

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

AMANDA ISABELLY LEITE FIGUEIREDO NASCIMENTO

**PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA A PARTIR DE CASCA DE COCO, SORO DE
LEITE E CASCA DE BATATA E SUAS MISTURAS**

São Cristóvão (SE)

2017

AMANDA ISABELLY LEITE FIGUEIREDO NASCIMENTO

**PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA A PARTIR DE CASCA DE COCO, SORO DE
LEITE E CASCA DE BATATA E SUAS MISTURAS**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Engenharia Química, como
requisito parcial à obtenção do título de Mestre
em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Martins de Oliveira Júnior

Coorientadora: Profª. Dra. Ana Karla de Souza Abud

São Cristóvão (SE)

2017

AMANDA ISABELLY LEITE FIGUEIREDO NASCIMENTO

**PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA A PARTIR DE CASCA DE COCO, SORO
DE LEITE E CASCA DE BATATA E SUAS MISTURAS**

Dissertação de Mestrado aprovada no Programa de Pós Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Sergipe em 27 de julho de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Martins de Oliveira Júnior – Orientador
Universidade Federal de Sergipe

Profa. Dra. Ana Karla de Souza Abud – Coorientadora
Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. Roberto Rodrigues de Souza – PEQ/UFS
Universidade Federal de Sergipe

Dr. Diego de Freitas Coelho
Universidade Federal de Sergipe

RESUMO

Goma xantana é o polissacarídeo microbiano sintetizado por bactérias do gênero *Xanthomonas* e considerado o biopolímero de maior importância comercial nos dias de hoje. Destaque devido, principalmente, a sua capacidade de formar soluções viscosas e estáveis, mesmo em baixas concentrações, em larga faixa de temperatura e de pH. Tem utilização expressiva em diversos segmentos industriais. O custo elevado da produção da goma xantana se deve ao substrato utilizado e muitas pesquisas têm investigado novas fontes de carbono a partir de resíduos agroindustriais. Além da minimização dos custos de produção, a utilização de fontes alternativas de carbono propicia a redução dos impactos ambientais causados por essas atividades. O objetivo deste trabalho foi a produção de goma xantana em meios à base dos resíduos agroindustriais soro de leite, casca de coco, casca de batata e suas misturas (soro de leite + casca de coco, soro de leite + casca de batata, casca de batata + casca de coco), resíduos agroindustriais de alto valor biológico, fácil obtenção e grande disponibilidade, muitas vezes descartados de maneira inadequada. Esse descarte, além de trazer danos à natureza corresponde ao desperdício de produtos com boas características nutricionais, sendo substratos potenciais para a produção de biopolímeros. O estudo da produção a partir de misturas tem como objetivo avaliar se a adição de diferentes fontes de carbono melhora a produtividade e/ou a qualidade da goma obtida, ou se plantas de produção a partir de resíduos agroindustriais deveriam operar com apenas um destes resíduos. O processo fermentativo foi realizado em agitador orbital a 200 rpm, utilizando Erlenmeyers de 250 mL, contendo 60 mL de meio de fermentação, suplementado com 0,01% (m/V) de ureia e 0,1% (m/V) de fosfato de potássio. Foi realizado um planejamento experimental de misturas, do tipo *simplex-lattice*, variando a composição dos meios fermentativos. Todos os ensaios foram realizados a 28°C, em duplicata, por um período de 72 h. Para análise da viscosidade aparente da goma xantana produzida foram preparadas soluções aquosas na concentração 1% (m/V) para todos os ensaios de fermentação. Nesta etapa utilizou-se o viscosímetro digital Brookfield acoplado ao *software* Rheocalc. A maior produtividade dentre os ensaios realizados, foi obtida utilizando o soro de leite como substrato fermentativo. Entretanto, a goma obtida não apresentou comportamento pseudoplástico característico, mesmo após estudos de adequação da composição nutricional. A goma de melhor qualidade reológica foi a obtida a partir da casca de coco, com um valor de 291cP a 25 s⁻¹ de taxa de cisalhamento. Observou-se que a mistura casca de coco e casca de batata aumentou a qualidade reológica da goma em comparação com a obtida quando da utilização apenas da casca de batata como substrato fermentativo.

Palavras-chave: Biopolímero, resíduos agroindustriais, *Xanthomonas campestris*.

ABSTRACT

Xanthan gum is the microbial polysaccharide synthesized by bacteria of the genus *Xanthomonas* and considered the biopolymer of major commercial importance these days. Highlighted mainly due to its ability to form viscous and stable solutions, even in low concentrations, over a wide range of temperature and pH. It has expressive use in several industrial segments. The high cost of xanthan gum production is due to the substrate used and many researches have investigated new sources of carbon from agro-industrial waste. In addition to minimizing production costs, the use of alternative carbon sources leads to a reduction in the environmental impacts caused by these activities. The objective of this work was the production of xanthan gum in media based on agroindustrial residues: whey, coconut husk and potato peel and their mixtures: whey + coconut husk, whey + potato peel, peel of potato + coconut shell. Agroindustrial wastes of high biological value, easy to obtain and high availability, often discarded in an inadequate way. This disposal, besides bringing damages to nature corresponds to the waste of products with good nutritional characteristics, being potential substrates for the production of biopolymers. The study of the production from mixtures aims to evaluate if the addition of different carbon sources improves the productivity and / or quality of the gum obtained, or if production plants from agroindustrial residues should operate with only one of these residues. The fermentation process was carried out in an orbital shaker at 200 rpm using 250 mL Erlenmeyers containing 60 mL of fermentation medium supplemented with 0.01% (w/v) urea and 0.1% (w/v) phosphate of potassium. An experimental planning of mixtures, of the simplex-lattice type, was carried out, varying the composition of the fermentative media. All assays were performed at 28° C, in duplicate, for a period of 72 h. For analysis of the apparent viscosity of the xanthan gum produced, aqueous solutions were prepared in 1% (w/v) concentration for all fermentation assays. In this step the Brookfield digital viscometer coupled to the Rheocalc software was used. The highest productivity among the tests was obtained using the whey as a fermentation substrate. However, the obtained gum showed no characteristic pseudoplastic behavior, even after studies of nutritional composition adequacy. The best rheological grade gum was obtained from the coconut shell, with a value of 291cP at 25 s⁻¹ of shear rate. It was observed that the coconut shell and potato peel mixture increased the rheological quality of the gum compared to that obtained when using only the potato peel as a fermentative substrate.

Keywords: Biopolymer, agro-industrial waste, *Xanthomonas campestris*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição centesimal da casca de batata	35
Tabela 2 - Planejamento experimental <i>Simplex-lattice</i>	40
Tabela 3 – Análise centesimal dos substratos simples	45
Tabela 4 – Análise centesimal da combinação entre substratos	45
Tabela 5 - Comparativo de produção de goma xantana com diferentes resíduos	53
Tabela 6 - Viscosidade de gomas, a 25 s^{-1} de taxa de cisalhamento, a 25 °C de temperatura, produzidas utilizando diferentes fontes de carbono e diferentes cepas de <i>X. campestris</i> .	56
Tabela 7 - Valores do índice de fluxo (n) e de consistência (K) da goma xantana produzida a partir de diversas fontes por <i>Xanthomonas campestris</i> 1182 na temperatura de 25°C	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura unitária (monômero) de uma molécula de xantana	17
Figura 2 - <i>Xanthomonas</i> observada em microscópio (a) e cultivada em ágar nutriente (b).	21
Figura 3 - Folha de couve contaminada por <i>Xanthomonas campestris</i> .	21
Figura 4 - Fluxograma de produção de goma xantana em fermentadores em série agitados.	23
Figura 5 - Processo de Fabricação do queijo	32
Figura 6 - Remoção de goma após precipitação e preparação para secagem.	41
Figura 7 - Biorreator de bancada, em processo de fermentação.	44
Figura 8 - Solução de goma obtida ao final do processo de fermentação da casca de coco, com adição de etanol para recuperação (a) imediatamente após adição do álcool (b) 24 horas após a adição.	48
Figura 9 - Comportamento cinético da fermentação com o soro de leite como substrato.	49
Figura 10 - Comportamento cinético da fermentação com casca de coco como substrato.	50
Figura 11 - Comportamento cinético da fermentação com casca de batata como substrato.	50
Figura 12 - Comportamento cinético da fermentação com a mistura de soro de leite + casca de coco como substrato.	51
Figura 13 - Comportamento cinético da fermentação com a mistura de soro de leite + casca de batata como substrato	52
Figura 14 - Comportamento cinético da fermentação com a mistura de casca de coco + casca de batata como substrato	52
Figura 15 - Comportamento de viscosidade aparente das soluções aquosas a 1% das gomas xantanas obtidas após 72h de fermentação a 25°C.	55

Figura 16 – Comportamento reológico do experimento com casca de coco como substrato	56
Figura 17 - Comportamento cinético (Biorreator)	60

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AOAC - *Association of Official Analytical Chemists*

CB - Casca de batata

CBCC - Casca de batata + casca de coco

CC - Casca de coco

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

EPS - Exopolissacarídeo

FAO - *Food and Agriculture Organization*

FDA - *Food and Drug Administration*

GX - Goma xantana

SL - Soro de leite

SLCB - Soro de leite + casca de batata

SLCC - Soro de leite + casca de coco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1. OBJETIVO GERAL	13
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
3.1. POLISSACARÍDEOS MICROBIANOS	14
3.2. GOMA XANTANA	16
3.3. <i>XANTHOMONAS CAMPESTRIS</i>	20
3.4. PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA	23
3.5. BIOCONVERSÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS	27
3.5.1. Casca de coco	30
3.5.2. Soro de leite	32
3.5.3. Casca de batata	35
4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL	37
4.1. MICRORGANISMO: MANUTENÇÃO E PREPARO DO INÓCULO	37
4.2. SUBSTRATOS FERMENTATIVOS	37
4.2.1. Soro de leite	38
4.2.2. Casca de coco verde	38
4.2.3. Casca de batata	38
4.3. CARACTERIZAÇÃO CENTESIMAL DOS MEIOS FERMENTATIVOS	39
4.3.1. Carboidratos	39
4.3.2. Proteína bruta	39
4.3.3. Resíduo mineral	39
4.3.4. Umidade	39
4.3.5. Gordura Total	39
4.4. PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA	40
4.5. RECUPERAÇÃO DA GOMA XANTANA	41
4.6. CINÉTICA DO PROCESSO FERMENTATIVO	41

4.6.1. Crescimento de biomassa	42
4.6.2. Consumo de substrato	42
4.7. CARACTERIZAÇÃO DA GOMA XANTANA OBTIDA	42
4.7.1. Análise do comportamento reológico	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1. CARACTERIZAÇÃO DOS SUBSTRATOS ALTERNATIVOS	45
5.2. ESTUDO DA PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA	47
5.2.1. Acompanhamento do processo fermentativo	48
5.3. COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS GOMAS XANTANAS PRODUZIDAS	53
5.4. <i>SCALE-UP</i> DO PROCESSO	59
6. CONCLUSÃO	62
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	63
REFERÊNCIAS	64
APÊNDICE A – Dados cinéticos experimentais	75

1. INTRODUÇÃO

A Goma Xantana (GX) possui papel de destaque na indústria, devido as suas características reológicas, sendo amplamente empregada como espessante, gelificante, agente de emulsão, colóide protetor e estabilizante (BRANDÃO, 2012).

Consiste em um biopolímero, também conhecido como exopolissacarídeo ou goma, substâncias que são sintetizados por fungos e bactérias, sendo por isso nomeados polissacarídeos microbianos.

Dentre os exopolissacarídeos, as xantanas destacam-se devido à capacidade de alterar a viscosidade de soluções mesmo quando presente em pequenas quantidades (NERY et al., 2008; LOPES et al., 2015; LI et al., 2016).

Comercialmente, GX é o polissacarídeo microbiano mais importante, com uma produção estimada de 30.000 toneladas de goma por ano (LI et al., 2016) e demanda crescendo a uma taxa de 5 a 10% ao ano, movimentando um mercado atual de aproximadamente US\$ 270 milhões (ABBASZADECH et al., 2015).

Os principais produtores de goma xantana nos EUA são Merck e Pfizer. Na França, os principais produtores são Rhone Poulenc, Mero-Rousselot-Santia e Sanofi-Elf. Na China, o maior produtor de xantana é Saidy Chemical, e na Áustria é Jungbunzlauer (HABIBI *et al.*, 2017). No Brasil, 100% da goma utilizada é importada (LOPES et al., 2015).

Glicose e sacarose têm sido utilizadas como fonte de carbono para sua produção e na recuperação se faz necessária a utilização de etanol. O custo do meio de fermentação é visto como uma oportunidade de valor e por esta razão, estudos recentes têm se concentrado no uso de resíduos industriais como alternativas naturais de baixo custo para servir de substrato na produção de xantana (MESOMO et al., 2009).

Estes resíduos são considerados uma fonte rica de nutrientes e de grande aplicabilidade na indústria, nos mais diversos produtos. Nesse contexto, o seu descarte seria uma perda importante de biomassa, além de ser ambientalmente atrativa a sua reutilização.

Diversos estudos que visam à utilização de resíduos agroindustriais na produção de GX são encontrados na literatura, devido ao crescente mercado de aplicabilidade dos

polissacarídeos de alto valor agregado e redução dos custos de produção.

Nesse contexto, o objetivo geral deste trabalho foi estudar a produção de GX a partir de diferentes resíduos agroindustriais e suas misturas em agitador orbital (*shaker*), a partir da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*.

A utilização de substratos como soro de leite, casca de coco e casca de batata, além de favorecer a produção de goma, pode ajudar a eliminar possíveis problemas ambientais como descarte inadequado de efluentes e resíduos.

O segundo capítulo apresenta os objetivos gerais e específicos. Para atingir os objetivos mencionados, o terceiro capítulo faz uma revisão de literatura para apresentação da temática abordada e a razão da escolha dos resíduos, como também o uso do processo de ampliação de escala (*scale-up*). Os materiais e métodos são demonstrados no quarto capítulo e no quinto capítulo são expostos os resultados e as discussões dos mesmos. No sexto capítulo apresentam-se as conclusões e sugestões para trabalhos futuros e, por fim, as referências bibliográficas consultadas.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Estudar a produção de goma xantana a partir dos resíduos de soro de leite, casca de coco e casca de batata, bem como de suas misturas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar os substratos a serem utilizados.
- Selecionar o melhor substrato para a produção de goma xantana.
- Acompanhar os ensaios fermentativos através do seu comportamento cinético.
- Avaliar se a combinação dos substratos pode resultar em gomas de melhores características e/ou maiores produtividades.
- Avaliar a goma obtida a partir dos resíduos agroindustriais estudados através da produtividade e viscosidade aparente.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. POLISSACARÍDEOS MICROBIANOS

Polissacarídeos são moléculas de elevado peso molecular ligadas através de uma ligação glicosídica. Geralmente contêm de 100 a 90.000 unidades monoméricas e, por hidrólise, resultam em monossacarídeos. Diferem uns dos outros pelos seus monômeros, peso molecular e outras características estruturais. Podem ser lineares ou ramificados (TONELI et al., 2005).

Os polissacarídeos microbianos são produzidos em duas formas: (1) polissacarídeo capsular, localizado no interior da célula ou como parte da parede citoplasmática, e (2) exopolissacarídeos (EPS), produzidos no interior da célula, sendo posteriormente secretados para o exterior da mesma (HUSSAIN et al., 2017).

Substâncias poliméricas extracelulares, os exopolissacarídeos (EPS) microbianos podem ser sintetizados por bactérias, fungos ou leveduras (BRANDÃO, 2012). São segregados no ambiente circundante e são compostos por resíduos de açúcar.

A produção de polissacarídeos por microrganismo pode ser induzida como parte de uma resposta ao estresse e desempenha diferentes papéis, que incluem: (1) proteger o microrganismo contra desidratação; (2) servir de barreira, impedindo que vírus e anticorpos se liguem a sítios específicos sobre a parede celular; (3) acoplar e neutralizar toxinas carregadas ou íons metálicos tóxicos; (4) atuar como fonte de carbono e energia; (5) converter o excesso de substrato em uma massa espumosa, mais difícil de ser metabolizada por outros microrganismos; (6) interagir com células de animais ou plantas em relações específicas, simbióticas ou patogênicas (MORE et al., 2014).

A sua produção é geralmente favorecida pela presença em excesso de fonte de carbono, concomitante com outro nutriente limitante (nitrogênio e fósforo, por exemplo), temperatura ótima de crescimento, condições aeróbias ou anaeróbias, presença de cátions ou presença de compostos inibidores do crescimento microbiano (FREITAS et al., 2010).

Entre os seus constituintes, polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos são representantes típicos, sendo que os carboidratos correspondem ao componente presente em maior percentual (BERGMANN et al., 2008; MORE et al., 2014).

Os exopolissacarídeos microbianos podem ser classificados como homo ou heteropolissacarídeos. No primeiro caso, são geralmente compostos neutros e, por hidrólise, resultam em apenas um tipo de unidades de monossacarídeo, a exemplo da celulose, do alginato e das gomas dextrana e curculana (HUSSAIN et al., 2017). Os heteropolissacarídeos produzem mais de um tipo de unidade de monossacarídeos, variando em tamanho de dissacarídeos a heptassacarídeos, a exemplo da goma xantana, do ácido hialurônico e da heparina (MORE et al., 2014).

