado que a viscosidade durante a fase exponencial de crescimento e início da biossíntese do polímero, é independente da concentração inicial de glicose, mas a concentração residual desta limita uma posterior biossíntese, sendo então a viscosidade máxima ou final, dependente do nível de glicose (ALVES, 1991).

Alves (1991) avaliou o efeito de algumas fontes orgânicas e inorgânicas de nitrogênio, bem como o efeito da concentração inicial das fontes de nitrogênio e carbono. Os resultados obtidos demonstraram que, dentre as fontes de nitrogênio testadas, o nitrato de amônio é a mais adequada, levando a uma viscosidade final do mosto mais elevada e a uma produtividade maior. Ficou também demonstrado que concentrações iniciais baixas de nitrogênio resultam em um polímero de melhor qualidade, embora tenha sido observado um limite para redução deste nutriente (0,3 g/L). Concentrações iniciais crescentes da fonte de carbono levaram à viscosidades finais do mosto mais elevadas, bem como a fermentações mais longas e menores fatores de rendimento (Y_p/s). Verificou-se também que a sacarose é capaz de substituir a glicose como fonte de carbono, sem efeitos adversos.

Galindo & Salcedo (1996) estudaram o efeito da adição de detergentes Tween 40, Tween 80, *Chaps* e Triton X-100 na fermentação da xantana. Todos

surfactantes, quando adicionados após 24 h de cultivo, melhoravam a concentração final da goma xantana comparada à fermentação sem detergentes. Triton teve o melhor efeito aumentando a produção da goma em um fator de 1,45 em erlenmayer e 1,24 em bioreator. Observações microscópicas revelaram que as células das bactérias foram maiores quando os detergentes estavam presentes. Foi visto também que o caldo diluído da fermentação contendo Triton foi mais viscoso que aquele da fermentação regular. Concluiu que o uso do Triton afetou fatores que determinam a qualidade reológica do polímero, como o peso molecular e que detergentes afetam a transferência de oxigênio sendo esta uma das razões da melhoria da produção da xantana quantitativamente e qualitativamente.

Garcia-Ochoa *et al.* (2000) mostraram que nitrogênio, fósforo e magnésio influenciaram o crescimento, ao passo que nitrogênio fósforo e enxofre influenciaram à produção de xantana. Uma composição deduzida para uma produção ótima foi a seguinte: sacarose (40 g/L), ácido cítrico (2,1 g/L), NH_4NO_3 (1,144 g/L), KH_2PO_4 (2,866 g/L), MgCl_2 (0,507 g/L), Na_2SO_4 (0,089 g/L), H_3BO_3 (0,006 g/L), ZnO (0,006 g/L), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,020 g/L), CaCO_3 (0,020 g/L), e HCl concentrado (0,13 ml/L); o pH foi ajustado para 7.0 adicionando NaOH.

Papagianni *et al.* (2001) concluíram que a concentração da fonte de carbono afeta a eficiência de conversão de açúcar em polissacarídeo. A concentração de glicose recomendada é de 10 a 50 g/L, e para concentrações maiores, o rendimento de produto decresce.

Substratos alternativos têm sido estudados em todo mundo na tentativa de diminuir os custos de produção da goma xantana.

Rajeshwari *et al.* (1995) relataram um processo de produção de xantana usando um meio modificado contendo “jaggery” e milhocina, bem como uma

estratégia de alimentação intermitente. Estas fontes de carbono e nitrogênio contêm vários nutrientes promotores de crescimento e traços de metais, eliminando dessa forma uma suplementação nutricional. Os resultados indicaram melhor rendimento e produtividade em xantana quando comparado a outros processos convencionais.

Yoo & Harcum (1999) fizeram estudos utilizando o meio de fermentação à base de sacarose, suplementado com proporções crescentes de resíduo de polpa de beterraba, para a produção de goma xantana. Os testes mostraram que o resíduo de polpa de beterraba é potencialmente interessante para a produção de goma xantana de grau não-alimentício e o rendimento da fermentação foi semelhante quando comparado à fermentação em meio à base sacarose.

Papi *et al.* (1999) utilizaram uma variedade selvagem de *X. campestris* para produzir goma xantana a partir de polpa de pêsego suplementada com diversos sais, mas a produção de goma xantana foi de apenas 0,1 a 0,2 g/L.

Azuaje & Sanchez (1999) fizeram testes com várias fontes de carbono como o xarope glicosado, sacarose, dextrina, amido de milho, amido de arroz, farinha de soja, melaço, soro em pó, bagaço de cana, entre outros, para selecionar um meio de cultivo que tivesse um menor custo e estivesse disponível na Venezuela. Os resultados encontrados mostraram que os meios que possuíam uma relação C/N relativamente baixa (farinha de soja, soro de leite, torta de milho e cutícula de arroz) favoreciam o crescimento da *X. campestris*, entretanto não obtinham meios com incremento de viscosidade. Por outra parte, os materiais lignocelulósicos foram nulos tanto em crescimento como no incremento da viscosidade do meio. A fonte de carbono e energia selecionada para preparação dos meios de cultivo, que obteve maior rendimento de xantana (23 g/L) e que também obteve maior viscosidade (7000 cP) do meio foi o xarope glicosado. As condições ótimas de produção

determinadas em Erlenmeyers de 1 L (contendo 200 mL de meio) e em fermentador, tipo tanque agitado, de 14 L (volume de meio de 10 L) foram: 50 g/L de açúcares, agitação entre 250 e 1000 rpm e aeração entre 0,3 e 1,0 vvm.

Liakopoulou-Kyriakides *et al.* (1999) utilizaram para produção de xantana farinha de castanha como fonte de carbono, estudando também o efeito das velocidades de agitação 200, 400 e 600 rpm, na produção da goma em reator batelada de 2 L. Encontraram uma produção máxima de xantana de 3,3 g/100 mL na velocidade de agitação de 600 rpm.

López *et al.* (2001) testaram várias cepas de *Xanthomonas campestris* para a produção de goma xantana a partir de resíduos aquosos de moinho de oliva. Este resíduo é uma fonte poluidora de grandes proporções na área do mediterrâneo. Por ter alta DBO e cor, tem o seu reuso altamente restrito devido à presença de ácidos fenólicos simples e polimerizados, que inibiram o crescimento de algumas cepas e conseqüentemente a produção de xantana. Outras cepas foram mais resistentes, mas a produção da goma ficou prejudicada.

Nitschke *et al.* (2001) avaliaram a produção de xantana em diferentes meios de cultura à base de soro de leite, utilizando o isolado *X. campestris* C₇L., em reator batelada de 16L, contendo 7L do meio de produção. Foi proposto um sistema combinando soro integral (0,35 % de proteína) e soro filtrado (0,18 % de proteína). O rendimento geral do processo foi de 55 % e a viscosidade do meio atingiu 18000cP. O isolado C₇L demonstrou capacidade de produzir gomas de alta viscosidade e qualidade em soro de leite.

Yang *et al.* (2002) utilizaram a linhagem da bactéria *X. campestris* Xc17. Tratamento desta linhagem com ácido nitroso resultou no isolado de Xc17L com

elevação da atividade da β - galactosidase capaz de crescer em meio a base de lactose. A produção de xantana do isolado Xc17L em meio à base de lactose foi semelhante ao meio à base de glicose.

Kalogiannis *et al.* (2003) fizeram uma avaliação da produção de xantana por *Xanthomonas campestris* usando melação do açúcar de beterraba como fonte de carbono. Na pesquisa foi estudada uma suplementação deste meio com K_2HPO_4 , extrato de levedura e triton 80 para melhorar a produção da xantana. Os resultados mostraram que somente o K_2HPO_4 teve um efeito positivo na produção da goma xantana.

Woiciechowski *et al.* (2003) produziram goma xantana do hidrolisado do bagaço da mandioca utilizando fontes alternativas de nitrogênio. Os estudos mostraram que o hidrolisado do bagaço da mandioca preparado por hidrólise ácida e suplementados com uma fonte de nitrogênio pode ser um substrato para a produção de goma xantana por processos fermentativos utilizando *X. campestris*. A melhor produção foi obtida quando nitrato de potássio foi usado como fonte de nitrogênio.

Alguns trabalhos relatam a importância da seleção de novas linhagens da bactéria *Xanthomonas campestris* para a produção da goma xantana. As cepas selecionadas revelam capacidades produtoras de goma com qualidade similares e até superiores a goma xantana produzida pela linhagem NRRL B-1459, que é referência para produção da xantana.

Segundo Galindo (1994) a cepa mais usada e estudada para produzir goma xantana é a *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. O pesquisador afirma que é possível isolar cepas de *Xanthomonas* que produzam goma xantana, com qualidade reológica similar a das gomas disponíveis comercialmente, a partir de programas de

seleção de linhagens. Ressaltou trabalho de pesquisa onde foi demonstrado que mediante técnicas de seleção foi possível o isolamento de cepas de *Xanthomonas* capazes de utilizar lactose. Neste trabalho também chamou atenção para as primeiras publicações acerca da microbiologia de produção de xantana, onde se afirmava que a morfologia e a cor da colônia eram um indicativo da capacidade de produção e qualidade da goma. Seu grupo de trabalho concluiu que a melhor maneira de avaliar a capacidade produtiva de uma cepa é submetê-la a cultivo com condições controladas.

Nitschke & Thomas (1995) relataram o isolamento de cinco linhagens de *Xanthomonas campestris*. Os caldos fermentados por estas linhagens foram comparados com o caldo obtido usando a linhagem de coleção de cultura (NRRL B-1459), os quais mostraram alta viscosidade e uma melhor produção de goma xantana.

Nitschke *et al.* (1997) selecionaram linhagens de *Xanthomonas campestris* pela capacidade de utilizar lactose e produzir xantana em meio contendo soro não hidrolisado e sais minerais. Os pesquisadores concluíram que a matéria-prima pode ser usada como um substrato alternativo para a fermentação e que investigações adicionais devem ser conduzidas para avaliar as características químicas da goma e a viabilidade industrial do processo.

Lima (1999) avaliou a potencialidade de produção e determinou as propriedades das gomas xantana biossintetizadas por três linhagens de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, NRRL B-1459, LFR-3 e LFR-4, em fermentador batelada de 2L sob condições controladas, com meio a base de glicose, suplementado com extrato de levedura e sais minerais. Nos experimentos realizados encontrou gomas com pesos moleculares diferentes, sendo que a linhagem da

coleção NRRL B-1459 apresentou maior peso molecular, seguidas pela LFR-4 e LFR-3.

As etapas fundamentais para a produção de goma xantana, assim como o suporte necessário a esta produção, podem ser resumidos como apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 – Passos chaves para típica produção de xantana.

Etapas do processo	Escala e operação	Suporte
Preservação da cultura <i>X. campestris</i>	Período longo: liofilizada; freezer Período curto: meio sólido inclinado	Melhoria espécie; Teste viabilidade cultura.
Preparo do inóculo	Erlenmeyers	Composição meio crescimento; Condições operacionais controladas; Testes para contaminantes.
Estágio produção	Bioreator	Projeto equipamento; Composição meio produção; Condições fermentação.
Separação	Térmica, química ou enzimática; Centrifugação ou filtração	Processo para desativação e remoção das células
Isolamento	Precipitação; filtração	Desenvolvimento métodos de extração e purificação.

Fonte: Garcia-Ochoa *et al.* (2000, p. 553).

O processo para produção de xantana é mostrado na Figura 6. Primeiro a cultura do microrganismo selecionada é preservada por método que mantenha estáveis as propriedades da cepa. Uma pequena quantidade da cultura estocada é propagada em meio líquido para obtenção do inóculo que é utilizado no bioreator. Após a fermentação, o caldo é pasteurizado ou esterilizado, seguido pelas etapas de recuperação e purificação do produto. O crescimento do microrganismo e a produção da xantana são influenciados por fatores como o tipo do bioreator usado, o modo de operação (batelada ou contínuo), a composição do meio e as condições de cultura (temperatura, pH, concentração de oxigênio dissolvido) (Garcia-Ochoa *et al.*, 2000).

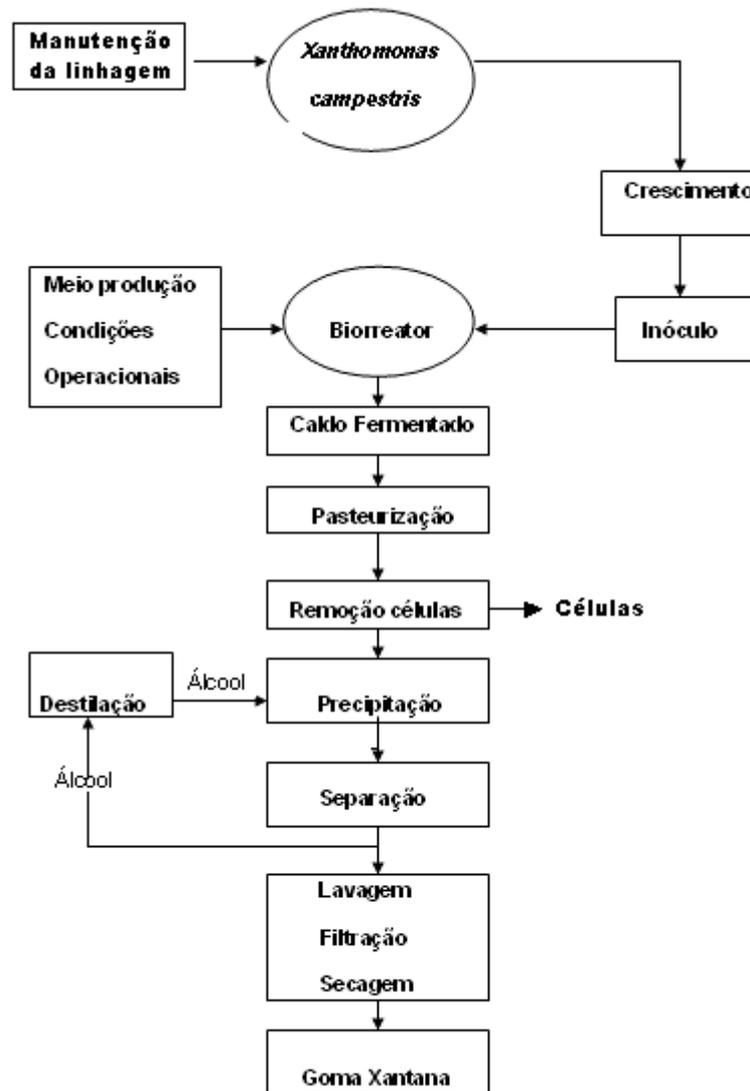


Figura 6 – Fluxograma do processo de produção de xantana.

Fonte: Garcia-Ochoa *et al.* (2000, p. 552).

As temperaturas empregadas para produção de xantana estão na faixa de 25 a 34 °C. Cadmus *et al.* (1978) concluíram que a fermentação em temperatura mais alta melhora a produção da xantana, mais diminui o conteúdo de piruvato. De acordo com Casas *et al.* (2000) ocorre um grau máximo de piruvilação na temperatura de 27 °C.

Thonart *et al.* (1985) afirmam que temperatura ótima de processo seria em torno de 33 °C, propondo uma temperatura de 25 °C para crescimento e 30 °C para

produção. Shu & Yang (1990) alegaram que a temperatura ideal depende do objetivo final. Para uma alta produção de xantana uma temperatura entre 31 e 33 °C foi recomendada, mas cultivo entre 27 e 31 °C foi melhor para se alcançar um alto conteúdo de piruvato na goma.

Garcia-Ochoa *et al.* (2000) estudaram a influência da temperatura na produção de xantana pela bactéria *Xanthomonas campestris*, usando um meio de produção otimizado. Testes foram realizados nas temperaturas de 25, 28, 31 e 34 °C, com uma mesma composição de meio e pH inicial de 7,0. As temperaturas 28 e 31 °C levaram à produções semelhantes de xantana, em torno de 9,5 g/L. Nas temperaturas de 25 e 34 °C a produção foi em torno de 7,0 g/L, após 40h de fermentação, com agitação inicial de 210 rpm.

A maior parte dos autores concorda que o pH neutro é aquele ótimo para crescimento de *Xanthomonas campestris*. No processo fermentativo para produção de xantana o pH normalmente decresce, mas é mantido por adição de base para continuar a produção da goma. Controlando o pH próximo da neutralidade a síntese do polissacarídeo continua até o substrato ser exaurido (WHISTLER, 1993).

Segundo Kennedy & Bradshaw (1984) o pH do meio de fermentação decresce devido à formação de ácidos orgânicos e radicais ácidos existentes na estrutura da xantana. Valores inferiores a 5,0 diminuem drasticamente a produção da goma, sendo necessário controlar o meio de fermentação no pH 7,0, pela adição de álcalis durante o processo.

Contradizendo estes dados Papagianni *et al.* (2001) observaram um aumento no pH do meio de 7,0 para 9,0-9,5 utilizando uma rotação de 600 rpm em fermentador batelada de 2,0 L, com volume útil de 1L. O fato foi atribuído às variações e peculiaridades das cepas utilizadas.

Segundo Garcia-Ochoa *et al.* (2000) alguns autores sugerem que não é necessário o controle de pH no processo fermentativo, mas outros recomendam o controle em pH neutro, usando álcalis como KOH, NaOH e NH₄OH. Um estudo dos efeitos do pH mostra que o controle deste fez efeito no crescimento celular, mas não teve efeito na produção da xantana. Quando o pH é controlado, a produção de xantana cessa quando a fase estacionária de crescimento é alcançada e este efeito é independente do álcali usado para controlar o pH. Quando o pH não é controlado, a produção de goma continua durante a fase estacionária de crescimento.

Nos processos fermentativos, a máxima produtividade e a máxima concentração de produto alcançada estão relacionadas e limitadas pela taxa de transferência de oxigênio e remoção de calor, que por sua vez são determinadas pelo sistema de mistura e desenho do vaso de fermentação empregados, bem como pelas propriedades reológicas do mosto, que no caso de produtos como os exopolissacarídeos, têm extrema influência sobre os fenômenos de transferência de calor e massa. Estas propriedades reológicas, que são geralmente a razão pela qual os exopolissacarídeos são produzidos, acarretam também problemas para sua produção. Os mostos são altamente viscosos e apresentam comportamento não-newtoniano (ALVES, 1991).

Segundo Alves (1991) o projeto adequado do equipamento e a correta extrapolação de escala destes processos passam necessariamente pelo perfeito entendimento das relações existentes entre a reologia do fluido, potência de agitação e transferência de calor e massa.

O processo para obtenção de goma xantana é conduzido sob aeração e agitação. Durante o processo fermentativo, acontecem muitas mudanças nas propriedades reológicas do mosto devido à produção do biopolímero. Estas

mudanças, que incluem um grande aumento na viscosidade aparente do caldo combinados com as propriedades de pseudoelasticidade e viscoelasticidade, fazem do processo um sistema muito complexo em termos de mistura (GALINDO, 1994). Segundo Galindo (1992) as mudanças na viscosidade durante a cultura excedem 4 ordens de magnitude, maior até que aquelas encontradas em processos de polimerização de alta viscosidade da indústria química. Com esse aumento da viscosidade, são observados freqüentemente, problemas como a limitação na transferência de oxigênio para as células, que afeta a produção e qualidade da goma produzida. Portanto, o controle adequado da agitação e da aeração é de extrema importância para uma boa condução da fermentação.

Em uma fermentação típica, onde não se controla o oxigênio, o peso molecular da xantana tem um rápido incremento durante a fase de crescimento da bactéria. Na fase estacionária, quando se produz a maior parte do polímero, o peso molecular médio tende a decrescer ligeiramente em função da transferência de oxigênio no cultivo. É por isso que o peso molecular médio do produto final depende em grande parte do grau de limitação de oxigênio (GALINDO, 1994).

Flores *et al.* (1994) estudaram o efeito da tensão de oxigênio dissolvido (TOD) durante o processo de fermentação, avaliaram a qualidade da xantana e concluíram que uma forte TOD determina o comportamento reológico do meio de cultura e conseqüentemente, a qualidade da xantana.

De acordo com Garcia-Ochoa *et al.* (2000) vários tipos de biorreatores têm sido usados para produzir xantana, mas o CSTR é mais empregado freqüentemente. Nesses reatores agitados a taxa de transferência de massa de oxigênio é influenciada pela taxa de escoamento de ar e a velocidade de agitação. A Tabela 4

sumariza alguns valores típicos desses parâmetros encontrados por vários pesquisadores.

Tabela 4 – Condições operacionais usadas para produzir xantana.

Referência	Biorreator	Temperatura (°C)	pH	Volume (L)	Taxa Aeração (L/L min)	Rotação (rpm)
Rogovin <i>et al.</i> (1965)		28	7	227 2268	0,5	90-290 30-250
Moraine <i>et al.</i> (1966)		28	7	-	1	1000
Moraine <i>et al.</i> (1971)		28	7	8	1	500-1000
Moraine <i>et al.</i> (1973)		28	7	-	-	-
Cadmus <i>et al.</i> (1978)	Tanque-agitado	20-30	6,8	10	1,5	225-300
Souw e Demain (1980)		25	7	-	0,5	500
Kennedy <i>et al.</i> (1982)		30	7	3,5	0,5	400-600
Pinches e Pallent (1986)		30	7	10 2,5	0,4	600 1000
De Vuyst <i>et al.</i> (1987)		28	7	6	1	250-700
Funahashi <i>et al.</i> (1987)		30	7	6	1	350-1200
Peters <i>et al.</i> (1989)		28	7	-	0,3	200-800
Schweikart e Quilan (1989)		26	7	1,2	1	300-1300
Pons <i>et al.</i> (1989)	Coluna borbulhamento	29	6,9	13	1 1,5	-
Shu e Yang (1990)		20-34	7	-	1,16	800
Pons <i>et al.</i> (1990)		29	6,9	3,6	0,3 0,6	500-900
Zaidi <i>et al.</i> (1991)	Reator tipo jato	28	7	100	0,33	-
Suh <i>et al.</i> (1992)	Coluna borbulhamento tipo "Airlift"	28	7	50	7,7-54	-
Kessler <i>et al.</i> (1993)		27	7	60-70	5-10	-
Garcia-Ochoa <i>et al.</i> (1997)		28	7	1,5	1	210-1200

Fonte: Garcia-Ochoa *et al.* (2000, p.552).

Quando o CSTR é usado, a taxa de escoamento de ar é geralmente mantida em um valor constante, usualmente 1L/L min. A velocidade de agitação varia em uma ampla faixa. Alguns autores usam uma velocidade constante, enquanto outros variam essa agitação durante a fermentação (Tabela 4).

A escolha correta do tipo do agitador é essencial, pois além de viabilizar uma melhor dispersão do ar no meio, também faz aumentar a taxa de transporte de nutrientes através da membrana da célula, favorecendo o crescimento microbiano (LIMA, 1999).

A produção de xantana em escala industrial permanece sendo realizada por operações em batelada, apesar das vantagens apresentadas pelo sistema contínuo. No sistema contínuo se tem alcançado as maiores produtividades específicas conhecidas, mas esta fermentação tem apresentado problemas práticos em escala industrial, entre essas, está a dificuldade em se manter a esterilidade, podendo ocorrer mutantes de rápido crescimento que não produz xantana. Outro problema é que no meio de cultivo fica uma grande quantidade de carboidrato sem utilizar, o qual prejudica a economia do processo e dificulta a separação posterior (www.patagon.8m.com/Xanthana.html, 2005).

Tem sido estudada a modalidade batelada alimentada, na qual a fonte de carbono é adicionada gradualmente. Esta permite manter o nível de açúcar entre 30 e 40 g/L, os quais são ótimos para produção de xantana. A aplicação industrial da modalidade batelada alimentada não tem crescido devido ser o incremento de produção pequeno e ao final do processo ficar uma grande quantidade de açúcar residual (www.patagon.8m.com/Xanthana.html, 2005).

A produção em batelada da goma xantana pode ser regida pela equação de Verhulst - Pearl para o crescimento celular e pelo modelo de Luedeking-Piret para formação de produto e consumo de substrato (WEISS & OLLIS, 1980).

A cinética de crescimento é descrita pela equação logística de Verhulst-Pearl na qual o crescimento celular é governado por uma relação hiperbólica e há um limite para a concentração máxima de biomassa atingível.

$$\frac{dx}{dt} = \mu_{\max} x \left(1 - \frac{x}{x_{\max}} \right) \quad (1)$$

Onde μ_{\max} e x_{\max} são a velocidade específica máxima de crescimento celular e a concentração máxima de células atingível, respectivamente. Esta equação tem sido usada com sucesso ao descrever as cinéticas de vários sistemas de fermentação para polissacarídeos (WEISS & OLLIS, 1980; PINCHES & PALLENT, 1986; CARREÓN *et al.*, 1998).

Para a formação do produto, o modelo de Luedeking – Piret, desenvolvido originalmente para representar a formação de ácido láctico por *Lactobacillus delbrueckii* (BAILEY & OLLIS, 1986; SCHMIDELL *et al.*, 2001) estabelece que:

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \frac{dx}{dt} + \beta x \quad (2)$$

onde “ α ” e “ β ” são constantes empíricas que podem variar com as condições de fermentação (temperatura, pH) e p , a concentração de produto. O modelo indica que a velocidade de formação do produto é linearmente proporcional à velocidade de crescimento celular (crescimento associado) e à concentração instantânea de biomassa (crescimento não associado). A conveniência deste modelo é que β pode ser facilmente avaliado na fase estacionária quando:

$$\frac{dx}{dt} = 0 \Rightarrow \beta = \frac{\left(\frac{dp}{dt}\right)_{\text{estacionária}}}{x_{\max}} \quad (3)$$

deixando o parâmetro α (crescimento associado) ser avaliado dos dados da fase de crescimento. Substituindo β , a Equação 2 toma a seguinte forma:

$$P(t) = \alpha \frac{dx}{dt} + \beta x + P_0 \quad (4)$$

Um balanço do substrato utilizado para a fermentação de polissacarídeos pode ser escrito pela Equação 5, que considera a conversão do substrato à massa celular e produto, bem como o consumo de substrato para manutenção:

$$-\frac{ds}{dt} = \frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} + \frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dp}{dt} + K_e x \quad (5)$$

O último termo da Equação 5 corresponde ao substrato usado para atividades como motilidade celular, trabalho osmótico, estocagem de nutrientes e outros processos e está relacionado a funções de manutenção (MULCHANDINI *et al.*, 1988).

Substituindo a Equação 2 em 5 temos:

$$-\frac{ds}{dt} = \left(\frac{1}{Y_{x/s}} + \frac{\alpha}{Y_{p/s}} \right) \frac{dx}{dt} + \left(\frac{\beta}{Y_{p/s}} + K_e \right) x \quad (6)$$

Simplificando:

$$-\frac{ds}{dt} = \gamma \frac{dx}{dt} + \eta x \quad (7)$$

Ambos γ (crescimento associado) e η (crescimento não associado) são avaliados da mesma maneira que α e β .

As Equações 1, 2 e 5 representam uma completa descrição de uma cinética em batelada. Podem ser resolvidas analiticamente e desta forma obter os parâmetros analíticos (LIMA, 1999).

As maiores conveniências das Equações 2 e 7 são que os parâmetros de crescimento não associado, β e η podem ser avaliados com dados da fase estacionária ($dx/dt=0$), conduzindo somente os parâmetros de crescimento associado, α e γ a serem avaliados dos dados da fase de crescimento (WEISS & OLLIS, 1980).

Para os exopolissacarídeos produzidos por *Xanthomonas campestris*, *Aureobasidium pullulans* (pululana), *Azobacter vinelandii* (alginato) e *Pseudomonas sp.*, as equações 1, 2 e 5 proporcionam uma razoável descrição da evolução da concentração de biomassa, produto e substrato com o tempo. A produção dos exopolímeros pode ser de crescimento associado (pululana e alginato), crescimento não associado (biopolímeros de *Pseudomonas sp*) ou mista (goma xantana) (WEISS & OLLIS, 1980; PINCHES & PALLENT, 1986).

Os parâmetros cinéticos α , β , γ e η para espécies microbianas dependem das condições operacionais e da composição do meio de cultura. Isto implica que a avaliação de tais parâmetros necessita ser extraída de dados experimentais para condições particulares (CARREÓN *et al.*, 1998).

A recuperação da xantana a partir do caldo de fermentação é geralmente difícil e onerosa. Estima-se que mais de 50% do custo de produção deste biopolímero está associado a aspectos de recuperação (GALINDO, 1994; 1996). O final do caldo da fermentação contém 10-30 g/L xantana, 1-10 g/L células e 3-10 g/L nutrientes residuais e outros metabólitos (GARCIA – OCHOA *et al.*, 1993). Por causa

da alta concentração de xantana, o caldo é altamente viscoso e difícil para manusear. Este geralmente é diluído em algum estágio do processo. A alta viscosidade complica a remoção da biomassa do caldo. O método específico de purificação é determinado pelo uso final da goma e fatores econômicos.

Para determinadas aplicações a presença de células afeta diretamente o desempenho do produto, tornando a sua remoção essencial. Por exemplo, a goma utilizada como aditivos em alimentos, que deve ser livre da biomassa e reagentes usados na recuperação do processo. Em produtos visualmente transparentes, como alguns cosméticos e na recuperação de petróleo quando a presença de células, na lama de perfuração, pode causar entupimentos (ALVES, 1991; GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000).

Os objetivos dos processos de recuperação são: a concentração do mosto fermentado ou a extração do polímero, resultando em um produto sólido, de fácil manuseio, transporte e estocagem; purificação para reduzir o nível de sólidos, tais como células e sais, melhorando as propriedades funcionais, cor odor ou paladar do produto; desativação de enzimas contaminantes indesejáveis como as celulasas e pectinases; modificações nas propriedades químicas do produto para melhorar sua funcionalidade (ALVES, 1991).

Os principais passos do processo de recuperação são a desativação e remoção das células microbianas, precipitação do biopolímero, lavagem e filtração, secagem e moagem. Estes processos devem ser feitos sem degradação do biopolímero. O produto final é usualmente um pó seco ou uma solução concentrada. Numerosos métodos têm sido desenvolvidos para desativar ou remover as células do caldo. Tratamentos com químicos (álcali, hipoclorito, enzimas), por meios

mecânicos e tratamentos térmicos são utilizados. Quando enzimas são usadas, devem ser removidas do meio (GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000).

A xantana em solução pode ser vista como um colóide hidrofílico formando uma solução verdadeira em água. Precipitação do polímero é encontrada por decréscimo da solubilidade do colóide dissolvido, usando métodos como adição de sais, adição de solventes miscível em água e concentração por evaporação. Opções de recuperação têm sido estudadas incluindo precipitação com solventes orgânicos como etanol e álcool isopropílico; o uso de misturas de sais e álcool e precipitação com sais trivalentes ou tetravalentes. O uso de ultrafiltração também tem sido reportado. A técnica mais comum usada para o isolamento primário e purificação da goma é a precipitação usando não solventes do polissacarídeo que sejam miscíveis em água, como álcoois, sendo a recuperação deste essencial por razões econômicas. O custo operacional, no caso, é determinado pela quantidade de álcool gasto por peso de produto durante o processamento e o custo de destilação. O volume de álcool necessário para a precipitação da xantana é independente da concentração de polímero no mosto, mas é afetado pela concentração de certos sais, sendo a quantidade mínima, dependente da força iônica. Geralmente a adição de um eletrólito (sal) ajuda na precipitação, neutralizando cargas no polissacarídeo. A adição de cloreto de potássio ao mosto, por exemplo, diminui o volume de álcool requerido em cerca de 30% (ALVES, 1991; GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000).

Os álcoois metanol, etanol, isopropanol e a acetona como são não solventes para o polissacarídeo, podem ser adicionados ao caldo da fermentação não somente para diminuir a solubilidade até ocorrer a fase de separação, mas também para lavar e extrair impurezas, componentes coloridos, sais e células.

A goma depois de precipitada é removida através de equipamentos tradicionais como filtros e centrífugas ou por ultrafiltração (SCHIMIDELL *et al.*, 2001). Os sólidos obtidos, neste estágio de separação são lavados com álcool/água, removendo grande parte das impurezas, como sais inorgânicos e pigmentos, e então secos à vácuo ou pela passagem forçada de ar quente ou gás inerte. As condições de secagem devem ser tais, que evitem a degradação química, coloração excessiva, ou mudanças na solubilidade do produto (ALVES, 1991; GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000).

O produto seco é então moído a um mesh pré-determinado para controle da dispersabilidade e taxa de dissolução. A maior parte da xantana comercial tem uma umidade final de cerca de 10%. Finalmente, o material usado para embalar a goma deve ser impermeável porque a xantana é higroscópica e sujeita a degradação hidrolítica (GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000).