Os polissacarídeos microbianos apresentam uma série de regularidades estruturais que raramente são encontradas em polímeros provenientes de outras fontes. Tal regularidade na sua estrutura primária implica em cadeias que podem assumir conformações ordinárias (hélices simples ou múltiplas), tanto no estado sólido como em solução, e isso, por sua vez, tem forte influência sobre as suas propriedades físico-químicas (TONELI et al., 2005).

Há grande potencial de substituição de materiais derivados de petróleo por polímeros microbianos e grande atenção é dada à exploração e utilização destes para potenciais aplicações industriais (MARQUES et al., 2017; LIU, et al., 2017).

Características como biodegradabilidade, biocompatibilidade, alta eficiência, não toxicidade e poluição não secundária tornam os polissacarídeos microbianos bastante utilizados como espessante e agente emulsionante pelas indústrias (TRUJILLO-CAYADO et al., 2016; ZHENG et al., 2017).

Na indústria de petróleo, por exemplo, podem ser utilizados para melhorar a eficiência na varredura da recuperação secundária, devido à capacidade de controlar a mobilidade da água e reduzir a permeabilidade de um reservatório, aumentando a viscosidade do fluido injetado (XU et al., 2015).

Os principais fatores limitantes ao desenvolvimento da produção de polissacarídeos microbianos são associados aos seus custos de produção, principalmente ao custo do substrato, e ao fato de que muitas cepas produtoras são patogênicas. No entanto, devido ao crescente interesse em recursos renováveis como alternativa a produtos químicos sintéticos, a investigação para novos produtos tem aumentado progressivamente (FREITAS et al., 2010).

A produção de polissacarídeos por cultivo microbiano tem a vantagem

considerável de garantir uma produção de concentração conhecida, não afetada por fatores ambientais. Além disso, a produção pode ser executada em conveniência com o local onde houver disponibilidade do substrato utilizado (GOMES, 2014).

Dentre os polímeros microbianos mais utilizados, as gomas xantana e gelana apresentam papel de destaque, especificamente na indústria alimentícia (GOMES, 2014). Neste trabalho, a goma xantana é objeto de estudo em razão do seu proeminente lugar no mercado nacional e mundial, devido as suas características únicas, quando comparado a outras gomas microbianas.

3.2. GOMA XANTANA

Goma xantana (GX) é um exopolissacarídeo microbiano e classifica-se como heteropolissacarídeo ramificado aniônico (BERGMANN *et al.*, 2008).

Foi descoberta no final de 1950, quando uma equipe de pesquisadores americanos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, que conduzia extensivas pesquisas sobre a utilização de biopolímeros, descobriu uma bactéria encontrada em folhas de couve, a *Xanthomonas campestris* (HABIBI, 2017), que poderia ser utilizada em fermentação para produzir um polissacarídeo de utilidade significativa para indústria alimentícia.

O polímero B-1459, ou goma xantana, devido as suas propriedades como espessante e estabilizante foi extensivamente estudado (GOMES, 2014; NIKNEZHAD *et al.*, 2016) e, em 1969, o *Food and Drug Administration* (FDA), órgão regulador americano das indústrias de alimentos e fármacos, autorizou o uso da goma xantana em produtos alimentícios, marcando a introdução do primeiro biopolímero produzido industrialmente para a indústria de alimentos.

No Brasil, a sua adição aos alimentos foi liberada em 1965 e, em 1980, a xantana foi agregada à lista de emulsificantes/estabilizantes alimentícios permitidos pela comunidade econômica europeia (SALAH *et al.*, 2010).

A GX possui excelentes propriedades reológicas, que permitem a formação de soluções viscosas mesmo em baixas concentrações (0,05-1%), pseudoplasticidade, propriedade espessante, estabilidade em largas faixas de pH (1 a 13) e temperatura (0 a 100°C), inclusive na presença de sais, álcalis e ácidos. É completamente solúvel em

água quente ou fria, requerendo agitação intensa após introdução no meio aquoso para evitar aglomerados (GOMES, 2014; LI et al., 2015; MOBIN, 2015; LOPES et al., 2015; LI et al., 2016), permitindo que determinada solução alcance a textura, viscosidade e/ou estabilidade desejada, sem interferência na cor (COSTA et al., 2014; WANG et al., 2017). Estas são características resultantes da sua estrutura molecular ramificada e do seu elevado peso molecular (2.10^6 a 2.10^7 g/mol) (ROTTAVA et al., 2009).

A molécula é composta de unidades repetidas de pentassacarídeos, compreendendo glicose, manose e ácido glucurônico na razão molar de 2:2:1, com fórmula química $C_{35}H_{49}O_{29}$ (monômero) (MOBIN et al., 2015; LI et al., 2016; NIKNEZHAD et al., 2016).

A estrutura primária da goma xantana, mostrada na Figura 1, é linear, com unidades β -D-glicose ligadas nas posições 1 e 4, mesma estrutura encontrada na celulose (ABBASZADEH *et al.*, 2015). A cadeia lateral contém uma unidade de ácido D-glucurônico entre duas unidades de D-manose, as ramificações triglicerídicas aparecem aderidas à cadeia principal do polímero e dela resulta uma estrutura rígida (GOMES, 2014; WANG et al., 2016).

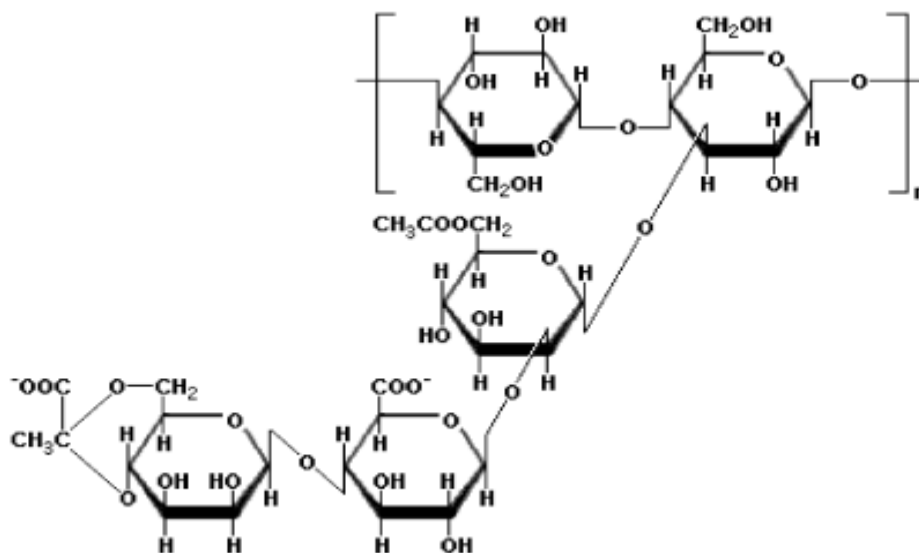


Figura 1 - Estrutura unitária (monômero) de uma molécula de xantana

Fonte: Erten et al. (2014).

A manose terminal pode ser substituída por ácido pirúvico enquanto a manose interna pode ser substituída por um grupo acetato. O grau de substituição de ambos (acetato e piruvato) depende da cepa de *X. campestris* utilizada e das condições de fermentação (RENOU et al., 2013).

Erten et al. (2014) realizaram um comparativo entre gomas xantana com diferentes conteúdos de piruvato e acetato, relacionando-as quanto as suas massas molares e viscosidade. Observaram que, em solução eletrolítica, o conteúdo piruvato é responsável pela modificação da viscosidade da goma, fato que não ocorre em soluções com baixa força iônica.

A capacidade da *X. campestris* de alterar o grau de substituição do seu exopolissacarídeo em resposta a uma alteração no ambiente ou às condições de fermentação significa um possível mecanismo de sobrevivência da bactéria (ABBASZADEH et al., 2015) e uma característica que a torna muito útil industrialmente.

Estudos de difração de raios-X sobre fibras de goma xantana orientadas identificaram a conformação molecular como uma hélice de cinco pontas com passo de 4,7 nm. Nessa conformação, a cadeia lateral do trissacarídeo está alinhada com o esqueleto e estabiliza a conformação geral por interações não covalentes, principalmente ligações de hidrogênio. Quando em solução, as cadeias laterais envolvem a espinha dorsal, protegendo as ligações β -1,4 do ataque. É pensado que esta proteção seja responsável pela estabilidade da goma sob condições adversas (PALANIRAJ et al., 2011).

A molécula de xantana pode existir em uma conformação ordenada ou desordenada, a qual depende das condições de caracterização. A estrutura ordenada sofre uma transição conformacional a altas temperaturas e baixa força iônica. Essa condição é reversível e o estado original (ordenado) é parcialmente recuperado por arrefecimento ou adição de sais (LUPORINI et al., 2011).

As propriedades reológicas da GX, especialmente a elevada viscosidade e a extraordinária estabilidade do polímero em solução, são fortemente dependentes do estado conformacional (KLAIC et al., 2015). Em soluções aquosas, a solvatação leva à expansão parcial da estrutura molecular, relacionada a uma alteração correspondente na

viscosidade da solução (BERGMANN et al., 2008).

Com base nas características da goma xantana apresentadas, é justificado o forte interesse industrial e acadêmico neste biopolímero. Atualmente, a indústria que detém a maior demanda de goma xantana é a indústria alimentícia, mas ela também pode ser empregada em diversos outros segmentos, tais como produtos de higiene pessoal, recuperação de petróleo, cosméticos e tintas à base de água (ROSALAM et al., 2006).

Como exemplos de aplicações na indústria alimentícia, pode-se citar a utilização da goma xantana como emulsificante no desenvolvimento de pães sem glúten, pães ricos em proteínas, recheios de padaria, xaropes, sobremesas e produtos lácteos, bolos, além de estabilizar emulsões e melhorar a estabilidade de massas congeladas na concentração de 0,1 a 0,25% (JULIANTI et al., 2015). A sua elevada viscosidade tem contribuído para sua utilização como retentor de sabor e agente imobilizante (COSTA et al., 2014).

Na indústria farmacêutica, algumas de suas aplicações são como agente de suspensão e matrizes para liberação sustentada de medicamentos. Na forma líquida, em produtos oftalmológicos, a xantana retarda a liberação de substâncias ativas, aumentando a atividade terapêutica de formulações, e prolonga o tempo de retenção das dosagens aplicadas. Também pode ser utilizada em formulações tópicas para aumentar a força bioadesiva ou como excipiente para secagem ou resfriamento por pulverização (YAHOUIM et al., 2016). Em conjunto com outros biopolímeros, a goma xantana pode estar envolvida, por exemplo, em formulações de matriz para drogas orais de liberação controlada ou formar sistemas de géis estáveis (LI et al., 2015; BRUNCHI et al., 2016).

Na indústria de petróleo, a goma xantana é usada na perfuração, fraturamento, completação de poços e limpeza de tubulações, sendo considerado um produto estratégico devido a sua excelente compatibilidade com sais e resistência à degradação térmica. Pode ser utilizada ainda na recuperação secundária, reduzindo a mobilidade da água e incrementando a sua viscosidade, impedindo o desvio da água injetada e garantindo uma boa varredura da área (ROSALAM et al., 2006; GOMES, 2015).

Os valores movimentados mundialmente no comércio de goma xantana são de aproximadamente 270 milhões de dólares. Estima-se que aproximadamente 30 mil toneladas de goma xantana sejam produzidas anualmente, com tendência de

crescimento anual de 5 a 10% (FARIA et al., 2011; LUVIELMO et al., 2016; LI et al., 2016).

Em geral, a fonte de carbono utilizada para a produção de goma xantana é o amido de milho, sendo glicose e sacarose também empregadas como substrato para produção, em alguns casos. Outras fontes renováveis, tais como xilose, soro de leite, bagaço e xarope são usadas para produzir goma em escala de bancada. O custo do substrato é um fator importante para a produção comercial da goma (WANG et al., 2016).

Esse custo é da ordem de US\$ 400-600/t e tem sido uma grande preocupação na produção, pois produz uma goma com preço final elevado, US\$ 4000-5000/t. (FARIA et al., 2010; SALAH et al., 2010; LI et al., 2016).

Atualmente o Brasil importa 100% da goma xantana consumida internamente, sendo que no país os custos de produção poderiam ser reduzidos consideravelmente pela disponibilidade da matéria-prima, como a cana-de-açúcar, além do álcool etílico utilizado na etapa de recuperação da goma (NERY et al., 2013).

3.3. *XANTHOMONAS CAMPESTRIS*

Xanthomonas é um grande gênero da família das *Pseudomonaceae*, composto de 27 espécies de bactérias. Foi isolada em 1940, sendo todos os organismos desse gênero patogênicos para as plantas (LIAO et al., 2016).

As *Xanthomonas* são bactérias Gram-negativas, móveis, possuindo flagelo único, tendo em média de 0,4 a 0,7 μm de largura e 0,7 a 1,8 μm de comprimento (FARIA, 2009). Reproduzem-se por divisão binária, apresentando células em forma de bastonetes, principalmente isoladas (Figura 2a). As colônias (Figura 2b) são geralmente lisas, viscosas e amarelas, coloração esta resultante da produção de um pigmento insolúvel em água conhecido como xantomonadinas (PORTELA et al., 2008).

O microrganismo é estritamente aeróbio, sendo o oxigênio nutriente essencial para o crescimento da *Xanthomonas* e produção da goma xantana. É, também, quimiorganotrófico, capaz de utilizar como fonte de carbono diversos carboidratos e sais de ácidos orgânicos (LOPES et al., 2015).

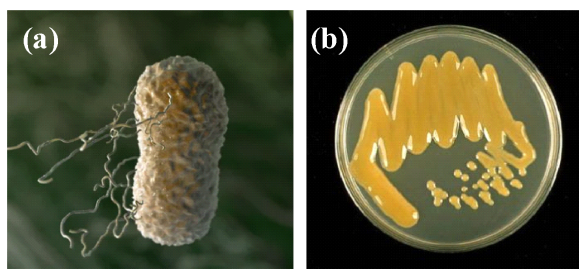


Figura 2 - *Xanthomonas* observada em microscópio (a) e cultivada em ágar nutriente (b).

Fonte: <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp>

A espécie *Xanthomonas campestris* pode ser dividida em pelo menos 141 patovares, os quais infectam uma grande gama de vegetais, incluindo algumas de interesse da agricultura, como repolho, alface, feijão e couve. Ao atacar citros, verduras e cana-de-açúcar, devido à alta produção de exopolissacarídeo, impede o fluxo de nutrientes no caule da planta, causando doenças (GOMES, 2014). Uma folha de couve contaminada por *X. campestris* é apresentada na Figura 3.



Figura 3 - Folha de couve contaminada por *Xanthomonas campestris*.

Fonte: <http://www.agroatlas.ru>

Uma variedade de doenças e sintomas é causada por essa bactéria, incluindo necrose, gomose e/ou doenças vasculares ou parenquimatosas em folhas, ramos ou frutos de muitas plantas (HAYWARD, 1993 *apud* MECCA, 2010).

As bactérias colonizam a superfície dos vegetais pela adesão a certas estruturas. Após invadirem os espaços intracelulares, desenvolvem microcolônias rodeadas de material fibrilar, provavelmente o EPS xantana. Passadas 24 h, encontram-se

abundantemente rodeadas por EPS, preenchendo os espaços intercelulares. Como o muco secretado pela bactéria apresenta alta capacidade de retenção de água, os espaços tornam-se congestionados. O primeiro sintoma de infecção e pré-requisito para efetiva colonização bacteriana é o tecido continuamente desidratado (BRANDÃO, 2012).

Ao mesmo tempo em que constitui uma ameaça em todo o mundo para a agricultura e causa perdas substanciais de importantes colheitas, a *Xanthomonas* é capaz de elevar a viscosidade do meio onde se desenvolve, devido à secreção do exopolissacarídeo aniônico no meio, ou seja, a goma xantana, que tem uma importância industrial crescente (BRANDÃO, 2012; LEBMEIER et al., 2016). O que para as bactérias é utilizado como proteção contra a dessecação, ataque de amebas, de fagócitos e de bacteriófagos, é para a indústria um produto capaz de formar soluções viscosas em meio aquoso, mesmo em baixas concentrações (LUVIELMO et al., 2016).

Muitos estudos têm sido realizados objetivando identificar as melhores cepas produtoras. Rottava et al. (2009) selecionaram e caracterizaram molecularmente dez cepas de *Xanthomonas*, correlacionando a produção de goma com suas propriedades reológicas.

Wang et al. (2016) desenvolveram uma cadeia mutante de *Xanthomonas campestris*, por evolução adaptativa, a fim de utilizá-la para produzir GX em glicerol como substrato. A produtividade obtida foi de 11 g/L e a cadeia mutante mostrou-se tolerante a altas concentrações de glicerol, onde sua atividade não foi afetada por impurezas do glicerol cru.

Niknezhad et al. (2016) estudaram a produção de goma xantana utilizando células de *Xanthomonas campestris* e *Xanthomonas perlagonii* imobilizadas, empregadas com sucesso em três ciclos consecutivos de produção sem degradação perceptível, sugerindo que a imobilização de células produz resultados mais vantajosos que aqueles encontrados utilizando células livres.