2.7 – Propriedades Reológicas da Goma Xantana

A reologia ou “ciência do escoamento” estuda as propriedades que caracterizam o comportamento de materiais quando submetidos à deformação correlacionando a tensão e a taxa de deformação (cisalhamento) (WOICIECHOWSKI, 2001).

Considerando que a matéria pode ser classificada como sólida, líquida ou gasosa, a deformação de um sólido pode ser caracterizada por leis que descrevem a alteração de seu volume, tamanho ou forma, enquanto que o escoamento de um fluido, líquido ou gás, é caracterizado por leis que descrevem a variação contínua da taxa de deformação em função das forças ou tensões aplicadas (MACHADO, 2002).

Segundo Machado (2002) a deformação de um corpo pode ser dividida em dois tipos:

- deformação espontânea e reversível, conhecida também como elasticidade;
- deformação irreversível, conhecida como escoamento.

A constante de proporcionalidade entre a tensão e a velocidade de deformação (cisalhamento) é denominada viscosidade, que é caracterizada pela resistência contra o deslizamento entre duas camadas de meio, quando submetidas à força tangencial aplicada no seu plano. A viscosidade de um fluido é função dessa resistência que necessita tanto mais força para deslizar uma camada sobre a outra quanto maior for a resistência ao movimento e que é chamada de cisalhamento (WOICIECHOWSKI, 2001). A representação desta definição pode ser expressa pelo modelo de dois planos paralelos de fluido de áreas iguais (S), separados por uma distância (Y), e movendo-se em uma mesma direção com velocidades diferentes (dV/dY), conforme representado na Figura 7.

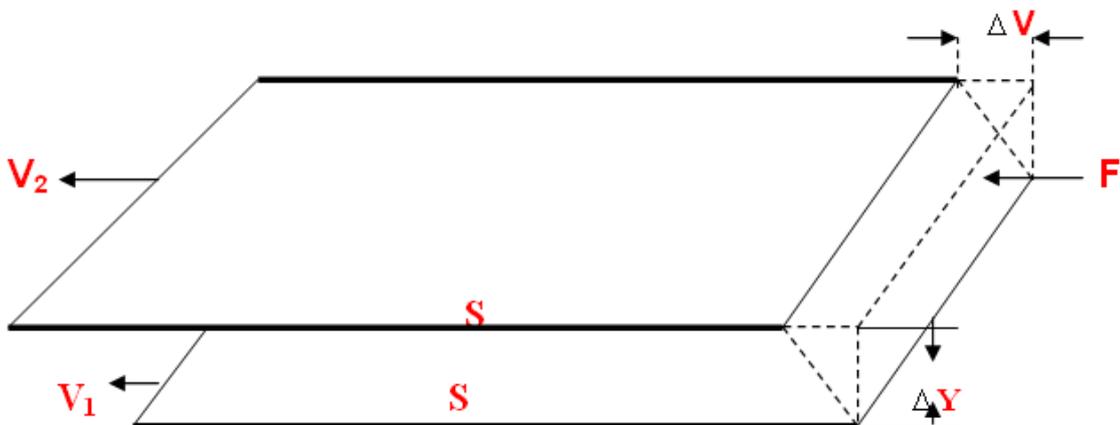


Figura 7 – Representação gráfica para a definição de viscosidade.

Fonte: Woiciechowski (2001, p.31).

De acordo com Machado (2002), tensão de cisalhamento é a força por unidade de área cisalhante, necessária para manter o escoamento do fluido. A resistência ao escoamento é que solicita esta tensão, que pode ser expressa por:

$$\tau = \frac{F}{S} \quad (8)$$

F é a força aplicada na direção do escoamento e S é a área da superfície exposta ao cisalhamento. As suas unidades usuais são o N/m² ou pascal (Pa), dina/cm² e lbf/ft², nos sistemas internacional (SI), c.g.s. e inglês, respectivamente.

A taxa de cisalhamento é definida como o deslocamento relativo das partículas ou planos de fluido e, está relacionada com a distância entre eles. A taxa de cisalhamento é também denominada de grau de deformação ou gradiente de velocidade e pode ser definida através de uma expressão matemática que relacione a diferença das velocidades entre duas partículas ou planos vizinhos com a distância entre eles.

$$\gamma = \frac{\Delta V}{\Delta Y} \quad (9)$$

ΔV é a diferença de velocidade entre duas camadas de fluido adjacentes e ΔY é a distância entre elas. A unidade é o s⁻¹.

Para fluidos viscosos Newtonianos (fluidos que se deformam contínua e irreversivelmente, sob a ação de forças, sendo esta deformação conhecida por escoamento), a tensão de cisalhamento é proporcional à taxa de cisalhamento, onde a constante de proporcionalidade é por definição a viscosidade dinâmica do fluido, como explica a expressão a seguir:

$$\tau = -\mu \frac{\Delta V}{\Delta Y} \quad (10)$$

$$\tau = -\mu \left(\frac{\partial V}{\partial Y} \right) = \mu \dot{\gamma} \quad (11)$$

Da equação(11) pode-se definir a viscosidade dinâmica de um fluido como a relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa cisalhante.

$$\mu = \left| \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \right| \quad (12)$$

A equação (12) define a viscosidade dinâmica de um fluido como a relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa cisalhante. Já a viscosidade cinemática é a viscosidade do fluido dividida pela sua massa específica.

$$\nu = \frac{\mu}{\rho} \quad (13)$$

Onde ν é a viscosidade cinemática e ρ a massa específica do fluido.

A unidade mais usual de viscosidade é o centipoise (cP = poise/100), submúltiplo do poise, definida por 0,01 g/(cm.s), derivado do sistema c.g.s. No sistema internacional de unidades(SI), a unidade de viscosidade é o Pa.s. Mas a unidade de viscosidade mais empregada neste sistema o milipascal.segundo (mPa.s), cuja relação com o cP é unitária, 1mPa.s é igual a 1cP.

Segundo Machado (2002), os fluidos viscosos podem ser classificados em função do seu comportamento de escoamento ou reológico. Para se determinar este comportamento reológico é necessário à determinação experimental e análise da relação entre a tensão cisalhante e o gradiente de velocidade ou taxa de cisalhamento, para uma determinada condição de temperatura e pressão. A equação matemática entre estas duas variáveis é conhecida como equação de escoamento e a sua representação gráfica é conhecida como curva de escoamento.

Os fluidos se classificam de modo abrangente em Newtonianos e não-Newtonianos. Todas as curvas da Figura 8, exceto a curva (a), se referem a tipos ou modelos de fluidos não-Newtonianos.

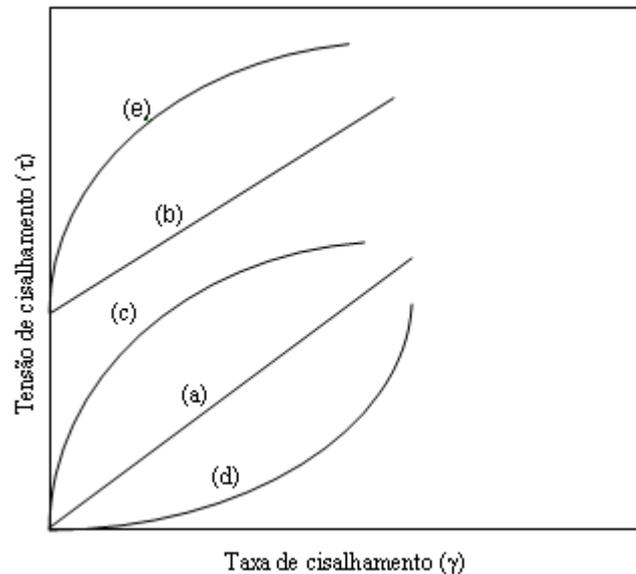


Figura 8 – Curvas de escoamento de alguns tipos de fluidos: (a) newtoniano; (b) binghamiano ou plástico ideal; (c) pseudoplástico; (d) dilatante e (e) pseudoplástico com limite de escoamento.

Fonte: Machado (2002, p.21).

De acordo com Bretas (1987) os fluidos podem ser classificados conforme o comportamento da sua viscosidade. Assim os fluidos que apresentam viscosidade independente da velocidade de cisalhamento são denominados de Fluidos Newtonianos e matematicamente são definidos pela equação (12):

De um modo geral, os gases e todos os sistemas homogêneos e monofásicos, compostos de substâncias de baixo peso molecular, comportam-se como fluidos Newtonianos, em regime de escoamento laminar. São exemplos o ar, a água, os óleos “finos” e seus derivados, as soluções salinas, o mel, a glicerina, entre outros.

Os fluidos onde a viscosidade é dependente da tensão de cisalhamento são chamados não-newtonianos. São classificados conforme o aspecto da curva de escoamento e apresentam correlação com alguma equação ou modelo matemático (MACHADO, 2002).

Os fluidos não-newtonianos podem ser definidos pela relação:

$$\mu_a = \left| \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \right| \quad (14)$$

Onde a viscosidade μ_a , variável como função de $\dot{\gamma}$, é denominada de viscosidade aparente, isto é, a viscosidade que o fluido teria se fosse Newtoniano, naquela condição de escoamento. Esta viscosidade só é válida para uma determinada taxa de cisalhamento, isto é, sempre que for citada, esta propriedade deve vir acompanhada da taxa de cisalhamento correspondente. São exemplos de fluidos não-newtonianos as dispersões de argila em água, as emulsões concentradas de óleo em água e água em óleo, as soluções de polímeros (goma xantana), os fluidos gelificados usados nas operações de perfuração e completção de poços, as pastas de cimento e os petróleos e derivados muito viscosos.

Os fluidos viscosos também podem ser caracterizados ou definidos através da relação entre a viscosidade e a taxa de cisalhamento, para uma mesma condição de temperatura e pressão (MACHADO, 2002). Esta representação gráfica é conhecida como curvas de viscosidade. A Figura 9 ilustra curvas de viscosidade para alguns tipos de fluidos.

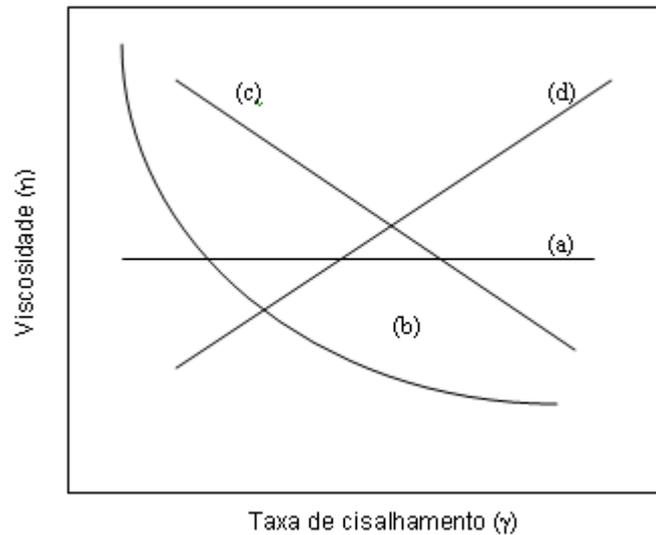


Figura 9 – Curvas de viscosidade de fluido: (a) newtoniano; (b) binghamiano ou plástico ideal; (c) pseudoplástico e (d) dilatante.

Fonte: Machado (2002, p.22).

Segundo Machado (2002), os fluidos não-newtonianos são normalmente divididos em três classes, que dependem do histórico e das condições a que a amostra é submetida:

- 1 - Aqueles cujas propriedades são independentes do tempo;
- 2 - Aqueles cujas propriedades são dependentes do tempo;
- 3 - Aqueles que apresentam propriedades intermediárias, entre um sólido perfeito (elástico) e um líquido perfeito (newtoniano).

Na primeira classe estão os fluídos cuja viscosidade depende somente do valor da tensão de cisalhamento (τ). Dentro desta classificação de fluidos, temos diversos tipos de comportamento de materiais que são denominados viscoplásticos ou de Bingham, dilatantes e pseudoplásticos (LENK, 1978).

Os materiais que apresentam o comportamento de Bingham, para começarem a fluir necessitam de uma tensão de cisalhamento mínima, e após o

início do escoamento mantém uma relação constante entre a tensão e a velocidade de cisalhamento. Como exemplos destes fluidos, podem ser citados os dentífrícios, margarina, polpa de papel e a maioria das tintas (BRETAS, 1987).

Para o comportamento dilatante e pseudoplástico, não há necessidade de uma tensão inicial de escoamento; tais fluidos apresentam viscosidade que varia de forma não-linear com a velocidade de cisalhamento. Assim um aumento na velocidade de cisalhamento corresponde a um aumento na viscosidade dos materiais com comportamento dilatante, enquanto que a viscosidade dos materiais que apresentam um comportamento pseudoplástico diminui com o aumento da velocidade de cisalhamento. Os materiais pseudoplásticos incluem a maioria dos fluidos não-newtonianos, como, por exemplo, soluções poliméricas, acetato de celulose, maionese, suspensões de polpa de papel e pigmentos (CHEREMISINOFF, 1992). A maioria dos polímeros sintéticos no seu estado fundido e das soluções aquosas de polissacarídeos são exemplos de materiais pseudoplásticos (LOPES, 1989).

Os fluidos não-newtonianos pertencentes à segunda classe, ou seja, aqueles cujas propriedades reológicas são dependentes do tempo são denominados de reopéticos (ou anti-tixotrópicos) e tixotrópicos. Nestes fluidos, a viscosidade aparente muda com o tempo de atuação da deformação de cisalhamento, mantendo-se as outras variáveis, como temperatura, pressão e taxa de deformação, constantes. Materiais que se tornam mais viscosos durante a transformação em cisalhamento suave são chamados reopéticos (suspensão de gesso, solos), e os que se tornam menos viscosos são chamados tixotrópicos (tinturas, vários lubrificantes) (CHEREMISINOFF, 1992). Os materiais tixotrópicos são inevitavelmente pseudoplásticos, mas nem todo pseudoplástico é tixotrópico

(LENK, 1978). Podemos acrescentar, ainda, que o fluido reopético exibe um aumento da viscosidade com o aumento da velocidade de cisalhamento, de modo semelhante aos fluidos dilatantes. Entretanto, em um fluido reopético, a viscosidade aumenta com o tempo de cisalhamento, a uma velocidade de cisalhamento constante (LIMA, 1999; MACHADO, 2002).

A última classe dos fluidos não-newtonianos é representada pelos fluidos viscoelásticos. As propriedades apresentadas por estes materiais poderiam ser caracterizadas como intermediárias, entre as de um sólido elástico e de um líquido viscoso (MACHADO, 2002).

Um material é descrito como viscoelástico quando, em suas propriedades mecânicas, parte da energia é armazenada e outra parte é dissipada como calor. Na verdade, todos os corpos reais são viscoelásticos (GRAESSLEY, 1984). Um fluido viscoelástico em equilíbrio, quando submetido à uma tensão cisalhante, responde de dois modos sobrepostos. Primeiro, o material exibe uma resposta elástica, que corresponde ao deslocamento das moléculas de sua posição inicial para uma nova posição de equilíbrio. Isto ocorre logo após a aplicação da tensão e é chamado de tempo de relaxamento. Durante este tempo, o trabalho exercido sobre o material é armazenado sob a forma de energia e, se a tensão for removida, o corpo tende a recuperar sua forma original, o que não ocorre completamente devido à manifestação da parte viscosa do material. O escoamento viscoso é, portanto, o segundo modo de resposta à tensão, iniciando-se também logo que esta é aplicada. Se a tensão for mantida, uma taxa de deformação constante é alcançada e o trabalho realizado para manutenção do escoamento é dissipado como calor. O escoamento viscoso é, por conseguinte, irreversível espontaneamente, podendo continuar mesmo após o alívio da tensão (TAGER, 1978). Podem ser citados como

exemplos desta classe de fluidos, polímeros como o náilon, várias soluções poliméricas e geléias (CHEREMISINOFF, 1992).

Vale a pena ressaltar que os comportamentos reológicos discutidos para os fluidos não-newtonianos não se excluem entre si. Um fluido viscoelástico, por exemplo, pode apresentar características pseudoplásticas e tixotrópicas dependendo das condições a que é submetido (LOPES & ANDRADE, 1991).

A classificação dos fluidos com seus reogramas (curvas de escoamento) típicos, bem como suas equações reológicas de estado são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Classificação dos fluidos de acordo com o seu comportamento reológico.

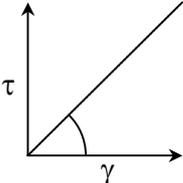
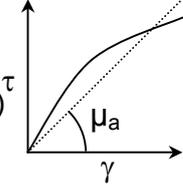
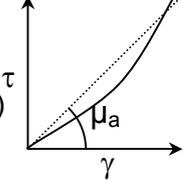
Tipo de fluido	Reograma	Equação constitutiva	Viscosidade aparente ($\mu_a = \tau \gamma^{-1}$)
Newtoniano		$\tau = \mu \gamma$	Constante $\mu_a = \mu$
Pseudoplástico (Lei de potência)		$\tau = K \gamma^n$ $n < 1$	Decresce com o aumento da taxa de cisalhamento $\mu_a = K \gamma^{n-1}$
Dilatante (Lei de potência)		$\tau = K \gamma^n$ $n > 1$	Aumenta com o aumento da taxa de cisalhamento $\mu_a = K \gamma^{n-1}$

Tabela 5 – Classificação dos fluidos de acordo com o seu comportamento reológico (Continuação).

Tipo de fluido	Reograma	Equação constitutiva	Viscosidade aparente ($\mu_a = \tau \gamma^{-1}$)
Plástico Binghamiano		$\tau = \tau_0 + K_p \gamma^n$	Decresce com o aumento da taxa de cisalhamento quando a tensão inicial τ_0 é excedida $\mu_a = \frac{\tau_0}{\gamma} + K_p$
Plástico Cassoniano		$\tau^{1/2} = \tau_0^{1/2} + K_p \gamma^{1/2}$	Decresce com o aumento da taxa de cisalhamento quando a tensão inicial τ_0 é excedida $\mu_a = \left[\left(\frac{\tau_0}{\gamma} \right)^2 + K_p \right]^{1/2}$

Fonte: ATKINSON & MAVITUNA, 1991.

Sendo **K** o índice de consistência, que indica o grau de resistência do fluido diante do escoamento. Quanto maior o valor de K, mais “consistente” o fluido será. O **n** indica fisicamente o afastamento do fluido do modelo Newtoniano. Se o seu valor se aproxima de um, então o fluido está próximo do comportamento Newtoniano e τ_0 é a tensão mínima, denominada de limite de escoamento, para que haja alguma deformação cisalhante.

Existem mais dois modelos importantes de fluidos pseudoplástico:

1 – Modelos de Herschell-Buckley

Também conhecido como fluido pseudoplastico com limite de escoamento ou fluido de potência modificado. A equação que o define é:

$$\begin{aligned} \tau &= K(\gamma)^n + \tau_0 & \text{para } \tau > \tau_0 \\ \gamma &= 0 & \text{para } \tau \leq \tau_0 \end{aligned} \quad (15)$$

$$\mu_a = \frac{\tau_0}{\gamma} + K(\gamma)^{1-n} \quad (16)$$

Este tipo de fluido é uma extensão do fluido de Ostwald, ao qual se adiciona um novo parâmetro, τ_0 , denominado de limite de escoamento real. (MACHADO, 2002).

A curva de escoamento que representa este modelo está ilustrada na Figura 10.

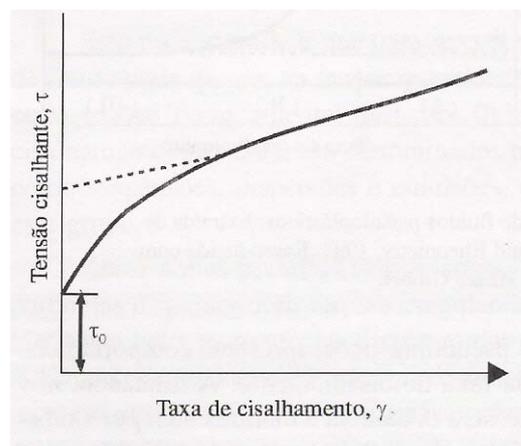


Figura 10 – Curva de escoamento para o modelo Herschell-Buckley

Materiais típicos que exibem limite de escoamento real são dispersões de argilas com polímeros, empregadas amplamente na indústria de petróleo como fluidos de perfuração, graxas, pastas de dente, pastas de cimento (MACHADO, 2002).

2 – Modelo de Robertson-Stiff

De acordo com Machado (2002) este modelo é semelhante ao modelo de potência com introdução de um termo corretivo para as taxas de cisalhamento. A equação constitutiva é:

$$\begin{array}{ll} \tau = a(\gamma + \gamma_0)^b & \text{para } \tau > a(\gamma_0)^b \\ \gamma = 0 & \text{para } \tau \leq a(\gamma_0)^b \end{array} \quad (17)$$

$$\mu_a = \frac{a(\gamma + \gamma_0)^b}{\gamma} \quad (18)$$

O termo γ_0 é entendido como uma correção de taxa de cisalhamento para o fluido, em relação à taxa de cisalhamento para o modelo de Herschell-Buckley.

O modelo de Robertson-Stiff quando comparado ao modelo de Herschell-Buckley, apresenta a vantagem de produzir equações diferenciais de soluções possíveis e fáceis para emprego nos cálculos de escoamentos de fluidos. Entretanto como desvantagem, possui a dificuldade de interpretação molecular para os três parâmetros reológicos, os quais ainda não possuem um significado físico familiar para os seus usuários (MACHADO, 2002).

3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – Etapas da pesquisa

A pesquisa foi dividida nas etapas que estão apresentadas na Figura 11:

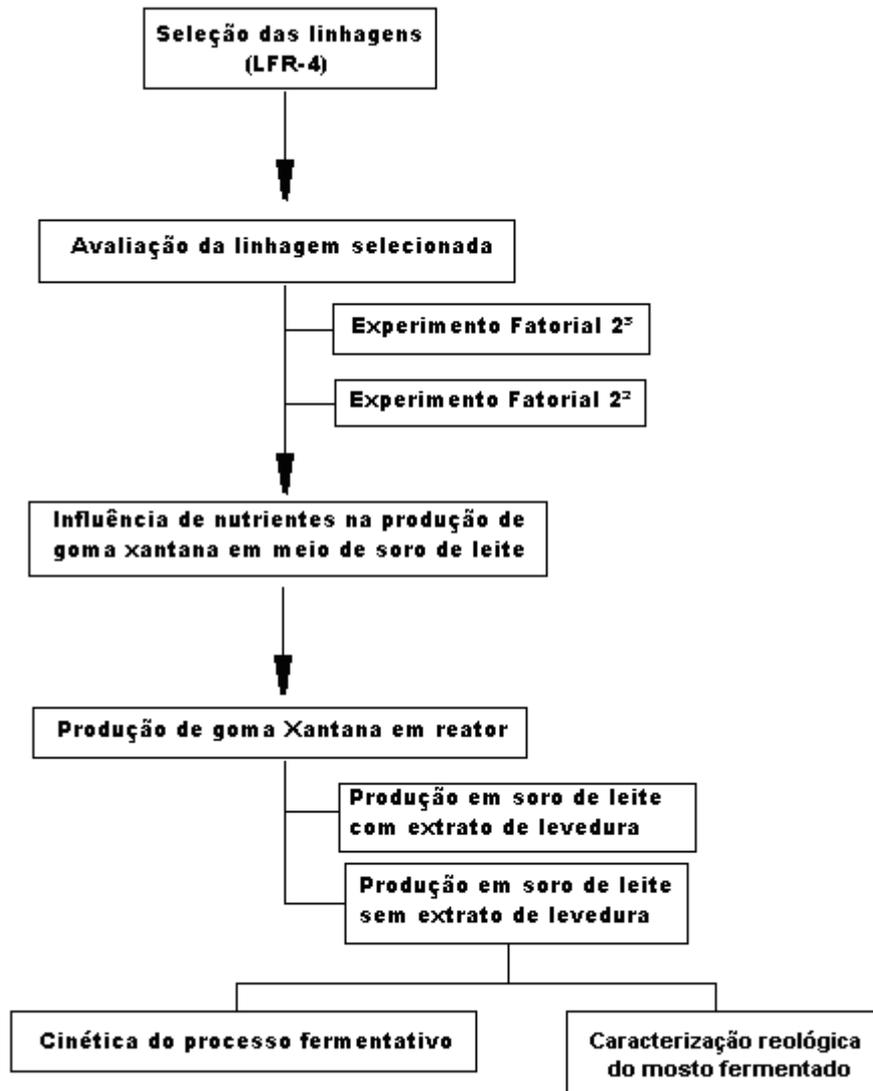


Figura 11 – Etapas desenvolvidas na pesquisa.

3.2 – Microrganismos

Foram utilizadas as linhagens de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-1, LFR-3, LFR-4, LFR-15, LFR-33, LRJ-407 e LFR-585 provenientes dos

Laboratório de Fitobacteriologia do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife – PE) e do Departamento de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio de Janeiro. As culturas foram estocadas em meios específicos de manutenção a 5°C e repicadas mensalmente.

3.3 – Meios de cultivo

3.3.1 – Meios de cultura para manutenção das linhagens

As linhagens de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* foram mantidas nos meios de YMA (extrato de levedura, malte, ágar) (NAKAJIMA *et al.*, 1990) e lactose-ágar modificado (SCHWARTZ & BODIE, 1985), com as seguintes composições:

Meio YMA: glicose 10,0 g/L; extrato de levedura 3,0 g/L; extrato de malte 3,0 g/L; peptona 5,0 g/L; ágar 16,0 g/L; água destilada q.s.p. 1000 mL. O pH do meio foi ajustado para 6,0 (NaOH e HCl) e a esterilização foi a 121 °C por 20 min.

Meio de lactose-ágar modificado: lactose, 20 g/L; NH₄NO₃, 2,0 g/L; KH₂PO₄, 2,5 g/L; MgSO₄, 0,2 g/L; ácido cítrico, 3,0 g/L; Na₂HPO₄, 2,5 g/L; Na₂SO₄, 1,2 g/L; extrato de levedura, 5,0 g/L; solução de sais, 15 mL/L; ágar, 16 g/L e água destilada q. s. p. 1,0 L.

A solução de sais do meio de lactose-ágar modificado apresentou a composição: EDTA Na₂·2H₂O, 9,300 g/L; H₃BO₃, 1,240 g/L; ZnSO₄·7H₂O, 0,574 g/L; CuSO₄·5H₂O, 0,250 g/L; Na₂MgO₄·2H₂O; 0,121 g/L; CoSO₄·7H₂O, 0,056 g/L; CaCl₂·2H₂O; 1,460 g/L; FeSO₄·7H₂O, 1,390 g/L; MnSO₄·H₂O, 1,169 g/L e água destilada q. s. p. 1,0L (LIMA,1999).

O pH do meio foi ajustado para 7,0 (NaOH e HCl) e a esterilização foi a 121 °C por 20 min.

Após a indução das linhagens ao meio de soro de leite, descrito a seguir, as culturas passaram a ser estocadas em meio de lactose-ágar.

3.3.2 – Meios de cultura para seleção das linhagens

Para a seleção das linhagens foram utilizados os seguintes meios de cultivo:

Meio de lactose: lactose, 15 g/L; KH_2PO_4 , 5 g/L; NH_4Cl , 2,5 g/L; NaCl, 1,0g/L; MgSO_4 , 0,1 g/L; extrato de levedura, 0,1 g/L e água destilada q.s.p. 1,0 L. O pH do meio foi ajustado para 7,0 (NaOH e HCl) e a esterilização foi a 121 °C por 20 min.

Meio de soro de leite: soro de leite, (concentração de lactose 25,0 g/L); K_2HPO_4 , 5,0 g/L e extrato de levedura, 1,0 g/L. O pH do meio foi ajustado para 7,0 (NaOH e HCl) e a esterilização foi a 121 °C por 20 min.

O soro de leite foi obtido pela coagulação das proteínas do leite integral, comercial tipo longa vida (Valedourado), após elevação da temperatura a 70 °C, seguida da adição de ácido láctico até pH 4,5 e aquecimento até 94 °C. Aguardou-se a decantação e resfriamento da solução para posterior filtração do soro. A composição média do soro de leite é apresentada no anexo A.

3.3.3 – Meios de cultura para avaliação da linhagem selecionada (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) em diferentes fontes de carbono e condições de cultivo.

3.3.3.1 – Meios de cultura para o planejamento fatorial 2³

Meios de cultura para inóculos:

lactose: descrito no item 3.3.2.

sacarose: sacarose, 20 g/L; NH_4NO_3 , 2,0 g/L; KH_2PO_4 , 2,5 g/L; MgSO_4 , 0,2 g/L; ácido cítrico, 3,0 g/L; Na_2HPO_4 , 2,5 g/L; Na_2SO_4 , 1,2 g/L; extrato de levedura, 5,0 g/L; solução de sais, 15 mL/L e água destilada q. s. p. 1,0L. O pH do meio foi ajustado para 7,0 (NaOH e HCl) e a esterilização foi a 121 °C por 20 min.

Meios de cultura para a produção da goma:

Soro de leite: soro (concentração de lactose 20 e 40 g/L); KH_2PO_4 , 2,5 g/L; MgSO_4 , 0,2 g/L; ácido cítrico, 3,0 g/L; Na_2HPO_4 , 2,5 g/L; Na_2SO_4 , 1,13 g/L; extrato de levedura, 3,0 g/L; MnCl_2 , 0,03 g/L; $\text{Ca}(\text{OH})_2$, 0,01 g/L e FeSO_4 , 0,01 g/L. O pH do meio foi ajustado para 7,0 (NaOH e HCl) e a esterilização foi a 121 °C por 20 min.

Sacarose: sacarose, (20 e 40 g/L); NH_4NO_3 , 0,86 g/L; KH_2PO_4 , 2,5 g/L; MgSO_4 , 0,2 g/L; ácido cítrico, 3,0 g/L; Na_2HPO_4 , 2,5 g/L; Na_2SO_4 , 1,13 g/L; extrato de levedura, 3,0 g/L; MnCl_2 , 0,03 g/L; $\text{Ca}(\text{OH})_2$, 0,01 g/L; FeSO_4 , 0,01 g/L e água destilada q. s. p. 1,0 L. O pH do meio foi ajustado para 7,0 (NaOH e HCl) e a esterilização foi a 121 °C por 20 min.

3.3.3.2- – Meios de cultura para o planejamento fatorial 2²

Meios de cultura para inóculos:

soro de leite modificado: soro de leite, (concentração de lactose 20g/L); KH_2PO_4 , 2,5g/L; MgSO_4 , 0,2g/L; ácido cítrico, 3,0g/L; extrato de levedura, 5,0 g/L e solução de sais, 15mL/L. O pH do meio foi ajustado para 7,0 (NaOH e HCl) e a esterilização foi a 121°C por 20 min.

sacarose: descrito ítem 3.3.3.1

Meios de cultura para produção da goma:

soro de leite modificado: soro, (concentração de lactose 20, 30 e 40g/L); KH_2PO_4 , 2,5g/L; MgSO_4 , 0,2g/L; MnCl_2 , 0,03g/L; ácido cítrico, 3,0g/L e extrato de levedura, 3,0 g/L. O pH do meio foi ajustado para 7,0 (NaOH e HCl) e a esterilização foi a 121°C por 20 min.

Sacarose: descrito no item 3.3.3.1.

3.3.4 – Meios de cultura para avaliação da Influência de nutrientes na produção de goma xantana

Meios de cultura para inoculo:

lactose: descrito no item 3.3.2

lactose modificado: lactose 20 g/L; KH_2PO_4 , 2,5 g/L; MgSO_4 , 0,2 g/L; ácido cítrico, 3,0 g/L; extrato de levedura, 5,0 g/L; solução de sais, 15 mL/L e água destilada q. s. p. 1,0 L. O pH do meio foi ajustado para 7,0 (NaOH e HCl) e a esterilização foi a 121 °C por 20 min.

soro de leite modificado: descrito no item 3.3.3.2

Meios de cultura para produção da goma xantana:

Tabela 6 – Meios de cultura para produção de goma xantana.

	Meio 1 (g/L)	Meio 2 (g/L)	Meio 3 (g/L)
Soro de leite	20,0	20,0	20,0
KH_2PO_4	2,5	2,5	2,5
MgSO_4	0,2	0,2	0,2
MnCl_2	0,03	0,03	0,03
Ácido cítrico	-	3,0	3,0
Extrato de levedura	-	-	3,0

O pH dos meios foi ajustado para 7,0 (NaOH e HCl) e a esterilização foi a 121 °C por 20 min.

3.3.5 – Meios de cultura para produção de goma xantana em reator

Meio de cultura para inoculo:

soro de leite modificado: descrito no item 3.3.3.2

Meios de cultura para a produção da goma

Tabela 7 – Meios para produção.