Estudos envolvendo engenharia genética também têm sido desenvolvidos. Lebmeier et al. (2008) estudaram o genoma da *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* e seu uso para reconstrução de rotas metabólicas envolvidas na produção de goma xantana. Wibberg et al. (2015) realizaram o mapeamento genético da *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459, bactéria utilizada de forma pioneira nos estudos relacionados

à produção biotecnológica de GX, cujo sequenciamento permitirá que outras estirpes também sejam avaliadas quanto à biotecnologia da produção de xantana.

A modificação genética pode levar a melhorias nas propriedades requeridas para aplicações de recuperação de cepa ou suplementação do meio, ou ainda aumentar a produção, reduzindo o tempo de fermentação e simplificando a recuperação e purificação do produto no processo, além de permitir a produção de gomas com melhores qualidades reológicas (ROSALAM et al., 2006).

3.4. PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA

Comercialmente, o hidrocolóide xantana é produzido por fermentação e o processo de obtenção, esquematizado na Figura 4, consiste nas etapas de pré-inoculo, inoculo, fermentação, pasteurização, remoção de células, precipitação (usualmente com adição de álcool), separação e secagem da goma (GOMES, 2014).

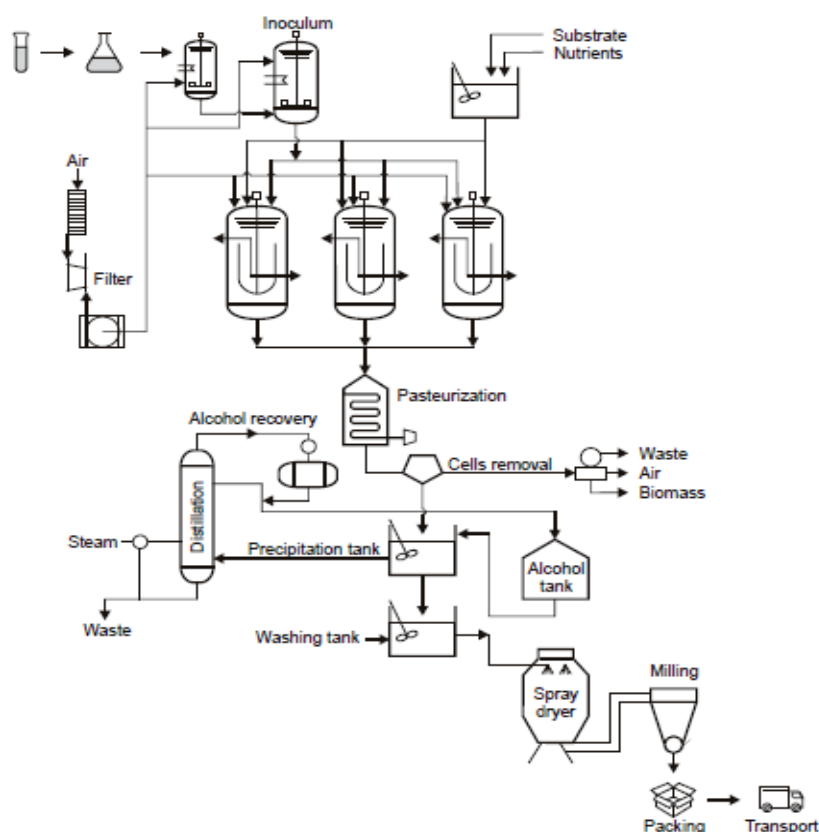


Figura 4 - Fluxograma de produção de goma xantana em fermentadores em série agitados.

Fonte: LOPES et al. (2015)

Muitas pesquisas têm mostrado que a produção de goma xantana e as suas características funcionais são afetadas por muitos fatores, os quais incluem tipo de biorreator, modo de operação (contínuo ou batelada), fonte de carbono, condições de cultivo (temperatura, pH, velocidade de agitação, taxa de aeração), tempo de fermentação, cepa do microrganismo e condições pós-fermentação (tratamentos térmicos, recuperação, purificação) (LUVIELMO et al., 2016). Muitos estudos têm buscado a otimização do processo de fermentação pela manipulação das variáveis citadas (FARIA, 2009; GILANI et al., 2011; DINIZ et al., 2012; GUNASEKAR et al., 2014).

Sob condições controladas, os polissacarídeos microbianos podem ser produzidos, resultando em bateladas comerciais com reprodutibilidade excepcional de suas propriedades funcionais (TRUJILLO-CAYADO et al., 2016).

Em relação ao microrganismo utilizado, o patovar utilizado determina a composição do polissacarídeo que será obtido. Algumas espécies são mais eficientes, tal como *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, correspondente à linhagem NRRL-1459, a qual tem sido extensamente empregada na produção industrial (LUVIELMO et al., 2016). No entanto, outras espécies de *Xanthomonas* podem produzir gomas xantana de qualidade e quantidade similares (KLAIC et al., 2015).

A fonte de carbono mais utilizada na produção comercial é a glicose obtida a partir do xarope de milho, ainda que sacarose também seja comumente usada, com o meio de cultura consistindo geralmente de 2 a 4% (m/V) dessas fontes de carbono (COSTA et al., 2014). Extrato de levedura, peptona ou nitrato de amônio, utilizados na proporção 0,05 a 0,1% (m/V), são empregados como fonte de nitrogênio, e ainda fósforo e traços de outros minerais (MENEZES et al., 2012).

A utilização de diferentes substratos e/ou nutrientes limitantes não influencia a estrutura primária da GX, mas afeta a estrutura das cadeias laterais, a massa molecular e o rendimento, havendo, por conseguinte, variações nas propriedades reológicas (PALANIRAJ et al., 2011).

A temperatura é uma das variáveis mais importantes que afetam a produção de

goma xantana. As temperaturas empregadas podem variar entre 25 e 34°C. Tanto o crescimento de biomassa quanto a produção de GX aumentam com a temperatura, rendendo um máximo a 28°C, com produção estimulada na presença de ácidos orgânicos (MENEZES et al., 2012; LOPES et al., 2015).

O pH deve ser mantido próximo à neutralidade e é apontado pela maioria dos estudos como ótimo para o crescimento da *Xanthomonas campestris*. O mesmo decresce para 5,0 durante a produção de goma xantana, devido aos grupos ácidos presentes nesse polímero (GARCÍA-OCHOA et al., 2004). Habibi et al. (2017) observaram que, para obtenção de polímeros com alta viscosidade, o pH deve ser mantido entre 6 e 8.

Sendo a *Xanthomonas campestris* uma bactéria estritamente aeróbia, a concentração de oxigênio é determinante para a produção do biopolímero. O aumento da viscosidade do meio, decorrente do acúmulo do biopolímero extracelular, provoca significativo decréscimo da taxa de transferência de oxigênio. Com isto, a concentração de oxigênio dissolvido se torna um nutriente limitante no processo global (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

A combinação adequada dos parâmetros agitação e aeração é requerida, sendo que, para sistemas não newtonianos, como é o caso da produção de GX, a agitação é mais significativa para a transferência de oxigênio do que a aeração (COSTA et al., 2014).

Relacionado a este fato, Papagianni et al. (2001) mostraram que o incremento nos níveis de agitação resulta em maiores taxas de produção e níveis de biomassa, sendo a estrutura química da xantana influenciada pela agitação. Notaram, também, que houve incremento do conteúdo de ácido pirúvico com o aumento da velocidade de agitação.

A oxigenação, além de manter a cultura por mais tempo em metabolismo oxidativo, gerando, portanto, mais ATP para a biossíntese, parece promover a oxidação de certos produtos que se acumulam no meio de cultura, resultantes do próprio metabolismo celular, os quais são tóxicos para as bactérias (HABIBI et al., 2017).

A maioria dos processos industriais opera em batelada, podendo o microrganismo converter aproximadamente 70% do substrato em goma. Para que este patamar seja atingido, as condições do processo precisam ser cuidadosamente avaliadas

(FARIA et al., 2010; LOPES et al., 2015).

Finalizado o processo fermentativo, procede-se à recuperação da goma xantana, cujos passos são: (1) desativação e remoção (ou lise) das células microbianas; (2) precipitação do polímero; (3) lavagem, secagem, moagem e embalagem. Geralmente, o caldo fermentado é pasteurizado ou esterilizado para matar as células bacterianas, tratamento térmico que acentua a remoção de goma xantana das células (LUVIELMO et al., 2016).

A precipitação do polímero é realizada pela adição de um solvente adequado. Normalmente, o método utilizado é o da precipitação com álcool, principalmente etanol e isopropanol, sendo os custos para a recuperação do álcool e as perdas inevitáveis, contribuindo significativamente para o custo total de produção (BRANDÃO, 2012).

A fim de descrever matematicamente o processo, modelos foram propostos para o processo em batelada. Papagianni et al. (2001) propuseram um modelo cinético para descrever o processo de produção de goma xantana em reator batelada de escala de laboratório, sem controle de pH. García-Ochoa et al. (2004) sugeriram um modelo cinético envolvendo os metabolismos da fonte de carbono e de nitrogênio no interior da célula, permitindo prever a produção de goma e o comportamento do sistema quando submetido a diferentes condições de operação. Portela et al. (2008) elaboraram um modelo cinético não estruturado da produção de goma xantana, representado pela equação logística de Verhulst-Pearl, mostrando uma modelagem adequada ao processo dentro de uma faixa de validade. Zabet et al. (2011) desenvolveram um modelo híbrido, consistindo em uma rede neural utilizada para estimar parâmetros cinéticos do modelo fenomenológico por eles proposto.

O processo de produção de goma xantana em fermentador contínuo foi estudado por Zabet et al. (2012), mostrando a viabilidade da produção por esse método, com sistemas de reciclo externo e interno, apresentando produtividade 12 e 17 vezes, respectivamente, superior à obtida em um fermentador contínuo sem reciclo.

O maior produtor de goma na atualidade é o grupo chinês FUFENG, fornecendo produtos para mais de 50 países nos últimos anos (ADITIVOS INGREDIENTES, 2017). Outros produtores de destaque são Merck, Kelco, e Pfizer nos Estados Unidos; Rhône Poulenc, Mero-Rousselot-Santia e Sanofi-Elf na França; Saidy Chemical na

China; e Jungbunzlauer na Áustria (FARIA, 2009).

3.5. BIOCONVERSÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

A fim de buscar soluções para as questões dos resíduos gerados nas agroindústrias e reduzir os custos do meio fermentativo, barateando a produção, pesquisas recentes nesse campo têm focado particularmente em buscar fontes de carbono alternativas para processos industriais.

O custo de substrato comercial é alto (US\$ 400-600/t) mas, em contrapartida, resíduos agrícolas, gerados como refugos sólidos, não têm custo. Na verdade, dispor esses resíduos de maneira adequada é um problema para as empresas geradoras (GUNASEKAR et al., 2014).

Questões ambientais têm alavancado o interesse por fontes renováveis e os resíduos agroindustriais se tornaram uma fonte importante para a produção de novos materiais, produtos químicos e energia (HABIBI et al., 2017).

Todos os resíduos que a empresa gera lhe custaram dinheiro, pois foram comprados a preço de matéria-prima, consumindo insumos como água e energia. Uma vez gerados, continuam a consumir dinheiro, seja sob a forma de gastos de tratamento e armazenamento, seja sob a forma de multas pela falta desses cuidados, ou ainda pelos danos à imagem e à reputação da empresa (SALAZAR, 2013).

A Resolução CONAMA nº 313, de 29 de outubro de 2002, define resíduo sólido industrial como todo aquele que resulte de atividades industriais e que se encontre nos estados sólido, semissólido, gasoso (quando contido) e líquido, cujas particularidades tornem inviável o seu lançamento na rede pública de esgoto ou em corpos d'água, ou exijam para isso soluções técnicas ou economicamente inviáveis em face da melhor tecnologia disponível.

Sobre as condições e os padrões de lançamento de efluentes, a Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011, dispõe que os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados diretamente nos corpos receptores após o devido tratamento e desde que obedeçam às condições padrões e exigências da legislação vigente.

A Lei 12.305/10, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), é

bastante atual e contém instrumentos que pretendem reduzir os impactos ambientais provocados pela destinação incorreta dos resíduos sólidos. A mesma define que, na gestão e gerenciamento de resíduos sólidos, deve ser observada a seguinte ordem de prioridade: não geração, redução, reutilização, reciclagem, tratamento de resíduos sólidos e disposição final ambientalmente adequada dos rejeitos.

Os conceitos citados nesta Lei são aplicados quando se utiliza a Produção mais Limpa (P+L), a qual consiste em resolver problemas e reduzir ao máximo a poluição e o desperdício durante um processo produtivo, visando à otimização do uso de matérias-primas e à minimização ou até extinção dos desperdícios nas atividades do processo (CERICATO et al., 2013).

Para que resíduos possam ser reutilizados, a fabricação de produtos deve ter características tais que permitam uma reutilização dos mesmos sem perda significativa de sua qualidade inicial.

Um exemplo promissor da aplicação dos conceitos de Produção mais Limpa e da redução de rejeitos ambientais é a produção de goma xantana a partir de resíduos agroindustriais, inserindo na cadeia produtiva um resíduo que seria encaminhado para destinação final, com ou sem tratamento prévio (MESOMO, 2009; MECCA, 2010; BRANDÃO et al., 2010; NERY et al., 2013; LI et al., 2016).

Dentre as agroindústrias, as de processamento de alimentos têm elevado suas produções devido ao aumento da demanda por produtos alimentícios, resultado do crescimento populacional, acarretando ampliação na geração de resíduos. Apenas cerca de 20% do lixo gerado é recuperado e utilizado como alimentação animal, sendo o restante seguido para aterros, incineradores ou enviado para compostagem, que resulta na liberação de gases de efeito estufa (SALAH, 2010; DHILLON, 2013).

No Brasil, além da crescente produção agrícola, o país tem se destacado como potência no beneficiamento de sua produção. Produtos que antes eram exportados *in natura*, hoje são industrializados e, conseqüentemente, intensifica-se a geração de resíduos (PELIZER et al., 2007).

Os resíduos agroindustriais consistem em polissacarídeos complexos, como celulose, hemicelulose e lignina, representando cerca de 90% da biomassa seca. São bastante estudados como substratos fermentativos para produção de artigos de alto valor

agregado ou novos produtos, com propriedades específicas (especialmente em conexão com processos de biotransformação) (CAÑETE-RODRÍGUEZ et al., 2016; MAITI et al., 2016).

Vários materiais de baixo custo têm sido estudados a fim de substituir glicose e/ou sacarose na produção de xantana. No entanto, nutrientes adicionais são requeridos na maioria dos casos (LI et al., 2016).

Druzian (2007) investigou o resíduo de suco de maçã como fonte de carbono alternativa em um processo fermentativo conduzido em batelada, uma vez que, no Brasil, anualmente são gerados em torno de 3,5 milhões de toneladas de resíduo de suco de maçã. Os resultados obtidos mostraram um excelente rendimento, 10 vezes superior ao obtido com sacarose.

Brandão et al. (2010) avaliaram a possibilidade de utilização do soro de mandioca (manipueira) como substrato fermentativo para a biossíntese de goma xantana. Este substrato, resultante do processamento da farinha, foi escolhido devido ao alto volume de produção, ainda sem destino comercial. Três cepas de *Xanthomonas* foram testadas e os valores mostraram que o soro de mandioca é uma fonte alternativa para a produção de goma xantana, possibilitando um adequado destino para o soro.

Gilani et al. (2011) estudaram a utilização do soro de leite e o efeito da taxa de agitação do meio como forma de otimizar a produção de goma xantana, produzindo aproximadamente 16,5 g/L de GX em biorreator a 550 rpm.

Diniz et al. (2012) empregaram casca de cacau e de soro de leite na produção da goma, utilizando a bactéria *Xanthomonas campestris* 1182. A fermentação ocorreu em meios suplementados com potássio e nitrogênio, a 25°C, obtendo-se 4,995 g/L de GX quando utilizada a casca de cacau e 12,01 g/L quando utilizado soro de leite, enquanto que com sacarose a produção foi de 2,335 g/L, mostrando a viabilidade da produção de xantana a partir dos dois resíduos utilizados.

Nery et al. (2013) analisaram a viabilidade do uso da casca de coco verde como fonte alternativa de carbono para a produção de goma xantana em diferentes escalas de fermentação. Notaram que a produção de goma aumentou 30% no *shaker* e 81% ao mudar o meio fermentativo convencional por casca de coco verde. Tais resultados sugeriram que a casca de coco merece especial atenção como fonte alternativa de

carbono para produção de goma xantana, constituindo-se numa possibilidade para a produção em larga escala, com redução de custos e destino correto para o resíduo.

Costa et al. (2014) empregaram o extrato de casca de camarão como fonte de carbono e nitrogênio para a produção de goma, utilizando três cepas nativas de *Xanthomonas campestris*. Na fermentação em *shaker*, uma das cepas mostrou alta produção (4,64 g/L) e viscosidade (48,53 mPa.s) para um meio com 10% de extrato de casca de camarão, indicando potencial aplicação desta fonte de carbono.

Gomes et al. (2015) buscaram selecionar a melhor concentração de bagaço de cana para produção de goma xantana e analisaram as características da goma obtida. Melhores características reológicas e produtividade foram encontradas quando se utilizou a concentração de 4% de bagaço de cana em *shaker* a 250 rpm.

Li et al. (2016) utilizaram o resíduo orgânico doméstico como substrato, em fermentador de 5 L, obtendo 11,73 g/L de goma, indicando potencial deste resíduo para produção de GX.

Como exemplo de utilização de resíduo de indústrias químicas, a glicerina residual bruta, oriunda do processo de produção de biodiesel, foi analisada por Brandão (2012), em um reator em batelada. A goma obtida, a ser utilizada como fluido de perfuração em poços de petróleo, apresentou parâmetros reológicos próximos aos da goma xantana comercial.

Wang et al. (2017) também empregaram o glicerol, coproduto da obtenção do biodiesel, como fonte alternativa para obtenção de goma xantana. Obtiveram uma goma de estrutura química similar à goma comercial, porém com metade do valor da massa molecular da mesma e índice de consistência (*K*) de aproximadamente 1/10 da xantana comercial. Os resultados obtidos pavimentam o caminho do estudo da utilização do resíduo do processo de biodiesel para produção de GX.

Neste trabalho, explorou-se a utilização de três tipos de rejeitos provenientes de agroindústrias, cujas principais características são apresentadas a seguir.

3.5.1. Casca de coco

O Brasil possui cerca de 280 mil hectares cultivados com coqueiro, distribuídos praticamente em quase todo território nacional, com produção equivalente a dois

bilhões de frutos, sendo o quarto maior produtor mundial de coco, atrás apenas da Indonésia, Filipinas e Índia (EMBRAPA, 2012).

Apesar do cultivo do coqueiro ser estimulado e introduzido em várias regiões do país, as maiores plantações e produções se concentram na faixa litorânea, especialmente no Nordeste e parte da região Norte. Favorecidas pelas condições climáticas, ambas são responsáveis por cerca de 75% da produção de coco brasileiro (EMBRAPA, 2012).

O Estado de Sergipe é o segundo maior produtor de coco no país, com uma colheita anual de mais de 240 milhões de unidades do fruto, e o terceiro em área plantada, ocupando cerca de 42.000 ha, dos quais 80% estão localizados em área de baixada litorânea e tabuleiros costeiros (SE NOTÍCIAS, 2016).

Martins et al. (2011) mostraram que, apesar de ter ocorrido no Estado de Sergipe uma redução da área plantada de coqueiro nos últimos 20 anos, houve aumento na cota de participação na produção brasileira, devido ao aumento da produtividade. Levando-se em consideração a importância do Estado de Sergipe na produção brasileira de coco, faz-se necessário questionar o grau de participação do mesmo na produção de impactos ambientais, quando rejeitos do coco verde são dispostos incorretamente.

Estima-se que sejam produzidos cerca de 136 mil toneladas de casca de coco no Estado sergipano, chegando no Nordeste a aproximadamente 729 mil toneladas. Somente nas praias, projeta-se que cascas do fruto constituam 70% de todo resíduo gerado, sendo esse produto coletado e tratado como lixo urbano e disposto em lixões e/ou aterros sanitários. Além de representar custos expressivos gastos com limpeza pública, estas cascas contribuem para potenciais emissões de gases de efeito estufa, como gás carbônico e metano (EMBRAPA, 2015).

Quando descartada no ambiente, a casca de coco verde demora cerca de 10 anos para se decompor (FAPEMA, 2015). A simples disposição da casca de coco verde representa uma perda de biomassa, que poderia ser bem utilizada devido aos grandes volumes produzidos, incluindo grandes quantidades de material fermentável diretamente e matéria orgânica altamente biodegradável (NERY et al., 2013).

Buscando formas de aproveitamento e redução do impacto ambiental, Nery et al. (2013) utilizaram a casca de coco como substrato fermentativo para a produção de goma xantana. Citaram como fatores principais para a escolha deste substrato a grande

disponibilidade, a facilidade de armazenamento quando seco e a elevada concentração de carboidratos fermentáveis (celulose, fibras, hemicelulose,...), passíveis de serem bioconvertidos em açúcares livres. Os resultados obtidos mostraram maior produção de goma quando comparado ao substrato comercial (sacarose), além de excelente qualidade reológica.

3.5.2. Soro de leite

Soro é a porção líquida produzida durante a fabricação de queijo ou durante o processo de coagulação da caseína (YADAV et al., 2015). Todas as formas de obtenção de queijos e caseínas geram como subproduto ou coproduto o soro de queijo ou soro de leite, efluente que se constitui numa fonte de contaminação orgânica de corpos d'água (WEN-QIONG et al., 2017).

A Figura 5 apresenta, esquematicamente, o processo de fabricação do queijo e a etapa de formação do soro de leite. O soro representa cerca de 85-90% do volume e 55% dos nutrientes do leite. Em virtude da grande disponibilidade do soro de leite *in natura* e de seu oferecimento gratuito ou a um preço muito baixo (em torno de R\$ 0,01 por litro, colocado na indústria), muitos produtores o utilizam para alimentação animal (AFONSO et al., 2008).



Figura 5– Processo de Fabricação do queijo

Fonte: Mesomo (2009)

Dentre todo o volume produzido industrialmente, uma parte é utilizada para aplicações na indústria de alimentos, em produtos como soro em pó, concentrados ou isolados proteicos de soro, bebidas lácteas com soro fluido, doce de leite com soro fluido, sorvetes com soro fluido, lactose, entre outros produtos (ZACARCHENCO et al., 2015; YADAV et al., 2015).

Yadav et al. (2015) estimam que a produção mundial atual de soro esteja aproximadamente 180-190 milhões de toneladas/ano, com taxas de crescimento de cerca de 2% ao ano. A maior parte da produção é proveniente da União Europeia e dos Estados Unidos (cerca de 70% da produção mundial).

No Brasil, a produção de leite, em 2015, ficou em torno de 34 bilhões de litros, dos quais 24 bilhões de litros foram captados por indústrias. Do leite inspecionado e processado, 54% foram embalados como leite fluido, leite em pó, iogurtes e sobremesas, enquanto 46% (11 bilhões de litros) foram transformados em queijos, segundo a ABIQ (Associação Brasileira das Indústrias de Queijo) (ZOCAL, 2017).

A produção de queijo, que acontece em todas as regiões do país, é o destino de cerca de 60% do leite informal, estimado em 10 bilhões de litros, ou seja, 6 bilhões de litros de leite/ano são transformados em diferentes tipos de queijos (ZOCAL, 2017).

Em termos de volume e em função das técnicas utilizadas na produção, pode-se produzir entre 9 e 10 litros de soro, com média de 10 litros para cada quilo de queijo produzido (GIROTO; PAWLOWSKY, 2001). Este grande volume de produção e alto conteúdo orgânico criam significativos problemas ambientais quando descarregados em corpos d'água, reduzindo o oxigênio dissolvido, dificultando a biodegradabilidade e representando um risco importante para a vida aquática, bem como de saúde pública (YADAV et al., 2015).

O envio do soro às águas residuais das indústrias é prática comum e a principal fonte poluidora gerada por esse setor industrial, pois devido à alta quantidade de substâncias orgânicas presente no soro de leite, gera-se um alto valor de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) às estações de tratamento de efluentes, cerca de 175 vezes maior do que os efluentes típicos de esgoto (BALDISSERA et al., 2011;

ZACARCHENCO et al., 2015). Uma fábrica com produção média de 300.000 litros de soro por dia, por exemplo, pode poluir o equivalente a uma cidade com 150.000 habitantes (SILVA, 2011).

O aproveitamento do soro de leite, oriundo da fabricação de queijos, tem crescido no Brasil a partir da instalação de unidades industriais de concentração e secagem do soro ou de seus subprodutos. No entanto, o volume de soro descartado ou subutilizado ainda é extremamente elevado, em especial o do soro proveniente de pequenos laticínios (EMBRAPA, 2016).

Na Austrália, o aproveitamento do soro de leite na indústria alimentícia chega a quase 100%, praticamente sem desperdício nem prejuízo para o meio ambiente. Nos Estados Unidos, 90% do soro, quando transformado em pó, é destinado à alimentação humana. Ainda assim, 50% do soro produzido mundialmente é subutilizado (EMBRAPA, 2015a).

Devido ao grande valor nutricional do soro de leite e à abundância no Brasil, trabalhos que visem à utilização desse subproduto e sua transformação em produtos de alto valor agregado são de grande importância. Diversos trabalhos têm mostrando a viabilidade da utilização do soro de leite para a produção de goma xantana, utilizando a lactose como substrato.

Mesomo et al. (2009) estudaram a produção de goma em biorreator a partir do soro de leite e o efeito da adição de sais na produtividade e nas características reológicas, verificando que a adição de alguns sais, tal como o CaCl_2 , resulta em maiores viscosidades.

Nery et al. (2008) buscaram produzir goma xantana a partir do soro de queijo como substrato, em diferentes cepas isoladas de *Xanthomonas campestris*, e obtiveram para algumas estirpes rendimentos superiores àqueles encontrados com o uso de sacarose como fonte de carbono.

Mecca (2010) estudou os efeitos da agitação e da aeração sobre a produção de goma xantana a partir do soro, mostrando forte dependência com estas variáveis.

Gilani et al. (2011) investigaram o efeito da agitação na produção de goma a partir do soro de leite, obtendo no ponto ótimo do estudo, produtividade maior do que à obtida a partir de outros resíduos agroindustriais.

3.5.3. Casca de batata

Atualmente, a batata é o quarto alimento mais consumido no mundo, atrás do milho, arroz e trigo, e têm experimentado uma taxa estável de crescimento nas últimas duas décadas, firmando-se como cultura alimentar estável e importante fonte de amido (LIANG et al., 2015).

Em 2013 foram produzidas 376,45 milhões de toneladas de batata, sendo um terço desta produção consumido como produto fresco, enquanto o restante passou para o fluxo de processamento para atender às demandas por conveniência e *fast food*, que incluem batatas congeladas, fritas, amido e batatas secas (ZHU et al., 2016). Durante o processamento, a maioria das batatas precisa ser descascada, resultando em grande quantidade de resíduos, as cascas de batata (LIANG et al., 2014).

A consolidação das indústrias de processamento de batatas torna a utilização completa da matéria-prima um tópico cada vez mais importante, uma vez que há urgente demanda por reduzir o desperdício da mesma e liberar a pressão ambiental dos resíduos da batata (WU et al., 2016). Tais resíduos, além do amido, possuem outros polissacarídeos, bem como proteína e gordura.

Esforços têm sido realizados no sentido de utilizar a casca de batata para a criação de produtos de alto valor agregado, sendo empregados como fonte de carbono em fermentação para produção de ácido lático (LIANG et al., 2014), um ácido orgânico fortemente utilizado na indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética e aplicações industriais, de biocombustíveis, de açúcares redutores e de enzimas celulolíticas (ZHU et al., 2016). A Tabela 1 mostra a composição centesimal do resíduo da casca de batata.

Tabela 1- Composição centesimal da casca de batata	
Parâmetros	Peso seco (%)
Proteína bruta	22,4 ± 0,1
Amido	19,4 ± 0,2
Resíduo mineral	8,5 ± 0,1
Gordura Total	2,6 ± 0,0
Lignina	29,2 ± 0,4
Carboidrato	39,9 ± 0,9

Fonte: LIANG et al.(2015).

Bilanovic et al. (2008) estudaram fermentações para produção de goma xantana e ácido láctico, focando na avaliação dos custos do processo, e mostraram que a casca de batata como substrato fermentativo reduz os custos envolvidos, inclusive o custo ambiental.

Liang et al. (2015) utilizaram a casca de batata como substrato fermentativo para a produção de biogás, obtendo um rendimento de 70%. Kumar et al. (2016) produziram glicose a partir do resíduo da casca de batata, obtendo uma conversão de 59%. E Izmirlioglu e Demirci (2017) propuseram uma via de produção de bioetanol a partir da casca de batata.

4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

4.1. MICRORGANISMO: MANUTENÇÃO E PREPARO DO INÓCULO

Para a produção de goma xantana, utilizou-se a bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* IBSBF 1182, adquirida da Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico, em Campinas-SP. Este microrganismo foi utilizado por já ter sido avaliado como bom produtor de goma xantana em substratos fermentativos alternativos (BRANDÃO et al., 2010; COSTA et al., 2014).

A manutenção da cultura foi realizada em meio YMA (*Yeast Malt Agar*), sendo acrescentado 0,2% de ágar bacteriológico ao meio YM (*Yeast Malt*) padrão. O meio foi transferido para tubos de ensaio e esterilizado a 121 °C por 15 min, sendo após a saída da autoclave resfriado inclinado. A repicagem foi feita com alçadas das culturas da bactéria *Xanthomonas* 1182 e incubadas por 24 h. Todos os procedimentos foram realizados de forma asséptica.

Para o preparo do inóculo foi utilizado o meio YM padrão líquido, contendo 1,0% (m/v) de glicose, 0,5% (m/v) de peptona bacteriológica, 0,3% (m/v) de extrato de levedura e 0,3% (m/v) de extrato de malte (BRANDÃO, 2012). O pH do meio foi ajustado para 7,0 e a esterilização foi realizada por meio de vapor úmido (autoclave) a 121 °C por 15 min. O meio foi resfriado e inoculado com alçadas de *Xanthomonas campestris* e incubado a 28 °C, 180 rpm por 24 h em agitador orbital (*shaker*) Nova Técnica NT-145. Transcorrido o intervalo de tempo e com a finalidade de padronizar o inóculo a ser utilizado em cada fermentação, realizou-se a leitura de densidade ótica (DO) a 560 nm, sendo a concentração inicial de inóculo utilizada a de 6,5% (m/v).

4.2. SUBSTRATOS FERMENTATIVOS

Seis substratos fermentativos foram utilizados, consistindo em três resíduos agroindustriais e suas misturas, segundo planejamento experimental. A descrição dos resíduos e o tratamento a que foram submetidos é apresentada a seguir.

4.2.1. Soro de leite

O soro de leite utilizado neste trabalho foi cedido por um pequeno produtor de queijo coalho da região do sertão sergipano, no município de Nossa Senhora da Glória. Assim que foi coletado, foi armazenado em embalagens plásticas limpas e congelado até a utilização.

Os primeiros experimentos com soro de leite foram utilizados na forma *in natura*. Após ensaios preliminares, procedeu-se a desproteinização do soro de leite a fim adequar a composição nutricional comparativamente aos outros substratos.

O volume submetido a esse tratamento foi esterilizado em autoclave a 121 °C por 15 min. Após resfriamento, o mesmo foi filtrado para remoção do precipitado e armazenado em embalagens limpas. Parte do soro desproteinado foi diluído a 5% e parte foi utilizado sem diluição.

4.2.2. Casca de coco verde

A casca de coco verde foi coletada em mercado local. A epiderme lisa, chamada epicarpo (parte verde), foi cortada e eliminada. O feixe de fibras (mesocarpo) foi cortado, reduzido a pequenas frações e imersos em água por 24 h em refrigerador (± 4 °C) para amolecimento das fibras, sendo posteriormente triturados com água, na proporção 0,5:2,0 (m [kg]/v [L]) em liquidificador.

O extrato obtido foi coado, separando-se a porção líquida da porção sólida. O caldo foi congelado para posterior utilização como meio fermentativo.

4.2.3. Casca de batata

A casca de batata foi obtida de comerciante local de batata frita, sendo utilizado o cultivar Asterix.

Foram recolhidas, lavadas e trituradas com água, na proporção 1:2 (m[kg]/v[L]) em liquidificador. Procedeu-se à filtração para obtenção do caldo, que foi armazenado em freezer até a sua utilização. A porção sólida foi descartada.

4.3. CARACTERIZAÇÃO CENTESIMAL DOS MEIOS FERMENTATIVOS

O teor de carboidrato, proteína, resíduo mineral fixa (cinzas), umidade e gordura total foram determinados para cada meio fermentativo.

4.3.1. Carboidratos

O teor de carboidratos foi calculado pela diferença entre 100 e a soma das porcentagens de água, proteína, lipídeos e cinzas. Os valores de carboidratos incluem a fibra alimentar total, fração que representa a fonte de carbono disponível para ser bioconvertida à goma xantana pelas *Xanthomonas* (BRANDÃO, 2012).

4.3.2. Proteína bruta

Os valores de proteína foram calculados a partir de teores de nitrogênio total, usando como fator geral de conversão 6,25. O nitrogênio total foi determinado pelo método Kjeldahl, de acordo as normas da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1997).

4.3.3. Resíduo mineral

O teor de cinzas foi determinado por incineração em mufla a 600 °C, de acordo com Silva e Queiroz (2002).

4.3.4. Umidade

O teor de umidade foi determinado pela secagem em estufa com circulação de ar a 105°C até massa constante (AOAC, 1997).

4.3.5. Gordura Total

O teor de lipídeos ou gordura total foi determinado pelo método da extração em Soxhlet, utilizando hexano como solvente, seguindo as normas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

4.4. PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA

A produção de goma xantana seguiu o planejamento experimental para misturas *Simplex-lattice*, apresentado na Tabela 2, onde um total de seis experimentos foi realizado, três deles constituídos de apenas um dos resíduos e outros três compostos das misturas entre os resíduos.