	Meio 1 (g/L)	Meio 2 (g/L)	Meio 3 (g/L)
Soro de leite	50,0	28,0	49,0
KH ₂ PO ₄	2,5	2,5	2,5
MgSO ₄	0,2	0,2	0,2
MnCl ₂	0,03	0,03	0,03
Ácido cítrico	3,0	3,0	-
Extrato de levedura	3,0	3,0	-

O pH dos meios foram ajustados para 7,0 (NaOH e HCl) e a esterilização foi a 121 °C por 40 min.

3.4 – Experimentos

3.4.1 – Seleção das linhagens

Este experimento teve a finalidade de selecionar uma linhagem de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, capaz de produzir goma em meios de lactose sintético e soro de leite, de acordo com o rendimento em produção. Foi avaliada a produção da goma xantana por sete linhagens de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* após indução da bactéria aos meios de lactose sintético e soro de leite.

Preparo do Inóculo

As culturas originais da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* mantidas em meio de YMA foram inoculadas em tubos de ensaios contendo 10 mL dos meios líquidos de lactose e soro de leite .

As linhagens foram repicadas a cada 24h, durante 14 dias, com finalidade de indução enzimática (SCHWARTZ & BODIE, 1985). Foram incubadas em mesa agitadora MARCONI a 30 °C e submetidas à agitação de 200 rpm.

Produção de goma xantana

Após esse período, as culturas, foram transferidas para Erlenmeyers de 250 mL contendo 90 mL dos respectivos meios e incubadas à mesmas condições por 96 horas.

3.4.2 – Avaliação da linhagem selecionada (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4) em diferentes fontes de carbono e condições de cultivo

Após seleção da linhagem, esta foi submetida a fermentações com diferentes fontes de carbonos e condições de cultivo. Neste estudo foram utilizados como ferramentas dois planejamentos fatoriais, para escolha das melhores condições de preparo do inóculo.

3.4.2.1 – Planejamento Fatorial 2³

Três variáveis de processo foram identificadas, em estudos preliminares, como parâmetros capazes de influenciar o rendimento: a concentração do inóculo (C), o percentual do inóculo (I) e a agitação (Ag). Inicialmente, para avaliar a influência destas variáveis no rendimento do processo foi utilizado um planejamento fatorial 2³ sem replicatas dos experimentos. O erro experimental foi estimado com

quatro repetições no ponto central. As condições experimentais de cada ensaio estão resumidas na Tabela 8. A resposta estudada foi o rendimento do processo.

Tabela 8 – Variáveis e níveis estudados no planejamento experimental 2^3 utilizando soro de leite e sacarose para produção de goma xantana.

Variáveis	Código das variáveis	Nível	
		Baixo (-1)	Alto (+1)
Concentração (g/L)	C	20	40
Inóculo (%)	I	5	10
Agitação (rpm)	Ag	200	300

Os experimentos foram realizados em ordem aleatória e seguindo-se a convenção usual, os dois valores extremos dos níveis das variáveis são identificados com -1 (nível baixo) e +1 (nível alto), conforme mostra a Tabela 9.

Tabela 9 – Matriz de planejamento 2^3 .

Ensaio	C	I	Ag
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1

Preparo do Inóculo

Os inóculos foram preparados a partir das culturas da linhagem de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4 selecionada anteriormente e mantidas nos meios de YMA e lactose-ágar.

Tubos com 10 mL dos meios de sacarose e soro de leite foram inoculados e incubados sob agitação de 160 rpm, temperatura de 28 °C, por 24 horas.

Produção de goma xantana

Os inóculos obtidos foram transferidos (5 e 10 %), para Erlenmeyers de 500 mL contendo 90 mL dos meios de produção, com concentrações de 20 e 40 g/L dos açúcares, incubados sob agitação de 200 e 300 rpm, temperatura de 28 °C, por 96 horas.

3.4.2.2 – Planejamento Fatorial 2²

Definidos os fatores significativos foram realizados novos experimentos em um planejamento 2² tendo como variáveis a concentração do inóculo (C) e a agitação (Ag), sendo o inóculo fixado em 10 % (v/v) e alterando-se somente os níveis para a variável agitação. As condições experimentais de cada ensaio estão resumidas na Tabela 10. Para estimar o erro experimental utilizou-se as replicatas deste experimento no ponto central. Todos os cálculos foram realizados segundo Barros Neto *et al.* (2002). A resposta estudada foi o rendimento do processo para dois tipos de substratos diferentes, soro de leite (R₁) e sacarose (R₂).

Tabela 10 – Variáveis e níveis no planejamento experimental 2² utilizando soro de leite (R₁) e sacarose (R₂) como substratos para a produção de goma xantana.

Variáveis	Código das variáveis	Nível		
		Baixo (-1)	Central (0)	Alto (+1)
Concentração (g/L)	C	20	30	40
Agitação (rpm)	Ag	160	230	300

A Tabela 11 apresenta a matriz de experimento utilizada no planejamento 2².

Tabela 11 – Matriz de planejamento 2²

Ensaio	C	Ag
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0

Preparo do Inóculo

Os inóculos foram preparados como já descrito no item 3.4.2.1

Produção de goma xantana

Os inóculos obtidos foram transferidos para Erlenmeyers de 500 mL contendo 90 mL dos meios de produção de soro e sacarose, com concentrações de 20, 30 e 40 g/L de cada substrato, incubados sob agitação de 160, 230 e 300 rpm e temperatura de 28 °C. O tempo da fermentação foi de acordo com o residual de açúcar.

3.4.3 – Influência de nutrientes na produção de goma xantana em meio de soro de leite

A influência dos nutrientes foi avaliada através de dois experimentos, onde foram analisados os parâmetros: composição do meio do inóculo, a presença do ácido cítrico e do extrato de levedura em meios de soro de leite para produção de xantana.

Entre os dois experimentos, a linhagem LFR-4 recebeu nova adaptação nos meios de lactose modificado e soro de leite (meio 3) descritos no item 3.3.4.

Preparo dos Inóculos

Os inóculos foram preparados como já descrito no item 3.4.2.1

Produção de goma xantana

Os inóculos obtidos nos respectivos meios de cultivo, foram transferidos para Erlenmeyers de 500 mL contendo 90 mL dos meios de produção 1, 2 e 3 (descritos no item 3.3.4) e incubados sob agitação de 200 rpm, temperatura 30 °C por 72 horas.

3.4.3.1 – Readaptação da linhagem *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4

A linhagem LFR-4 sofreu uma nova indução aos meios estudados uma vez que estava produzindo mostos fermentados pouco viscosos.

Preparo do inóculo

O inóculo foi preparado como já descrito no item 3.4.2.1.

Adaptação em meio de produção de soro de leite

O inóculo obtido foi transferido para Erlenmeyer de 500 mL contendo 90 mL dos meio de produção de soro de leite e incubado sob agitação de 200 rpm, temperatura 28 °C, por 24 horas. A partir deste inóculo realizaram-se várias transferências (10% v/v) para o meio de lactose modificado (item 3.3.4) para em seguida retornar ao meio de soro de leite. A Tabela 12 mostra as transferências e os dias de incubação para indução da bactéria ao meio de soro de leite (SCHWARTZ & BODIE, 1985).

Tabela 12 – Indução da linhagem da bactéria *X. campestris* LFR-4 ao meio de soro de leite.

Meios	Transferências	Tempo de incubação (dias)
Soro (20 g/L)	-	1
Lactose (20 g/L)	1	10
	2	5
	3	4
	4	3
Soro (20g/L)	5	7
	6	4

3.4.4 – Produção de Goma Xantana em Reator

Para a avaliação da produção de xantana em reator, foram realizados três experimentos variando a composição dos meios de cultivo.

3.3.4.1. – Produção de goma xantana em meio de soro de leite (28g/L e 50g/L de lactose acrescido de extrato de levedura).

Foi analisada a produção da goma xantana em reator de 2 L, com linhagem da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4, em meio de soro de leite com concentrações de lactose de 28g/L e 50 g/L acrescido de ácido cítrico e extrato de levedura como nutrientes.

Os experimentos foram conduzidos em fermentador BIOSTAT B (B. Braun Biotech Internacional) de 2 L de capacidade útil, contendo 1500 mL dos meios de produção (meios 1 e 2, descritos no item 3.3.5). O biorreator é do tipo tanque agitado, equipado com rotor de disco de seis pás, controles de aeração, temperatura, pH e antiespumante. Na Figura 12, observa-se o fermentador em que foram conduzidos os experimentos. Utilizou-se como inóculo 10 % em volume de um

cultivo crescido em meio de soro (descrito no item 3.3.3.2) sob agitação (200 rpm) em mesa agitadora, temperatura de 28 ± 1 °C, por 96 horas. As fermentações foram conduzidas no reator sob agitação de 900 rpm e 0,5 vvm (FLORES *et al.*, 1994) a 30 ± 3 °C, por um período de 168h e 96h respectivamente. Foram retiradas amostras, a cada 24h, para medidas do residual de lactose, biomassa, produção de xantana e viscosidades. Ao longo do processo fermentativo, foram realizadas observações microscópicas utilizando-se preparações coradas pelo método de Gram com a finalidade de investigar a presença de possíveis microrganismos contaminantes.



Figura 12 – Fermentador BIostat B utilizado no experimento.

3.3.4.2 — Produção de goma xantana em meio de soro de leite (49,0 g/L de lactose sem extrato de levedura).

Foi analisada a produção da goma xantana em reator de 2 L, com linhagem da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4, em meio de soro de leite com concentração de lactose de 49,0g/L. Neste meio não foram adicionados ácido cítrico e extrato de levedura como nutrientes.

Os experimentos foram realizados em fermentador BIOSTAT B de 2 L de capacidade útil, contendo 1500 mL de meio de produção (meio 3, descrito no item 3.3.5). Utilizou-se como inóculo 10% em volume de um cultivo crescido em meio de soro descrito no item 3.3.3.2, sob agitação (200 rpm) em mesa agitadora, temperatura de 28 ± 1 °C, por 96 horas. As fermentações foram conduzidas nas mesmas condições descritas no item anterior. Foram retiradas amostras para medidas do residual de lactose, biomassa, viscosidade e xantana, em intervalos de 12 horas. Durante o processo foi realizado o acompanhamento da pureza microbiológica através da coloração de Gram.

3.3.5 – Recuperação e Purificação da Goma Xantana

O mosto fermentado foi processado em centrífuga Eppendorf 5403 a 14880g por 60 minutos para retirada das células. Após este procedimento o sobrenadante foi diluído em água destilada na razão de 1:1, tratado com solução saturada de KCl e o polímero foi recuperado por precipitação com etanol. Para 10 mL do mosto centrifugado, foram adicionados 3 mL de solução saturada de KCl e 20 mL de etanol absoluto, promovendo assim, sob agitação a precipitação da goma (RAMIREZ *et al.*, 1988). O precipitado obtido foi separado por filtração a vácuo em membrana Millipore de porosidade de 0,45 µm, lavado com soluções alcoólicas de

concentrações crescentes (70 %, 80 %, 90 %, e etanol absoluto), nas quais permaneceu em contato por cerca de 10 minutos (ALVES, 1991). A secagem do produto foi realizada em estufa a 55 ± 1 °C até peso constante.

3.3.6 – Determinações Quantitativas para Acompanhamento do Processo Fermentativo

3.3.6.1 – Teor de Lactose

A concentração de lactose e açúcares redutores totais (ART) foi determinada no sobrenadante, pelo método espectrofotométrico baseado em curva de calibração a 540 nm relacionando a densidade ótica com a concentração de açúcar (Apêndice D), medida pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS), após centrifugação do mosto à 14880g por 60 minutos (NITSCHKE *et al.*, 2001).

3.3.6.2 – Teor de Sacarose

A concentração de sacarose foi determinada no sobrenadante, pelo método espectrofotométrico baseado em curva de calibração a 540 nm relacionando a densidade ótica com a concentração de açúcar (Apêndice D), medida pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS), após centrifugação do mosto à 14880g por 60 minutos e hidrólise ácida (adição de 1mL de HCl 2N para cada 1 mL de amostra , aquecimento à 65°C por 10 minutos, seguido da adição de 3 mL de NaOH 1N) (ALVES, 1991).

3.3.6.3 – Teor de Xantana

A concentração de xantana foi determinada, através de seu peso seco, ao final das fermentações e após precipitação, filtração e lavagens da goma. A goma recuperada e purificada foi colocada em estufa a $55\pm 1^\circ\text{C}$ até peso constante.

3.3.6.4 – Determinação da Biomassa

As células foram separadas por centrifugação em centrífuga Eppendorf 5403 a 14880g por 60 minutos. Em seguida foram ressuspensas em solução salina 0,85 % (DE VUYST & VERMEIRE, 1994) e submetidas a duas novas centrifugações para completa eliminação do biopolímero. Para a quantificação celular foi utilizado método espectrofotométrico baseado em curva de calibração construída a 610 nm (Apêndice D) relacionando absorvância com o peso seco a 90°C (GARCIA-OCHOA *et al.*, 1992).

3.3.6.5 – Viscosidade aparente do mosto

As amostras foram processadas em centrífuga Eppendorf 5403 a 14880g por 60 minutos. O sobrenadante foi aquecido a 80°C por 30 min e a viscosidade foi determinada em Brookfield Viscometer modelo LVDV - III, com acessórios Small Sample Adapter (SC4-18) para as primeiras 48h de fermentação e (SC4-31/13R) para o restante das amostras. As análises foram feitas a 28°C , dentro da faixa de velocidade angular de 10 a 210 rpm. Nesta faixa de velocidade angular, a taxa de deformação experimentada pelas amostras, variou de acordo com o tempo de produção, ou seja, $132,00 - 316,80 \text{ s}^{-1}$ (0-36h), $54,40-74,80 \text{ s}^{-1}$ (48h), $6,8 - 81,60 \text{ s}^{-1}$ (60-120 h) , $0,07 - 0,34 \text{ s}^{-1}$ (168h).

3.3.7 – Cinética do processo fermentativo.

A cinética do processo fermentativo foi realizada no meio de soro de leite (49 g/L lactose sem a presença do extrato de levedura) em reator batelada 2L com 1,5L de capacidade útil. As amostras foram coletadas de 12 em 12h por 168h, para análise do residual de lactose, biomassa, viscosidade e goma produzida. A partir destes dados pode-se calcular os parâmetros cinéticos dos processos através das equações abaixo:

Eficiência de conversão substrato-produto ($Y_{p/s}$):

$$Y_{p/s} = \frac{P_f - P_0}{S_0 - S_f} \quad (19)$$

Onde P_f e P_0 = concentração de goma final e inicial no meio fermentado.

S_0 e S_f = quantidade inicial e final de açúcar redutor no meio.

Eficiência de conversão substrato-biomassa ($Y_{x/s}$):

$$Y_{x/s} = \frac{X_f - X_0}{S_0 - S_f} \quad (20)$$

Onde X_f e X_0 = concentração final e inicial de biomassa no meio fermentado.

Velocidade específica máxima de crescimento (μ_m):

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m X \quad (21)$$

Onde dX/dt = taxa de crescimento; X concentração de células.

μ_m = velocidade específica máxima de crescimento.

Tempo de geração (t_g):

$$t_g = \frac{\ln 2}{\mu_m} \quad (22)$$

Onde t_g = tempo de geração.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Seleção da Linhagem

Conforme pode ser observado na Tabela 13, as linhagens de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-33 e *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-15 apresentaram, nas condições estudadas, como as melhores produtoras da goma xantana e, entre essas, foi selecionada a LFR-4 por apresentar a maior produção.

Tabela 13 – Seleção das linhagens em meios de lactose e soro de leite.

LINHAGEM	YP/S (g/g) MEIO DE LACTOSE	YP/S (g/g) MEIO DE SORO
<i>X. campestris</i> pv <i>campestris</i> LFR-1	0,38	0,00
<i>X. campestris</i> pv <i>campestris</i> LFR-3	0,00	0,00
<i>X. campestris</i> pv <i>campestris</i> LFR-4	0,62	0,64
<i>X. campestris</i> pv <i>campestris</i> LFR-15	0,49	0,57
<i>X. campestris</i> pv <i>campestris</i> LFR-33	0,57	0,60
<i>X. campestris</i> pv <i>campestris</i> LFR-407	0,38	0,00
<i>X. campestris</i> pv <i>campestris</i> LFR-585	0,40	0,46

Na Tabela 13 também pode ser observado que duas linhagens (*X. campestris* pv *campestris* LFR-1 e *X. campestris* pv *campestris* LFR-407) apresentaram rendimento baixo, mesmo após indução ao meio de lactose. A linhagem de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-3 não produziu o biopolímero em meio de lactose sintético e soro de leite. Estas linhagens também apresentaram menor rendimento em goma entre as que foram analisadas por Lima (1999), quando

selecionou linhagens de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* com potencial de produção de goma xantana, em condições ótimas de crescimento (meio de glicose em reator batelada). Stauffer & Leeder (1978) reportaram que *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 não produziu caldo viscoso em soro integral ou lactose. Uma possível razão para a não utilização da lactose por *X. campestris* pode estar relacionado com a β -galactosidase destas bactérias que apresentam baixa afinidade pela lactose.

Schwartz & Bodie (1985) induziram *X. campestris* NRRL B-1459 a utilizar lactose como fonte de carbono, através de transferências sucessivas em meio com lactose. Após a quarta transferência e vários dias de incubação a bactéria foi capaz de converter soro em xantana. O isolado perdeu a produtividade quando foi mantido em condições não-seletivas. Uma indução de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ao meio de soro de leite também foi feita neste trabalho, após várias tentativas de produção sem êxito. A partir deste fato conseguiu-se mostos viscosos em meio de soro de leite.

Nitschke *et al.* (1997) também encontraram resultados em rendimento diferentes para as várias linhagens avaliadas, quando selecionaram isolados da bactéria *Xanthomonas campestris* pela capacidade em utilizar lactose para produzir xantana em meio contendo soro não hidrolisado e sais minerais. Os isolados selvagens da espécie *Xanthomonas campestris* foram separados, após transferências em série em meio de lactose, por utilização deste açúcar. O crescimento foi avaliado por medidas de turbidez (610nm) até a viscosidade tornar-se visível. Uma alçada desta cultura foi propagada em placa contendo meio de lactose-ágar e incubadas a 28 °C. As maiores e mais viscosas colônias foram selecionadas e mantidas em meio de lactose sintético inclinado a 4 °C. Após seleção

quatro linhagens (R1L, R3L, C7L e CV2C1L) foram capazes de produzir xantana usando lactose como fonte de carbono. A linhagem NRRL B-1459 L, selecionada da NRRL B1459 por transferências em série em meio de lactose sintético, cresceu pouco mostrando pequenas colônias e não produziu nenhum aumento na viscosidade do mosto.

Frank & Somkuti (1979) observaram que a atividade da β -galactosidase era baixa para algumas linhagens de *Xanthomonas campestris* e esta deveria ser a razão da incapacidade de algumas linhagens para utilizar lactose ou soro como substrato para produzir xantana. Nitschke *et al.* (1997) concluíram que a capacidade de algumas linhagens para utilizar substratos alternativos pode ser devido à seleção de uma nova população de células bacterianas a qual tem adequado perfil enzimático.

4.2 – Avaliação da linhagem selecionada em diferentes fontes de carbono e condições de cultivo

Após a seleção da linhagem, esta foi submetida a fermentações com diferentes fontes de carbono e a condições operacionais cujas variáveis foram identificadas, em estudos preliminares, como parâmetros capazes de influenciar o rendimento, são eles: a concentração do inóculo (C), o percentual do inóculo (I) e a agitação (Ag).

4.2.1 – Experimento fatorial 2³ utilizando soro de leite e sacarose como substratos.

A Tabela 14 apresenta a matriz de experimentos do planejamento experimental 2³, bem como os resultados obtidos em termos de percentual de

rendimento para os substratos estudados, R₁ (soro de leite) e R₂ (sacarose), respectivamente.

Tabela 14 – Matriz e resultados do experimento fatorial 2³, utilizando soro de leite (R₁) e sacarose (R₂) como substratos em termos de % de rendimento.

Ensaio	Concentração (g/L)	Inóculo (%)	Agitação (rpm)	R ₁ (%)	R ₂ (%)
1	-1	-1	-1	52,00	73,00
2	1	-1	-1	84,00	43,00
3	-1	1	-1	63,00	74,00
4	1	1	-1	67,00	67,00
5	-1	-1	1	69,00	65,00
6	1	-1	1	34,00	32,00
7	-1	1	1	70,00	56,00
8	1	1	1	42,00	42,00

Observando-se os resultados obtidos para a R₁ percebe-se que o rendimento variou entre 34 e 84 %, sendo o Ensaio 2, o que apresentou os melhores resultados, com condições experimentais: concentração (+1), inóculo (-1) e agitação (-1). R₂ variou entre 32 e 74 %, obtendo os melhores resultados para o Ensaio 3, o qual apresentava as seguintes condições experimentais: concentração (-1), inóculo (1) e agitação (-1).

O erro experimental foi estimado através dos resultados obtidos para os experimentos realizados nas condições apresentadas na Tabela 15.

Tabela 15 – Experimentos para estimar o erro experimental, utilizando soro de leite (R₁) e sacarose (R₂) como substratos, em termos de % de rendimento.

Ensaio	Concentração (g/L)	Agitação (rpm)	R ₁	R ₂
1	0	0	39,00	43,00
2	0	0	42,50	45,00
3	0	0	44,00	38,00
4	0	0	37,50	35,00

A Tabela 16 apresenta a estimativa dos efeitos principais das variáveis estudadas, bem como os efeitos de interação.

Tabela 16 – Efeitos estimados para o experimento fatorial 2^3 , utilizando soro de leite (R_1) e sacarose (R_2) como substratos.

Efeitos	Valores estimados / Erro experimental	
	R_1	R_2
Grande Média	60,13±1,4	56,50±2,3
Efeitos Principais		
C	-6,75±2,9	-21,00±4,6
I	0,75±2,9	6,50±4,6
Ag	-12,75±2,9	-15,50±4,6
Efeitos das Interações		
C x I	-5,25±2,9	10,50±4,6
C x Ag	-24,75±2,9	-2,50±4,6
I x Ag	3,75±2,9	-6,00±4,6
C x I x Ag	8,75±2,9	-1,00±4,6
$t_{(3;0,95)} \times S_{efeito}$	9,23	14,64

Para se avaliar a significância estatística dos efeitos foram calculados os intervalos com 95 % de confiança para cada efeito. São considerados significativos os efeitos cujos valores absolutos são superiores aos valores apresentados na última linha da Tabela 16. Portanto, ao se analisar os resultados de R_1 , observou-se que entre os efeitos principais somente a agitação (Ag) foi significativo e entre as interações somente a interação concentração-agitação (C x Ag). Por outro lado, ao se analisar R_2 , somente o percentual de inóculo (I) não apresentou efeito significativo, e nas interações nenhuma apresentou efeito significativo.

Desprezando o percentual de inóculo (I), pode-se rearranjar o experimento, em um planejamento de configuração 2^2 duplicado, conforme a Tabela 17.

Tabela 17 – Matriz e resultados do experimento fatorial 2^2 , utilizando soro de leite (R_1) e sacarose (R_2) como substratos, em termos de % de rendimento.

Ensaio	Concentração (g/L)	Agitação (rpm)	R_1 (média)	R_2 (média)
1	-1	-1	57,50	73,50
2	1	-1	75,50	55,00
3	-1	1	69,50	60,50
4	1	1	38,00	37,00

A estimativa dos efeitos, bem como o erro experimental são apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 – Efeitos estimados para o experimento fatorial 2^2 , utilizando soro de leite (R_1) e sacarose (R_2) como substratos, em termos de % de rendimento.

Efeitos	Valores estimados/ Erro experimental	
	R_1	R_2
Grande Média	60,13±2,7	56,50±3,4
Efeitos Principais		
C	-6,75±5,5	-21,00±6,9
Ag	-12,75±5,5	-15,50±6,9
Efeitos das Interações		
C x Ag	-24,75±5,5	-2,50±6,9
$t_{(4;0,95)} \times S_{efeito}$	15,13	19,11

Analisando os efeitos sumarizados na Tabela 18 para o nível de confiança de 95 % e com 4 graus de liberdade, observa-se que para R_1 as variáveis concentração (C) e agitação (Ag) não têm efeitos significativos isoladamente, mas, a interação entre elas apresentou significância. Entretanto, ao se analisar R_2 observa-se que somente concentração (C) apresentou efeito significativo, não havendo efeito de interação.

A Figura 13 apresenta um diagrama contendo as respostas médias em todas as combinações de nível das variáveis para R_1 .

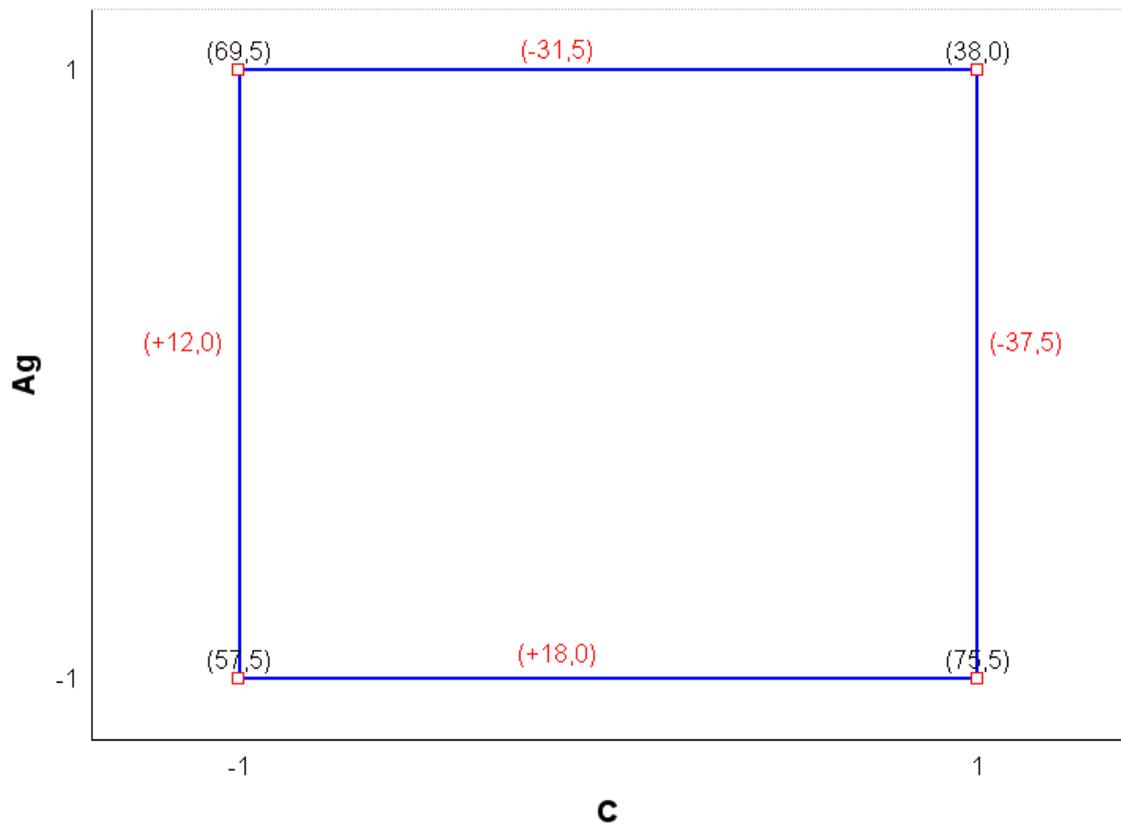


Figura 13 – Diagrama das respostas médias do planejamento 2^2 , para % R utilizando o soro de leite (R_1) como substrato.

Percebe-se que ao se variar a concentração de (-1) para (+1) com a agitação mantida em (-1) há um aumento no rendimento de 18 %. Porém, quando a agitação está em (+1) há uma queda de rendimento de -31,5 %. Fixando-se a concentração (C) em seu nível mais baixo (-1) e variando a agitação (Ag) de (-1) para (+1) ocorre um aumento de rendimento de 12 %. Mas, ao se fixar a concentração (C) em seu nível mais alto (+1) ocorre um decréscimo de rendimento de -37,5 % ao se variar a agitação (Ag) de (-1) para (+1).

Este fato pode ser explicado devido a interação da concentração e agitação. Quando se tem uma agitação maior, há uma maior homogeneização da amostra, e com uma maior concentração de soro, ocorre um maior desprendimento de amônia da hidrólise das proteínas, fato este, confirmado por um aumento no pH final das

amostras, o que acarreta em um menor rendimento da fermentação (SCHWARTZ & BODIE, 1985).

Schwartz & Bodie (1985), trabalhando com meio de soro de leite em Erlenmeyers de 500 mL, contendo 100mL de meio, a uma agitação de 300 rpm, em Shaker, observaram que quando acrescentavam lactose sintética (13 g/L) a um meio de soro de leite contendo em média 15 g/L de lactose, a viscosidade do meio aumentava. Mas se esse acréscimo de açúcar fosse proveniente de um maior percentual de soro de leite no meio, este mosto não ficava viscoso ainda que a lactose do meio tivesse sido consumida. Eles atribuíram este fato ao aumento de pH nas amostras, provocado por um maior desprendimento de amônia, quando se trabalha com uma concentração maior de soro. Este aumento no pH decorrente da hidrólise das proteínas também foi reportado por Charles e Radjai (1977), trabalhando com meio de soro de leite.

Em uma análise feita a partir dos resultados obtidos neste experimento, pode-se concluir que para se ter um bom inóculo com soro de leite tem-se dois caminhos: trabalhar com um nível menor de agitação e um nível maior de concentração (76 % rendimento) ou se trabalhar com um nível menor de concentração e um nível maior da agitação (70 % rendimento).

Analisando-se o efeito da concentração (C) em R_2 , percebe-se que há um decréscimo de rendimento de 21 % em média quando se passa de (-1) para (+1).

Alguns pesquisadores (LILLY *et al.*, 1958; MORAINÉ & ROGOVIN, 1971; ALVES, 1991) afirmaram que ao se trabalhar com uma concentração maior de substrato nas fermentações a conversão do açúcar em xantana é menor, diminuindo o rendimento. Este fato só é explicável trabalhando-se em escala menor (shaker)

onde as condições experimentais empregadas são bem diferentes das usadas em um reator, em que a difusão de nutrientes é determinada a partir das condições de aeração e agitação utilizadas.

Alves (1991) trabalhando em shaker com sacarose como fonte de carbono a 20, 30 e 40 g/L encontrou os rendimentos de 64 %, 48 % e 37 % respectivamente, que estão de acordo com os resultados encontrados neste experimento.

4.2.2 – Experimento fatorial 2² utilizando soro de leite e sacarose como substratos.

A Tabela 19 apresenta a matriz de experimentos, bem como os resultados obtidos no planejamento experimental 2², acrescida de quatro repetições no ponto central, em termos de rendimento percentual (R). Observa-se que o rendimento variou entre 25 e 62 %. Sendo o melhor resultado obtido para o Ensaio 1, cujas condições experimentais foram concentração (-1) e agitação (-1).

Tabela 19 – Matriz e resultados do experimento fatorial 2², utilizando soro de leite (R₁) e sacarose (R₂) como substratos, em termos de % de rendimento.

Ensaio	Concentração (g/L)	Agitação (rpm)	R ₁ (%)	R ₂ (%)
1	-1	-1	54,00	62,00
2	1	-1	33,00	50,00
3	-1	1	36,00	49,00
4	1	1	25,00	44,00
5	0	0	40,84	43,15
6	0	0	36,76	45,19
7	0	0	44,34	38,06
8	0	0	41,43	35,00

Observa-se que para ambos os substratos utilizados os melhores resultados foram obtidos quando as variáveis concentração e agitação encontravam-se em

seus níveis mais baixos. Porém, de forma geral, neste experimento, a sacarose teve um melhor rendimento que o soro de leite.

A estimativa dos efeitos das variáveis estudadas e os efeitos de suas interações estão sumarizadas na Tabela 20.

Tabela 20 – Efeitos estimados para o experimento fatorial 2^2 , utilizando soro de leite (R_1) e sacarose (R_2) como substratos.

Efeitos	Valores estimados / erro experimental	
	R_1	R_2
Grande Média	38,92±1,1	45,8±1,6
Efeitos Principais		
C	-16±3,1	-8,5±4,6
Ag	-13±3,1	-9,5±4,6
Efeitos das Interações		
C x Ag	5±3,1	3,5±4,6
$t_{(3;0,95)} \times S_{efeito}$	9,93	14,82

Observa-se que para R_1 todas as variáveis apresentaram efeitos principais estatisticamente significativos ao nível de confiança de 95 %, por outro lado, a interação entre as variáveis não apresentou efeito significativo. Ao se analisar R_2 percebe-se que nenhuma das variáveis, bem como sua interação, apresentou efeito significativo.

Neste segundo experimento, a variável R_1 (soro) não apresentou efeito na interação concentração-agitação ($C*Ag$), mas apresentou efeitos isolados na concentração (C) e agitação (Ag), que devem estar relacionados ao desprendimento maior de amônia originado da hidrólise das proteínas, quando se trabalha com uma maior concentração ou uma agitação mais vigorosa (SCHWARTZ & BODIE, 1985).

Rogovin *et al.* (1961) também observaram fatores de rendimento decrescentes com o aumento da concentração de substrato quando testaram concentrações iniciais de glicose de 10 a 100 g/L, alcançando uma maior conversão (90%) de glicose em xantana quando trabalharam com 10 g/L de glicose. Já Moraine & Rogovin, (1971), concluíram que aumento na concentração final de produto, para concentrações de substrato acima de 40 g/L, só era possível quando havia controle de pH durante o processo.

Nitschke *et al.* (1997) testaram vários meios de cultura à base de soro de leite trabalhando em Erlenmeyers de 250 mL, contendo 50 mL de meios com concentrações de lactose que variavam de 15 a 46 g/L, conseguindo um melhor rendimento quando trabalharam com uma menor concentração (30 g/L) de lactose no meio.

A variável R_2 (sacarose), neste segundo experimento, não apresentou nenhum efeito estatisticamente significativo. Apesar da falta de significância dos efeitos, estes indicam que o melhor rendimento foi obtido quando as variáveis estudadas encontravam-se em seus níveis mais baixos.

Após a análise dos dois planejamentos houve um consenso em se trabalhar com uma menor concentração e menor agitação, para o preparo do inóculo. De uma forma geral, melhores resultados em rendimento e conseqüentemente mostos mais viscosos para início da produção foram alcançados com estes parâmetros.

4.3 – Influência de nutrientes na produção de goma xantana em meio de soro de leite.

Após determinar as melhores condições do inóculo para a produção da goma e avaliar as diferenças entre os dois planejamentos experimentais, verificou-se a

necessidade de uma avaliação dos nutrientes essenciais ao meio de soro de leite. A influência dos nutrientes foi avaliada através de 2 experimentos onde foram analisados os parâmetros: composição do meio do inóculo, presença de ácido cítrico e extrato de levedura no meio de produção. Entre os experimentos foi necessário realizar uma nova adaptação da linhagem *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4 por esta não apresentar reprodutibilidade nas viscosidades dos mostos.

4.3.1 – Experimento I

Neste experimento foi selecionado o melhor meio para o preparo dos inóculos e avaliado os efeitos da presença do extrato de levedura e do ácido cítrico em meios de soro de leite, para produção de xantana.

Analisando-se o gráfico da Figura 14 foi verificado que o meio para o inóculo que apresentou melhor produção foi o meio de soro na concentração 2,0%, em meio de produção de soro com adição do extrato de levedura.

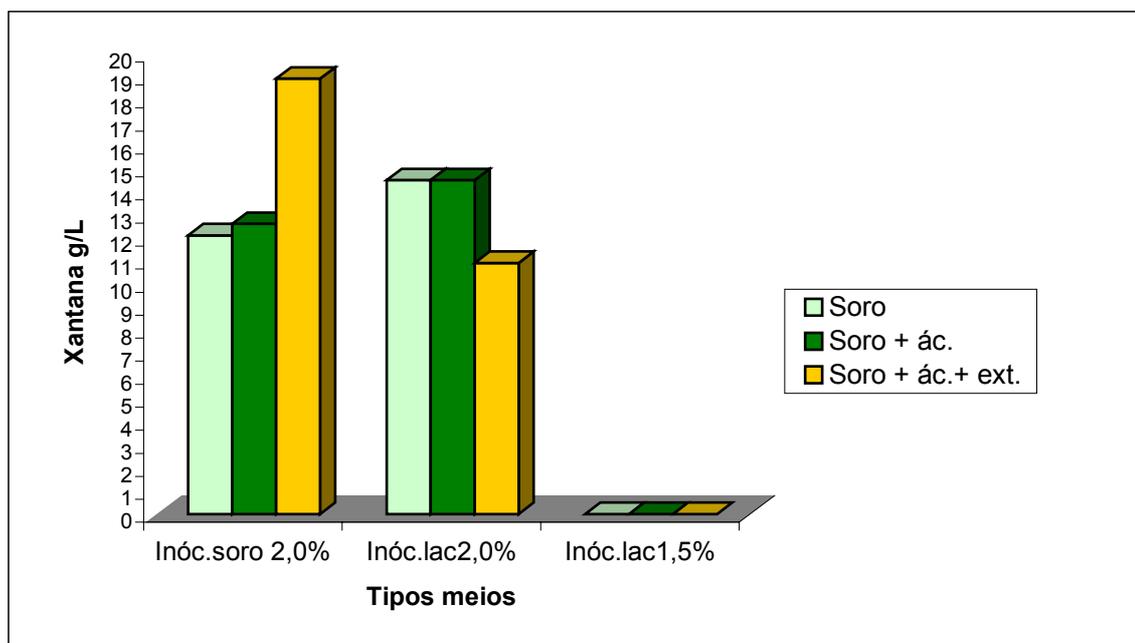


Figura 14 – Produção de goma xantana em diferentes meios.

Na Tabela 21 são apresentados os resultados da produção de xantana pela linhagem LFR-4 nas três diferentes formulações à base de soro de leite. Observou-se que o meio de soro 3 (meio com ácido cítrico e extrato de levedura) apresentou maior fator de rendimento em relação aos outros meios testados. Este meio também apresentou, visualmente, um mosto mais viscoso em relação aos outros. Estes fatos sugerem que o processo, em meio de soro de leite contendo extrato de levedura e ácido cítrico como nutrientes apresentam maior potencial de produção e fator de rendimento.

Tabela 21 – Comparação dos resultados obtidos em diferentes meios de soro de leite.

Tipo de meio de soro	Xantana (g/L)	Yp/s (g/g)
Meio 1	12,1	0,40
Meio 2	12,6	0,41
Meio 3	18,9	0,63

Schwartz & Bodie (1985) também verificaram um aumento de viscosidade em meio de soro de leite acrescido de extrato de levedura. Neste trabalho, foi comparado as viscosidades e consumo de açúcar dos meios de soro de leite (15 g/L de lactose), 5 g/L de K_2HPO_4 contendo ou não extrato de levedura. O meio contendo extrato de levedura alcançou 215 cP, na taxa de cisalhamento de 12 s^{-1} e um residual de lactose no meio menor que 5g/L, em 144h de processo. Já o meio sem o extrato só conseguiu 31 cP nas mesmas condições de processo e um residual de lactose no meio de 4g/L. Nitschke *et al.* (1997) averiguaram que a adição de extrato de levedura ao meio de soro de leite não era necessária, pois este meio demonstrou produção similar e viscosidade menor a um meio sem extrato de levedura.

O meio de cultura 2 teve influência positiva com a adição do ácido cítrico, confirmando estudos anteriores de outros pesquisadores. Souw & Demain (1980)

verificaram que a inclusão de citrato em meios de cultivo para a produção de xantana era benéfica. Estudando mais detalhadamente o efeito deste composto sobre a formação do polímero, concluíram ser o citrato estimulante na concentração de 1,0 – 2,0 g/L, em fermentações sem controle de pH, tanto para meios quimicamente definidos como para meios complexos. Thonart *et al.* (1985) estudando a influência da concentração de citrato, para um meio contendo 40g/L de glicose, verificaram que tanto o fator de rendimento (Y_p/s), quanto a concentração final de xantana foram máximos, quando se utilizou 3 g/L deste composto, enquanto que a máxima concentração de biomassa foi obtida com 1g/L. Para valores acima de 3 g/L a influência tornou-se negativa.

4.3.2 – Adaptação da linhagem selecionada ao meio de soro de leite.

No experimento I descrito no item 4.3.1 foram encontrados rendimento e viscosidade do mosto maior com meio de soro de leite acrescido de ácido cítrico e extrato de levedura. Mas, com a continuidade das fermentações não se conseguiu uma constância nos rendimentos e viscosidades dos mostos, tornando-se necessário uma análise na estabilização da linhagem selecionada e uma reavaliação nos componentes do meio de soro de leite.

Com a dificuldade em se conseguir mostos mais viscosos para fermentação foi mudado o tempo de repique da linhagem, passando de 30 dias para 14 dias (GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000), e realizada uma nova indução da linhagem segundo Schwartz & Bodie (1985). Nesta análise também foi visto que a relação C/N influenciava a produção de xantana. Segundo Sutherland (1982) uma elevada concentração de nitrogênio é necessária para um rápido crescimento celular, entretanto, quando a concentração de nitrogênio no meio de cultura for muito

elevada, a xantana produzida apresentará propriedades reológicas inadequadas. Neste caso o extrato de levedura acrescido ao meio de produção de soro de leite alteraria a relação C/N com um acréscimo a mais de proteínas. Com a linhagem adaptada, foram feitos novos experimentos. A Tabela 22 mostra o resultado da nova indução da bactéria ao meio de soro de leite.

Tabela 22 – Indução da linhagem da bactéria *X. campestris* LFR-4 ao meio de soro de leite.

Meios	Transferências	Tempo de incubação (dias)	Viscosidade
Soro (20 g/L)		1	Ausência de goma
Lactose (20 g/L)	1	10	Ausência de goma
	2	5	Ausência de goma
	3	4	Ausência de goma
	4	3	Ausência de goma
Soro (20g/L)	5	7	Presença de goma
	6	4	Presença de goma

4.3.3 – Experimento II

Este experimento teve como objetivo reavaliar os efeitos da presença do extrato de levedura e do ácido cítrico em meios de soro de leite, para produção de xantana. Os resultados obtidos (Tabela 23) demonstram que o meio 1 (meio sem ácido cítrico e extrato de levedura) apresentou a maior produção e a maior viscosidade de mosto. O meio 2 apresentou o maior coeficiente de conversão em produto (Y_p/s), mas a menor quantidade de xantana no meio. O meio com extrato de

levedura e ácido cítrico (meio 3) teve o menor coeficiente de conversão, com produção intermediária entre os dois meios.

Tabela 23 – Comparação dos resultados obtidos em diferentes meios de soro de leite.

Tipo de meio de soro	Xantana (g/L)	Yp/s (g/g)	Aspecto mosto	pH final
Meio 1	9,4	0,54	Viscoso (+++)	7,5
Meio 2	5,8	0,76	Viscoso (+)	9,5
Meio 3	6,9	0,39	Viscoso (++)	9,5

Os novos experimentos estão de acordo com os resultados encontrados por Nitschke *et al.* (1997) que fizeram testes com diferentes composições de meios e encontraram o melhor resultado com o meio de soro de leite integral acrescido de sais.

O meio 2 (acrescido de ácido cítrico) apresentou um rendimento de 76%. Jana & Ghosh (1997) encontraram um rendimento próximo (80%), quando acrescentaram 2,6 g/L de ácido cítrico ao meio de crescimento e produção, em condições de oxigenação baixas. Esta adição de ácido não melhorou a produção da xantana quando não existiu limitação na aeração.

A partir dos novos procedimentos, ou seja, nova adaptação da linhagem e um tempo menor para repique, os meios de soro de leite sem a presença do extrato de levedura apresentaram uma maior viscosidade.

4.4 – Produção de Goma Xantana em Reator

Foram realizadas fermentações em meio de soro de leite, com composições adaptadas de trabalhos de Lima (1999) e Nitschke *et al.* (2001). A literatura

encontrada para produção de xantana, neste meio, já foi mencionada na investigação dos nutrientes necessários ao meio de soro de leite. Estas referências são contraditórias em relação à presença do nutriente extrato de levedura. Como as condições em shaker são bastante diferentes das de um reator, em relação ao controle de pH, agitação e aeração, estes experimentos foram repetidos com e sem a presença do extrato de levedura. Foram realizadas três fermentações variando a composição dos meios de cultivo. A Figura 15 apresenta o aspecto fibroso da xantana após a recuperação e purificação da goma.

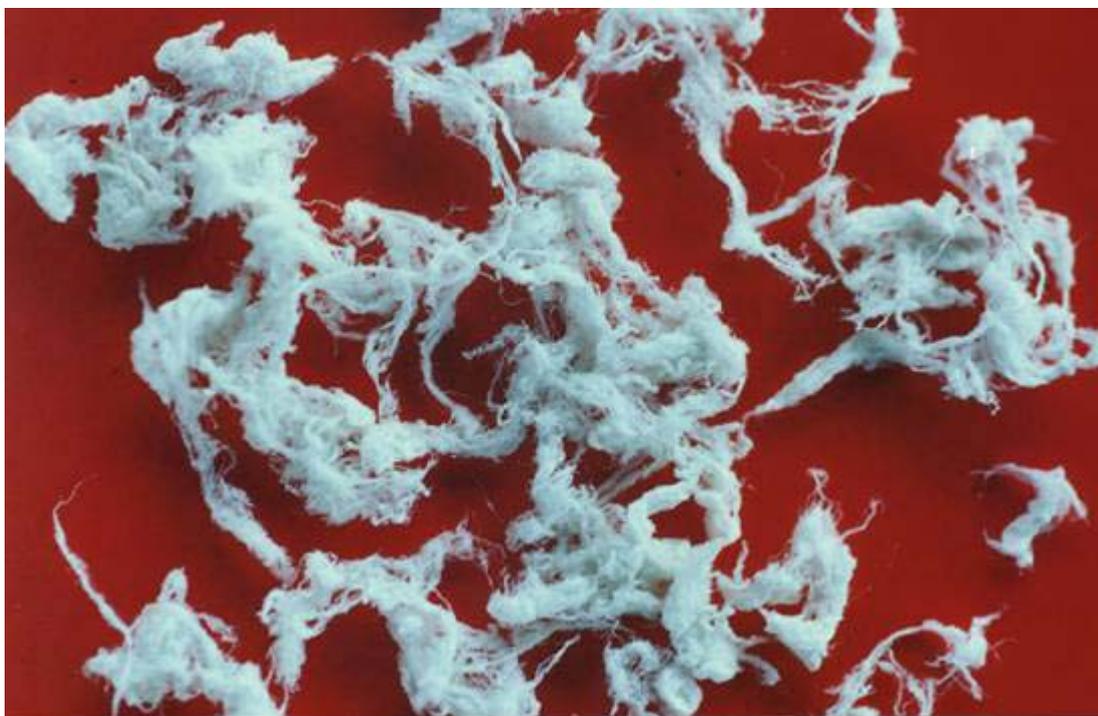


Figura 15 – Aspecto da goma xantana após o processo de recuperação e purificação.

Fonte: Lima (1999, p.107).

A fermentação de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* em meio de soro de leite integral e não filtrado, em reator de 2L, provocou bastante espuma nas primeiras 24h de processo ficando impossível trabalhar sem um antiespumante adequado a fermentação. Foram feitas duas tentativas com antiespumantes a base

de silicone, o primeiro Kollasol Lok da CHT, não quebrou a espuma do meio ficando a fermentação prejudicada. O segundo Kuriless 100 da Kurita quebrou a espuma do meio, mas a quantidade de antiespumante usada para tornar a espuma estável tornou a fermentação inviável, devido ao aumento do volume do meio. Tentou-se então diminuir a quantidade de proteínas do meio, separando o “excesso” de precipitados após a autoclavação. A quantidade de espuma diminuiu, mas o meio não se tornou viscoso após 96h de processo. O antiespumante que se adequou ao processo foi um produto a base de copolímeros condensados de óxido de etileno e óxido de propileno, Prevol UC, da Clariante. Com este antiespumante foi utilizado um volume de 1mL, antes de esterilizar e 5mL durante o restante da fermentação.

Lorda *et al.* (1995) também tiveram dificuldades com a quantidade de espuma formada no início do processo quando trabalhou com *X. campestris* em meio de glicose ativado com farinha de *amaranto* em reator de 2,5L a 750 rpm. Conseguiu estabilizar a espuma adicionando um volume de 10 mL de um antiespumante a base de silicone (20 %) antes de esterilizar e 120 mL deste produto durante o restante da fermentação.

4.4.1 – Efeitos da composição de meios de soro de leite na produção da goma xantana.

A Tabela 24 apresenta os dados das 3 fermentações. Na primeira fermentação pode-se observar que do substrato consumido na fermentação, 30 % foi para produção de xantana e 3 % para crescimento e multiplicação celular, indicando que a maior parte do açúcar metabolizado foi para outros fins. Apesar do rendimento desta fermentação ter sido baixo, a viscosidade final da xantana foi

excelente de acordo com os dados da literatura (SCHWARTZ & BODIE, 1985; LIMA, 1999 NITSCHKE *et al.*, 2001).

Tabela 24 – Parâmetros obtidos para as diferentes composições dos meios utilizados.

Meio de soro	50 g/L lactose acrescido de extrato de levedura	28 g/L lactose acrescido de extrato de levedura	49 g/L lactose sem extrato de levedura
S ₀	50,00 g/L	28,07 g/L	48,95 g/L
S _f	10,30 g/L	8,16 g/L	29,63 g/L
S ₀ - S _f	39,70 g/L	19,91 g/L	19,32 g/L
P ₀	0,00 g/L	0,00 g/L	1,70 g/L
P _f	11,90 g/L	8,80 g/L	13,60 g/L
X ₀	1,62 g/L	1,60 g/L	0,75 g/L
X _f	2,76 g/L	2,17 g/L	4,36 g/L
Y _{p/s}	0,30	0,44 g/L	0,62
Y _{x/s}	0,03	0,03	0,19
η_a final 1rpm/0,3s ⁻¹	24.024,90 cP	-	-
η_a final 216h 1rpm/0,3s ⁻¹	-	-	28.433,93 cP
η_a final 10rpm/3,4s ⁻¹	-	2.216,50 cP	2.921,4 cP
t _{processo}	168h	96h	168h

É importante ressaltar que o mosto da primeira fermentação teve a viscosidade e a concentração finais de xantana reavaliados, após um ano sob refrigeração 4 °C, e manteve a viscosidade e a concentração de xantana em valores muitos próximos a primeira análise. Neste caso, o mosto fermentado, mesmo possuindo enzimas possíveis de degradar a goma não sofreu alteração na viscosidade e na concentração da xantana. Este fato vai de acordo com o que Pace & Righelato (1981) afirmaram, que embora a goma xantana presente em sua

estrutura um esqueleto celolítico, não existe evidências de que a celulase de *Xanthomonas* seja capaz de degradá-la.

Segundo Alves (1991) a presença de certas enzimas formadas durante a produção da goma pode causar problemas em seu posterior processamento ou imprimir características indesejáveis ao produto final, restringindo, por exemplo, a gama de materiais com os quais é compatível. A presença de atividade celolítica em gomas xantana comercialmente disponíveis impossibilita sua utilização em mistura com ésteres de celulase, como a carboximetilcelulose.

Na segunda fermentação, mesmo com a concentração do substrato menor o coeficiente de rendimento continuou baixo ($Y_{p/s}=0,44\text{g/L}$), indicando mais uma vez que boa parte do açúcar da fermentação é utilizado para fins sem ser de produção e crescimento celular. Este dado está de acordo com a pesquisa de Pielken *et al.* (1987) que verificaram uma metabolização do açúcar em produtos ainda desconhecidos quando utilizaram extrato de levedura no meio de produção. Por outro lado, pode-se observar (Tabela 24) que tanto a produção como a viscosidade dos meios de soro de leite, com a presença do extrato de levedura estão dentro da faixa encontrada na literatura (SCHWARTZ & BODIE, 1985; LIMA, 1999; NITSCHKE *et al.*, 2001).

Pielken *et al.* (1987) estudaram o efeito da adição de pequenas quantidades de aminoácidos na produção de xantana e crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* NRRL B1459. Entre os vinte aminoácidos testados está a metionina, que é um aminoácido presente no extrato de levedura (EUNICE, 2003). O efeito mais pronunciado foi observado para lisina e metionina em concentrações de 5mM. A lisina aumentou em cerca de 25 % a produção de xantana, enquanto que a metionina provocou uma redução de 40 %. Como em presença de metionina, o

crescimento foi comparável ao controle, sem metionina, esta pareceu influenciar especificamente a produção do polissacarídeo, que foi investigado melhor. Células pré-cultivadas com metionina, recuperadas e lavadas de forma a eliminar qualquer resíduo de aminoácido, foram colocadas em um meio isento de nitrogênio, impedindo mais crescimento, mas possibilitando a formação de xantana. Neste caso a produção de polímero foi também diminuída, em relação às células pré-cultivadas sem metionina, indicando que esta não afeta as enzimas envolvidas na biossíntese do polissacarídeo, mas provoca uma modificação na composição enzimática celular, resultando em um fluxo de carbono alterado. Esta alteração estaria representada pela formação de uma grande quantidade de carboidratos de peso molecular mais baixo que a xantana, então detectados, e pela metabolização da glicose em produtos ainda desconhecidos.

A segunda fermentação (Tabela 24) foi similar ao trabalho de Schwartz & Bodie (1985), que trabalharam com uma concentração do meio de soro de leite (28 g/L lactose acrescido de extrato de levedura); pH controlado entre 6,5 e 7,5; porém com linhagem de bactéria e condições operacionais diferentes (reator com aeração de 1vvm e agitação de 500 rpm). Encontraram uma viscosidade final do mosto de 800 cP, na taxa de cisalhamento de 12 s^{-1} . Este valor da viscosidade não tem como ser comparado com a viscosidade do segundo experimento, 2.216,50 cP à $3,4 \text{ s}^{-1}$ (Apêndice B), pois as taxas de cisalhamento a que foram submetidos os fluidos são diferentes, mas pode-se analisar que os valores das viscosidades estão proporcionais com as taxas de cisalhamento empregadas.

Na terceira fermentação o consumo do açúcar da fermentação foi bem mais equilibrado para a produção de xantana e multiplicação celular. O rendimento da fermentação sem adição do extrato de levedura ficou em 62%, valor este maior que

encontrado por Nitschke *et al.* (2001) que conseguiram um rendimento de 55% utilizando na fermentação um sistema combinando soro integral e soro filtrado.

A relação C/N na terceira fermentação ficou em 30, relação considerada ótima para produção de xantana (FLORES-CANDIA; ZENG; DECKWER, 1999). De acordo com estes autores, tanto uma alta relação C/N (95), quanto uma baixa relação C/N (15) é ruim para produção de xantana. Para as propriedades reológicas da goma esta relação não foi considerada importante.

A biomassa máxima atingida nesta fermentação foi de 4,36g/L (Tabela 24). Outros pesquisadores também encontraram valores similares com *X. campestris*. *pv. campestris*: Rajeshwari *et al.* (1995) encontraram 5,56 g/L de biomassa máxima em um processo de produção de xantana usando um meio modificado contendo “jaggery” e milhocina em uma estratégia de alimentação intermitente. Estas fontes de carbono e nitrogênio contêm vários nutrientes promotores de crescimento e traços de metais. Jana & Ghosh (1997) avaliando os efeitos da adição de ácido cítrico na produção de xantana encontraram uma concentração de células de 4,0 g/L em 96h de fermentação. Chaitali *et al.* (2003) utilizaram para produzir xantana, glicose como fonte de carbono e uréia mais extrato de levedura como fontes de nitrogênio, encontrando uma concentração de células de 7,0 g/L ao final do processo.

A concentração do substrato ao final do processo, na terceira fermentação, foi alta, 29,63 g/L, (Tabela 24) devendo este fato ser decorrente da alta viscosidade alcançada dificultando a difusão dos nutrientes para as células.

Moraine & Rogovin (1973) atribuíram que o cessar do crescimento durante a fermentação não poderia ser atribuído somente à exaustão do nutriente limitante,

mas estaria também associado à produção da goma. Provavelmente a camada mucosa que cresce ao redor da célula, com o aumento da viscosidade do meio, estaria causando resistência ao transporte de nitrogênio e, portanto restringindo o crescimento. Este efeito poderia ser atenuado aumentando-se a força motriz para o transporte de nitrogênio, através do aumento da concentração do mesmo no meio de cultivo. O mesmo fenômeno foi apontado como possível explicação para o decréscimo da velocidade específica de formação do polímero no curso da fermentação.

Uma importante característica que reflete a qualidade do polímero é a capacidade viscosificante, que Ramirez *et al.* (1988) definiram como a viscosidade gerada por unidade do polissacarídeo, sugerindo que esta característica poderia ser usada como um índice para a qualidade da goma xantana. Lima (1999) trabalhando com a linhagem LFR-4, em meio de glicose (20 g/L) obteve nas condições estudadas, rendimento de 0,74 g/g e uma viscosidade final do mosto de 2.242 cP com taxa de cisalhamento variando de 0,2 a 20,4 s⁻¹. Quando utilizou o microrganismo da coleção de cultura (*Xantomonas campestris* NRRL B-1459) encontrou um rendimento $Y_p/s=0,61$ g/g e uma viscosidade final de 2.350 cP. Neste trabalho a autora encontrou para a linhagem de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4 uma capacidade viscosificante de 142 cP/ gL e para linhagem NRRL B-1459 192 cP/gL. Calculando a capacidade viscosificante dos dados obtidos na Tabela 24, para o terceiro experimento a 168h de processo, obtemos um valor de 214,8 cP/g.L⁻¹.

Nitschke *et al.* (2001) utilizando soro de leite integral como fonte de carbono para fermentação com *X. campestris*, alcançaram um rendimento de 55% e uma viscosidade de 9.506 cP a 0,6 rpm. Quando o meio foi um sistema combinando soro

integral e soro filtrado o rendimento foi de 55% e a viscosidade final de 18.000 cP a 0,6 rpm.

4.5 – Estudo cinético da produção de xantana

Uma forma de otimizar o processo fermentativo tem sido o estudo dos parâmetros cinéticos. Com relação a esse aspecto, a bactéria *X. campestris* tem sido intensamente estudada no que concerne à produção de xantana. Visando relacionar a produção de goma à dinâmica do processo, foi feito o acompanhamento do desenvolvimento do produto ao longo da fermentação, sendo a concentração de células, consumo de substrato e formação do produto quantificada. A cinética do processo fermentativo foi realizada no meio de soro de leite (49 g/L lactose sem a presença do extrato de levedura).

Observando-se o gráfico da Figura 16, verifica-se que o ambiente dinâmico onde se processou o catabolismo com produção da xantana, vai, gradativamente, favorecendo a produção de xantana ao longo do processo, desta forma confirma-se um comportamento associado ao crescimento celular e ao consumo de substrato.

No caso da cinética em estudo, observou-se $\mu_{\max} = 0,030/h$ para o período de 24 à 48h, apresentando um tempo de geração (t_g) igual a 23,10h. A velocidade específica máxima de crescimento celular está de acordo com os dados encontrados na literatura para formação do produto associado ao crescimento (Shuler & Kargi, 2002).

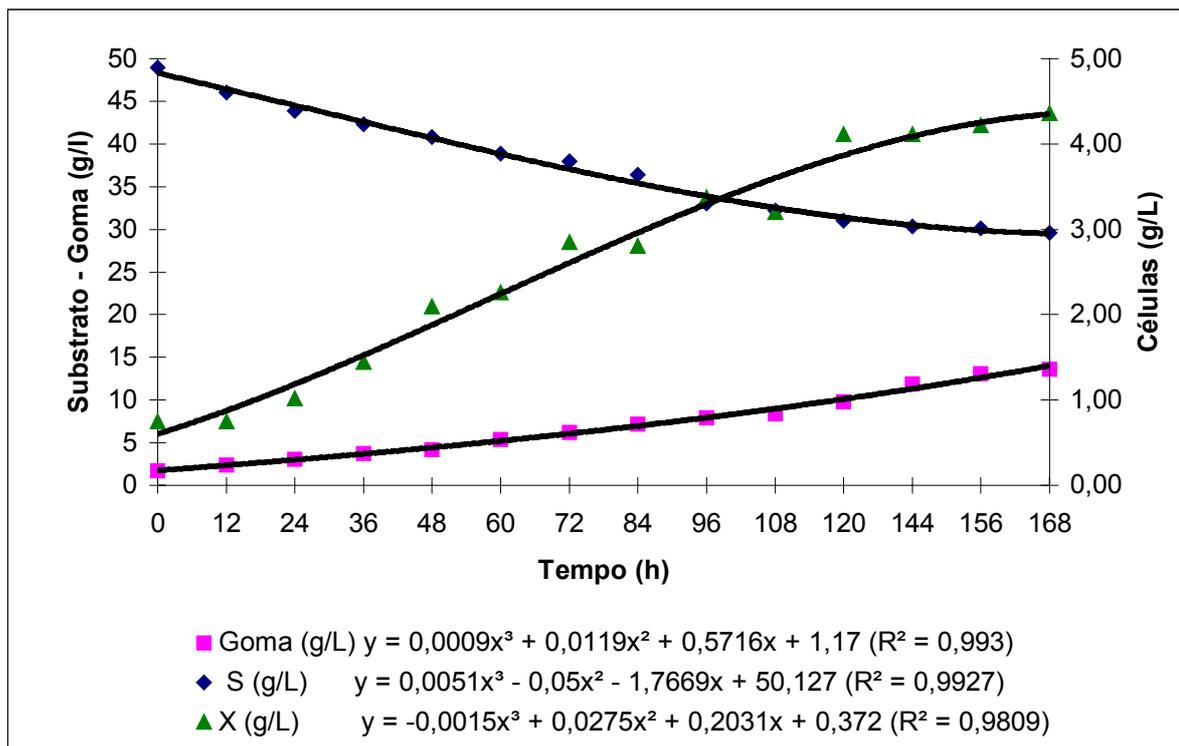


Figura 16 – Produção de goma xantana, biomassa e consumo de substrato ao longo do tempo.

Analisando-se os fatores de conversão de substrato em produto, $Y_{p/s}$, cujo valor obtido foi 0,6159 g/g e a conversão de substrato em células $Y_{x/s} = 0,1868$ g/g, verifica-se que ambos encontram-se coerentes com aqueles encontrados na literatura para os mais diferentes substratos. Woiciechowski (2001) utilizando hidrolisados de amido de mandioca e de cascas de café em diferentes fontes de nitrogênio obteve valores para μ_x que variaram de $0,0012h^{-1}$ a $0,0099 h^{-1}$, de acordo com a fonte de carbono e a fonte de nitrogênio, obtendo-se os melhores resultados quando considerou como fonte de nitrogênio o extrato de levedura e o pior resultado para a uréia. No tocante aos fatores de conversão, a autora obteve o maior valor, $Y_{p/s} = 0,7462$, quando a fonte de nitrogênio foi nitrato de potássio e a melhor conversão em células, $Y_{x/s} = 0,3494$, quando a fonte foi o extrato de levedura. Assim apesar do crescimento ter sido associado para a mesma fonte de carbono, a fonte de nitrogênio mudou o perfil de produção da goma. Resultados semelhantes foram

encontrados por Letisse *et al.* (2001) quando utilizaram sacarose como fonte de carbono e diferentes fontes de nitrogênio obtendo um μ_x que variou de 0,07 a 0,13 h⁻¹ e um rendimento em xantana da ordem de 65 %.

Garcia-Ochoa *et al.* (2003) analisando os diferentes modelos cinéticos para produção de xantana chamam atenção no que concerne ao fato da cinética desse produto ser afetada por inúmeras variáveis tais como composição do meio, temperatura, taxa de transferência de oxigênio além da fonte de nitrogênio empregada.

4.6 – Comportamento reológico do mosto fermentado

A caracterização reológica do mosto fermentado ao longo da fermentação é uma ferramenta importante na otimização do processo (LETISSE *et al.*, 2003), uma vez que dela depende diretamente as condições hidrodinâmicas (nível de agitação) e a transferência de oxigênio no sistema. Isto sem levar em consideração a questão de transporte e bombeamento do fluido através das tubulações da planta industrial.

A presente pesquisa direcionou sua atenção no estudo do comportamento reológico do mosto fermentado ao longo do período produtivo, ou seja, 0 a 168 h, para as seguintes condições de cultivos: meio de soro de leite (50 g/L lactose), temperatura na faixa de 28-32 °C, pH entre 6,5-7,5, agitação de 900rpm e taxa de oxigenação de 0,5 vvm. Amostras foram colhidas a cada 12 h. Como medida comparativa, foi também analisada uma amostra retirada após 168 horas de fermentação, em meio de soro de leite (50g/L lactose) com adição de extrato de levedura (Apêndice A).