Tabela 2 - Planejamento experimental *Simplex-lattice*

Experimento	Soro de Leite	Caldo da casca de coco	Caldo da casca de batata
1	1	0	0
2	0	1	0
3	0	0	1
4	1/2	1/2	0
5	1/2	0	1/2
6	0	1/2	1/2

Todos os meios foram suplementados com 0,01% (m/v) de ureia e de 0,1% (m/v) de fosfato de potássio (BRANDÃO, 2012). O pH foi ajustado para 7,0 e os meios fermentativos (60 ml) transferidos para Erlenmeyers de 250 ml, sendo autoclavados a 121 °C por 15 min. Cada ensaio fermentativo foi realizado em duplicata e cada meio foi distribuído em 12 frascos Erlenmeyers, correspondendo aos tempos de amostragem (0, 24, 32, 48, 56 e 72 h).

Após esterilização e equilíbrio térmico dos meios fermentativos com o ambiente, adicionou-se o volume padronizado (6,5%) de inóculo. As condições operacionais de fermentação em agitador orbital foram 200 rpm de agitação e temperatura ambiente de 28°C.

Transcorrido o intervalo de tempo correspondente, o meio fermentado foi pasteurizado a 90 °C por 15 min e, em seguida, filtrado em algodão ou papel de filtro, a fim de reter sólidos suspensos formados durante o processo. Parte do filtrado foi armazenado em micro tubos para posterior análise de viabilidade celular e o restante foi levado para a centrifugação a -4°C e 7500 rpm por 20 min, a fim de separar as células presentes no meio.

4.5. RECUPERAÇÃO DA GOMA XANTANA

A partir do sobrenadante, procedeu-se à recuperação da goma e análise do teor de açúcares.

As gomas obtidas através da fermentação com *Xanthomonas campestris* foram precipitadas com álcool etílico 96% na proporção meio:álcool de 1:2 (v/v). A solução foi deixada em repouso sob refrigeração por 24h.

Transcorrido o tempo, o precipitado foi removido com o auxílio de bastão de vidro (Figura 6), colocado em placa de Petri forrada com plástico e levado para secagem a 50 ± 2 °C por um dia (peso constante).



Figura 6 - Remoção de goma após precipitação e preparação para secagem.

As gomas obtidas foram, então, pesadas e armazenadas em embalagens plásticas. O rendimento foi calculado por gravimetria e os valores expressos em g/L (grama por litro de meio fermentativo) (BRANDÃO, 2012).

4.6. CINÉTICA DO PROCESSO FERMENTATIVO

Foi realizado o acompanhamento cinético do processo fermentativo, acompanhando a formação do produto, o consumo de substrato e o crescimento da biomassa.

4.6.1. Crescimento de biomassa

A análise de crescimento celular foi realizada por método espectrofotométrico, utilizando água destilada como branco. As amostras foram diluídas na proporção 1:50 e as leituras de absorbância foram feitas com comprimento de onda de 560 nm. O valor de absorbância foi convertido em concentração (g/L), utilizando curvas padrão que relacionam a absorbância com a concentração celular em termos de massa seca.

4.6.2. Consumo de substrato

O consumo de açúcar foi acompanhado através da análise de açúcares redutores totais (ART), pelo método colorimétrico do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS) proposto por Miller (1959).

Realizou-se a hidrólise com H_2SO_4 1,5 M em banho fervente por 20 min para hidrolisar os polissacarídeos e outros açúcares não redutores e, após resfriamento à temperatura ambiente, neutralizou-se com NaOH 2 N.

A concentração de açúcar foi determinada após fervura da amostra com o DNS por 5 min e leitura em espectrofotômetro a 540 nm, tendo como curva padrão soluções de concentração conhecida.

4.7. CARACTERIZAÇÃO DA GOMA XANTANA OBTIDA

4.7.1. Análise do comportamento reológico

Com a goma obtida após recuperação e secagem foram preparadas soluções aquosas de GX com concentração 1% (m/v), objetivando o estudo do comportamento reológico das mesmas.

Para o preparo das soluções, o biopolímero foi dissolvido em água destilada e agitado vigorosamente por cerca de 10 min em temperatura ambiente. As soluções foram deixadas em repouso em geladeira por 24 h e, antes das análises, foram postas à temperatura ambiente até seu equilíbrio térmico.

Para as análises de viscosidade foi utilizado o viscosímetro digital marca Brookfield, modelo LVDV II+ Pro, com dispositivo de cilindros concêntricos, associado ao *software* Rheocalc. Para esse modelo de viscosímetro foi necessário 10 ml de solução

de goma xantana. Cada amostra foi transferida para o equipamento e aplicada uma velocidade de rotação variável aos eixos metálicos imersos no líquido.

Foram aplicados os dados de tensão cisalhante, medidos em diferentes taxas de cisalhamento, ao modelo cinético de Ostwald-de-Walle ou lei da potência (*Power Law*) (BRANDÃO, 2012). Esse modelo matemático foi utilizado para determinação do comportamento pseudoplástico das soluções de goma e é caracterizado pela Equação 1.

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} = K(\dot{\gamma})^{n-1} \quad (1)$$

onde K representa o índice de consistência, n o índice de fluxo, η a viscosidade aparente, τ a tensão de cisalhamento e $\dot{\gamma}$ a taxa de cisalhamento.

As unidades de medida utilizadas foram em cP (centipoise) para a viscosidade aparente, 1/s para a taxa de cisalhamento e dina/centímetro quadrado (dyn/cm²) para a tensão de cisalhamento. Os resultados foram expressos em gráficos de viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento.

4.8. SCALE-UP DO PROCESSO

Após realização dos experimentos em agitador orbital, conforme planejamento experimental apresentado na Tabela 2, selecionou-se o substrato que produziu goma com melhor qualidade/produtividade e procedeu-se ao *scale-up* do mesmo, sendo executado em biorreator de bancada SOLAB de 5 L (Figura 7).

O inóculo foi preparado de forma semelhante ao descrito na seção 4.1, após 24 h de fermentação, sendo o volume de inóculo, correspondente a 6,5% do volume do meio a ser fermentado, centrifugado e ressuspensão no próprio substrato a fim de ser adicionado ao fermentador, perfazendo um volume total de meio de 3,6 L.



Figura 7 – Biorreator de bancada, em processo de fermentação.

Utilizaram-se as mesmas condições operacionais dos experimentos em agitador orbital (200 rpm/28 °C) . Amostras foram retiradas a cada 6 h e o acompanhamento cinético desse ensaio foi realizado conforme descrito nas seções anteriores para os ensaios preliminares.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DOS SUBSTRATOS ALTERNATIVOS

A caracterização dos meios fermentativos foi realizada para determinar os constituintes nutricionais presentes em cada substrato a ser utilizado pela bactéria *Xanthomonas campestris*, tanto como fonte de carbono e nitrogênio quanto como fonte de micronutrientes necessários para reprodução celular das bactérias e produção de goma xantana.

Os valores médios e os desvios padrão das análises em triplicata da composição centesimal dos meios fermentativos utilizados neste trabalho, na forma simples e quando em mistura, são apresentados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente.

Tabela 3 – Análise centesimal dos substratos simples

Parâmetros	Soro de leite (%)	Casca de coco (%)	Casca de batata (%)
------------	-------------------	-------------------	---------------------

Proteína bruta	0,73 ± 0,010	0,19 ± 0,014	0,54 ± 0,003
Umidade	93,51 ± 0,001	99,01 ± 0,002	97,59 ± 0,001
Resíduo mineral	1,51 ± 0,001	0,27 ± 0,001	0,74 ± 0,002
Gordura Total	0,75 ± 0,001	0,36 ± 0,001	0,57 ± 0,001
Carboidrato	3,50 ± 0,001	0,16 ± 0,003	0,56 ± 0,001

Tabela 4 – Análise centesimal da combinação entre substratos

Parâmetros	Soro de leite + Casca de coco (%)	Soro de leite + Casca de batata (%)	Casca de coco + Casca de batata (%)
Proteína bruta	0,45 ± 0,017	0,63 ± 0,016	0,35 ± 0,014
Umidade	96,38 ± 0,004	95,97 ± 0,001	98,41 ± 0,002
Resíduo mineral	1,05 ± 0,003	1,33 ± 0,003	0,62 ± 0,001
Gordura Total	0,64 ± 0,000	0,64 ± 0,000	0,42 ± 0,001
Carboidrato	1,48 ± 0,004	1,43 ± 0,003	0,20 ± 0,003

Os substratos foram utilizados na forma líquida em substituição ao meio padrão de fermentação (YM). Todos apresentaram elevado teor de umidade, com um máximo de 6,49% de matéria seca para o soro de leite e um mínimo de 0,99% para a casca de coco. Em relação à base úmida, forma usada como substrato fermentescível, o soro de leite é aquele que apresenta maior teor de proteína (0,73%), carboidrato (3,5%) e gordura total (0,75%) em comparação aos demais.

Para o soro de leite, os valores aqui obtidos estão em concordância com os apresentados por Baldissera et al. (2011), porém não encontram paridade quando comparados ao trabalho de Nery et al. (2008). Isso se deve, possivelmente, às variações de composição do leite, uma vez que o soro de leite utilizado por Nery et al. (2008) correspondia ao obtido durante a produção de queijo mussarela a partir do leite desnatado.

Baldissera et al. (2011) obtiveram no soro de leite 93,39% de umidade e 3,44% de carboidratos. Para a proteína, encontraram valores entre 0,6 e 1,0%, enquanto Mesomo et al. (2009) chegaram a teores de 0,71% de lipídeos e 0,80% de proteína, também estando em concordância com os valores obtidos neste estudo.

Quanto à casca de coco, Mattos et al. (2011) e Nery et al. (2013) obtiveram maior teor nutricional de lipídeos, carboidratos, cinzas e proteína e menor valor de umidade. Isso ocorre porque substrato avaliado foi a casca *in natura* e, neste trabalho,

utilizou-se o caldo obtido após amolecimento das fibras e trituração, sendo o bagaço retido na filtração, seco e encaminhado para fabricação de briquetes e análise energética.

Em relação à casca de batata, com beneficiamento similar ao realizado na casca de coco, reduziu-se o teor nutricional do substrato, uma vez que é na casca que se concentra a maior parte dos nutrientes avaliados. Stork et al. (2013) obtiveram 1,8% de proteína para a casca de batata, 10,45% de carboidratos e 6% de proteína. Para manter este nível de nutrientes, realizar fermentação no estado sólido ou semissólido pode ser uma alternativa para maximizar a disponibilidade nutricional destes resíduos.

Os meios fermentativos compostos pela mistura de componentes (Tabela 4) mostram que onde há a presença de soro de leite há maior presença de nutrientes básicos do que nos meios onde o soro de leite não está presente. Em outras palavras, a adição do soro de leite aumenta a qualidade nutricional do substrato. Pode-se observar que o teor de carboidratos é praticamente o mesmo quando o soro de leite se faz presente, assim como o teor de lipídeos e de resíduos minerais.

Segundo Sutherland (2006), uma elevada concentração de nitrogênio é necessária para um rápido crescimento celular. Entretanto, quando a concentração de nitrogênio no meio de cultura é muito elevada, a xantana produzida possui propriedades reológicas inadequadas. Meios contendo elevado teor de carbono e baixo teor de nitrogênio favorecem o acúmulo de polímero. Em geral, os processos industriais procuram utilizar meios que disponibilizem condições tanto para o crescimento quanto para o acúmulo de goma.

Devido a isto, avaliou-se a relação C:N. Enquanto que para o soro de leite foi de aproximadamente 4,8:1, correspondendo ao maior valor dentre os substratos simples, o caldo da casca de batata apresentou relação de aproximadamente 1:1 e o caldo da casca de coco, próxima a 0,8:1.

Quando o soro de leite esteve presente nas misturas, estas possuíam maiores teores de carboidrato e proteína tendo, por isso, maiores relações C:N. Desse modo, para a mistura soro de leite e casca de coco, a relação foi de aproximadamente 3:1 e para a mistura soro de leite e casca de batata, este valor foi próximo a 2:1. Já a mistura casca de coco e casca de batata apresentou uma relação C:N de 0,6:1.

O meio padrão para a produção comercial de GX deve conter fonte de carbono, de nitrogênio, íons fosfato e magnésio e alguns elementos traços (BORGES; VENDRUSCOLO, 2008). Nesse contexto, existe a necessidade de suplementação do nitrogênio livre e fósforo no meio fermentativo (BRANDÃO et al., 2010; NERY et al., 2013).

5.2. ESTUDO DA PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA

Após a fermentação, para que a goma fosse recuperada do meio, fez-se necessária a adição de álcool etílico. A Figura 8 apresenta o aspecto da solução de goma xantana logo após receber o volume de etanol (Figura 8a) e após 24 h de repouso sob refrigeração (Figura 8b).

A coloração do biopolímero, precipitado e seco, variou de acordo com a fonte de carbono utilizada. O soro de leite sofreu escurecimento após esterilização em autoclave, provavelmente resultante da reação de Maillard (NERY et al., 2008) e a goma obtida tinha uma coloração próxima ao vermelho. Para a casca de batata, a goma obtida foi marrom e com tonalidade um pouco mais clara do que a obtida a partir da casca de coco.

O biopolímero comercial possui coloração variando do branco ao amarelo claro, sendo que esta característica pode ser um parâmetro que influencie a qualidade da goma como aditivo, notoriamente nas indústrias alimentícia e farmacêutica.

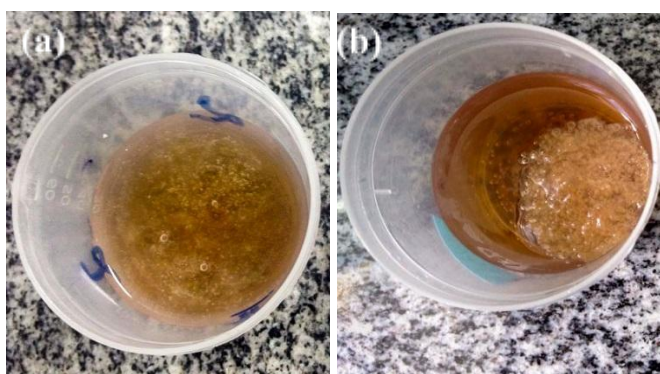


Figura 8 - Solução de goma obtida ao final do processo de fermentação da casca de coco, com adição de etanol para recuperação (a) imediatamente após adição do álcool (b) 24 horas após a adição.

5.2.1. Acompanhamento do processo fermentativo

As Figuras 9 a 14 apresentam os resultados cinéticos obtidos na produção de GX neste estudo. Os valores tabelados podem ser consultados no Apêndice A.

No experimento utilizando o soro de leite como substrato (Figura 9), verifica-se que a lactose foi consumida no decorrer da fermentação, evidenciando que a bactéria *X. campestris* pv. *manihotis* é capaz de utilizar este açúcar como fonte de carbono para a produção de goma xantana, comprovando os resultados encontrados por Mesomo et al. (2009) e Silva et al. (2009).

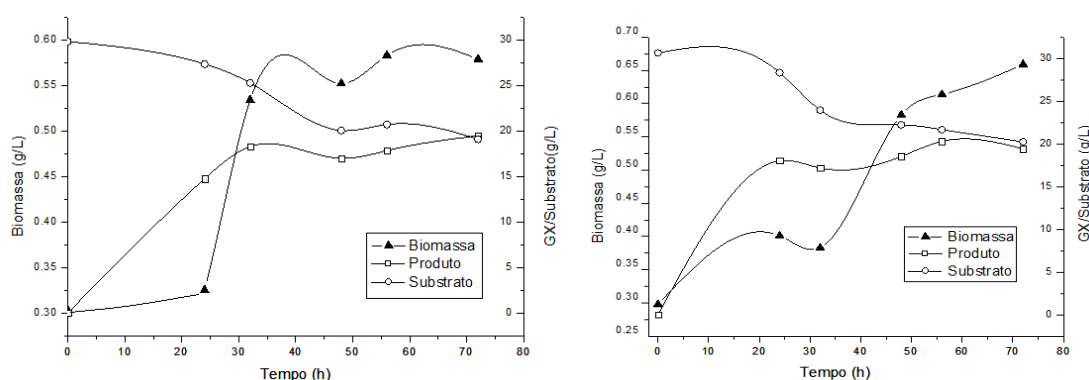


Figura 9 - Comportamento cinético da fermentação com o soro de leite como substrato.

Niknezhad et al. (2015), utilizando agitação de 250 rpm e 28 °C, alcançaram uma produção de 12,28 g/L após 48 h de fermentação em meio a base de soro de leite integral, com adição de 0,01% de sulfato de magnésio e 0,5% de fosfato de potássio, porém com outra espécie da bactéria, a *Xanthomonas pelargonii*.

Rotava et al. (2009) mostraram que diferentes linhagens de *Xanthomonas* podem produzir goma xantana com diferentes composições, viscosidade e rendimento. Por esse motivo, salienta-se a importância de pesquisas sobre novas linhagens que possam produzir goma xantana em meios alternativos, com alto rendimento e boa qualidade.