A Figura 17, a Figura 18, e a Figura 19 mostram a evolução dinâmica do enriquecimento do mosto em xantana e a variação da viscosidade da suspensão à

medida que a fermentação ocorre. A concentração de xantana e a viscosidade aparente da suspensão variaram no intervalo de tempo de 0 a 144h, na faixa de 1,70 a 11,90 g/L; 3,09 a 1454,59 cP (Apêndice C), respectivamente.

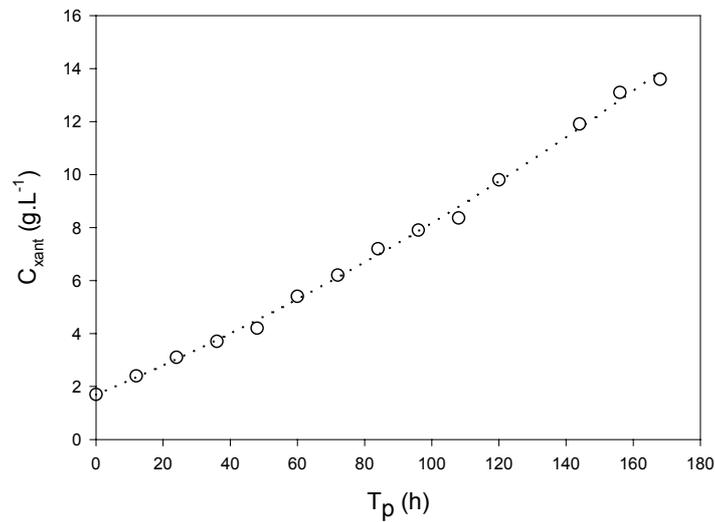


Figura 17 – Evolução dinâmica da concentração de xantana no meio de soro de leite.

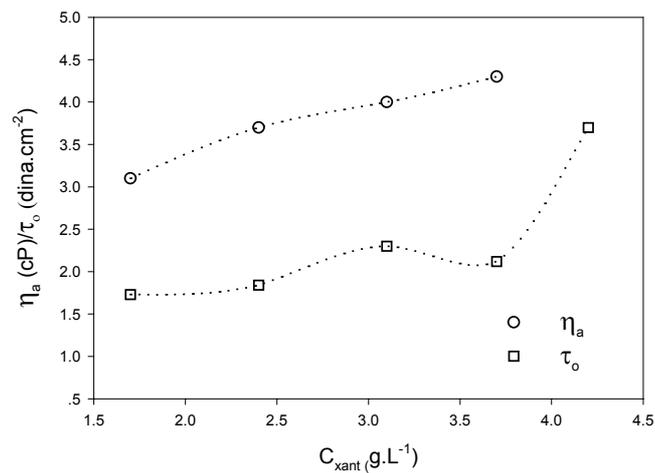


Figura 18 – Parâmetros reológicos versus concentração de xantana para as primeiras 48h de processo.

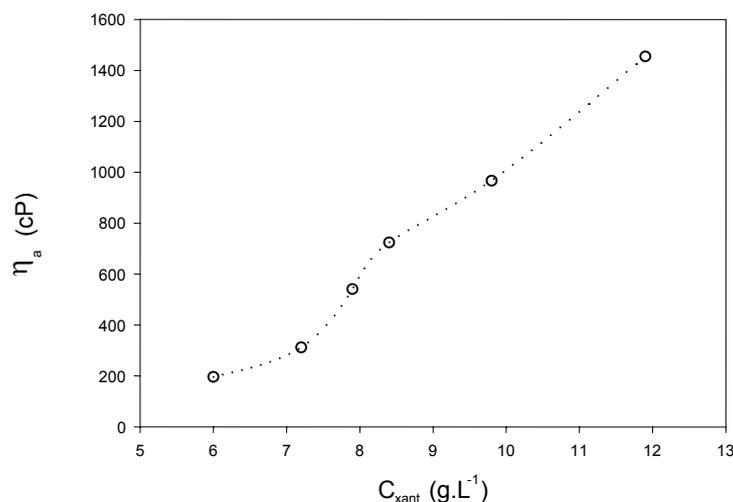


Figura 19 – Parâmetros reológicos versus concentração de Xantana para o intervalo de processo 60 a 144 h.

A Figura 18 e a Figura 19 confirmam a característica peculiar e de grande valor econômico da xantana, que é o espessamento da suspensão à medida que a concentração do biopolímero aumenta no meio fermentativo. Estas figuras também claramente sugerem que existem três zonas de diferentes comportamentos reológicos ao longo do processo: Zona 1: concentração de xantana 1,7 a 3,70 g/L; Zona 2: concentração de xantana 5.4 a 7,9 g/L; Zona 3: concentração de xantana 8.4 a 11.9 g/L. A Figura 20, a Figura 21, a Figura 22 e a Figura 23 exploram a dependência da viscosidade aparente e da tensão de cisalhamento com a taxa de deformação, curvas de viscosidade e reogramas, respectivamente, para várias amostras retiradas nos intervalos de tempo supra citados.

As curvas de viscosidade (Figura 20 e Figura 21) mostram que a viscosidade aparente do mosto fermentado decresce à medida que a taxa de deformação aumenta, conforme o esperado com base nos dados de literatura (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000; BIRD *et al.*, 2002; MACHADO, 2002).

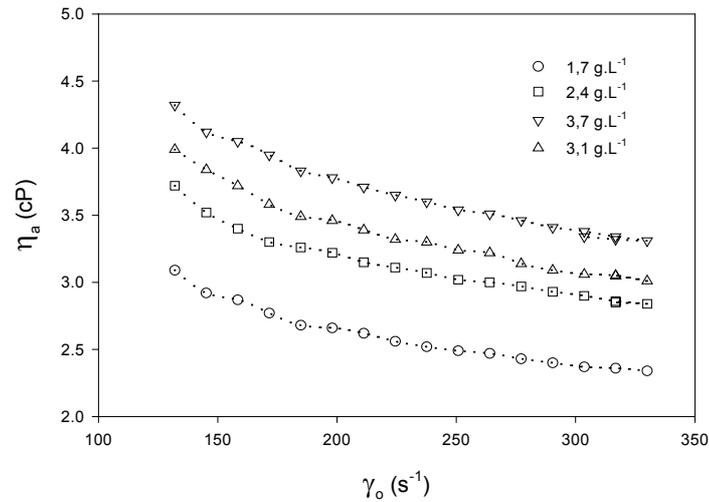


Figura 20 – Curva de viscosidade para amostras colhidas no intervalo de processo de 0-36 h.

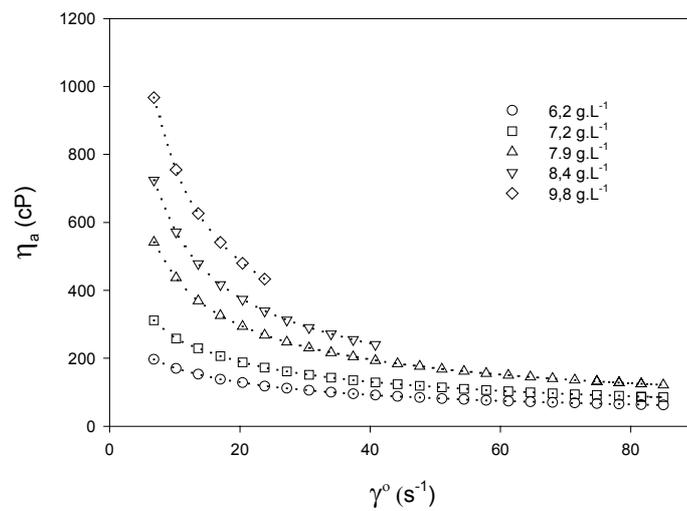


Figura 21 – Curva de viscosidade para amostras no período de tempo de processo 72-120 h.

Este comportamento é clássico para materiais pseudoplásticos, confirmado ao se analisar as curvas de escoamento ou reogramas obtidos (Figura 22 e Figura 23) (BIRD *et al.*, 2002; MACHADO, 2002). Estas figuras também levam a concluir que as suspensões de xantana formadas ao longo do processo fermentativo

apresentavam "limite de escoamento" (τ_0), que é característico de material plástico, onde a tensão de cisalhamento deverá superar o valor daquela referente ao "limite de escoamento" para que a xantana passe a se comportar como um fluido pseudoplástico. Fluidos com este comportamento são classificados como pseudoplásticos com limite de escoamento. Existem devido à presença de forças de interação entre partículas, moléculas ou grupos de moléculas existentes no meio. Há na realidade aglomerados de moléculas ou mesmo retículos. Quanto maior as forças intermoleculares, maior o valor deste parâmetro.

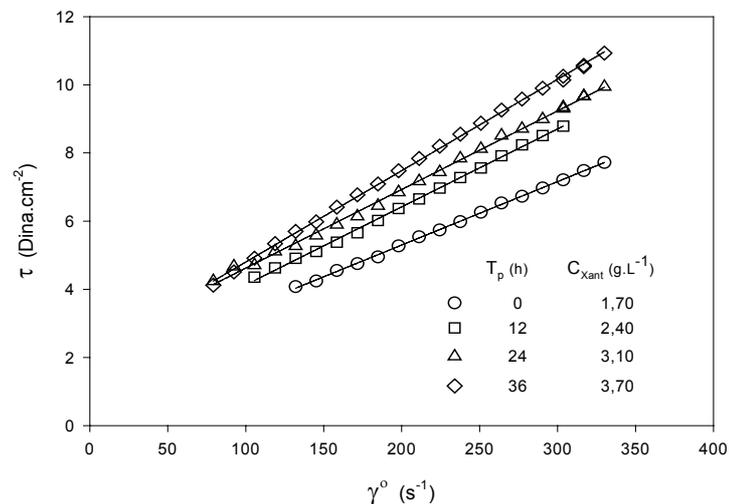


Figura 22 – Curvas de escoamento (Tempo de processo: 0-48 h).

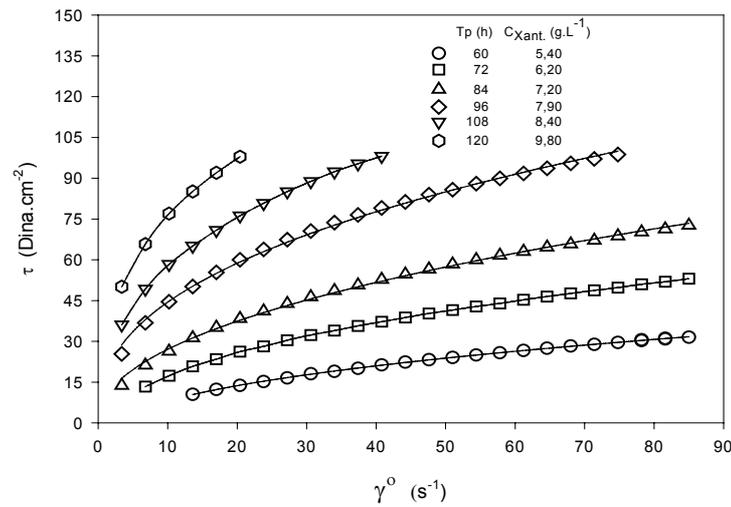


Figura 23 – Curvas de escoamento (Período de processo: 72-120 h).

A Figura 24 mostra a variação do valor do limite de escoamento com a concentração de xantana. Esta simples análise reológica das amostras das suspensões de xantana formadas durante o processo, induz a conclusão, sem investigações microscópica de estrutura, que há formação de aglomerados de moléculas bem rigidamente interligados à medida que a goma se concentra no meio.

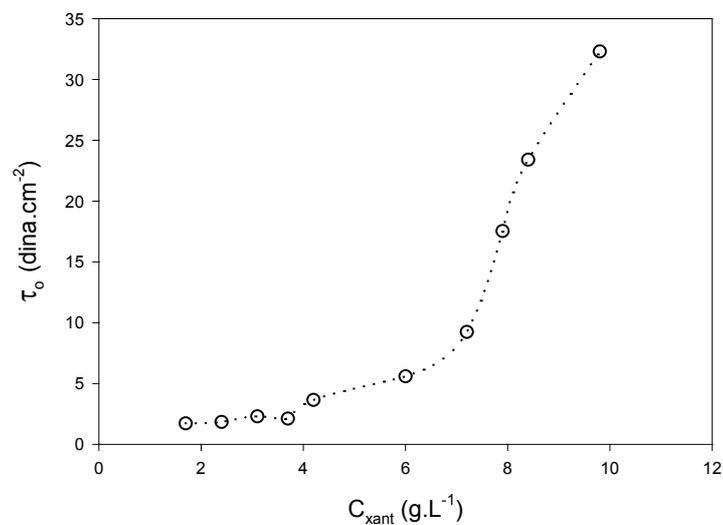


Figura 24 – Variação do limite de escoamento com a concentração de xantana.

A xantana apresenta um comportamento pseudoplástico, que pode ser explicado pela orientação das macromoléculas isoladas na direção do fluxo, pelos diferentes arranjos moleculares e pelo rompimento das interações intermoleculares, devido ao efeito do fluxo (WOICIECHOWSKI, 2001). Vale salientar que não foi observado ciclo de histerese nas amostras testadas. Portanto, foi descartada a possibilidade de comportamento tixotrópico, ou seja, a mistura foi capaz de recuperar sua viscosidade original após o cessar da aplicação da tensão de cisalhamento, significando que a estrutura das moléculas de xantana retornou ao seu original de interação não-orientada com a força de cisalhamento.

Como discutido acima, das curvas de escoamento (Figura 22 e Figura 23) também se pode tirar a importante conclusão que as suspensões de xantana são fluidos pseudoplásticos com “tensão limite de escoamento” (τ_0). Para cada amostra, modelos existentes na literatura (Bingham, da potência e de Hershel-Buckley) foram ajustados aos dados utilizando método dos mínimos quadrados. O modelo de Hershel-Buckley é genérico uma vez que se transforma nos modelos de Bingham e da potência quando $n=1$ e $\tau_0=0$, respectivamente. Analisando as curvas da Figura 22 e da Figura 23 pode-se dizer que o modelo de Hershel, para fluido pseudoplástico, reduz-se ao Modelo de Bingham. Ao aplicar tal metodologia, observa-se que tal modelo realmente representa bem os dados experimentais (Figura 26) (faixa de erro: 0.01 – 0,04%). Os parâmetros do modelo Bingham (limite de escoamento viscosidade plástica) são apresentados na Tabela 25.

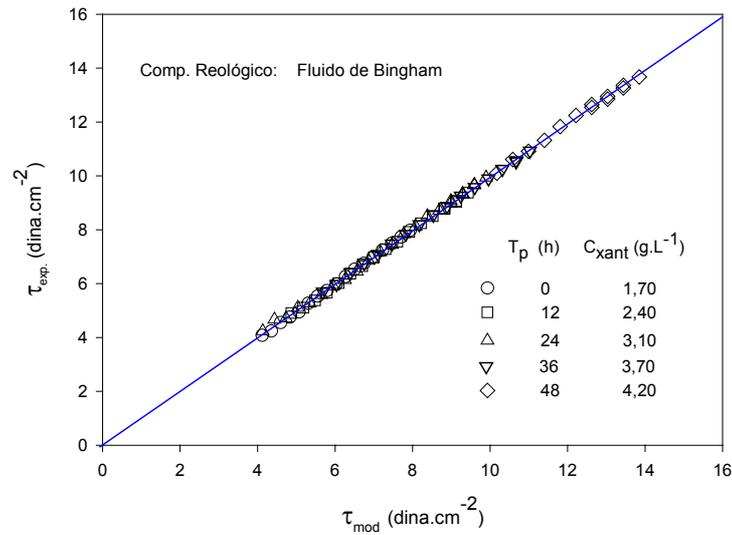


Figura 25 – Parâmetro de modelo de Bingham para amostras obtidas no intervalo de 0-48 h de processo

Tabela 25 – Parâmetros para modelo de Bingham.

Tempo de Processo (h)	Conc. Xantana (g.L ⁻¹)	τ_0 (dina. cm ⁻²)	η_p (cP)	R ² (%)
0,00	1,70	1,730	0,081	99,67
12,00	2,40	1,840	0,023	99,84
24,00	3,10	2,310	0,0231	99,81
36,00	3,70	2,120	0,0027	99,92
48,00	4,20	3,650	0,0012	99,71

A análise das curvas de escoamento obtidas para as amostras da suspensão formada no intervalo de 60-120 h de processo, leva a conclusão que seria mais adequado o uso do modelo de três parâmetros, ou seja, o Modelo de Herschell-Buckley. Este modelo foi testado, assim como o clássico modelo de Ostwald de Waele ou modelo da potência. A Figura 26 e a Figura 27 apresentam a evidência que os dois modelos se adequam bem aos dados.

Porém, observa-se que o modelo da potência apresentou erro menor nas leituras à baixa rotação ou taxa de deformação. A restrição com o modelo a três parâmetros, está no clássico problema em se ter que extrapolar os dados para se obter o valor de limite de escoamento e em seguida utilizar o valor encontrado para o cálculo dos parâmetros restantes, i.e: o índice de comportamento, "n", e de consistência "k". Os parâmetros dos modelos estão dispostos na Tabela 26 e na Tabela 27.

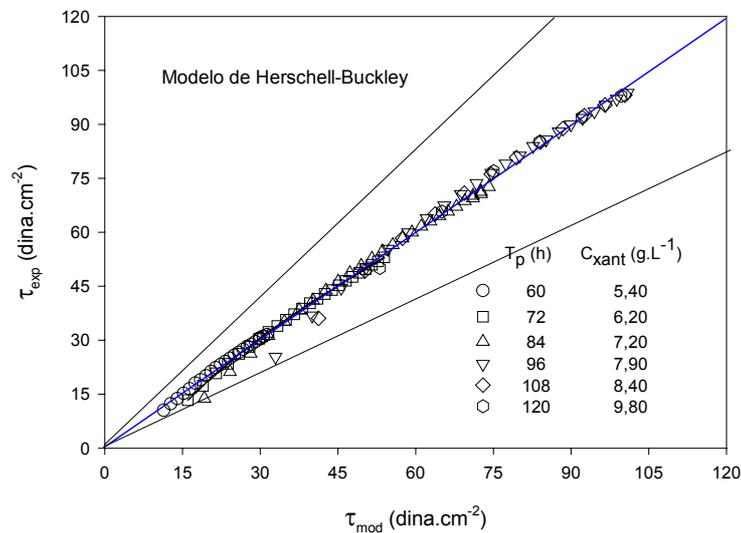


Figura 26 – Parâmetro de modelo Herschell-Buckley.

Tabela 26 – Parâmetros de modelo para Herschell-Buckley.

Tempo de Processo (h)	Concentração de Xantana (g/L)	Parâmetros do Modelo			R ² (%)
		τ_o (dina.cm ⁻²)	K (dina.s n.cm-2)	n	
60	5,40	2,50	1,70	0,64	99,25
72	6,20	5,60	3,30	0,61	99,46
84	7,20	9,25	4,90	0,58	99,07
96	7,90	17,54	7,90	0,55	99,75
108	8,36	23,40	8,70	0,58	99,89
120	9,80	32,30	9,32	0,66	98,86

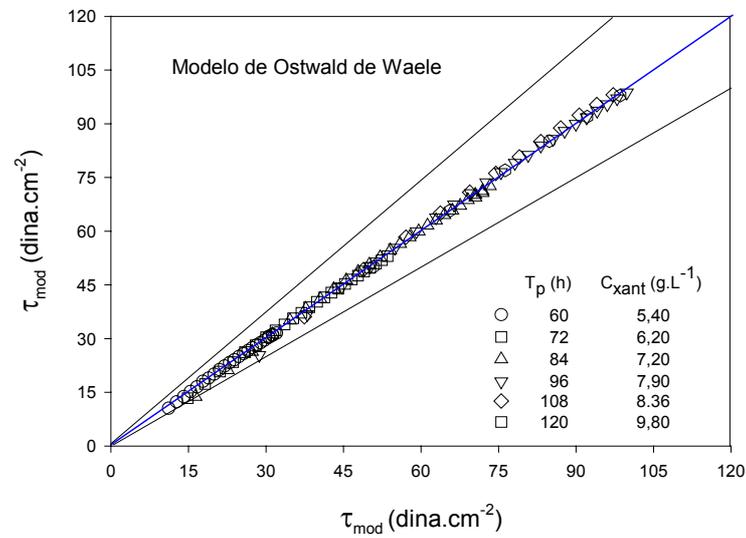


Figura 27 – Parâmetro de modelo Ostwald de Waele.

Tabela 27 – Parametros de modelo Ostwald de Waele

Tempo de Processo (h)	Concentração de Xantana (g.L ⁻¹)	Parâmetros de Modelo		R ² (%)
		K (dina.s n.cm ⁻²)	n	
60	5,40	2,50	0,56	99,81
72	6,20	5,60	0,51	99,83
84	7,20	9,25	0,47	99,76
96	7,90	17,54	0,40	99,75
108	8,36	23,40	0,39	99,88
120	9,80	32,30	0,37	99,89

5 – CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que:

1. A linhagem *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4 possui capacidade para utilização do soro de leite como substrato, constituindo uma alternativa para a produção de goma xantana a partir deste resíduo.

2. Os parâmetros capazes de influenciar o rendimento do processo são a concentração do inóculo e a agitação. De uma forma geral, melhores resultados em rendimento e conseqüentemente mostos mais viscosos para início da produção, foram alcançados quando se trabalhou com uma menor concentração (20 g/L) e uma menor agitação (160 rpm).

3. Na avaliação dos nutrientes essenciais ao meio de soro de leite foi verificado que o meio com acréscimo de extrato de levedura foi melhor quando se trabalhou com a linhagem menos estável e com tempos de repiques maiores.

4. Com a linhagem estável foi visto que a relação C/N influenciava a produção de xantana. O extrato de levedura acrescido ao meio de produção de soro de leite altera a relação C/N ideal, com um acréscimo a mais de proteínas. Neste caso o meio sem adição do extrato de levedura apresentou uma melhor produção e mosto mais viscoso.

5. O melhor meio de crescimento é aquele que utiliza o soro como fonte de carbono com concentração de lactose de 20 g/L.

6. No reator a relação C/N também influenciou no equilíbrio da fermentação, pois os meios de soro acrescidos com extrato de levedura apresentaram menores

coeficientes de rendimento ($Y_{p/s}=0,3$; $Y_{p/s}=0,44$) que o meio de soro sem adição do extrato ($Y_{p/s}=0,62$) com relação C/N ideal de produção.

7. A presença do extrato de levedura não influenciou na produção e viscosidade finais dos meios de soro de leite.

8. Através das análises dos parâmetros cinéticos confirmou-se um comportamento associado ao crescimento celular.

9. As curvas de viscosidade apresentadas mostraram que a viscosidade aparente do mosto fermentado decresce à medida que a taxa de deformação aumentava, comportamento clássico para materiais pseudoplásticos, confirmado ao se analisar também as curvas de escoamento.

10. As suspensões de xantana formadas são fluidos pseudoplásticos com “tensão limite de escoamento” (τ_0) e não foi observado ciclo de histerese, portanto sem comportamento tixotrópico. Todavia, nas primeiras 48h de processo, a pseudoplasticidade é tão pequena ($n \rightarrow 1$) que o fluido pode ser considerado como plástico ideal ou Bingham.

11. Na análise realizada nas amostras do mosto fermentado concluiu-se que os modelos de Herschell-Buckley e de Ostwald de Waele se adequam bem aos dados, sendo que o modelo da potência apresentou erro menor nas leituras à baixa rotação ou taxa de deformação.

6 – REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALVES, R. S. A. **Efeito de alguns nutrientes na formação de goma xantana por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LMI-3**. 1991. Dissertação (Mestrado em Tecnologia dos Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1991.

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

ATOMICO, 2005 – Disponível em:< www.patagon.8m.com/Xanthana.html>. Acesso em: 13 out. 2005.

AZUAJE, R. A.; SÁNCHEZ, J. A. Produccion de xantano por *Xanthomonas campestris* em um médio de cultivo no convencional. **Acta Científica Venezolana**, v. 50, p.201-209, 1999.

BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical engineering fundamentals**. 2. ed. New York: Mc Graw-Hill Book Company, 1986. 984p.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2. ed. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 2002. 401p.

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

BEHRENS,U.; KLIMA, M.; FIEDLER, S. – “Growth and Accumulation of Polysaccharide by *Xanthomonas campestris*”. **Z. Allg. Mikrobiol**, v.20, n.3, p.209-213, 1980.

BIRD, B. R.; STEWART, W. E.; LIGHFOOT, E. N. Transport phenomena. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc, 2002. 895p.

BRADBURY, J. F. Genus II *XANTHOMONAS*. In: Krieg, N. R., Holt, J. G (Ed.), **Bergey’s manual of systematic bacteriology**. London: Williams & Wilkins, p. 199-210, 1984. 1v.

BRETAS, R. S. A reologia dos polímeros para leigos e iniciados. **Plástico Moderno**, v. 176, p.28-35, 1987.

CADMUS, M.C. et al. “ Synthetic media for production of quality xanthan gum in 20 liter fermentors.” **Biothechnol. Bioeng**, v. 20, p. 1003-1014, 1978.

CARREÓN, L. S. et al. Prediction of xanthan fermentation development by a model linking kinetics, power drawn and mixing. **Process Biochemistry**, v.33, n.2, p.133-146, 1998.

CASAS, J.A.; SANTOS, V. E.; GARCIA-OCHOA. Xanthan gum production under several operational conditions: molecular structure and rheological properties. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 26, is. 2-4, p. 282-291, 2000.

CHAITALI, M. et al. Productive Improvement in Xanthan Gum Fermentation Using Multiple Substrate Optimization. **Biotechnology Progress**, v. 19, p. 1190-1198, 2003.

CHANDRASEKARAN, R.; RADHA, A. Molecular modeling of xanthan: galactomannan interactions. **Carbohydrate Polymers**, v.32, p. 201-208, 1997.

CHARLES, M.; RADJAI, M. K. Xanthan gum from acid whey. In: SANDFORD, P.A., LASKIN, A.(Ed.). **Extracellular microbial polysaccharides**. Washington: American Chemical Society Symposium Series, n. 45, p. 27-39, 1977.

CHEREMISINOFF, N. P. **An introduction to polymer rheology and processing**. USA: C Press, 1992. 280p.

CRUZ, A. C.; MENDES, M. T. R. **Trabalhos acadêmicos, dissertações e teses: estrutura e apresentação** (NBR 14724/2002). Niterói: Intertexto, 2003. 130 p.

DE VUYST, L.; VERMEIRE, A. Use of industrial medium components for xanthan production by *Xanthomonas campestris*. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.42, p.187-191, 1994.

EKATERINIADOU, L. V.; PAPOUTSOPOULOU, S. V.; KYRIAKIDIS, D. A. High production of xanthan gum by a strain of *Xanthomonas campestris* conjugated with *Lactococcus lactis*. **Biotechnology Letters**, v.16, n.5, p. 517-522, 1994.

ESGALHADO, M. E. L. M. **The addition of organic acids to *Xanthomonas campestris* cultures; effects of sublethal organic acid stress on metabolism**. 1997. 183p. Tese (Doutorado) – The University Birmingham, Faculty Engineering, Birmingham, England, 1997.

EUNICE, A. Y. et al. Composição centesimal e valor protéico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus derivados. **Revista de Nutrição**, v.16, n.4, 2003.

FENTANES, E. G. Polisacárideos microbianos. In: RAMIREZ, R. Q., (Ed.), **Prospectiva de la biotecnología en México**. México: Fundación Javier Barros Sierra, p.73-92, 1985.

FLORES, F.; TORRES, L. G.; GALINDO, E. Effect of the dissolved oxygen tension during cultivation of *X. campestris* on the production and quality of xanthan gum. **Journal of Biotechnology**, v. 34, p.165-173, 1994.

FLORES-CANDIA, J-L.; ZENG, A.-P.; DECKWER, W.-D. Influences of the carbon: Nitrogen Ratio of the Medium on Xanthan Productivity and Quality in Batch Culture of *Xanthomonas campestris*. **Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH** Mascheroder Weg, 1, D38124 Braunschweig, [ca. 1999].

FRANK, J.F.; SOMKUTI, G.A. General properties of beta galactosidase of *Xanthomonas campestris*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.38, n.3, p.554-556, 1979.

FURTADO, M. Aditivos de alimentos: desequilíbrio climático abre mercado para novos hidrocolóides. **Revista Química e Derivados**, São Paulo, 430 ed, set. 2004.

GALINDO, E.; NIENOW, A. W. Mixing of highly viscous simulated xanthan fermentation broths with the lightning A-315 impeller. **Biotechnology Progress**, v.8, p.233-239, 1992.

GALINDO, E. Engineering and microbiological aspects of the production of microbial polysaccharides: xanthan as a model. In: **Proceedings of the International Symposium on Bioproducts Processing**, p.26-29, 1994.

GALINDO, E.; ALBITER, V. High-yield recovery of xanthan by precipitation with isopropyl alcohol in a stirred tank. **Biotechnology Progress**, v.12, n.4, p.540-547, 1996.

GALINDO, E.; SALCEDO, G. Detergents improve xanthan yield and polymer quality in cultures of *Xanthomonas campestris*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.19, p. 145-149, 1996.

GARCIA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; FRITSCH, A. P. Nutritional study of *Xanthomonas campestris* in xanthan gum production by factorial design of experiments. **Enzyme Microbiology Technology**, v.14, p.991-996, 1992.

GARCÍA-OCHOA, F.; CASAS, J. A.; MOEHEDANO, A. F. Xanthan precipitation from solutions and fermentations broths. **Separation Science & Technology**, v.28, p.1303-1313, 1993.

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

GARCIA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; ALCON, A. Chemical structured kinetic model for xanthan production. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 35, p. 284-292, 2003.

GARCIA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; ALCON, A. Structured Kinetic model for *Xanthomonas campestris* growth. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 34, p. 583-594, 2004.

GARRETT, R. H.; GRISHAM, C. M. **Biochemistry**. Sanders College Publishing, cap. 10: Carbohydrates and cell surfaces, 1995.

GLAZER, N.; NIKAIIDO, H. **Microbial biotechnology** - fundamentals of applied microbiology. 2. ed. New York: W. H. Freeman and Company, 1995. 642p.

GOUGH, C. L. et al. Cloning of two endoglucanase genes of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*: Analysis of the role of the major endoglucanase in

phatogenesis. **The American Phytopathological Society**, v.1, n.7, p.275-281, 1988.

GRAESSLEY, W. W. Viscoelasticity and flow in polymer melts and concentrated solutions. In: Physical properties of polymers. **American Chemical Society**, Washington, p.97-163, 1984.

HARDING, N. E. et al. Identification, genetic and biochemical analysis of genes involved in synthesis of sugar nucleotide precursors of xanthan gum. **Journal of General Microbiology**, v.139, p.447-457, 1993.

HOLT, J. G. et al. (Ed.). **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, p.100, 1994. 787p.

HOLZWARTH, G. Conformation of the extracellular polysaccharide of *Xanthomonas campestris*. **Biochemistry**, v.15, n.19, p.4333-4339, 1976.

IELPI, L.; COUSO, R. O.; DANKERT, M. A. Xanthan gum biosynthesis acetylation occurs at the prenyl-phospho-sugar stage. **Biochemistry International**, v.6, n.3, p.323-333, 1983.

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

JANA, A. K.; GHOSH, P. Stimulation of xanthan production by *Xanthomonas campestris* using citric acid. **World Journal of Microbiology & biotechnology**, v. 13, p. 261-264, 1997.

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

JARMAN, T. R.; PACE G. W. Energy requirements for microbial exopolysaccharides synthesis. **Archives of Microbiology**, v.137, p.231-235, 1984.

KALOGIANNIS, S. et al. Optimization of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* grown in molasses. **Process Biochemistry**, v.39, p. 249-256, 2003.

KAY, A. et al. Biosynthesis of curdlan from culture media containing ¹³C-labeled glucose as carbon source. **Carbohydrate Research**, v.240, p.153-159, 1993.

KENNEDY, J. F.; BRADSHAW, I. J. Production properties and applications of xanthan. In: **Progress in industrial microbiology**. Oxford: Elsevier, 1984.

LENK, R. S. The characterization of viscous flow. Viscosity, shear rate and shear stress. In: **Polymer Rheology**. London: Applied Science Publishes Ltd., 1978.

LETISSE, F. et al. Kinetic analysis of growth and Xanthan gum production with *Xanthomonas campestris* on sucrose, using sequentially consumed nitrogen sources. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 55, p. 417-422, 2001.

LETISSE, F.; LINDLEY, N. D.; ROUX, G. Development of a Phenomenological Modeling Approach for Prediction of Growth and Xanthan Gum Production Using *Xanthomonas campestris*. **Biotechnology Progress**, v.19, p. 822-827, 2003.

LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M.; PSOMAS, S. K.; KYRIAKIDIS, D. A. Xanthan gum production by *xanthomonas campestris* w.t. fermentatuon from chestnut extract. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 82, p. 176-183, 1999.

LILLY, V. G.; WILSON, H. A.; LEACH, J. G. – “Bacterial polysaccharides II. Laboratory – scale production of polysaccharides by species of *xanthomonas*”. **Appl. Microbiol**, v. 6, p. 105 – 108, 1958.

LIMA, M. A. G. A. **Obtenção e caracterização de xantana produzidas por diferentes linhagens de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris***. 1999. 166 p. Tese (Doutorado em Tecnologia dos Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

LOPES, L. M. A. **Caracterização viscosimétrica de misturas das gomas xantanas e guar**. 1989. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Macromoléculas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1989.

LOPES, L. M. A. **Influência da presença de agregados sobre propriedades em solução da goma welana**. 1996. 172p. Tese (Doutorado) – IMA, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1996.

LOPES, L., ANDRADE, C. T. Comportamento Reológico de Polímeros. **Revista de Química Industrial**, n.686, p.17-19, 1991.

LOPES, L., ANDRADE, C.T. Polímeros de origem microbiana: polissacarídeos bacterianos. **Revista de Química Industrial**, n.703, p.19-23, 1995.

LOPEZ, M. J.; MORENO, J.; RAMOS-CORMENZANA, A. *Xanthomonas campestris* strain selection for xanthan production from olive Mill wastewaters. **Water Research**. v. 35, n.7, p. 1828-1830, 2001.

LORDA, G. S.; PASTOR, M. D.; BALATTI, A. P. Obtención de xantano a partir de *Xanthomonas campestris* B-1459 em fermentadores com agitação mecânica. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 27, p.146-155, 1995.

MACHADO, J. C. V. **Reologia e escoamento de fluidos: ênfase na indústria do petróleo**. Rio de Janeiro: Interciência, 2002. 257p.

MARGARITIS, A.; PACE, G. W. Microbial Polysaccharides. In: **Comprehensive Biotechnology**, v.49, n.3, p.1005-1044, 1985.

MARZOCCA, M. P. et al. Location and cloning of the ketal pyruvate transferase gene of *Xanthomonas campestris*. **Journal of Bacteriology**, v.173, n.23, p.7519-7524, 1991.

MORAINE, R. A.; ROGOVIN, P. Xanthan biopolymer production at increased concentration by pH Control. **Biotechnology Bioengineering**, v.13, p.381-391, 1971.

MORAINE, R. A.; ROGOVIN, P. Kinetics of the xanthan fermentation. **Biotechnology Bioengineering**, v.15, p.225-227, 1973.

MORRIS, V. J. Polysaccharide structure and conformation in solutions and gels. In: J. M. V. Blanchard & J. R. Mitchell (Eds.). **Polysaccharides in food**. London: Butterworths, p.15-31, 1979.

MORRIS, V. J.; BROWNSEY, G. J.; RIDOUT, M. J. Acetan and related polysaccharides. **Polymer News**, v.18, p.294-300, 1993.

MORRIS, V. J. et al. Order – disorder transition form a bacterial polysaccharide in solution – a role form polysaccharide conformation in recognition between *Xanthomonas* pathogen and its plant host. **Journal Molecular Biological**, v.110, p. 1-16, 1979.

MULCHANDANI, A.; LUONG, J. H. T.; LEDUY, A. Batch kinetics of microbial polysaccharide biosynthesis. **Biotechnology and Bioengineering**, v.32, p.639-646, 1988.

NAKAJIMA, S.; FUNAHASHI, H.; YOSHIDA, T. Xanthan gum production in a fermentor with twin impellers. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v.70, n.6, p.392-397, 1990.

NETO, P. O. Seleção de linhagens de *X. campestris* e otimização dos processos de produção e recuperação da goma xantana. **Diretório de Projetos Tecnológicos da Unesp**. São Paulo. Disponível em: < <http://www.unesp.br/propp/dir-proj/Industria/industr61a.htm>>. Acesso em: 2 dez. 2003.

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

NITSCHKE, M.; THOMAS, R. W. S. P.; KNAUSS, C. Xanthan production by *Xanthomonas campestris* in a whey-based medium. **Revista de Microbiologia**, v.28, p.148-151, 1997.

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* C₇L¹. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 21, p. 82-85, 2001.

NORTON, I. T. et al. Mechanism and dynamics of conformational ordering in xanthan polysaccharide. **Journal of Molecular Biology**, v.175, p.371-394, 1984.

PACE, G. W.; RIGHELATO, R. C. Production of extracellular microbial polysaccharides. **Advances in Biochemical Engineering**, v.15, p.41-70, 1981.

PAPAGIANNI, M. et al. Xanthan production by *Xanthomonas campestris* in batch cultures. **Process Biochemistry**, v.37, p. 73-80, 2001.

PAPI, R. M. et al. Xanthan gum and ethanol production by *Xanthomonas campestris* and *Zymomonas mobilis* from peach pulp. **Biotechnology Letters**, v.21, ls.1, p. 39-43, 1999.

PAPOUTSOPOULOU, S. V.; EKATERINIADOU, L. V.; KYRIAKIDIS, D. A. Genetic construction of *Xanthomonas campestris* and xanthan gum production from whey. **Biotechnology Letters**, v.16, n.12, p.1235-1240, 1994.

PETERS, H.- U. et al. The pyruvate content of xanthan polysaccharide produced under oxygen limitation. **Biotechnology Letters**, v.15, n.6, p.565-566, 1993.

PIELKEN, P. et al. Effect of methionine on xanthan formation by *Xanthomonas campestris*. **FEMS Microbiology Letters**, v.44, p.27-31, 1987.

PINCHES, A.; PALLENT, L. J. Rate and yield relationships in the production of xanthan gum by batch fermentations using complex and chemically defined growth media. **Biotechnology and Bioengineering**, v.28, p.1494-1496, 1986.

RAMÍREZ, M. E. et al. Xanthan gum production by altered pathogenicity variants of *Xanthomonas campestris*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.29, p.5-10, 1988.

RAJESHWARI, K. V.; PRAKASH, G.; GHOSH, P. Improved process for xanthan production using modified media and intermittent feeding strategy. **Letters in Applied Microbiology**, v.21, p.173-175, 1995.

RICHARDS, N. S. P. S. Soro lácteo: Perspectivas industriais e proteção ao meio ambiente. **Food Ingredients**, São Leopoldo, p. 20-27, 2004.

ROGOVIN, S.P.; ANDERSON, R.F.; CADMUS, M.C. Production of polysaccharide with *Xanthomonas campestris*. **Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering**, v.3, p.51-63, 1961.

ROLLER, S.; DEA, I. C. M. Biotechnology in production and modification of biopolymers for foods. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.12, p.261-277, 1992.

ROSEIRO, J. C. et al. Medium development for xanthan production. **Process Biochemistry**, v.27, p.167-175, 1992.

ROSEIRO, J. C. et al. Kinetic and metabolic effects of nitrogen, magnesium and sulphur restriction in *Xanthomonas campestris* batch cultures. **Journal of Applied Bacteriology**, v.75, p.381-386, 1993.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnología Industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Ed. Blücher, 2001.2v.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnología Industrial:: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. São Paulo: Ed. Blücher, 2001. 3v.

SCHWARTZ, R. D.; BODIE, E. A. Production of high-viscosity whey broths by a lactose-utilizing *Xanthomonas campestris* strain. **Applied and Environmental Microbiology**, v.50, n.6, p.1483-1485, 1985.

SHU, C.- H.; YANG, S.- T. Effects of temperature on cell growth and xanthan production in batch cultures of *Xanthomonas campestris*. **Biotechnology and Bioengineering**, v.35, p.454-468, 1990.

SHULER, M. L.; KARGI, F. **Bioprocess engineering** - basic concepts, 2. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002.

SOUW, P.; DEMAIN, A. L. Nutritional studies on xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. **Applied and Environmental Microbiology**, v.37, n.6, p.1186-1192, 1979.

SOUW, P.; DEMAIN, A. L. Role of citrate in xanthan production by *Xanthomonas campestris*. **J. Ferment. Technol**, v. 58, n. 5, p. 411-416, 1980.

SOUZA, E. S. **Evidenciação de enzimas extracelulares de goma xantana por *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris***. 1994. Dissertação (Mestrado em Tecnologia dos Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1994.

STAUFFER, K. R.; LEEDER, J.G. Extracellular microbial polysaccharide production by fermentation on whey or hydrolyzed whey. **Journal of Food science**, v.43, n.3, p.756-758, 1978.

SUTHERLAND, I.W. Biosynthesis of microbial exopolysaccharides. **Advances in Microbial Physiology**, v.23, p.79-149, 1982.

SUTHERLAND, I.W. **Biotechnology of microbial exopolysaccharides**. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. 163p.

SUTHERLAND, I. W. Microbial biopolymers from agricultural products: production and potential. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v.38, p.249-261, 1996.

TAGER, A. **Physical Chemistry of Polymers**, 2. ed. Moscow: Mir Publishers, 1978, 652p.

THONART, M. et al. Xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 and interfacial approach by zeta potencial measurement. **Enzyme Microbiology Technology**, v.7, p.235-238, 1985.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 827p.

WEISS, R. M.; OLLIS, D. F. Extracellular microbial polysaccharides. I. Substrate, biomass, and product kinetic equations for batch xanthan gum fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, v.22, p.859-873, 1980.

WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J. N. **Industrial gums**, 3. ed. San Diego: Academic Press, 1993. 642p.

WOICIECHOWSKI, A. L. et al. Xanthan Gum Production From Cassava Bagasse Hydrolysate With *Xanthomonas campestris* Using Alternative Sources of Nitrogen. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 118, p. 305-312, 2003.

WOICIECHOWSKI, A. L. **Desenvolvimento de bioprocesso para a produção de goma xantana a partir de resíduos agroindustriais de café e de mandioca**. 2001. 153f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, 2001.

ZAGALLO, A. C.; WANG, C. H. Comparative glucose catabolism of *Xanthomonas* species. **Journal of Bacteriology**, v.93, p.970-975, 1967.

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

YOO, S. D.; HARCUM, S. W. Xanthan gum production from waste sugar beet pulp. **Bioresource Technology**, Las Cruces, v. 70, p. 105-109, 1999.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Tabela 28 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (50 g de lactose, com extrato de levedura) e 168 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
80532,82	0,20	53,74	54,76	0,07	29,13	00:05,4	SC4-31
42215,99	0,40	56,25	57,41	0,14	29,08	00:05,2	SC4-31
31793,22	0,60	63,63	64,86	0,20	29,23	00:05,3	SC4-31
27144,21	0,80	72,44	73,83	0,27	29,15	00:05,2	SC4-31
24024,87	1,00	80,05	81,68	0,34	29,15	00:05,2	SC4-31
21220,47	1,20	84,95	86,58	0,41	29,15	00:05,3	SC4-31
18938,82	1,40	88,44	90,15	0,48	29,08	00:05,3	SC4-31
17115,10	1,60	91,31	93,11	0,54	29,15	00:05,2	SC4-31
15630,00	1,80	93,80	95,66	0,61	29,23	00:05,3	SC4-31
14411,92	2,00	96,10	98,00	0,68	29,17	00:05,2	SC4-31
13428,95	2,20	98,53	100,45	0,75	29,17	00:05,2	SC4-31
14561,89	2,00	97,08	99,02	0,68	29,25	00:06,3	SC4-31
15763,30	1,80	94,55	96,47	0,61	29,17	00:06,3	SC4-31
17152,59	1,60	91,50	93,31	0,54	29,23	00:06,3	SC4-31
18895,97	1,40	88,22	89,94	0,48	29,25	00:06,3	SC4-31
21270,46	1,20	85,11	86,78	0,41	29,23	00:06,3	SC4-31
24444,78	1,00	81,47	83,11	0,34	29,15	00:06,3	SC4-31
28943,82	0,80	77,22	78,73	0,27	29,23	00:06,3	SC4-31
36042,31	0,60	72,05	73,53	0,20	29,17	00:06,3	SC4-31
49339,47	0,40	65,80	67,10	0,14	29,30	00:06,3	SC4-31
88331,15	0,20	58,87	60,07	0,07	29,17	00:06,2	SC4-31

APÊNDICE B

Tabela 29 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (28 g de lactose, com extrato de levedura) e 96 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
2.216,53	10,00	73,93	75,36	3,40	29,42	00:05,4	SC4-31
1.340,71	20,00	89,38	91,17	6,80	29,48	00:05,2	SC4-31
1.018,78	30,00	101,91	103,92	10,20	29,48	00:05,3	SC4-31
824,82	40,00	110,00	112,18	13,60	29,48	00:05,2	SC4-31
659,86	50,00	110,00	112,18	17,00	29,50	00:05,2	SC4-31
549,88	60,00	110,00	112,18	20,40	29,52	00:05,3	SC4-31
471,33	70,00	110,00	112,18	23,80	29,58	00:05,3	SC4-31
412,41	80,00	110,00	112,18	27,20	29,50	00:05,2	SC4-31
366,59	90,00	110,00	112,18	30,60	29,48	00:05,3	SC4-31
329,93	100,00	110,00	112,18	34,00	29,42	00:05,2	SC4-31
299,94	110,00	110,00	112,18	37,40	29,48	00:05,3	SC4-31
274,94	120,00	110,00	112,18	40,80	29,42	00:05,3	SC4-31
253,79	130,00	110,00	112,18	44,20	29,42	00:05,2	SC4-31
235,66	140,00	110,00	112,18	47,60	29,42	00:05,2	SC4-31
219,95	150,00	110,00	112,18	51,00	29,48	00:05,2	SC4-31
206,21	160,00	110,00	112,18	54,40	29,50	00:05,4	SC4-31
194,08	170,00	110,00	112,18	57,80	29,48	00:05,3	SC4-31
183,29	180,00	110,00	112,18	61,20	29,40	00:05,2	SC4-31
173,65	190,00	110,00	112,18	64,60	29,48	00:05,3	SC4-31
164,96	200,00	110,00	112,18	68,00	29,48	00:05,2	SC4-31
157,11	210,00	110,00	112,18	71,40	29,42	00:05,2	SC4-31
149,97	220,00	110,00	112,18	74,80	29,40	00:05,2	SC4-31
143,45	230,00	110,00	112,18	78,20	29,40	00:05,2	SC4-31
149,97	220,00	110,00	112,18	74,80	29,33	00:06,3	SC4-31
157,11	210,00	110,00	112,18	71,40	29,42	00:06,4	SC4-31
164,96	200,00	110,00	112,18	68,00	29,35	00:06,3	SC4-31
173,65	190,00	110,00	112,18	64,60	29,40	00:06,3	SC4-31
183,29	180,00	110,00	112,18	61,20	29,42	00:06,3	SC4-31
194,08	170,00	110,00	112,18	57,80	29,42	00:06,3	SC4-31
206,21	160,00	110,00	112,18	54,40	29,40	00:06,2	SC4-31
219,95	150,00	110,00	112,18	51,00	29,40	00:06,3	SC4-31
235,66	140,00	110,00	112,18	47,60	29,35	00:06,3	SC4-31
274,94	120,00	110,00	112,18	40,80	29,42	00:06,2	SC4-31
299,94	110,00	110,00	112,18	37,40	29,40	00:06,2	SC4-31
329,93	100,00	110,00	112,18	34,00	29,40	00:06,3	SC4-31
366,59	90,00	110,00	112,18	30,60	29,48	00:06,3	SC4-31
412,41	80,00	110,00	112,18	27,20	29,48	00:06,3	SC4-31
471,33	70,00	110,00	112,18	23,80	29,48	00:06,2	SC4-31
549,88	60,00	110,00	112,18	20,40	29,50	00:06,3	SC4-31
659,86	50,00	110,00	112,18	17,00	29,52	00:06,3	SC4-31
803,83	40,00	107,15	109,32	13,60	29,50	00:06,2	SC4-31
975,79	30,00	97,63	99,53	10,20	29,52	00:06,3	SC4-31
1.285,23	20,00	85,70	87,40	6,80	29,48	00:06,4	SC4-31
2.063,56	10,00	68,85	70,16	3,40	29,48	00:06,2	SC4-31

APÊNDICE C

Tabela 30 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 0 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
19,20	10,00	6,38	2,53	13,20	29,67	00:05,5	SC4-18
7,05	20,00	4,69	1,86	26,40	29,67	00:05,2	SC4-18
5,40	30,00	5,45	2,14	39,60	29,60	00:05,4	SC4-18
4,57	40,00	6,08	2,42	52,80	29,65	00:05,3	SC4-18
4,20	50,00	7,00	2,77	66,00	29,60	00:05,2	SC4-18
3,75	60,00	7,51	2,97	79,20	29,60	00:05,3	SC4-18
3,47	70,00	8,07	3,21	92,40	29,60	00:05,2	SC4-18
3,22	80,00	8,64	3,40	105,60	29,58	00:05,2	SC4-18
3,30	90,00	9,90	3,92	118,80	29,60	00:05,2	SC4-18
3,09	100,00	10,32	4,08	132,00	29,58	00:05,2	SC4-18
2,92	110,00	10,69	4,24	145,20	29,52	00:05,3	SC4-18
2,87	120,00	11,47	4,55	158,40	29,65	00:05,2	SC4-18
2,77	130,00	11,99	4,75	171,60	29,58	00:05,3	SC4-18
2,68	140,00	12,53	4,95	184,80	29,65	00:05,3	SC4-18
2,66	150,00	13,33	5,27	198,00	29,58	00:05,3	SC4-18
2,62	160,00	13,98	5,54	211,20	29,65	00:05,2	SC4-18
2,56	170,00	14,51	5,74	224,40	29,60	00:05,3	SC4-18
2,37	230,00	18,23	7,21	303,60	29,60	00:05,2	SC4-18
2,36	240,00	18,89	7,48	316,80	29,58	00:05,2	SC4-18
2,34	250,00	19,54	7,72	330,00	29,58	00:05,2	SC4-18
2,36	240,00	18,85	7,48	316,80	29,58	00:06,3	SC4-18
2,37	230,00	18,23	7,21	303,60	29,60	00:06,2	SC4-18
2,41	220,00	17,68	7,01	290,40	29,50	00:06,2	SC4-18
2,44	210,00	17,11	6,77	277,20	29,52	00:06,3	SC4-18
2,49	200,00	16,63	6,57	264,00	29,58	00:06,4	SC4-18
2,51	190,00	15,92	6,30	250,80	29,52	00:06,3	SC4-18
2,57	180,00	15,38	6,10	237,60	29,52	00:06,3	SC4-18
2,61	170,00	14,84	5,86	224,40	29,58	00:06,3	SC4-18
2,66	160,00	14,18	5,62	211,20	29,52	00:06,3	SC4-18
2,72	150,00	13,63	5,38	198,00	29,58	00:06,3	SC4-18
2,79	140,00	13,02	5,15	184,80	29,48	00:06,3	SC4-18
2,91	130,00	12,57	4,99	171,60	29,48	00:06,3	SC4-18
2,95	120,00	11,80	4,67	158,40	29,42	00:06,3	SC4-18
2,97	110,00	10,91	4,32	145,20	29,42	00:06,3	SC4-18
3,12	100,00	10,42	4,12	132,00	29,35	00:06,2	SC4-18
3,37	90,00	10,15	4,00	118,80	29,40	00:06,3	SC4-18
3,49	80,00	9,28	3,68	105,60	29,42	00:06,4	SC4-18
3,68	70,00	8,63	3,40	92,40	29,42	00:06,2	SC4-18
3,90	60,00	7,75	3,09	79,20	29,48	00:06,3	SC4-18
4,32	50,00	7,23	2,85	66,00	29,58	00:06,4	SC4-18
4,65	40,00	6,22	2,45	52,80	29,42	00:06,2	SC4-18
5,60	30,00	5,62	2,22	39,60	29,50	00:06,3	SC4-18
7,80	20,00	5,15	2,06	26,40	29,50	00:06,3	SC4-18
17,10	10,00	5,71	2,26	13,20	29,42	00:06,3	SC4-18

Tabela 31 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 12 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
14,70	10,00	4,95	1,94	13,20	29,17	00:05,3	SC4-18
10,65	20,00	7,09	2,81	26,40	29,17	00:05,2	SC4-18
7,30	30,00	7,26	2,89	39,60	29,23	00:05,2	SC4-18
6,07	40,00	8,12	3,21	52,80	29,17	00:05,3	SC4-18
5,28	50,00	8,79	3,48	66,00	29,25	00:05,2	SC4-18
4,65	60,00	9,30	3,68	79,20	29,23	00:05,2	SC4-18
4,24	70,00	9,91	3,92	92,40	29,17	00:05,2	SC4-18
4,12	80,00	11,01	4,36	105,60	29,25	00:05,2	SC4-18
3,90	90,00	11,70	4,63	118,80	29,17	00:05,2	SC4-18
3,72	100,00	12,38	4,91	132,00	29,17	00:05,3	SC4-18
3,52	110,00	12,88	5,11	145,20	29,17	00:05,2	SC4-18
3,40	120,00	13,58	5,38	158,40	29,17	00:05,3	SC4-18
3,30	130,00	14,33	5,66	171,60	29,23	00:05,2	SC4-18
3,02	190,00	19,12	7,56	250,80	29,23	00:05,2	SC4-18
3,00	200,00	20,02	7,92	264,00	29,23	00:05,2	SC4-18
2,97	210,00	20,79	8,24	277,20	29,30	00:05,2	SC4-18
2,93	220,00	21,45	8,51	290,40	29,17	00:05,2	SC4-18
2,90	230,00	22,20	8,79	303,60	29,30	00:05,3	SC4-18
2,86	240,00	22,88	9,07	316,80	29,23	00:05,2	SC4-18
2,84	250,00	23,72	9,38	330,00	29,23	00:05,3	SC4-18
2,85	240,00	22,77	9,03	316,80	29,23	00:06,3	SC4-18
2,90	230,00	22,18	8,79	303,60	29,25	00:06,2	SC4-18
2,92	220,00	21,35	8,47	290,40	29,17	00:06,3	SC4-18
2,96	210,00	20,72	8,20	277,20	29,17	00:06,2	SC4-18
3,01	200,00	20,12	7,96	264,00	29,15	00:06,2	SC4-18
3,06	190,00	19,43	7,68	250,80	29,13	00:06,3	SC4-18
3,12	180,00	18,72	7,40	237,60	29,17	00:06,3	SC4-18
3,16	170,00	17,93	7,09	224,40	29,15	00:06,3	SC4-18
3,22	160,00	17,16	6,81	211,20	29,23	00:06,2	SC4-18
3,30	150,00	16,55	6,53	198,00	29,25	00:06,2	SC4-18
3,34	140,00	15,64	6,18	184,80	29,33	00:06,4	SC4-18
3,41	130,00	14,78	5,86	171,60	29,25	00:06,3	SC4-18
3,52	120,00	14,15	5,58	158,40	29,30	00:06,3	SC4-18
3,60	110,00	13,18	5,23	145,20	29,30	00:06,4	SC4-18
3,81	100,00	12,69	5,03	132,00	29,25	00:06,3	SC4-18
4,00	90,00	11,99	4,75	118,80	29,23	00:06,3	SC4-18
4,16	80,00	11,10	4,39	105,60	29,23	00:06,2	SC4-18
4,46	70,00	10,36	4,12	92,40	29,23	00:06,3	SC4-18
4,80	60,00	9,56	3,80	79,20	29,17	00:06,3	SC4-18
5,04	50,00	8,39	3,33	66,00	29,15	00:06,2	SC4-18
6,07	40,00	8,05	3,21	52,80	29,17	00:06,4	SC4-18
8,20	30,00	8,24	3,25	39,60	29,23	00:06,3	SC4-18
9,60	20,00	6,36	2,53	26,40	29,25	00:06,3	SC4-18
27,59	10,00	9,16	3,64	13,20	29,23	00:06,2	SC4-18

Tabela 32 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 24 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
1,86	13,20	29,92	00:05,4	SC4-18	1,86	13,20	29,92
3,13	26,40	29,95	00:05,2	SC4-18	3,13	26,40	29,95
3,40	39,60	29,92	00:05,2	SC4-18	3,40	39,60	29,92
3,56	52,80	29,95	00:05,2	SC4-18	3,56	52,80	29,95
3,84	66,00	29,88	00:05,2	SC4-18	3,84	66,00	29,88
4,24	79,20	29,83	00:05,2	SC4-18	4,24	79,20	29,83
4,67	92,40	29,85	00:05,2	SC4-18	4,67	92,40	29,85
4,71	105,60	29,85	00:05,2	SC4-18	4,71	105,60	29,85
5,11	118,80	29,85	00:05,3	SC4-18	5,11	118,80	29,85
5,27	132,00	29,88	00:05,3	SC4-18	5,27	132,00	29,88
5,58	145,20	29,77	00:05,3	SC4-18	5,58	145,20	29,77
5,90	158,40	29,85	00:05,2	SC4-18	5,90	158,40	29,85
6,14	171,60	29,77	00:05,2	SC4-18	6,14	171,60	29,77
6,45	184,80	29,85	00:05,2	SC4-18	6,45	184,80	29,85
6,85	198,00	29,85	00:05,2	SC4-18	6,85	198,00	29,85
7,17	211,20	29,77	00:05,2	SC4-18	7,17	211,20	29,77
7,44	224,40	29,85	00:05,2	SC4-18	7,44	224,40	29,85
7,84	237,60	29,85	00:05,2	SC4-18	7,84	237,60	29,85
8,12	250,80	29,83	00:05,4	SC4-18	8,12	250,80	29,83
9,94	330,00	29,83	00:05,3	SC4-18	9,94	330,00	29,83
9,66	316,80	29,77	00:06,2	SC4-18	9,66	316,80	29,77
9,34	303,60	29,85	00:06,4	SC4-18	9,34	303,60	29,85
9,07	290,40	29,75	00:06,5	SC4-18	9,07	290,40	29,75
8,83	277,20	29,77	00:06,2	SC4-18	8,83	277,20	29,77
8,55	264,00	29,77	00:06,3	SC4-18	8,55	264,00	29,77
8,24	250,80	29,77	00:06,2	SC4-18	8,24	250,80	29,77
8,00	237,60	29,77	00:06,2	SC4-18	8,00	237,60	29,77
7,64	224,40	29,77	00:06,3	SC4-18	7,64	224,40	29,77
7,40	211,20	29,83	00:06,4	SC4-18	7,40	211,20	29,83
7,05	198,00	29,83	00:06,2	SC4-18	7,05	198,00	29,83
6,77	184,80	29,77	00:06,2	SC4-18	6,77	184,80	29,77
6,37	171,60	29,83	00:06,3	SC4-18	6,37	171,60	29,83
6,02	158,40	29,83	00:06,4	SC4-18	6,02	158,40	29,83
5,66	145,20	29,77	00:06,2	SC4-18	5,66	145,20	29,77
5,42	132,00	29,85	00:06,3	SC4-18	5,42	132,00	29,85
5,07	118,80	29,85	00:06,4	SC4-18	5,07	118,80	29,85
4,67	105,60	29,85	00:06,3	SC4-18	4,67	105,60	29,85
4,32	92,40	29,83	00:06,2	SC4-18	4,32	92,40	29,83
4,16	79,20	29,88	00:06,2	SC4-18	4,16	79,20	29,88
3,80	66,00	29,85	00:06,3	SC4-18	3,80	66,00	29,85
3,56	52,80	29,88	00:06,2	SC4-18	3,56	52,80	29,88
3,64	39,60	29,85	00:06,3	SC4-18	3,64	39,60	29,85
3,13	26,40	29,88	00:06,2	SC4-18	3,13	26,40	29,88
3,72	13,20	29,83	00:06,3	SC4-18	3,72	13,20	29,83

Tabela 33 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 36 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
15,90	10,00	5,28	2,10	13,20	30,02	00:05,4	SC4-18
9,00	20,00	6,04	2,38	26,40	29,95	00:05,3	SC4-18
7,40	30,00	7,42	2,93	39,60	30,02	00:05,3	SC4-18
6,45	40,00	8,64	3,40	52,80	30,00	00:05,1	SC4-18
5,76	50,00	9,65	3,80	66,00	30,02	00:05,3	SC4-18
5,20	60,00	10,41	4,12	79,20	30,05	00:05,3	SC4-18
4,88	70,00	11,36	4,51	92,40	29,95	00:05,2	SC4-18
4,65	80,00	12,44	4,91	105,60	30,02	00:05,2	SC4-18
4,50	90,00	13,47	5,34	118,80	30,02	00:05,2	SC4-18
4,32	100,00	14,40	5,70	132,00	29,95	00:05,3	SC4-18
4,12	110,00	15,12	5,98	145,20	29,95	00:05,3	SC4-18
4,05	120,00	16,19	6,41	158,40	30,00	00:05,2	SC4-18
3,95	130,00	17,09	6,77	171,60	30,02	00:05,2	SC4-18
3,83	140,00	17,93	7,09	184,80	30,02	00:05,2	SC4-18
3,78	150,00	18,94	7,48	198,00	30,00	00:05,4	SC4-18
3,71	160,00	19,75	7,84	211,20	30,02	00:05,3	SC4-18
3,41	220,00	25,03	9,90	290,40	30,02	00:05,2	SC4-18
3,38	230,00	25,92	10,25	303,60	30,00	00:05,3	SC4-18
3,34	240,00	26,74	10,57	316,80	30,00	00:05,2	SC4-18
3,31	250,00	27,61	10,93	330,00	29,85	00:05,2	SC4-18
3,32	240,00	26,64	10,53	316,80	29,92	00:06,2	SC4-18
3,34	230,00	25,60	10,14	303,60	29,88	00:06,3	SC4-18
3,38	220,00	24,76	9,82	290,40	29,95	00:06,4	SC4-18
3,41	210,00	23,89	9,46	277,20	29,92	00:06,2	SC4-18
3,46	200,00	23,09	9,15	264,00	30,00	00:06,2	SC4-18
3,49	190,00	22,14	8,75	250,80	29,95	00:06,3	SC4-18
3,55	180,00	21,29	8,43	237,60	29,95	00:06,4	SC4-18
3,60	170,00	20,42	8,08	224,40	30,00	00:06,3	SC4-18
3,66	160,00	19,52	7,72	211,20	30,02	00:06,2	SC4-18
3,72	150,00	18,63	7,36	198,00	30,02	00:06,4	SC4-18
3,81	140,00	17,77	7,05	184,80	30,02	00:06,2	SC4-18
3,90	130,00	16,90	6,69	171,60	30,05	00:06,3	SC4-18
4,00	120,00	16,01	6,33	158,40	30,13	00:06,2	SC4-18
4,17	110,00	15,25	6,06	145,20	30,13	00:06,3	SC4-18
4,29	100,00	14,26	5,66	132,00	30,10	00:06,2	SC4-18
4,53	90,00	13,55	5,38	118,80	30,13	00:06,2	SC4-18
4,65	80,00	12,44	4,91	105,60	30,05	00:06,2	SC4-18
4,97	70,00	11,60	4,59	92,40	30,00	00:06,3	SC4-18
5,25	60,00	10,51	4,16	79,20	29,95	00:06,2	SC4-18
5,76	50,00	9,61	3,80	66,00	30,02	00:06,3	SC4-18
6,45	40,00	8,61	3,40	52,80	30,05	00:06,3	SC4-18
7,70	30,00	7,66	3,05	39,60	30,02	00:06,2	SC4-18
8,85	20,00	5,95	2,34	26,40	30,02	00:06,3	SC4-18
13,20	10,00	4,44	1,74	13,20	30,02	00:06,3	SC4-18

Tabela 34 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 48 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
25,99	30,00	2,61	2,65	10,20	30,20	00:05,2	SC4-31
25,49	40,00	3,36	3,47	13,60	30,17	00:05,3	SC4-31
25,19	50,00	4,15	4,28	17,00	30,27	00:05,2	SC4-31
23,49	60,00	4,71	4,79	20,40	30,20	00:05,2	SC4-31
22,71	70,00	5,33	5,40	23,80	30,20	00:05,2	SC4-31
22,50	80,00	5,99	6,12	27,20	30,20	00:05,2	SC4-31
22,33	90,00	6,66	6,83	30,60	30,23	00:05,2	SC4-31
21,60	100,00	7,16	7,34	34,00	30,23	00:05,3	SC4-31
20,72	110,00	7,61	7,75	37,40	30,30	00:05,2	SC4-31
20,25	120,00	8,15	8,26	40,80	30,23	00:05,2	SC4-31
19,84	130,00	8,63	8,77	44,20	30,20	00:05,2	SC4-31
19,50	140,00	9,12	9,28	47,60	30,20	00:05,3	SC4-31
19,00	150,00	9,52	9,69	51,00	30,20	00:05,2	SC4-31
18,56	160,00	9,90	10,10	54,40	30,20	00:05,2	SC4-31
18,35	170,00	10,38	10,61	57,80	30,23	00:05,2	SC4-31
17,83	180,00	10,73	10,91	61,20	30,20	00:05,2	SC4-31
17,52	190,00	11,09	11,32	64,60	30,20	00:05,2	SC4-31
16,08	250,00	13,39	13,67	85,00	30,23	00:05,3	SC4-31
16,37	240,00	13,07	13,36	81,60	30,17	00:06,3	SC4-31
16,43	230,00	12,64	12,85	78,20	30,17	00:07,7	SC4-31
16,91	220,00	12,36	12,65	74,80	30,20	00:06,3	SC4-31
17,28	210,00	12,12	12,34	71,40	30,17	00:06,4	SC4-31
17,55	200,00	11,68	11,93	68,00	30,20	00:06,4	SC4-31
17,68	190,00	11,23	11,42	64,60	30,10	00:06,4	SC4-31
18,16	180,00	10,90	11,12	61,20	30,10	00:06,3	SC4-31
18,35	170,00	10,39	10,61	57,80	30,10	00:06,2	SC4-31
18,93	160,00	10,06	10,30	54,40	30,02	00:06,3	SC4-31
19,20	150,00	9,56	9,79	51,00	30,02	00:06,2	SC4-31
19,50	140,00	9,06	9,28	47,60	30,05	00:06,3	SC4-31
19,61	130,00	8,53	8,67	44,20	30,02	00:06,3	SC4-31
20,25	120,00	8,11	8,26	40,80	30,10	00:06,3	SC4-31
21,27	110,00	7,75	7,95	37,40	30,13	00:06,5	SC4-31
21,60	100,00	7,20	7,34	34,00	30,10	00:06,4	SC4-31
22,66	90,00	6,75	6,93	30,60	30,10	00:06,4	SC4-31
22,12	80,00	5,93	6,02	27,20	30,17	00:06,2	SC4-31
23,14	70,00	5,45	5,51	23,80	30,13	00:06,5	SC4-31
23,99	60,00	4,80	4,89	20,40	30,20	00:06,2	SC4-31
25,19	50,00	4,18	4,28	17,00	30,17	00:06,3	SC4-31
26,99	40,00	3,57	3,67	13,60	30,13	00:06,3	SC4-31
24,99	30,00	2,47	2,55	10,20	30,20	00:06,2	SC4-31
23,99	20,00	1,65	1,63	6,80	30,17	00:06,3	SC4-31
29,99	10,00	0,99	1,02	3,40	30,23	00:06,3	SC4-31
25,99	30,00	2,61	2,65	10,20	30,20	00:05,2	SC4-31
25,49	40,00	3,36	3,47	13,60	30,17	00:05,3	SC4-31

Tabela 35 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 60 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
107,98	10,00	3,63	3,67	3,40	30,50	00:05,4	SC4-31
94,48	20,00	6,33	6,42	6,80	30,50	00:05,2	SC4-31
84,98	30,00	8,52	8,67	10,20	30,50	00:05,2	SC4-31
77,23	40,00	10,27	10,50	13,60	30,45	00:05,3	SC4-31
72,58	50,00	12,05	12,34	17,00	30,45	00:05,2	SC4-31
67,49	60,00	13,52	13,77	20,40	30,40	00:05,3	SC4-31
63,84	70,00	14,92	15,19	23,80	30,45	00:05,3	SC4-31
60,74	80,00	16,19	16,52	27,20	30,38	00:05,3	SC4-31
58,99	90,00	17,66	18,05	30,60	30,38	00:05,5	SC4-31
55,79	100,00	18,64	18,97	34,00	30,45	00:05,3	SC4-31
53,72	110,00	19,69	20,09	37,40	30,40	00:05,4	SC4-31
52,24	120,00	20,91	21,31	40,80	30,38	00:05,3	SC4-31
50,53	130,00	21,87	22,33	44,20	30,33	00:05,2	SC4-31
48,85	140,00	22,80	23,25	47,60	30,33	00:05,3	SC4-31
47,19	150,00	23,63	24,07	51,00	30,33	00:05,2	SC4-31
45,93	160,00	24,54	24,98	54,40	30,33	00:05,2	SC4-31
44,64	170,00	25,34	25,80	57,80	30,33	00:05,3	SC4-31
43,49	180,00	26,06	26,62	61,20	30,33	00:05,2	SC4-31
42,46	190,00	26,90	27,43	64,60	30,33	00:05,2	SC4-31
41,54	200,00	27,67	28,25	68,00	30,40	00:05,2	SC4-31
40,42	210,00	28,34	28,86	71,40	30,38	00:05,3	SC4-31
39,54	220,00	29,04	29,57	74,80	30,40	00:05,2	SC4-31
38,73	230,00	29,72	30,29	78,20	30,45	00:05,4	SC4-31
39,81	220,00	29,16	29,78	74,80	30,48	00:06,2	SC4-31
40,28	210,00	28,24	28,76	71,40	30,50	00:06,4	SC4-31
41,39	200,00	27,64	28,15	68,00	30,50	00:06,2	SC4-31
43,49	180,00	26,08	26,62	61,20	30,48	00:06,2	SC4-31
44,64	170,00	25,33	25,80	57,80	30,45	00:06,4	SC4-31
45,93	160,00	24,50	24,98	54,40	30,48	00:06,3	SC4-31
46,99	150,00	23,52	23,96	51,00	30,50	00:06,2	SC4-31
48,42	140,00	22,64	23,05	47,60	30,48	00:06,4	SC4-31
50,07	130,00	21,66	22,13	44,20	30,58	00:06,3	SC4-31
51,74	120,00	20,73	21,11	40,80	30,48	00:06,3	SC4-31
53,72	110,00	19,71	20,09	37,40	30,45	00:06,2	SC4-31
55,79	100,00	18,64	18,97	34,00	30,50	00:06,3	SC4-31
58,32	90,00	17,55	17,85	30,60	30,45	00:06,3	SC4-31
60,74	80,00	16,23	16,52	27,20	30,40	00:06,2	SC4-31
64,27	70,00	14,97	15,30	23,80	30,48	00:06,5	SC4-31
67,99	60,00	13,63	13,87	20,40	30,45	00:06,3	SC4-31
72,58	50,00	12,07	12,34	17,00	30,48	00:06,3	SC4-31
77,98	40,00	10,41	10,61	13,60	30,38	00:06,2	SC4-31
82,98	30,00	8,30	8,46	10,20	30,50	00:06,4	SC4-31
89,98	20,00	6,04	6,12	6,80	30,45	00:06,3	SC4-31
104,98	10,00	3,51	3,57	3,40	30,45	00:06,2	SC4-31

Tabela 36 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 72 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
242,95	10,00	8,07	8,26	3,40	30,38	00:05,5	SC4-31
196,46	20,00	13,13	13,36	6,80	30,40	00:05,2	SC4-31
169,96	30,00	17,01	17,34	10,20	30,38	00:05,2	SC4-31
152,97	40,00	20,35	20,80	13,60	30,40	00:05,2	SC4-31
137,97	50,00	23,05	23,45	17,00	30,40	00:05,2	SC4-31
128,47	60,00	25,66	26,21	20,40	30,40	00:05,3	SC4-31
118,26	70,00	27,64	28,15	23,80	30,45	00:05,3	SC4-31
111,73	80,00	29,78	30,39	27,20	30,48	00:05,2	SC4-31
105,64	90,00	31,66	32,33	30,60	30,48	00:05,2	SC4-31
99,88	100,00	33,35	33,96	34,00	30,48	00:05,3	SC4-31
95,43	110,00	35,00	35,69	37,40	30,50	00:05,3	SC4-31
91,23	120,00	36,55	37,22	40,80	30,50	00:05,2	SC4-31
87,67	130,00	37,98	38,75	44,20	30,48	00:05,3	SC4-31
84,62	140,00	39,46	40,28	47,60	30,48	00:05,2	SC4-31
81,38	150,00	40,68	41,51	51,00	30,45	00:05,2	SC4-31
78,73	160,00	41,98	42,83	54,40	30,50	00:05,2	SC4-31
76,04	170,00	43,14	43,95	57,80	30,45	00:05,2	SC4-31
73,98	180,00	44,41	45,28	61,20	30,50	00:05,3	SC4-31
71,98	190,00	45,64	46,50	64,60	30,48	00:05,3	SC4-31
70,04	200,00	46,66	47,62	68,00	30,45	00:05,3	SC4-31
68,27	210,00	47,75	48,75	71,40	30,48	00:05,2	SC4-31
66,53	220,00	48,85	49,77	74,80	30,50	00:05,2	SC4-31
65,20	230,00	49,98	50,99	78,20	30,45	00:05,2	SC4-31
63,61	240,00	50,90	51,91	81,60	30,48	00:05,2	SC4-31
70,33	200,00	46,86	47,83	68,00	30,45	00:06,4	SC4-31
72,30	190,00	45,81	46,71	64,60	30,48	00:06,3	SC4-31
74,32	180,00	44,63	45,48	61,20	30,48	00:06,3	SC4-31
76,75	170,00	43,47	44,36	57,80	30,45	00:06,2	SC4-31
79,11	160,00	42,20	43,03	54,40	30,48	00:06,3	SC4-31
81,78	150,00	40,94	41,71	51,00	30,45	00:06,2	SC4-31
84,84	140,00	39,60	40,38	47,60	30,45	00:06,4	SC4-31
87,90	130,00	38,13	38,85	44,20	30,48	00:06,2	SC4-31
91,73	120,00	36,70	37,43	40,80	30,50	00:06,3	SC4-31
95,71	110,00	35,08	35,79	37,40	30,50	00:06,3	SC4-31
100,48	100,00	33,51	34,16	34,00	30,48	00:06,2	SC4-31
106,31	90,00	31,87	32,53	30,60	30,48	00:06,3	SC4-31
111,73	80,00	29,82	30,39	27,20	30,45	00:06,3	SC4-31
118,26	70,00	27,63	28,15	23,80	30,48	00:06,3	SC4-31
126,97	60,00	25,38	25,90	20,40	30,50	00:06,2	SC4-31
137,37	50,00	22,91	23,35	17,00	30,48	00:06,3	SC4-31
150,72	40,00	20,15	20,50	13,60	30,48	00:06,3	SC4-31
169,96	30,00	17,04	17,34	10,20	30,48	00:06,3	SC4-31
199,46	20,00	13,28	13,56	6,80	30,40	00:06,3	SC4-31
245,95	10,00	8,18	8,36	3,40	30,40	00:06,4	SC4-31

Tabela 37 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 84 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
404,91	10,00	13,50	13,77	3,40	30,63	00:05,4	SC4-31
311,93	20,00	20,79	21,21	6,80	30,63	00:05,2	SC4-31
257,94	30,00	25,84	26,31	10,20	30,65	00:05,2	SC4-31
229,45	40,00	30,58	31,21	13,60	30,65	00:05,3	SC4-31
206,36	50,00	34,43	35,08	17,00	30,63	00:05,3	SC4-31
187,96	60,00	37,63	38,34	20,40	30,65	00:05,2	SC4-31
172,68	70,00	40,34	41,10	23,80	30,63	00:05,4	SC4-31
161,22	80,00	43,05	43,85	27,20	30,55	00:05,2	SC4-31
151,30	90,00	45,43	46,30	30,60	30,58	00:05,3	SC4-31
143,07	100,00	47,67	48,64	34,00	30,58	00:05,2	SC4-31
135,52	110,00	49,69	50,68	37,40	30,65	00:05,4	SC4-31
129,22	120,00	51,66	52,72	40,80	30,63	00:05,2	SC4-31
123,67	130,00	53,62	54,66	44,20	30,50	00:05,2	SC4-31
118,69	140,00	55,37	56,50	47,60	30,50	00:05,2	SC4-31
114,38	150,00	57,18	58,33	51,00	30,50	00:05,2	SC4-31
110,23	160,00	58,76	59,96	54,40	30,45	00:05,2	SC4-31
106,57	170,00	60,36	61,59	57,80	30,50	00:05,2	SC4-31
102,98	180,00	61,77	63,02	61,20	30,48	00:05,2	SC4-31
87,36	240,00	69,95	71,28	81,60	30,40	00:05,2	SC4-31
85,42	250,00	71,23	72,61	85,00	30,40	00:05,3	SC4-31
86,61	240,00	69,27	70,67	81,60	30,48	00:06,3	SC4-31
88,81	230,00	68,11	69,45	78,20	30,45	00:06,2	SC4-31
91,21	220,00	66,92	68,22	74,80	30,40	00:06,3	SC4-31
93,84	210,00	65,74	67,00	71,40	30,38	00:06,3	SC4-31
96,73	200,00	64,48	65,78	68,00	30,38	00:06,3	SC4-31
99,61	190,00	63,13	64,35	64,60	30,33	00:06,4	SC4-31
102,64	180,00	61,62	62,82	61,20	30,30	00:06,3	SC4-31
106,21	170,00	60,21	61,39	57,80	30,40	00:06,3	SC4-31
109,66	160,00	58,53	59,66	54,40	30,33	00:06,3	SC4-31
113,98	150,00	57,01	58,13	51,00	30,38	00:06,3	SC4-31
118,69	140,00	55,43	56,50	47,60	30,30	00:06,2	SC4-31
123,90	130,00	53,72	54,76	44,20	30,27	00:06,3	SC4-31
129,47	120,00	51,79	52,82	40,80	30,30	00:06,3	SC4-31
135,52	110,00	49,71	50,68	37,40	30,27	00:06,2	SC4-31
142,77	100,00	47,56	48,54	34,00	30,30	00:06,3	SC4-31
151,63	90,00	45,55	46,40	30,60	30,30	00:06,3	SC4-31
160,84	80,00	42,88	43,75	27,20	30,33	00:06,3	SC4-31
172,68	70,00	40,27	41,10	23,80	30,30	00:06,3	SC4-31
186,96	60,00	37,41	38,14	20,40	30,23	00:06,3	SC4-31
206,36	50,00	34,36	35,08	17,00	30,27	00:06,2	SC4-31
231,70	40,00	30,87	31,51	13,60	30,30	00:06,3	SC4-31
265,94	30,00	26,56	27,13	10,20	30,23	00:06,2	SC4-31
314,93	20,00	20,99	21,42	6,80	30,23	00:06,3	SC4-31
398,91	10,00	13,29	13,56	3,40	30,27	00:06,2	SC4-31

Tabela 38 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 96 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
746,84	10,00	24,91	25,39	3,40	30,48	00:05,4	SC4-31
541,38	20,00	36,08	36,81	6,80	30,40	00:05,3	SC4-31
436,91	30,00	43,73	44,56	10,20	30,40	00:05,2	SC4-31
368,92	40,00	49,20	50,17	13,60	30,40	00:05,2	SC4-31
325,73	50,00	54,25	55,37	17,00	30,30	00:05,2	SC4-31
293,94	60,00	58,80	59,96	20,40	30,33	00:05,2	SC4-31
268,23	70,00	62,58	63,84	23,80	30,33	00:05,2	SC4-31
247,82	80,00	66,07	67,41	27,20	30,40	00:05,3	SC4-31
230,62	90,00	69,15	70,57	30,60	30,38	00:05,2	SC4-31
216,55	100,00	72,17	73,63	34,00	30,33	00:05,2	SC4-31
204,50	110,00	75,04	76,48	37,40	30,30	00:05,4	SC4-31
193,71	120,00	77,46	79,03	40,80	30,27	00:05,2	SC4-31
183,88	130,00	79,69	81,28	44,20	30,23	00:05,2	SC4-31
176,32	140,00	82,33	83,93	47,60	30,27	00:05,2	SC4-31
168,16	150,00	84,11	85,76	51,00	30,30	00:05,2	SC4-31
161,78	160,00	86,27	88,01	54,40	30,27	00:05,2	SC4-31
131,97	220,00	96,81	98,71	74,80	30,38	00:05,2	SC4-31
128,32	230,00	98,37	100,35	78,20	30,38	00:05,2	SC4-31
124,85	240,00	99,95	101,88	81,60	30,40	00:05,3	SC4-31
121,65	250,00	101,45	103,41	85,00	30,30	00:05,2	SC4-31
124,72	240,00	99,84	101,77	81,60	30,33	00:06,3	SC4-31
128,19	230,00	98,30	100,24	78,20	30,23	00:06,3	SC4-31
131,84	220,00	96,73	98,61	74,80	30,23	00:06,3	SC4-31
135,83	210,00	95,12	96,98	71,40	30,23	00:06,2	SC4-31
140,37	200,00	93,57	95,45	68,00	30,27	00:06,4	SC4-31
145,07	190,00	91,86	93,72	64,60	30,23	00:06,3	SC4-31
149,97	180,00	90,04	91,78	61,20	30,17	00:06,3	SC4-31
155,44	170,00	88,08	89,84	57,80	30,13	00:06,2	SC4-31
161,40	160,00	86,10	87,80	54,40	30,17	00:06,3	SC4-31
168,16	150,00	84,06	85,76	51,00	30,10	00:06,3	SC4-31
175,68	140,00	81,99	83,62	47,60	30,05	00:06,2	SC4-31
183,42	130,00	79,54	81,07	44,20	30,17	00:06,3	SC4-31
193,21	120,00	77,25	78,83	40,80	30,27	00:06,3	SC4-31
203,68	110,00	74,70	76,18	37,40	30,30	00:06,2	SC4-31
215,65	100,00	71,94	73,32	34,00	30,30	00:06,3	SC4-31
230,62	90,00	69,24	70,57	30,60	30,33	00:06,3	SC4-31
246,70	80,00	65,85	67,10	27,20	30,33	00:06,3	SC4-31
266,51	70,00	62,18	63,43	23,80	30,27	00:06,3	SC4-31
291,94	60,00	58,44	59,56	20,40	30,23	00:06,3	SC4-31
325,73	50,00	54,26	55,37	17,00	30,23	00:06,3	SC4-31
370,42	40,00	49,39	50,38	13,60	30,23	00:06,2	SC4-31
432,91	30,00	43,35	44,16	10,20	30,27	00:06,3	SC4-31
527,89	20,00	35,15	35,90	6,80	30,23	00:06,3	SC4-31
725,85	10,00	24,18	24,68	3,40	30,23	00:06,3	SC4-31

Tabela 39 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 108 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
1061,77	10,00	35,38	36,10	3,40	30,38	00:05,5	SC4-31
724,35	20,00	48,33	49,26	6,80	30,38	00:05,2	SC4-31
571,88	30,00	57,19	58,33	10,20	30,33	00:05,2	SC4-31
478,40	40,00	63,81	65,06	13,60	30,38	00:05,3	SC4-31
416,91	50,00	69,53	70,87	17,00	30,23	00:05,3	SC4-31
373,42	60,00	74,66	76,18	20,40	30,23	00:05,4	SC4-31
339,36	70,00	79,24	80,77	23,80	30,27	00:05,3	SC4-31
312,68	80,00	83,40	85,05	27,20	30,27	00:05,3	SC4-31
290,27	90,00	87,14	88,82	30,60	30,27	00:05,3	SC4-31
271,74	100,00	90,58	92,39	34,00	30,27	00:05,2	SC4-31
254,95	110,00	93,54	95,35	37,40	30,23	00:05,2	SC4-31
240,45	120,00	96,21	98,10	40,80	30,20	00:05,3	SC4-31
228,41	130,00	98,96	100,96	44,20	30,27	00:05,2	SC4-31
173,65	190,00	110,00	112,18	64,60	30,33	00:05,2	SC4-31
164,96	200,00	110,00	112,18	68,00	30,30	00:05,3	SC4-31
157,11	210,00	110,00	112,18	71,40	30,27	00:05,2	SC4-31
149,97	220,00	110,00	112,18	74,80	30,33	00:05,2	SC4-31
143,45	230,00	110,00	112,18	78,20	30,38	00:05,3	SC4-31
137,47	240,00	110,00	112,18	81,60	30,40	00:05,2	SC4-31
131,97	250,00	110,00	112,18	85,00	30,38	00:05,2	SC4-31
137,47	240,00	110,00	112,18	81,60	30,38	00:06,2	SC4-31
143,45	230,00	110,00	112,18	78,20	30,38	00:06,2	SC4-31
149,97	220,00	110,00	112,18	74,80	30,33	00:06,2	SC4-31
157,11	210,00	110,00	112,18	71,40	30,40	00:06,4	SC4-31
164,96	200,00	110,00	112,18	68,00	30,33	00:06,3	SC4-31
173,65	190,00	110,00	112,18	64,60	30,38	00:06,2	SC4-31
183,29	180,00	110,00	112,18	61,20	30,38	00:06,2	SC4-31
191,25	170,00	108,37	110,54	57,80	30,40	00:06,3	SC4-31
199,08	160,00	106,16	108,30	54,40	30,48	00:06,3	SC4-31
207,56	150,00	103,83	105,85	51,00	30,45	00:06,4	SC4-31
217,45	140,00	101,47	103,51	47,60	30,45	00:06,2	SC4-31
227,95	130,00	98,78	100,75	44,20	30,45	00:06,3	SC4-31
240,45	120,00	96,19	98,10	40,80	30,40	00:06,3	SC4-31
254,13	110,00	93,18	95,04	37,40	30,38	00:06,3	SC4-31
270,54	100,00	90,17	91,98	34,00	30,45	00:06,2	SC4-31
289,94	90,00	87,03	88,72	30,60	30,38	00:06,3	SC4-31
311,93	80,00	83,16	84,85	27,20	30,38	00:06,2	SC4-31
339,36	70,00	79,17	80,77	23,80	30,38	00:06,3	SC4-31
374,42	60,00	74,93	76,38	20,40	30,33	00:06,3	SC4-31
421,11	50,00	70,20	71,59	17,00	30,30	00:06,4	SC4-31
482,15	40,00	64,28	65,57	13,60	30,30	00:06,2	SC4-31
571,88	30,00	57,19	58,33	10,20	30,30	00:06,4	SC4-31
715,35	20,00	47,74	48,64	6,80	30,33	00:06,3	SC4-31
1040,78	10,00	34,70	35,39	3,40	30,38	00:06,3	SC4-31

Tabela 40 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 120 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
1472,69	10,00	49,13	50,07	3,40	30,85	00:05,4	SC4-31
967,29	20,00	64,54	65,78	6,80	30,85	00:05,3	SC4-31
754,84	30,00	75,47	76,99	10,20	30,80	00:05,2	SC4-31
626,12	40,00	83,47	85,15	13,60	30,75	00:05,2	SC4-31
541,08	50,00	90,17	91,98	17,00	30,75	00:05,2	SC4-31
479,90	60,00	95,99	97,90	20,40	30,75	00:05,3	SC4-31
433,19	70,00	101,06	103,10	23,80	30,80	00:05,3	SC4-31
396,29	80,00	105,73	107,79	27,20	30,80	00:05,2	SC4-31
366,59	90,00	110,00	112,18	30,60	30,83	00:05,4	SC4-31
329,93	100,00	110,00	112,18	34,00	30,80	00:05,4	SC4-31
299,94	110,00	110,00	112,18	37,40	30,80	00:05,2	SC4-31
274,94	120,00	110,00	112,18	40,80	30,73	00:05,3	SC4-31
253,79	130,00	110,00	112,18	44,20	30,80	00:05,2	SC4-31
235,66	140,00	110,00	112,18	47,60	30,67	00:05,2	SC4-31
164,96	200,00	110,00	112,18	68,00	30,67	00:05,2	SC4-31
157,11	210,00	110,00	112,18	71,40	30,67	00:05,3	SC4-31
149,97	220,00	110,00	112,18	74,80	30,73	00:05,3	SC4-31
143,45	230,00	110,00	112,18	78,20	30,65	00:05,3	SC4-31
137,47	240,00	110,00	112,18	81,60	30,73	00:05,2	SC4-31
131,97	250,00	110,00	112,18	85,00	30,67	00:05,2	SC4-31
137,47	240,00	110,00	112,18	81,60	30,67	00:06,3	SC4-31
143,45	230,00	110,00	112,18	78,20	30,63	00:06,3	SC4-31
149,97	220,00	110,00	112,18	74,80	30,65	00:06,3	SC4-31
157,11	210,00	110,00	112,18	71,40	30,63	00:06,3	SC4-31
164,96	200,00	110,00	112,18	68,00	30,55	00:06,3	SC4-31
173,65	190,00	110,00	112,18	64,60	30,58	00:06,4	SC4-31
183,29	180,00	110,00	112,18	61,20	30,50	00:06,4	SC4-31
194,08	170,00	110,00	112,18	57,80	30,50	00:06,3	SC4-31
206,21	160,00	110,00	112,18	54,40	30,48	00:06,3	SC4-31
219,95	150,00	110,00	112,18	51,00	30,48	00:06,3	SC4-31
235,66	140,00	110,00	112,18	47,60	30,45	00:06,3	SC4-31
253,79	130,00	110,00	112,18	44,20	30,48	00:06,5	SC4-31
274,94	120,00	110,00	112,18	40,80	30,48	00:06,6	SC4-31
299,94	110,00	110,00	112,18	37,40	30,45	00:06,2	SC4-31
329,93	100,00	110,00	112,18	34,00	30,50	00:06,3	SC4-31
366,26	90,00	109,95	112,07	30,60	30,45	00:06,3	SC4-31
396,29	80,00	105,70	107,79	27,20	30,45	00:06,3	SC4-31
433,19	70,00	101,06	103,10	23,80	30,50	00:06,4	SC4-31
480,40	60,00	96,08	98,00	20,40	30,45	00:06,3	SC4-31
541,68	50,00	90,30	92,09	17,00	30,48	00:06,3	SC4-31
623,87	40,00	83,18	84,85	13,60	30,45	00:06,2	SC4-31
741,84	30,00	74,15	75,67	10,20	30,40	00:06,3	SC4-31
950,80	20,00	63,43	64,65	6,80	30,40	00:06,3	SC4-31
1436,69	10,00	47,89	48,85	3,40	30,40	00:06,3	SC4-31

Tabela 41 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 144 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
2342,50	10,00	78,12	79,65	3,40	30,73	00:05,4	SC4-31
1454,69	20,00	97,03	98,92	6,80	30,67	00:05,4	SC4-31
1099,77	30,00	110,00	112,18	10,20	30,58	00:05,2	SC4-31
824,82	40,00	110,00	112,18	13,60	30,58	00:05,2	SC4-31
659,86	50,00	110,00	112,18	17,00	30,50	00:05,2	SC4-31
549,88	60,00	110,00	112,18	20,40	30,55	00:05,1	SC4-31
471,33	70,00	110,00	112,18	23,80	30,58	00:05,3	SC4-31
412,41	80,00	110,00	112,18	27,20	30,63	00:05,3	SC4-31
366,59	90,00	110,00	112,18	30,60	30,63	00:05,2	SC4-31
329,93	100,00	110,00	112,18	34,00	30,65	00:05,2	SC4-31
299,94	110,00	110,00	112,18	37,40	30,55	00:05,4	SC4-31
274,94	120,00	110,00	112,18	40,80	30,65	00:05,3	SC4-31
253,79	130,00	110,00	112,18	44,20	30,58	00:05,2	SC4-31
235,66	140,00	110,00	112,18	47,60	30,63	00:05,3	SC4-31
219,95	150,00	110,00	112,18	51,00	30,55	00:05,3	SC4-31
206,21	160,00	110,00	112,18	54,40	30,55	00:05,3	SC4-31
194,08	170,00	110,00	112,18	57,80	30,50	00:05,1	SC4-31
143,45	230,00	110,00	112,18	78,20	30,50	00:05,2	SC4-31
137,47	240,00	110,00	112,18	81,60	30,58	00:05,3	SC4-31
131,97	250,00	110,00	112,18	85,00	30,55	00:05,2	SC4-31
137,47	240,00	110,00	112,18	81,60	30,50	00:06,3	SC4-31
143,45	230,00	110,00	112,18	78,20	30,48	00:06,3	SC4-31
149,97	220,00	110,00	112,18	74,80	30,45	00:06,3	SC4-31
157,11	210,00	110,00	112,18	71,40	30,50	00:06,2	SC4-31
164,96	200,00	110,00	112,18	68,00	30,45	00:06,3	SC4-31
173,65	190,00	110,00	112,18	64,60	30,48	00:06,2	SC4-31
183,29	180,00	110,00	112,18	61,20	30,45	00:06,3	SC4-31
194,08	170,00	110,00	112,18	57,80	30,45	00:06,3	SC4-31
206,21	160,00	110,00	112,18	54,40	30,48	00:06,3	SC4-31
219,95	150,00	110,00	112,18	51,00	30,45	00:06,3	SC4-31
235,66	140,00	110,00	112,18	47,60	30,50	00:06,4	SC4-31
253,79	130,00	110,00	112,18	44,20	30,50	00:06,2	SC4-31
274,94	120,00	110,00	112,18	40,80	30,50	00:06,3	SC4-31
299,94	110,00	110,00	112,18	37,40	30,58	00:06,3	SC4-31
329,93	100,00	110,00	112,18	34,00	30,63	00:06,2	SC4-31
366,59	90,00	110,00	112,18	30,60	30,65	00:06,3	SC4-31
412,41	80,00	110,00	112,18	27,20	30,63	00:06,4	SC4-31
471,33	70,00	110,00	112,18	23,80	30,63	00:06,3	SC4-31
549,88	60,00	110,00	112,18	20,40	30,58	00:06,4	SC4-31
659,86	50,00	110,00	112,18	17,00	30,63	00:06,3	SC4-31
824,82	40,00	110,00	112,18	13,60	30,65	00:06,3	SC4-31
1099,77	30,00	110,00	112,18	10,20	30,55	00:06,3	SC4-31
1450,19	20,00	96,73	98,61	6,80	30,50	00:06,3	SC4-31
2288,51	10,00	76,33	77,81	3,40	30,48	00:06,3	SC4-31

Tabela 42 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 156 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
2591,45	10,00	86,45	88,11	3,40	30,73	00:05,3	SC4-31
1612,16	20,00	107,48	109,63	6,80	30,73	00:05,4	SC4-31
1099,77	30,00	110,00	112,18	10,20	30,73	00:05,2	SC4-31
824,82	40,00	110,00	112,18	13,60	30,80	00:05,3	SC4-31
659,86	50,00	110,00	112,18	17,00	30,75	00:05,3	SC4-31
549,88	60,00	110,00	112,18	20,40	30,75	00:05,3	SC4-31
471,33	70,00	110,00	112,18	23,80	30,75	00:05,3	SC4-31
412,41	80,00	110,00	112,18	27,20	30,73	00:05,2	SC4-31
366,59	90,00	110,00	112,18	30,60	30,65	00:05,2	SC4-31
329,93	100,00	110,00	112,18	34,00	30,67	00:05,2	SC4-31
299,94	110,00	110,00	112,18	37,40	30,58	00:05,2	SC4-31
274,94	120,00	110,00	112,18	40,80	30,63	00:05,3	SC4-31
253,79	130,00	110,00	112,18	44,20	30,65	00:05,3	SC4-31
235,66	140,00	110,00	112,18	47,60	30,58	00:05,4	SC4-31
219,95	150,00	110,00	112,18	51,00	30,58	00:05,3	SC4-31
157,11	210,00	110,00	112,18	71,40	30,50	00:05,4	SC4-31
149,97	220,00	110,00	112,18	74,80	30,50	00:05,3	SC4-31
143,45	230,00	110,00	112,18	78,20	30,50	00:05,3	SC4-31
137,47	240,00	110,00	112,18	81,60	30,50	00:05,3	SC4-31
131,97	250,00	110,00	112,18	85,00	30,55	00:05,2	SC4-31
137,47	240,00	110,00	112,18	81,60	30,55	00:06,3	SC4-31
143,45	230,00	110,00	112,18	78,20	30,50	00:06,7	SC4-31
149,97	220,00	110,00	112,18	74,80	30,48	00:06,9	SC4-31
157,11	210,00	110,00	112,18	71,40	30,55	00:07,0	SC4-31
164,96	200,00	110,00	112,18	68,00	30,45	00:06,4	SC4-31
173,65	190,00	110,00	112,18	64,60	30,50	00:06,4	SC4-31
183,29	180,00	110,00	112,18	61,20	30,50	00:06,2	SC4-31
194,08	170,00	110,00	112,18	57,80	30,45	00:06,3	SC4-31
206,21	160,00	110,00	112,18	54,40	30,45	00:06,3	SC4-31
219,95	150,00	110,00	112,18	51,00	30,50	00:06,3	SC4-31
235,66	140,00	110,00	112,18	47,60	30,45	00:06,4	SC4-31
253,79	130,00	110,00	112,18	44,20	30,50	00:06,4	SC4-31
274,94	120,00	110,00	112,18	40,80	30,48	00:06,6	SC4-31
299,94	110,00	110,00	112,18	37,40	30,40	00:06,5	SC4-31
329,93	100,00	110,00	112,18	34,00	30,38	00:06,4	SC4-31
366,59	90,00	110,00	112,18	30,60	30,38	00:06,3	SC4-31
412,41	80,00	110,00	112,18	27,20	30,38	00:06,3	SC4-31
471,33	70,00	110,00	112,18	23,80	30,45	00:06,3	SC4-31
549,88	60,00	110,00	112,18	20,40	30,40	00:06,3	SC4-31
659,86	50,00	110,00	112,18	17,00	30,38	00:06,3	SC4-31
824,82	40,00	110,00	112,18	13,60	30,38	00:06,2	SC4-31
1099,77	30,00	110,00	112,18	10,20	30,40	00:07,1	SC4-31
1553,67	20,00	103,57	105,65	6,80	30,33	00:07,3	SC4-31
2483,47	10,00	82,81	84,44	3,40	30,30	00:06,3	SC4-31

Tabela 43 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 168 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
2921,38	10	97,41	99,33	3,4	30,63	00:05,4	SC4-31
1649,65	20	110	112,18	6,8	30,65	00:05,2	SC4-31
1099,77	30	110	112,18	10,2	30,65	00:05,2	SC4-31
824,82	40	110	112,18	13,6	30,58	00:05,2	SC4-31
659,86	50	110	112,18	17	30,63	00:05,4	SC4-31
549,88	60	110	112,18	20,4	30,58	00:05,2	SC4-31
471,33	70	110	112,18	23,8	30,63	00:05,3	SC4-31
412,41	80	110	112,18	27,2	30,63	00:05,2	SC4-31
366,59	90	110	112,18	30,6	30,65	00:05,2	SC4-31
329,93	100	110	112,18	34	30,65	00:05,2	SC4-31
299,94	110	110	112,18	37,4	30,63	00:05,2	SC4-31
274,94	120	110	112,18	40,8	30,63	00:05,4	SC4-31
253,79	130	110	112,18	44,2	30,65	00:05,3	SC4-31
235,66	140	110	112,18	47,6	30,67	00:05,1	SC4-31
219,95	150	110	112,18	51	30,65	00:05,2	SC4-31
157,11	210	110	112,18	71,4	30,75	00:05,4	SC4-31
149,97	220	110	112,18	74,8	30,8	00:05,3	SC4-31
143,45	230	110	112,18	78,2	30,8	00:05,2	SC4-31
137,47	240	110	112,18	81,6	30,83	00:05,2	SC4-31
131,97	250	110	112,18	85	30,83	00:05,3	SC4-31
137,47	240	110	112,18	81,6	30,85	00:06,2	SC4-31
143,45	230	110	112,18	78,2	30,85	00:06,3	SC4-31
149,97	220	110	112,18	74,8	30,83	00:06,2	SC4-31
157,11	210	110	112,18	71,4	30,85	00:06,2	SC4-31
164,96	200	110	112,18	68	30,85	00:06,3	SC4-31
173,65	190	110	112,18	64,6	30,85	00:06,3	SC4-31
183,29	180	110	112,18	61,2	30,85	00:06,3	SC4-31
194,08	170	110	112,18	57,8	30,85	00:06,2	SC4-31
206,21	160	110	112,18	54,4	30,8	00:06,3	SC4-31
219,95	150	110	112,18	51	30,83	00:06,3	SC4-31
235,66	140	110	112,18	47,6	30,85	00:06,3	SC4-31
253,79	130	110	112,18	44,2	30,9	00:06,3	SC4-31
274,94	120	110	112,18	40,8	30,85	00:06,3	SC4-31
299,94	110	110	112,18	37,4	30,9	00:06,4	SC4-31
329,93	100	110	112,18	34	30,9	00:06,4	SC4-31
366,59	90	110	112,18	30,6	30,92	00:06,3	SC4-31
412,41	80	110	112,18	27,2	30,9	00:06,2	SC4-31
471,33	70	110	112,18	23,8	30,98	00:06,3	SC4-31
549,88	60	110	112,18	20,4	31	00:06,3	SC4-31
659,86	50	110	112,18	17	31	00:06,3	SC4-31
824,82	40	110	112,18	13,6	30,98	00:06,2	SC4-31
1099,77	30	110	112,18	10,2	31	00:06,3	SC4-31
1649,65	20	110	112,18	6,8	31,08	00:06,3	SC4-31
2768,41	10	92,25	94,13	3,4	31,1	00:06,2	SC4-31

Tabela 44 – Estudo dos parâmetros reológicos para a o meio de soro de leite (49 g de lactose, sem extrato de levedura) e 216 horas de processo.