Nery et al. (2013), utilizando a casca de coco seca em pó como substrato, atingiram uma produção de aproximadamente 2 g/L em *shaker* a 250 rpm e 28 °C. Quando o experimento foi realizado em biorreator, a produção foi de aproximadamente

10 g/L. Comparando o resultado ao obtido no experimento aqui realizado, com casca de coco (Figura 10), pode-se notar que em *shaker* a 200 rpm obteve-se aproximadamente a mesma produtividade do trabalho de Nery et al. (2013) quando realizado em biorreator. Este fato pode ser associado à utilização da casca de coco seca em pó, enquanto que neste trabalho a casca *in natura* foi utilizada para a obtenção do caldo fermentativo, preservando os nutrientes do resíduo.

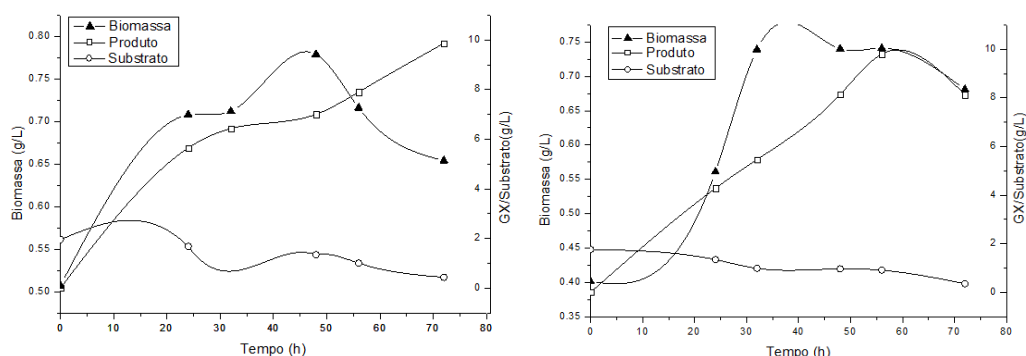


Figura 10 - Comportamento cinético da fermentação com casca de coco como substrato.

A realização deste experimento em biorreator, utilizando maiores taxas de aeração e agitação do que as obtidas em agitador orbital, deve apresentar bons valores de rendimento quando comparado ao trabalho de Nery et al. (2013).

Dentre os meios fermentativos, a casca de batata (Figura 11) foi o que apresentou menor rendimento, mesmo possuindo maior teor de carboidratos comparativamente à casca de coco (Figura 10).

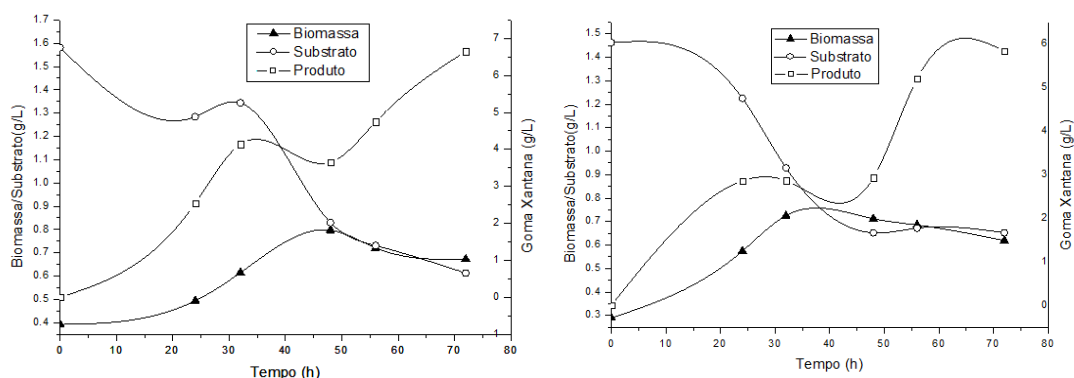


Figura 11 - Comportamento cinético da fermentação com casca de batata como substrato.

Foi possível perceber que a maior produção de goma xantana ocorre entre 72 e 96h. Esse fato ocorre devido à *Xanthomonas campestris* excretar para o meio seu metabólito na sua fase de desaceleração e declínio celular, sendo a formação do produto parcialmente associada ao crescimento de biomassa (BRANDÃO, 2012). Observou-se, em alguns experimentos, que já em 48 h a produção de células foi máxima.

O experimento com a mistura de casca de coco e soro de leite (Figura 12) não teve produção significativa de goma xantana e, ao final da fermentação, não foi observado aumento de viscosidade do caldo fermentativo. Ainda neste ensaio, notou-se que a biomassa não atingiu a fase de desaceleração no período de tempo estudado, o que repercute na produção de goma xantana. Tempos maiores de fermentação podem ser requeridos, a fim de observar o comportamento do processo.

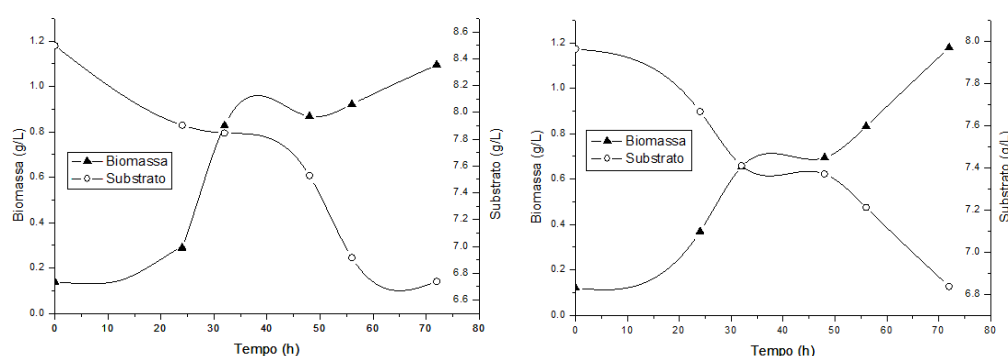


Figura 12 -Comportamento cinético da fermentação com a mistura de soro de leite + casca de coco como substrato.

Segundo Nery et al. (2013), a utilização do soro de leite como fonte de carbono tem como dificuldade a baixa capacidade de assimilação da lactose pela *X. campestris*, fato que se deve à pouca expressão da enzima β -galactosidase da bactéria. As β -galactosidases, popularmente conhecidas como lactases e classificadas como hidrolases, são responsáveis por catalisar o resíduo terminal β -galactopiranosil da lactose para formar glicose e galactose obtendo, assim, alimentos com baixos teores de lactose. As β -galactosidases podem ser encontradas na natureza, distribuídas entre vegetais, em órgãos animais e também são produzidas por grande quantidade de microrganismos, tais como fungos filamentosos, bactérias e leveduras, sendo as

leveduras e os fungos as fontes preferidas destas enzimas para aplicações comerciais (MESOMO et al., 2009).

Estudos anteriores mostraram que a adição de uma fonte de carbono a meios à base de soro de leite, com a finalidade de elevar a quantidade de carbonos e de nutrientes resultaram no consumo concomitante de glicose e galactose, sendo a lactose residual consumida mais lentamente (DINIZ et al., 2012). Schawatz e Bodie (1986) verificaram que, ao adicionar glicose ao meio contendo soro de queijo, a *Xanthomonas campestris* deixou de utilizar a lactose.

Em todos os casos que envolveram uma mistura de resíduos como substrato (Figuras 12 a 14), o rendimento obtido foi menor do que aquele observado com o uso de apenas um resíduo como substrato. Isso pode ser explicado pela presença de compostos diversos, tais como lignocelulose, celulose e outros açúcares, que podem ser prejudiciais para o processo fermentativo, causando a inibição do crescimento celular (LI et al., 2016).

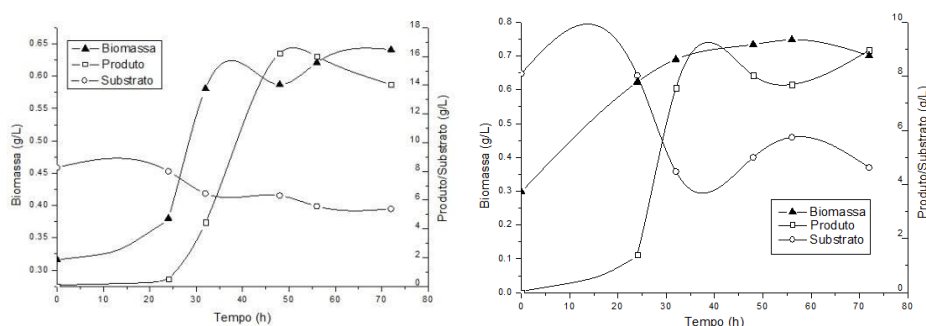


Figura 13 - Comportamento cinético da fermentação com a mistura de soro de leite + casca de batata como substrato

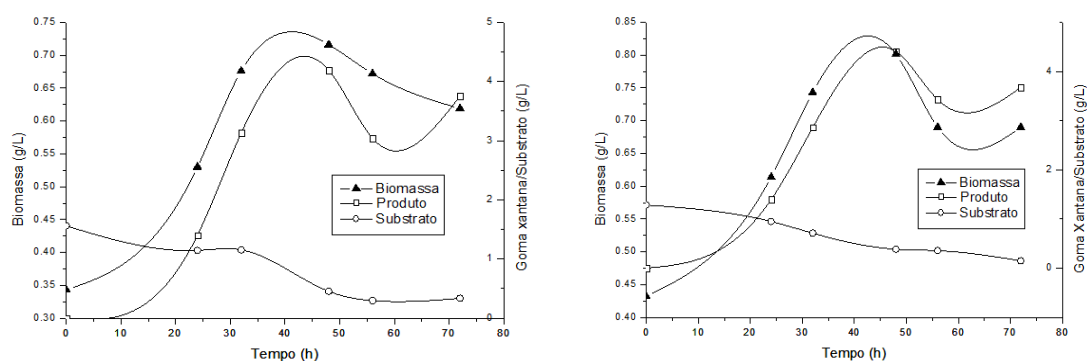


Figura 14 - Comportamento cinético da fermentação com a mistura de casca de coco + casca de batata como substrato

Durante todos os experimentos, a temperatura do sistema foi mantida a 28 °C e a fermentação foi conduzida em *shaker* à velocidade constante de agitação (200 rpm). Estudos têm demonstrado que maiores taxas de agitação levam a maiores produtividades (FARIA et al., 2009; BRANDÃO et al., 2010; BRANDÃO, 2012), uma vez que o microrganismo envolvido é estritamente aeróbio.

Outro fator que reforça a importância das condições aeróbias é o fato de que, durante a produção de goma xantana, a viscosidade do caldo fermentativo aumenta significativamente, resultado do acúmulo extracelular do biopolímero, o que diminui significativamente a taxa de transferência de massa do oxigênio para as *Xanthomonas* (LOPES et al., 2015). Com isso, a taxa de oxigênio dissolvido torna-se um nutriente limitante e a taxa de transferência de oxigênio passa a ser a etapa controladora do processo global (LI et al., 2016).

Do ponto de vista econômico, microrganismos que conseguem manter bom desempenho quando cultivados em baixas concentrações de oxigênio dissolvido são interessantes. A manutenção de altas concentrações de oxigênio dissolvido demanda um maior consumo de energia, devido à maior aeração e agitação (MESOMO et al., 2009).

Os resultados da produção de GX neste estudo foram satisfatórios quando comparados a outros autores que também utilizaram resíduos agroindustriais (Tabela 5). Maiores taxas de agitação são essenciais para adequada mistura do meio no fermentador (HABIBI et al., 2017), podendo-se notar que, para o soro de leite, maiores produtividades estão associadas a maiores taxas de agitação.

No caso do soro do leite, a menor agitação em relação ao trabalho de Nery et al.

(2008) não influenciou significativamente o rendimento da goma, por diferentes cepas. Para a casca de coco, os resultados obtidos neste trabalho foram cerca de 6 vezes superior ao obtido por Nery et al. (2013), com menor agitação e diferente cepa. A casca de batata se mostrou melhor substrato para a produção de goma do que a glicerina (Brandão et al., 2012) e a casca de camarão (Costa et al., 2014).

A produção de GX pode ser influenciada pela cepa de *Xanthomonas*, a fonte de carbono e nitrogênio utilizada, pH, temperatura, concentração do inóculo, taxa de aeração e tempo de fermentação (LI et al., 2016).

Tabela 5 - Comparativo de produção de goma xantana com diferentes resíduos

Substrato	Cepa	Produção (g/L)	Condição da Fermentação	Referência
Soro de leite	1230	36	Biorreator 390 rpm/aeração	MESOMO et al., 2009
	2103	21,91	Shaker 250 rpm	NERY et al., 2008
	1182	19,44	Shaker 200 rpm	Este trabalho
Soro de mandioca	1182	11,72	Shaker 250 rpm	BRANDÃO et al., 2010
Polpa de tapioca tratada com ácido sulfúrico	NCIM-29 54	7,1	Shaker 200 rpm	GUNASEKAR et al., 2014
Glicerina	2103	5,50	Shaker 250 rpm	BRANDÃO et al., 2012
Casca de coco	1866	1,50	Shaker 250 rpm	NERY et al., 2013
	1182	8,99	Shaker 200 rpm	Este trabalho
Casca de camarão	1182	4,64	Shaker 250 rpm	COSTA et al., 2014
Lixo doméstico	LRELP-1	11,73	Fermentador 5L	LI et al., 2016
Casca de batata	1182	6,2	Shaker 200 rpm	Este trabalho
Casca de batata + Casca de coco	1182	3,7	Shaker 200 rpm	Este trabalho
Soro de leite + casca de batata	1182	11,5	Shaker 200 rpm	Este trabalho

5.3. COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS GOMAS XANTANAS PRODUZIDAS

Para verificar a qualidade das gomas produzidas pela cepa de *X. campestris* 1182 a partir da fermentação dos meios alternativos foram avaliadas as propriedades reológicas através da análise de viscosidade aparente.

A principal característica exibida pela goma é sua habilidade de modificar o comportamento reológico de suas soluções. Essa variação está diretamente relacionada à composição química, arranjo e/ou ligação molecular e peso molecular médio da goma xantana (NERY et al., 2013).

A goma obtida neste estudo, a partir do soro de leite não apresentou o comportamento característico para GX em soluções aquosas, ou seja, o comportamento de um fluido pseudoplástico. Avaliaram-se, para este caso, soluções nas concentrações 1, 2 e 3% e nenhuma delas apresentou o comportamento esperado.

Os dados de composição centesimal (Tabela 3) mostram que o soro de leite contém alta relação entre C e N, o que levou à biossíntese de grandes quantidades de goma xantana, mas com características reológicas inadequadas.

Foram realizados estudos a fim de identificar se a precipitação de proteínas durante a fermentação com o soro de leite poderia estar influenciando no rendimento obtido. Procedeu-se, então, a fermentações utilizando o soro de leite desproteinado, diluído a 5% ou não diluído, com a finalidade de obter gomas com melhores características reológicas.

O soro de leite desproteinado não diluído formou 22 g/L de GX, mas a solução não apresentou comportamento pseudoplástico característico, enquanto que o soro de leite desproteinado e diluído a 5% não apresentou valor de produção relevante.

Excetuando-se os experimentos que possuíam como substrato o soro de leite e a mistura soro de leite + casca de coco, todos os demais apresentaram soluções aquosas de GX com desempenho característico de fluidos pseudoplásticos.

A Figura 15 mostra o comportamento das soluções de goma xantana a 1% (m/V) obtida nos experimentos que possuíam como substrato a casca de coco (CC), a casca de batata (CB) e a mistura desses resíduos (CBCC), além do meio padrão (YM). Os resultados ilustram a variação da viscosidade aparente das xantanas obtidas com a variação da taxa de cisalhamento.

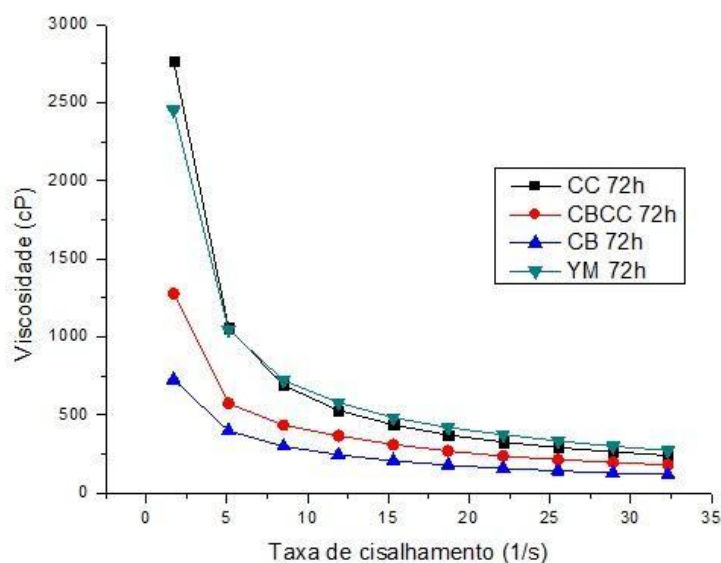


Figura 15 – Comportamento de viscosidade aparente das soluções aquosas a 1% das gomas xantanas obtidas após 72h de fermentação a 25°C.