Viscosidade	Velocidade	% Torque	Tensão de cisalhamento	Taxa de cisalhamento	Temperatura	Intervalo de Tempo	Spindle
68385,41	0,20	45,62	46,50	0,07	31,25	00:05,4	SC4-31
39291,62	0,40	52,44	53,44	0,14	31,25	00:05,2	SC4-31
32443,08	0,60	64,87	66,18	0,20	31,15	00:05,2	SC4-31
29656,17	0,80	79,11	80,66	0,27	31,10	00:05,3	SC4-31
28433,93	1,00	94,82	96,68	0,34	31,08	00:05,3	SC4-31
27294,18	1,20	109,24	111,36	0,41	31,08	00:05,3	SC4-31
23566,40	1,40	110,00	112,18	0,48	31,08	00:05,2	SC4-31
20620,60	1,60	110,00	112,18	0,54	31,10	00:05,2	SC4-31
18329,42	1,80	110,00	112,18	0,61	31,10	00:05,2	SC4-31
16496,48	2,00	110,00	112,18	0,68	31,15	00:05,2	SC4-31
18329,42	1,80	110,00	112,18	0,61	31,10	00:06,3	SC4-31
20620,60	1,60	110,00	112,18	0,54	31,08	00:06,2	SC4-31
23566,40	1,40	110,00	112,18	0,48	31,08	00:06,3	SC4-31
27494,13	1,20	110,00	112,18	0,41	31,08	00:06,3	SC4-31
32992,96	1,00	110,00	112,18	0,34	31,08	00:06,3	SC4-31
39816,50	0,80	106,18	108,30	0,27	31,02	00:06,2	SC4-31
49139,51	0,60	98,30	100,24	0,20	31,08	00:06,3	SC4-31
67410,62	0,40	89,95	91,68	0,14	31,02	00:06,2	SC4-31
119224,56	0,20	79,52	81,07	0,07	31,02	00:06,3	SC4-31

APÊNDICE D

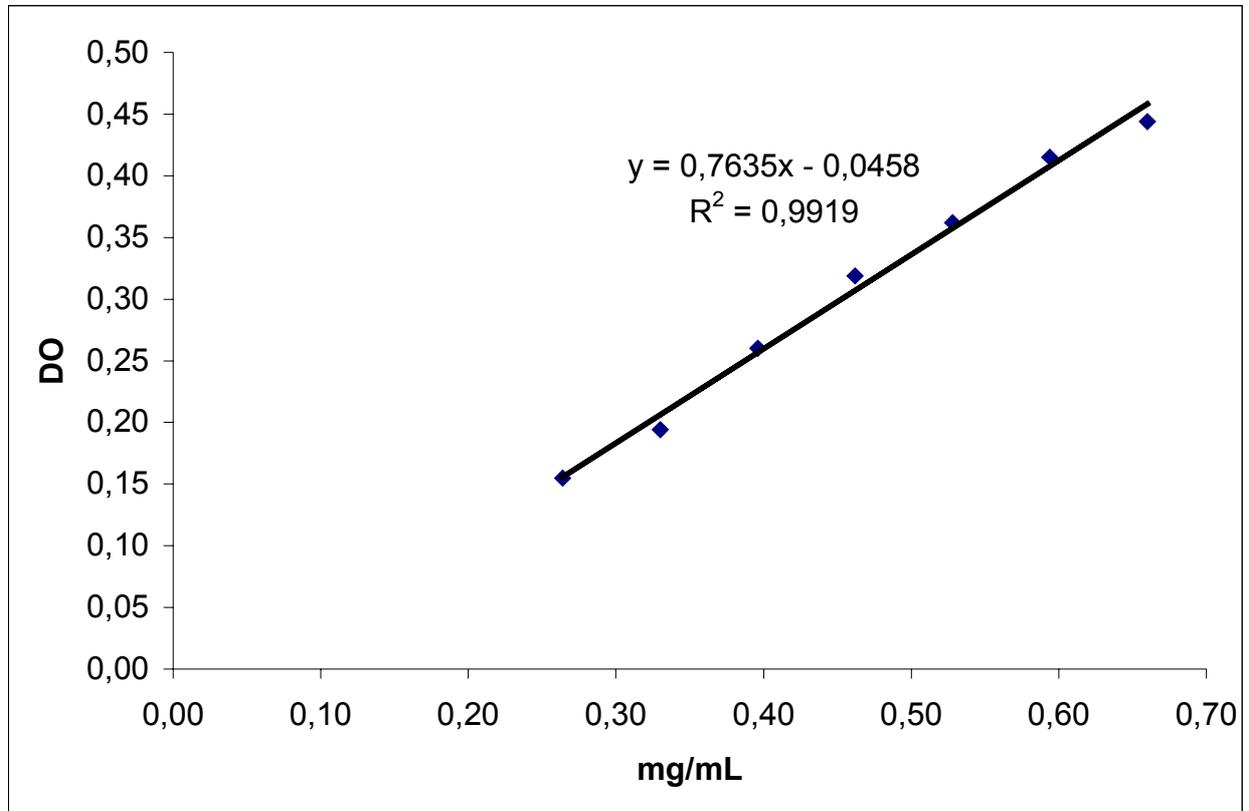


Figura 28 – Curva da concentração de células.

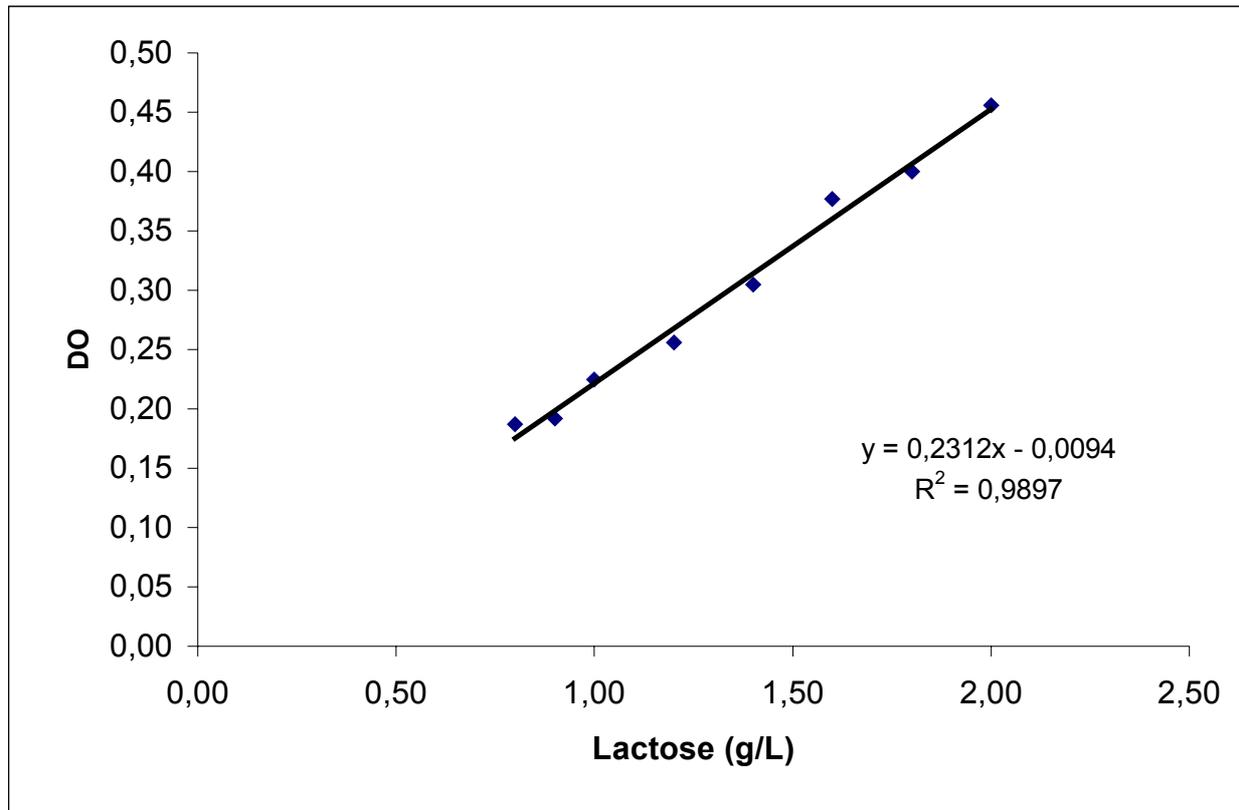


Figura 29 – Curva de concentração de lactose.

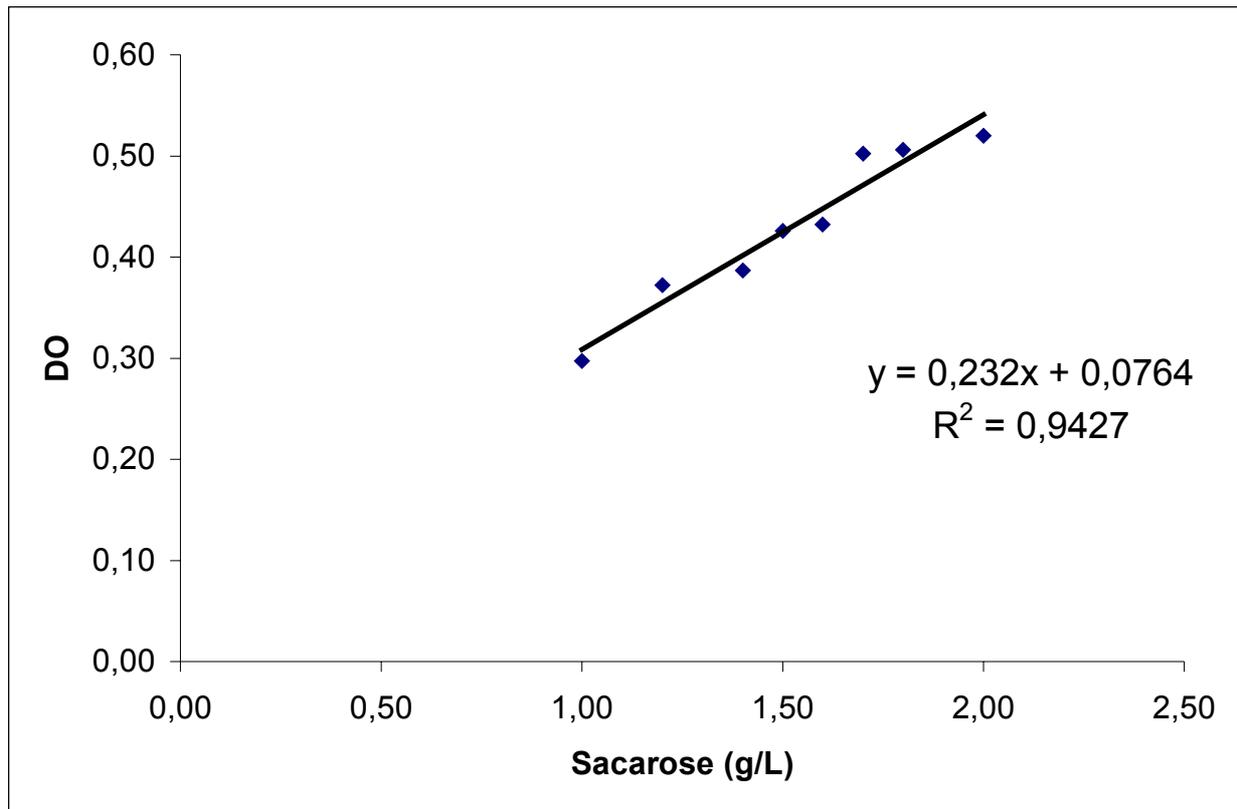
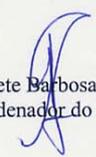


Figura 30 – Curva da concentração de sacarose.

ANEXOS

ANEXO A

Certificados das análises laboratoriais realizadas em amostras de soro de leite utilizadas nos experimentos (Parmalat e Valedoutado).

		UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO DEPARTAMENTO DE NUTRICAÇÃO LABORATORIO DE EXPERIMENTAÇÃO E ANÁLISES DE ALIMENTOS	
		Página 1 de 1	
CERTIFICADO DE ENSAIO		Nº 2697/04	Data de Emissão: 04/11/2004
SOLICITANTE		DATA DE ENTRADA	
SARA HORÁCIO DE OLIVEIRA		18.10.04	
ENDEREÇO DO SOLICITANTE			
Av. Bernardo Vieira de Melo, 4980 – Candeias – Jaboatão dos Guararapes – PE			
NATUREZA DO PRODUTO		Marca	
SORO DE LEITE		Valedoutado	
Outras Informações	Lote	Data de fabricação:	Data de validade:
-	-	-	-
AMOSTRA: aproximadamente 1000 mL, coletada pelo solicitante.			
FÍSICO-QUÍMICA			
ENSAIOS		RESULTADOS	
Umidade e Substâncias Voláteis (g/100g)		93,37	
Método: Adolfo Lutz, 1985			
Cinzas (g/100g)		0,76	
Método: Adolfo Lutz, 1985			
Proteína (g/100g)		0,43	
Método: Adolfo Lutz, 1985			
Lipídeos (g/100g)		0,05	
Método: Adolfo Lutz, 1985			
Lactose (Carboidratos) (g/100g)		5,39	
Método: por cálculo			
V.C.T. (Kcal)		23,73	
Método: por cálculo			
Ferro (mg/100g)		0,24	
Método: AOAC, 2002 944.02			
Cálcio (mg/100g)		113,69	
Método: AOAC, 2002 944.03			
Sódio (mg/100g)		19,65	
Método: AOAC, 2002 990.23			
Potássio (mg/100g)		52,45	
Método: AOAC, 2002 990.23			
Observações:		-	
Conclusão:		-	
Informamos que os resultados são referentes a amostra analisada e que a reprodução deste certificado só é permitida na íntegra.			
		Recife, 04 de novembro de 2004	
 Sebastião Camilo de Melo Filho Gerente Técnico Setor de Físico-Química		 Nonete Barbosa Guerra Coordenador do LEAAL	
Campus Universitário - CEP : 50670-901 Recife – PE - E-mail : leaal@nutricao.ufpe.br Fones : 32718464 3271-8470 3271-8471 FAX : 3271-8473			



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE NUTRICAÇÃO
LABORATORIO DE EXPERIMENTAÇÃO E ANÁLISES DE ALIMENTOS

Página 1 de 1

CERTIFICADO DE ENSAIO N° 1099/04 Data de Emissão: 19/05/2004

SOLICITANTE SARA HORÁCIO DE OLIVEIRA		DATA DE ENTRADA 03.05.03
ENDEREÇO DO SOLICITANTE Av. Bernardo Vieira de Melo, 4980 – Candeias – Jaboatão dos Guararapes – PE		
NATUREZA DO PRODUTO SORO DE LEITE		Marca <i>Paromalat</i>
Outras Informações	Lote	Data de fabricação: - Data de validade: -
AMOSTRA: aproximadamente 1200 mL, coletada pelo solicitante.		

FÍSICO-QUÍMICA

ENSAIOS	RESULTADOS
Umidade e Substâncias Voláteis (g/100g) Método: Adolfo Lutz, 1985	93,01
Cinzas (g/100g) Método: Adolfo Lutz, 1985	0,69
Proteína (g/100g) Método: Adolfo Lutz, 1985	0,46
Lípidos (g/100g) Método: Adolfo Lutz, 1985	0,07
Lactose (Carboidratos (g/100g) Método: por cálculo	5,77
V.C.T. (Kcal) Método: por cálculo	25,55
Ferro (mg/100g) Método: Adolfo Lutz, 1985	0,39
Cálcio (mg/100g) Método: Adolfo Lutz, 1985	101,18
Sódio (mg/100g) Método: AOAC, 2002 Ref. 990.23	28,75
Potássio (mg/100g) Método: AOAC, 2002 Ref. 990.23	23,61
Observações:	-
Conclusão:	-

Informamos que os resultados são referentes a amostra analisada e que a reprodução deste certificado só é permitida na íntegra.

Recife, 19 de maio de 2004


Sebastião Camilo de Melo Filho
Gerente Técnico
Setor de Físico-Química


Nonete Barbosa Guerra
Coordenador do LEAAL

ANEXO B

Trabalhos apresentados em eventos.



Influência de Nutrientes na Produção de Xantana em Meios de Soro de Leite por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

S. H. de Oliveira¹; D. M. G. de Oliveira²; O. M. Marques³; M. A. P. Palha⁴; M. A. G. A. Lima⁵.

Universidade Federal de Pernambuco – Depto. de Engenharia Química
Rua Professor Artur de Sá S/N – Cidade Universitária
Caixa Postal 50.740-521 Recife – PE - Fone (81) 2126-7279

¹E-mail: olivsara@uol.com.br, ³E-mail: olgammarques@hotmail.com,

⁴E-mail: angeles@ufpe.br, ⁵E-mail: magal@ufpe.br

RESUMO

A goma xantana é um biopolímero industrial utilizado nas mais diversas aplicações, sendo produzida por linhagens da bactéria Xanthomonas campestris pv. campestris. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da presença do extrato de levedura e do ácido cítrico em meios de soro de leite, para produção de xantana. Os resultados mostraram que a adição de ácido cítrico ao meio de soro acarretou um aumento de 4% de rendimento na produção da goma, enquanto que a inclusão de ácido e extrato de levedura possibilitou um acréscimo de 56%.

INTRODUÇÃO

As gomas microbianas estão incluídas na classe dos polissacarídeos de grande interesse industrial. Estes biopolímeros são produzidos largamente por bactérias, representando uma pequena fração do mercado atual, entretanto em face à sua potencialidade, constituem uma fonte promissora para substituição das gomas extraídas de plantas e algas. A goma xantana é largamente empregada em uma ampla faixa de produtos e processos para controlar a viscosidade, textura, retenção de aromas, suspensão de sólidos, estabilização de emulsões, agentes de suspensão, impressão em tecidos, suspensão de compostos químicos de uso agrícola e aumento na recuperação de petróleo. Devido à importância da xantana, muitos estudos têm sido conduzidos com o objetivo de melhorar as linhagens, os meios de cultivo e os processos de extração e purificação. A literatura referente à produção de xantana cita o uso de glicose, sacarose ou amido como fontes de carbono preferenciais. Os meios de cultura estudados neste trabalho visam o aproveitamento de resíduos industriais ou a valorização de matéria prima regional. O soro de leite, resultante da fabricação de queijos, vem sendo estudado como opção, uma vez que é rico em lactose, proteínas e sais minerais, consistindo em um meio de cultura de fácil obtenção. O seu descarte representa uma elevada carga poluente, causando um sério problema ambiental.

MATERIAIS E METODOS

Microrganismo

Utilizou-se a linhagem da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4 proveniente da coleção de cultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Meios de cultura

Meio de manutenção:

Para a manutenção da linhagem utilizou-se meio de lactose contendo 2,0% de lactose, 0,20% NH_4NO_3 , 0,25% de KH_2PO_4 , 0,02% de MgSO_4 , 0,3% ácido cítrico, 0,25% Na_2HPO_4 , 0,12% Na_2SO_4 , 0,5% de extrato de levedura, 1,5% de solução de sais e 1,6% ágar. A solução de sais apresentava a composição: 0,93% EDTA $\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,12% H_3BO_3 , 0,06% $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,02% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,01% $\text{Na}_2\text{MgO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,01% $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,15% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,14% $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,12% $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Soro de leite:

O soro de leite foi obtido por precipitação de leite integral com alta temperatura (70 °C) e adição de ácido láctico até pH 4,5 e elevado à temperatura à 94°C. Aguardou-se a decantação e resfriamento da solução para filtração do soro.

Meio de crescimento:

1,2 % soro, 0,5 % K_2HPO_4 , 0,02% MgSO_4 , 0,3 % ácido cítrico, 0,25 % extrato de levedura, 1,52 % de solução de sais.

Meios de produção:

Soro de leite A: 2% soro, 0,5% K_2HPO_4 , 0,01% MgSO_4 , 0,003% MnCl_2 .

Soro de leite B: 2% soro, 0,5% K_2HPO_4 , 0,01% MgSO_4 , 0,003% MnCl_2 , 0,2% ácido cítrico.

Soro de leite C: 2% soro, 0,5% K_2HPO_4 , 0,01% MgSO_4 , 0,003% MnCl_2 , 0,2% ácido cítrico, 0,25% extrato de levedura.

Inóculo e condições de cultivo.

O inóculo foi preparado a partir de um tubo de ágar inclinado em meio de lactose (meio de manutenção). Uma alçada, adaptada por transferências em série, foi inoculada em tubo de ensaio contendo 10 mL de meio de soro de leite e incubada em agitador rotatório por 48h à 160 rpm e 28°C. O inóculo obtido foi transferido para Erlenmeyer de 500mL contendo 90mL do meio de produção e incubado por 72h à 200rpm e 30°C. Foi preparado um inóculo para cada meio de produção, A, B e C.

Determinações analíticas

Teor de lactose

A concentração de lactose e açúcares redutores totais (ART) foram determinadas pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS).

Teor de xantana

A concentração de xantana foi determinada, através de seu peso seco, ao final dos cultivos, após precipitação da goma pela adição, sob agitação, de 3mL de solução saturada de KCl e 20mL de etanol p.a, para cada 10mL do mosto fermentado. O produto obtido foi filtrado a vácuo, seco em estufa por 12h e colocado em dessecador à temperatura ambiente até peso constante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são mostrados os resultados da produção de xantana pela linhagem LFR-4 em 3 tipos diferentes de formulações à base de soro de leite. Observa-se que o meio de soro C (meio com ácido cítrico e extrato de levedura) apresentou maior fator de rendimento em relação aos outros meios testados. Este meio também apresentou, visualmente, um mosto mais viscoso em relação aos outros. Estes fatos sugerem que o processo, em meio de soro de leite contendo extrato de levedura e ácido cítrico como nutrientes, apresenta maior produção e fator de rendimento.

Tabela I. Comparação dos resultados obtidos em diferentes meios de soro de leite.

Tipo de Meio de soro	Xantana (g/L)	$Y_{p/s}$ (g/g)
Meio A	12,1	0,40
Meio B	12,6	0,41
Meio C	18,9	0,63

SCHWARTZ & BODIE (1985) também verificaram um aumento de viscosidade em meio de soro de leite acrescido de extrato de levedura. NITSCHKE & KNAUSS (1997) averiguaram que a adição de extrato de levedura ao meio de soro de leite resultou na produção de uma goma de baixa viscosidade. Essas diferenças entre estudos refletem a composição variável do soro e salienta a necessidade de avaliar cada composição do soro.

O meio de soro B (acrescido de ácido cítrico) apresentou produção e fator de rendimento um pouco superior ao meio de soro padrão (meio A).

SOUW & DEMAÏN (1980) verificaram que a inclusão de citrato em meios de cultivo para a produção de xantana era benéfica. Estudando mais detalhadamente o efeito deste composto sobre a formação do polímero, concluíram ser o citrato estimulante na concentração de 1,0 – 2,0 g/L, em fermentações sem controle de pH, tanto para meios quimicamente definidos como para meios complexos. THONART et al. (1985) estudando também a influência da concentração de citrato, para um meio contendo 40g/L de glicose, verificaram que tanto o fator de rendimento ($Y_{p/s}$), quanto a concentração final de xantana foram máximos, quando se utilizou 3 g/L deste composto, enquanto que a máxima concentração de biomassa foi obtida com 1 g/L. Para valores acima de 3 g/L a influência tornou-se negativa.

CONCLUSÕES

O meio de cultura C, meio de soro de leite acrescido de extrato de levedura e ácido cítrico, apresentou os melhores resultados dentre os meios testados.

O extrato de levedura foi benéfico ao meio testado melhorando sua produção e rendimento. Demonstrando também que a sua inclusão ou não ao meio de soro de leite depende do tipo de soro utilizado e da sua composição.

O meio de cultura B teve influência positiva com a adição do ácido cítrico, confirmando estudos anteriores de outros pesquisadores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, R.S.A. (1991), Efeito de alguns nutrientes na formação de goma xantana por *Xanthomonas campestris* LMI-3. Dissertação de Mestrado, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

García-Ochoa, F.; Santos, V. E.; Casas, J. A.; Gomez, E. (2000), Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, Madrid, v. 18, p. 549-579.

Jana, A. K.; Ghosh, P. (1997), Stimulation of xanthan production by *Xanthomonas campestris* using citric acid. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, India, v. 13, p. 261-264.

Lima, M. A. G. A. (1999), Obtenção e caracterização de xantana produzidas por diferentes linhagens de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Tese de Doutorado, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

Nitschke, M.; Rodrigues, V.; Schinatto, L. F. (2001), Formulação de meios de cultivo à base de soro de leite para a produção de goma xantana por *X. campestris* C₇L¹. *Ciência e tecnologia de alimentos*, Campinas, v. 21, p. 82-85.

Nitschke, M.; Thomas, R. W. S. P.; Knauss, C. (1997), Xanthan production by *Xanthomonas campestris* in a Whey-based medium. *Revista de Microbiologia*, Porto Alegre, v. 28, p.148-151.

Schwartz, R. D.; Bodie, E. A. (1985), Production of high-viscosity whey broths by a lactose-utilizing *Xanthomonas campestris* strain. *Applied and Environmental Microbiology*, California, v. 50, n. 6, p. 1483-1485.

Souw, P.; Demain, A. L. (1980), Role of citrate in xanthan production by *Xanthomonas campestris*. *J. Ferment. Technol*, v. 58, n. 5, p. 411-416.

Thonart, Ph.; Paquot, M.; Hermans, L.; Alaoui, H.; d'Ippolito, P. (1985), Xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B1459 and interfacial approach by zeta potencial measurement. *Enzyme Microbiol. Technol*, v. 7, p. 235-238.

Trabalho apresentado no XLIV Congresso Brasileiro de Química:

AVALIAÇÃO DE LINHAGENS DA BACTÉRIA
Xanthomonas campestris pv. campestris
NA PRODUÇÃO DA GOMA XANTANA EM MEIOS DE
LACTOSE E SORO DE LEITE.

S. H. de Oliveira, D.M. G de Oliveira, O.M Marques, M. A. P.
Palha, M. A. G. A. Lima

Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Engenharia Química

A goma xantana é um importante biopolímero industrial, devido as suas propriedades funcionais, cujas aplicações se dão nos campos alimentício, farmacêutico, cosmético, têxtil, petrolífero, entre outros. Esta goma é sintetizada pela bactéria *Xanthomonas campestris pv. campestris*. Devido a sua importância, muitos estudos têm sido conduzidos com o objetivo de melhorar as linhagens, os meios de cultivo e os processos de extração e purificação. O objetivo deste trabalho foi avaliar para a produção de xantana, sete linhagens da bactéria *Xanthomonas campestris pv. campestris* em dois meios de cultura: o primeiro com a composição de 1,5% de lactose, 0,5% de K_2HPO_4 , 0,25% NH_4Cl , 0,1% $NaCl$, 0,01% de $MgSO_4$ e 0,01% de extrato de levedura e o segundo com a composição de 2,5% de soro de leite, 0,5% de K_2HPO_4 e 0,1% de extrato de levedura. As linhagens usadas foram provenientes das coleções de culturas das Universidades Federal Rural de Pernambuco e Federal do Rio de Janeiro e apresentam os códigos LFR-1, LFR-3, LFR-4, LFR-15, LFR-33, LRJ-407 e LFR-585. As culturas originais da bactéria *Xanthomonas campestris pv. campestris* mantidas em meio de Extrato Malte Ágar (YMA) foram inoculadas em diferentes tubos de ensaios com 10 mL do meio de lactose e 10 mL do meio de soro de leite respectivamente. Os inóculos foram incubados por 14 dias a 200 RPM e 30°C. A cada 24h, as culturas foram repassadas para meio novo com a finalidade de adaptação ao novo ambiente. Após esse período, as mesmas foram transferidas para Erlenmeyers de 250 mL contendo 90 mL dos respectivos meios. A goma produzida foi extraída adicionando-se, sob agitação, 3 mL de uma solução saturada de KCL e 20 mL de álcool etílico p.a, para cada 10mL do mosto fermentado e levada a peso seco. As linhagens LFR-4, LFR-33 e LFR-15 apresentaram-se, nas condições estudadas, como melhores produtoras da goma xantana.

Apoio: CAPES/UFPE