As medidas de viscosidade a diferentes taxas de cisalhamento mostram que o biopolímero obtido em cada duplicata apresenta comportamento semelhante quando se avalia o mesmo intervalo de tempo. Esta concordância segue apresentada na Figura 16, com as gomas obtidas em duplicata a partir da casca de coco, ratificando que em todos os experimentos realizados a concordância do comportamento reológico foi observada.

Valores de viscosidade aparente devem ser comparados quando ocorrem as mesmas condições, o que nem sempre é possível, pois diferentes equipamentos são utilizados para a realização das análises (MESOMO *et al.*, 2009). Por isso, alguns autores que trabalharam com viscosidade aparente de GX são citados, porém em condições diferentes das realizadas neste trabalho, dificultando, desse modo, a comparação de valores. A Tabela 6 apresenta os resultados de viscosidade de GX a uma taxa de cisalhamento de 25 s⁻¹ disponíveis na literatura.

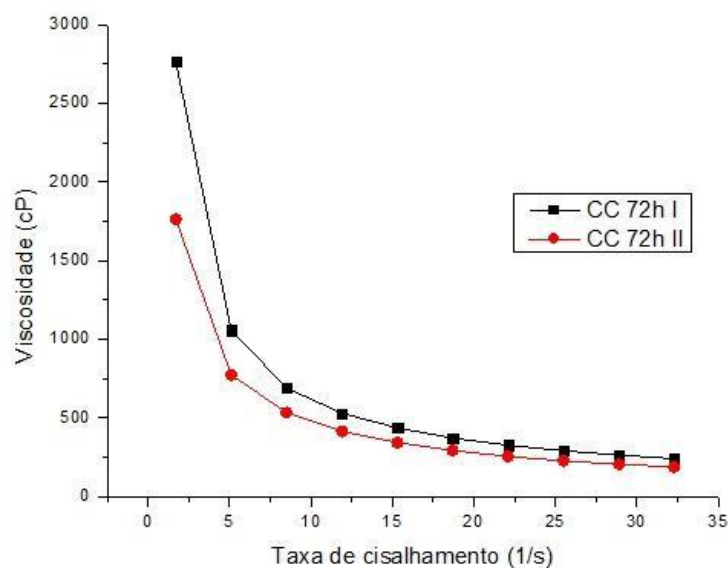


Figura 16 – Comportamento reológico do experimento com casca de coco como substrato

Tabela 6 - Viscosidade de gomas, a 25 s^{-1} de taxa de cisalhamento, a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperatura, produzidas utilizando diferentes fontes de carbono e diferentes cepas de *X. campestris*.

Substrato	Cepa	Concentração (m/V)	Viscosidade (cP)	Referência
Soro de Leite	1230	3%	1831	MESOMO et al., 2009
	2103	1%	25	NERY et al., 2008
Soro de mandioca	1182	1%	32	BRANDÃO et al., 2010
Glicerina	2103	0,5%	70	BRANDÃO et al., 2012
Casca de coco	1866	1%	300	NERY et al., 2013
	1182	1%	291,14	Este trabalho
Casca de camarão	1182	0,5%	100	COSTA et al., 2014
Bagaço de cana	2003	0,5%	12380	GOMES et al., 2014
Casca de batata	1182	1%	25,59	Este trabalho
Casca de batata + Casca de coco	1182	1%	213,55	Este trabalho
Soro de leite + casca	1182	1%	25,99	Este trabalho

A viscosidade aparente é influenciada pela condição de preparo da amostra, além de outros fatores que possibilitam diferentes arranjos conformacionais das cadeias (MESOMO *et al.*, 2009).

Os resultados deste trabalho mostram que a viscosidade aparente obtida utilizando o caldo da casca de coco como substrato é próxima àquela obtida por Nery *et al.* (2013) utilizando a cepa *Xanthomonas campestris* 1866, em biorreator a 28 °C, controle de saturação de O₂ e rotação variável entre 400-640 rpm. Isso mostra possibilidades de otimização dos valores de viscosidade aqui encontrados utilizando este substrato e tendo como microrganismo produtor a cepa 1182.

Nery *et al.* (2008) produziram GX a partir do soro de leite, em batelada, a 250 rpm e 28°C por 120 h, utilizando três diferentes cepas de *Xanthomonas campestris*. Utilizado a cepa mais produtiva (*X. campestris mangiferaeindicae* 2103) alcançaram, em soluções a 2%, uma viscosidade de 60 cP a 25 s⁻¹.

Mesomo *et al.* (2009), trabalhando a 28°C, 600 rpm e 0,5 vvm de aeração, obtiveram goma xantana a partir do soro de queijo integral, com viscosidades de 1831 cP em soluções a 3%.

Sabe-se que as propriedades reológicas das soluções de xantana serão diferentes se a natureza do polímero for alterada, isto é, a massa molar, polidispersão e grau de substituição (HABIBI *et al.*, 2017). Muitos motivos podem explicar a variação reportada na literatura para a viscosidade intrínseca. Cita-se, entre eles, diferentes linhagens, composição do meio, pH, temperatura e outros parâmetros ambientais da fermentação, bem como fenômenos de transporte, mistura dos nutrientes no fermentador, processos de recuperação e tipo de pré-tratamento (filtração, aquecimento, centrifugação, etc.) a que são submetidas as soluções de xantana antes da determinação viscosimétrica (FARIA *et al.*, 2009; MESOMO *et al.*, 2009).

A goma obtida a partir da fermentação da casca de coco apresentou viscosidades comparáveis à obtida pelo controle, que teve como substrato o meio padrão YM, onde a casca de coco apresentou 291,14 cP e o YM, 333,53 cP na taxa de cisalhamento 25 s⁻¹, resultado este que indica a casca de coco como potencial substrato alternativo para

produção de GX em processos industriais.

A análise reológica da solução de goma xantana obtida no experimento tendo como substrato a casca de batata, resultou em uma viscosidade de 25,59 cP. No experimento com substrato formado pela mistura casca de coco + casca de batata, este valor aumentou aproximadamente 10 vezes (213,55 cP) quando avaliado na mesma taxa de cisalhamento (25 s^{-1}), ou seja, a adição da casca de coco resultou na melhoria da qualidade da goma. Isso mostra que há potencial de melhorias da qualidade de substratos considerados de qualidade inferior.

No entanto, a adição do soro de leite praticamente não alterou a característica reológica da casca de batata, sendo preciso avaliar outras cepas com maior expressividade da β -galactosidase para inferir sobre vantagens ou desvantagens dessa adição. Neste estudo, a mistura dos dois açúcares (lactose + glicose) não alterou o comportamento reológico observado quando apenas o amido da casca de batata foi a fonte de carbono única do processo fermentativo.

Para confirmação do comportamento pseudoplástico das soluções das gomas produzidas após 72 h de fermentação, foi realizado o ajuste do modelo da Lei da Potência (Equação 1) aos dados experimentais. Os parâmetros estimados através de algoritmo do *software* Rheocalc v 3.3 estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Valores do índice de fluxo (n) e de consistência (K) da goma xantana produzida a partir de diversas fontes por *Xanthomonas campestris* 1182 na temperatura de 25°C

Substrato	Concentração (m/V)	K (cP)	n	R^2 (%)
Soro de leite	1%	0,01	2,63	85,7
	2%	1,65	1,16	88,9
	3%	1,37	1,33	88,3
Casca de coco	I	4138	0,18	98,4
	II	2677	0,24	98,9
Casca de batata	I	22,2	0,97	90,6
	II	45,5	0,83	92,6
Soro de leite + casca de coco	I	--	--	--
	II	--	--	--
Soro de leite + casca de batata	I	109,6	0,56	95,6
	II	74,3	0,68	93,5
Casca de batata + casca de coco	I	1768	0,35	97,5

	II	1068	0,38	96,5
Controle (YM)		3557	0,27	98,5

As amostras das soluções de goma xantana obtidas a partir do soro de leite não seguiram o modelo descrito, sendo o valor do índice de fluxo (n) maior que a unidade, implicando que o fluido não apresenta comportamento pseudoplástico em nenhuma das concentrações avaliadas.

Os demais experimentos, excetuando-se a mistura de soro de leite e casca de coco, que não apresentou formação de goma, seguiram o modelo da Lei da Potência, com valores de coeficiente de correlação maiores que 90%. Nestes casos, o valor de n foi menor que a unidade, implicando em comportamento pseudoplástico.

Para a casca de coco, substrato que resultou no melhor comportamento reológico dentre os substratos estudados, Nery et al. (2013) obtiveram 0,31 como índice de fluxo (n) e 2585 como índice de consistência (K) com correlação (R^2) de 99% para a goma obtida em *shaker*. Comparando-se ao meio controle (YM), a casca de coco apresentou índice de consistência (K) quase 17% superior.

De acordo com Habibi et al. (2017), a magnitude de n e possíveis variações de acordo com a concentração da solução aquosa são fortemente dependentes do tamanho das moléculas.

Os resultados apresentados nesta seção mostram a promissora produção de GX a partir da casca de coco e a possibilidade de utilização deste resíduo para melhoria da qualidade de gomas obtidas a partir de outros substratos.

5.4. SCALE-UP DO PROCESSO

Devido à boa qualidade da goma obtida a partir da casca de coco, esse substrato foi utilizado em um estudo de *scale-up* do processo, realizado em biorreator de bancada de 5 litros.

Não houve controle de pH e nem aeração, mantendo-se as mesmas condições operacionais do processo realizado previamente em agitador orbital (28 °C, 200 rpm, sem aeração). A Figura 17 ilustra o comportamento cinético deste processo.

Após 72 h de fermentação, observou-se que a biomassa não havia atingido a fase

estacionária, na qual ocorre a produção do biopolímero (HABIBI et al., 2017) e decidiu-se prolongar o processo. Seguidas 24 h, a curva de crescimento microbiano continuava em ascensão, decaindo nas 24 h seguintes.

Ao observar que os microrganismos atingiram a fase de declínio, sem atingir a fase estacionária e sem apresentar variações na viscosidade do caldo fermentativo, ou seja, sem produzir o biopolímero de interesse, decidiu-se modificar um dos parâmetros operacionais, sendo alterada a agitação de 200 rpm para 400 rpm.

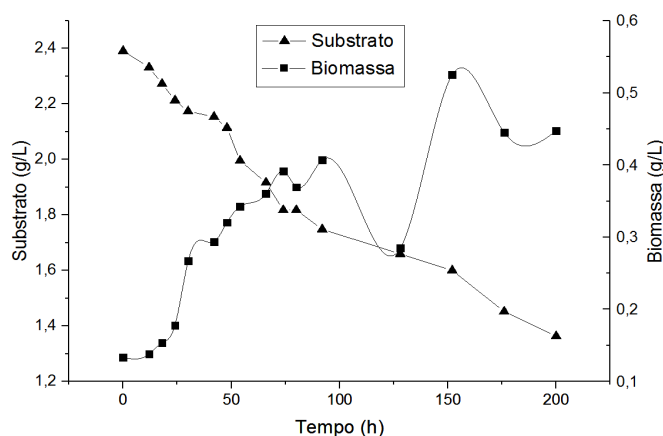


Figura 17 - Comportamento cinético (Biorreator)

O aumento da agitação resultou no aumento da concentração de biomassa nas horas seguintes, possivelmente devido à maior disponibilidade de oxigênio no meio e melhor mistura dos nutrientes no meio. O processo foi conduzido por mais 48 h, a fim de observar mudanças na viscosidade do caldo. Todavia, as características continuaram as mesmas por todo o processo.

Comparando o processo em biorreator com a fermentação em agitador orbital, observa-se certa semelhança no perfil de consumo de substrato e de crescimento de biomassa. No biorreator, o consumo de substrato foi cerca de 12% maior comparativamente ao observado em *shaker* e o consumo de substrato cerca de 32% menor.

Ao adicionar álcool etílico, segundo seção 4.5, com a finalidade de recuperar a GX produzida, observou-se ausência de precipitado recuperável e concluiu-se que o experimento não produziu goma xantana.

O fato de não haver formação de GX neste processo pode estar associado à baixa agitação (200 rpm), o que possivelmente proporcionou baixa disponibilidade de oxigênio, nutriente essencial para os microrganismos. Devido ao maior volume de meio fermentado, maiores taxas de agitação e/ou aeração do meio devem ser requeridas.

Este ensaio fermentativo consistiu o primeiro passo de um estudo de otimização a ser realizado em trabalhos futuros, no qual se investigará a melhor condição de processo para produção de GX em escala industrial a partir da casca de coco.

6. CONCLUSÃO

Os resultados da produção de goma xantana foram bons quando comparados a outros autores que utilizaram diferentes resíduos agroindustriais.

O maior rendimento foi obtido tendo o soro de leite como substrato, na fermentação conduzida em *shaker* a 28 °C e agitação de 200 rpm, resultando na produção de 19,47 g/L de goma em 72 h.

Apesar de ter obtido o maior rendimento a partir do soro de leite, as gomas obtidas não apresentaram comportamento pseudoplástico característico. Investigou-se, com isso, o soro de leite desproteinado diluído a 5% ou não diluído, mas a remoção das proteínas não resultou em melhores características reológicas.

A maior viscosidade foi obtida utilizando a casca de coco como substrato, na fermentação em *shaker*, correspondendo ao valor de 2765 cP, a 25 °C e 1% de goma, no experimento com produção de 9,86 g/L da goma.

O perfil de viscosidade da goma obtida pelo meio comercial foi semelhante à casca de coco, mas, comparando a quantidade e o custo do substrato, isto se altera significativamente, uma vez que a casca de coco possuiu menor concentração de açúcar e corresponde a um resíduo, sendo que sua utilização propiciará redução de custos de produção e de impactos ambientais.

O fato da goma obtida a partir da casca de coco possuir coloração levemente avermelhada pode comprometer sua adição em alimentos e fármacos, sendo mais viável seu uso na indústria petroquímica se a mesma não sofrer algum tipo de tratamento.

A adição da casca de coco à casca de batata melhorou a qualidade reológica da goma obtida em comparação ao ensaio no qual a casca de batata foi utilizada como fonte única de nutrientes. Isto indica que a mistura de substratos pode ser uma alternativa para melhoria da qualidade de gomas obtidas a partir de fontes alternativas de carbono.

A realização do *scale-up* do processo fermentativo, tendo a casca de coco como substrato, não levou à produção de goma xantana, sendo necessários novos estudos para identificar a melhor condição operacional do processo.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Realizar estudos sobre possíveis alterações na cor e/ou sabor decorrente da adição da goma obtida a partir da casca de coco em alimentos, a fim de verificar a possibilidade da sua utilização neste segmento.

Realizar estudos de caracterização da goma xantana obtida, como difratometria de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), entre outros.

Realizar estudos de viscosidade em diferentes temperaturas, a fim de observar o comportamento reológico das soluções.

Realizar testes fermentativos com diferentes cepas, a fim de identificar as que geram maiores rendimentos e viscosidades com os substratos aqui estudados.

Realizar estudos de otimização em biorreator a fim de encontrar a melhor condição operacional do processo de fermentação a partir da casca de coco.

Verificar se o comportamento cinético das fermentações a partir de resíduos agroindustriais seguem os modelos matemáticos propostos na literatura.

REFERÊNCIAS

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

ADITIVOS INGREDIENTES, disponível em: http://aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201604/2016040903277001460595167.pdf, consultado em 27/02/2017.

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

BALDISSERA, A.C.; BETTA, F.D.; PENNA, A.L.B.; LINDNER, J.D.D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **SEMINA: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, 2011.

BERGMANN, D.; FURTH, G.; MAYER, CHRISTIAN. Binding of bivalent cations by xanthan in aqueous solution. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 43, p. 245-251, 2008.

BILANOVIC, D.; CHANG, F-G.; ISOBAEV, P.; WELLE, P. Lactic acid and xanthan fermentations on an alternative potato residues media – carbon source costs. **Biomass and Energy**, v. 35, p. 2683-2689, 2011.

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

BRANDÃO, L. V. **Goma Xantana obtida por fermentação da glicerina bruta residual do biodiesel: produção, caracterização e aplicação para fluido de perfuração de poços de petróleo**. 2012. 185p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal da Bahia. Salvador-BA, Brasil, 2012.

BRANDÃO, L. V.; ESPERIDIÃO, M. C. A.; DRUZIAN, J. I. Utilização do soro de mandioca como substrato fermentativo para a biossíntese de Goma Xantana: Viscosidade Aparente e Produção. **Polímeros**, v. 20, n. 3, p. 175 – 180, 2010.

BRUNCHI, C. E.; BERCEA, M.; MORARIU, S.; AVADANEI, M. Investigations on the interactions between xanthan gum and poly(vinyl alcohol) in solid state and aqueous solutions. **European Polymer Journal**. v. 84, p. 161-172, 2016.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de Experimentos usando o Statistica**. 1 ed. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais. 2003. 260p.

CAÑETE-RODRIGUEZ, A. M.; SANTOS-DUEÑA, I. M.; JIMÉNEZ-HORNERO, J. E.; EHRENREICH, A.; LIEBL, W.; GARCÍA-GARCÍA I. Gluconic acid: Properties, Production, methods and applications – An excellent opportunity for agro-industrial by products and waste bio-valorization. **Process Biochemistry**, v. 51, n.12, p. 1891-1903, 2016.

CERICATO, A.; MENEGHELO, G.; FILIPPIN, I. Produção mais limpa em agroindústrias: uma análise da estrutura de pequenas agroindústrias dos setores de carne e leite. **Unoesc & Ciência – ACSA**, v. 4, p. 185-202, 2013.

CORRÊA, C.L. **Estudo do transcrito global do fungo *Aspergillus terreus* quando cultivado em resíduos agroindustriais**. 2016. 152p. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular. Universidade de Brasília. Brasília – DF, Brasil, 2016.

COSTA, L. A. de S.; CAMPOS, M. I.; DRUZIAN, J. I.; DE OLIVEIRA, A. M.; OLIVEIRA JUNIOR, E. N. Biosynthesis of xanthan gum from fermenting shrimp shell: yield and apparent viscosity. **International Journal of Polymer Science**, p. 1-8, 2014.

DAL BELLO, L. H. A. **Modelagem em experimentos mistura-processo para otimização de processos industriais**. 2010. 110p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Industrial. Pontifícia Universidade Católica. Rio de Janeiro-RJ, Brasil, 2010.

DHILLON, G. S.; KAUR S.; BRAR, S. K. Perspective of apple processing wastes as low-cost substrates for bioproduction of high value products: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 789-805, 2013.

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

DRUZIAN, J. I.; PAGLIARINI, A. Produção de goma xantana por fermentação do resíduo de suco de maçã. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 26-31, 2007.

EMBRAPA. **Instrução técnica para o produtor de leite**. Disponível na internet via www url: http://www.cnpqgl.embrapa.br/totem/conteudo/Alimentacao_e_manejo_animal/Pasta_do_Produtor/44_Soro_de_queijo_in_natura_na_alimentacao_de_gado_de_leite.pdf. Arquivo capturado em 05 de março de 2017.

EMBRAPA. **Árvore do conhecimento: coco**, ago 2012. Disponível na internet via www url: www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/coco/arvore. Arquivo capturado em 19/10/2016.

EMBRAPA. **Propostas para o aproveitamento do potencial energético da casca do coco-verde**, jun. 2015. Disponível na internet via www

url:<https://www.embrapa.br/web/mobile/noticias/-/noticia/3301723/propostas-para-o-aproveitamento-do-potencial-energetico-da-casca-do-coco-verde>. Arquivo capturado em 19/10/2016.

EMBRAPA. **Aproveitamento de soro de leite de pequenas queijarias**, jul. 2016. Disponível na internet via [www](https://www.embrapa.br) url: <https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/207283/aproveitamento-de-soro-de-leite-de-pequenas-queijarias>. Arquivo capturado em 28/02/2017.

EMBRAPA. **Pesquisadores identificam composto benéfico para a saúde em soro de leite**, set. 2015a. Disponível na internet via [www](https://www.embrapa.br) url: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/4989705/pesquisadores-identificam-composto-benefico-para-a-saude-em-soro-de-leite>. Arquivo capturado em 28/02/2017.

ERTEN, T.; ADAMS, G.G.; FOSTER T.J.; HARDING, S.E. Comparative heterogeneity, molecular weights and viscosities of xanthans of different pyruvate and acetate content. **Food Hydrocolloids**, v. 42, p. 335-341, 2014.

FAPEMA. **Casca de coco é utilizada para produzir placas de isolamento térmico e acústico**, out. 2015. Disponível na internet via [www](http://www.fapema.br) url: http://www.fapema.br/site2012/index.php?option=com_content&view=article&id=3472:casca-de-coco-e-utilizada-para-produzir-placas-de-isolamento-termico-e-acustico. Arquivo capturado em 19/10/2016.

FARIA, S. **Otimização da produção e caracterização de Goma Xantana empregando caldo de cana**. 2009. 162 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia-MG, Brasil, 2009.

FARIA, S.; VIEIRA, P.A.; RESENDE, M.M.; RIBEIRO, E. J.; CARDOSO, V.L., Application of a model using the phenomenological approach for prediction of growth and xanthan gum production with sugar cane broth in a batch process. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 498-506, 2010.

FARIA, S.; PETKOWICZ, C. L. de O.; DE MORAIS, S. A. L.; TERRONES, M. G. H.; RESENDE, M. M. FRANCA F. P.; CARDOSO, V. L. Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth. **Carbohydrate Polymers**. v. 86, p. 469-476. 2011.

FREITAS, F.; ALVES, V.D.; PAIS, J.; CARVALHEIRA, M.; COSTA, N.; OLIVEIRA, R.; REIS, M.A.M. Production of a new exopolysaccharide (EPS) by *Pseudomonas oleovorans* NRRL B-14682 grown on glycerol. **Process Biochemistry**. v. 45, p. 297-305, 2010.

GARCÍA-OCHOA, F.; CASTRO, E.G.; SANTOS, V.E. Oxygen transfer and uptake during xanthan gum production. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 27, p. 680-690, 2000.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, E.V.; ALCON, A. Chemical structured kinect model for xanthan Production. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 35, p. 284-292. 2004.

GHASHGHAIE, T.; SOUDI, M.R.; HOSEINKHANI, S. Optimization of xanthan gum production from grape juice concentrate using Plackett-Burman design and response surface methodology. **Appl. Food Biotechnol**, v. 3, p. 15–23. 2016.

GILANI, S. L.; HEYDARZADEH, H. D.; MOKHTARIAN, N.; KOLAEI, A. M. Effect of preparation conditions on xanthan gum production and rheological behavior using cheese whey by *Xanthomonas campestris*. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**. v. 5, n. 10, p. 855-859, 2011.

GIROTO, J.M.; PAWLOWSKY, U. O soro de leite e as alternativas para o seu beneficiamento. **BRASIL ALIMENTOS**, n. 10, 2001.

GOMES, G. V. P. **Produção simultânea de goma xantana e microfibrilas de celulose pela bioconversão de bagaço de cana por *Xanthomonas***. 2014. 148p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal da Bahia. Salvador-BA, Brasil, 2014.

GOMES, G.V.P.; ASSIS, D. de J.; DA SILVA, J.B.A.; DE SANTOS-EBIUMA, V.; COSTA, L.A.S.; DRUZIAN, J. I. Obtaining xanthan gum impregnated with cellulose microfibrilas derived from sugarcane bagasse. **Materials Today: Proceedings**, v. 2, p. 389-398, 2015.

Guia Técnico Ambiental da Indústria de Laticínios [on line]. Disponível na internet via [www url: http:// http://www.feam.br/images/stories/producao_sustentavel/GUIAS_TECNICOS_AMBIENTAIS/guia_laticinios.pdf](http://www.feam.br/images/stories/producao_sustentavel/GUIAS_TECNICOS_AMBIENTAIS/guia_laticinios.pdf). Arquivo capturado em 2 de maio de 2017.

GUNASEKAR, V.; RESHMA, K.R.; TREESA, G.; GOWDHAMAN, D.; PONNUSAMI, V. Xanthan from sulphuric acid treated tapioca pulp: influence of acid concentration on xanthan fermentation. **Carbohydrate Polymers**. v. 102, p. 669-673, 2014.

HUSSAIN, A.; ZIA, K.M.; TABASUM, S.; NOREEN, A.; ALI, M.; IQBAL, R.; ZUBER, M. Blends and composites of exopolysaccharides; properties and applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 94, p. 10-27, 2017.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 5 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. 2008. 1020 p.

JIMENEZ-PRANTEDA, M. L.; PONCELET, D.; NÁDER-MACÍAS, M.E.; ARCOS, A.; AGUILERA, M.; MONTEOLIVA-SANCHEZ, M.; RAMOS-CORMENZANA, A. Stability of lactobacilli encapsulated in various microbial polymers. **Journal of**

Bioscience and Bioengineering. v. 113, n. 2, p. 179-184, 2012.

JULIANTI, E.; RUSMARILIM, H.; RIDWANSYAH; YUSRINI, E. Functional and rheological properties of composite flour from sweet potato, maize, soybean and xanthan gum. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**. p. 1 – 7. 2015.

KALOGIANNIS, S.; IAKOVIDOU, G.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M.; KYRIAKIDIS, D.A.; SKARACIS, G.N. Optimization of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* grown in molasses. *Process. Biochemical*. vol. 39, n. 2, p. 249–256, 2003.

KENNEDY, J.R.M.; KENT, K.; BROWN, J.R. Rheology of dispersions of xanthan gum, locust bean gum and mixed biopolymer gel with silicon dioxide nanoparticles. **Materials Science and Engineering**. v. 48, p. 347-353, 2015.

KLAIC, P.M.A.; VENDRUSCOLO, C.T.; FURLAN, L.; MOREIRA, A.S. Ion Exchange as post-fermentative process enhancer of viscosity of xanthan produced by *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*. **Food Hydrocolloids**, v. 56, p. 118-126, 2015.

KUMAR, V.J.; PULIDINDI, I.N.; GEDANKEN, A.; Glucose production from potato peel waste under microwave irradiation. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**. v. 417, p. 163-167, 2016.

LEÃO, M. N. S. **Modelagem em experimentos com mistura e mistura-processo**. 2011. 123p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Produção. Pontífica Universidade Católica. Rio de Janeiro - RJ, Brasil, 2011.

LEARDI, R. Experimental design in chemistry: A tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 652, p. 161-172. 2009.

LEBMEIER, L.; ALKHATEEB, R.S.; SCHULTE, F.; STEFFENS, T.; LOKA, T.P.; PÜHLER, A.; NIEHAUS, K.; VORHÖLTER, F. Applying DNA affinity chromatography to specifically screen for sucrose-related DNA-binding transcriptional regulators of *Xanthomonas campestris*. **Journal of Biotechnology**, v. 232, p. 89-98. 2016.

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

LI, R.; FEKE, D. L. Rheological and kinetic study of the ultrasonic degradation of gum in aqueous solutions. **Food Chemistry**, v. 172, p. 808-813, 2015.

LIANG, S.; McDONALD, A.G.; COATS, E.R. Lactic acid production with undefined mixed culture fermentation of potato peel waste. **Waste Management**, v. 34, p.

2022-2027, 2014.

LIANG, S.; McDONALD, A.G.; COATS, E.R. Lactic acid production from potato peel waste by anaerobic sequencing batch fermentation using undefined mixed culture. **Waste Management**, v. 45, p. 51-56, 2015.

LIANG, S.; McDONALD, A.G.; Anaerobic digestion of pre-fermented potato peel wastes for methane production. **Waste Management**, v. 46, p. 197-200, 2015.

LIAO, C-T; LIU, Y-F; CHIANG, Y-C; LO, H.; DU, S.C.; HSU, P.C.; HSIAO, Y.M. Functional characterization and transcriptome analysis reveal multiple roles for prc in the pathogenicity of the black rot pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*. **Research in Microbiology**. v. 167, p. 299-312, 2016.

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

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

LÓPEZ, M.; VARGAS-GARCIA, M.; SUAREZ-ESTRELLA, F.; MORENO, J. Properties of xanthan obtained from agricultural wastes acid hydrolysates. **Journal of Food Engineering**, vol. 63, n. 1, p. 111–115, 2004.

LUPORINI, S.; BRETAS, R.E.S. Caracterização Reológica da Goma Xantana: Influência de Íons Metálicos Univalente e Trivalente e Temperatura em Experimentos Dinâmicos. **Polímeros**, v. 21, n. 3, p. 188-194, 2011.

LUVIELMO, M. D.; BORGES, C.D.; TOYAMA, D. de O.; VENDRUSCOLO, C. T.; SCAMPARINI, A. R. P. Structure of xanthan gum and cell ultrastructure at different times of alkali stress. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 102-109, 2016.

MARQUES, R.; VON STOSCH, M.; PORTELA, R.M.C.; TORRES, C.A.V.; ANTUNES, S.; FREITAS, F.; REIS, M.A.M., OLIVEIRA, R. Hybrid modeling of microbial exopolysaccharide (EPS) production: the case of *Enterobacter* A47. **Journal of Biotechnology**. v. 246, p. 61-70, 2017.

MARTINEZ-PADILLA, L. P.; GARCIA-RIVERA, J.L.; ROMERO-ARREOLA, V.; CASAS-ALENCÁSTER, N.B., Effects of xanthan gum rheology on the foaming properties of whey protein concentrate. **Journal of Food Engineering**, v. 156, p. 22-30, 2015.

MARTINS, C. R.; ALVES, L. J.; CORREIA, R. C. **Análise evolutiva da produção de coco no estado de Sergipe frente ao crescimento da cultura no nordeste e no Brasil.** 49º CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA,

ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL. Belo Horizonte – MG. Abril 2011.

MATTOS, A.L.A.; ROSA, M.de F.; CRISÓSTOMO, L.A.; CORREIA, D.; VERAS, L. de G.C. **Beneficiamento da casca de coco verde**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 24p.

MECCA, J. S. **Obtenção de goma xantana em biorreator utilizando meio à base de soro de leite: estudo da produção e modelagem matemática**. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim – RS, Brasil, 2010.

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

MOBIN, M.; RIZVI, M. Inhibitory effect of xanthan gum and synergistic surfactant additives for mild steel corrosion in 1M HCl. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 384-393, 2015.

MORE, T.T.; YADAV, J.S.S.; YAN, S.; TYAGI, R.D.; SURAMPALLI, R.Y. Extracellular polymeric substances of bacteria and their potential environmental applications. **Journal of Environmental Management**. v. 144, p. 1-25, 2014.

NEPOMUCENA, T. M. **Análise de crista em experimentos de misturas com restrição na variância de predição**. 2013. 151 p. Tese (Doutorado em Estatística) – Programa de Pós-Graduação em Estatística e Experimentação Agropecuária. Universidade Federal de Lavras. Lavras – MG, Brasil, 2013.

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

NERY, T. B. R.; DA CRUZ, A. J. G; DRUZIAN, J. I., Use of green coconut shells as an alternative substrate for the production of xanthan gum on different scales of fermentation. **Polímeros**, v. 23, n. 5, p. 602-607. 2013.

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

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

PAPAGIANNI, M.; PSOMAS, S.K.; BATSILLAS, L.; PARAS, S.V.; KYRIAKIDIS,

D.A.; LIAKOPOULOU-KYRIADIDES, M. Xanthan production by *Xanthomonas campestris* in batch cultures. **Process Biochemistry**, v. 37, p. 73-80, 2001.

PELIZER, H.L.; PONTIERI, H.M.; MORAES, O.I. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, v. 2, p. 7-10. 2007.

PORTELA, R. B.; FARIA, S.; RESENDE, M. M.; CARDOSO, V. L. Modelagem da produção de goma xantana por *Xanthomonas*. **Horizonte científico**. v. 1, n. 8, p.1-6. 2008.

PORTO, W. A. C. **A utilização da estatística experimental em indústrias da grande salvador e seu ensino**. 2014. 246p. Tese (Doutorado em Estatística) – Programa de Pós Graduação em Estatística e Experimentação Agropecuária. Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG, Brasil, 2014.

RENOU, F.; PETIBON, O.; MALHIAC, C.; GRISEL, M. Effect of xanthan structure on its interaction with locust bean gum: Toward prediction of rheological properties. **Food Hydrocolloids**. v. 32, p. 331-340, 2013.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução n. 430 de 13 de maio de 2011. Diário Oficial da União n. 92 de 16 de maio de 2011.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Dispõe sobre o Inventário Nacional de Resíduos Sólidos Industriais. Resolução n. 313 de 29 de outubro de 2002. Diário Oficial da União n. 226 de 22 de novembro de 2002.

RODRIGUES, G. **Otimização da síntese do AISBA-15 para produção de biodiesel por transesterificação do óleo de coco**. 2014. 146p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal-RN, Brasil, 2014.

RODRIGUES, M. I.; LEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos & Otimização de Processos**. 2 ed. Campinas: Casa do Espírito Santo Amigo Fraternidade Fé e Amor. 2009. 357 p.

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

ROTTAVA, I.; BATESINI, G.; SILVA, M.F.; LERIN, L.; DE OLIVEIRA, D.; PADILHA, F.F.; TONIAZZO, G.; MOSSI, A.; CANSIAN, R.L.; DI LUCCIO, M.; TREICHEL, H. Xanthan gum production and rheological behavior using different

strains of *Xanthomonas* sp. **Carbohydrate Polymers**. v. 77, p. 65-71, 2009.

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

SALAZAR, V.L.P. Produção mais limpa (P+L). **Pesquisa & Tecnologia**, v. 10, n. 1, 2013.

SE NOTÍCIAS, disponível em :
<<http://senoticias.com.br/se/sergipe-e-segundo-maior-produtor-de-coco-no-pais-colheita-anual-e-de-mais-de-240-milhoes-de-unidades/>> , consultado em 19 de outubro de 2016.

SEN, M.; HAYRABOLULU, H.; TASKIN, P.; TORUN, M.; DEMETER, M.; CUTRUBINS, M.; GÜVEN, O. Radiation induced degradation of xanthan gum in the solid state. **Radiation Physics and Chemistry**. v. 124, p. 225-229, 2015.

SILVA, D.J.; DE QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. 3 ed. Viçosa: UFV. 2002. 235 p.

SILVA, D.J.P. Resíduos na indústria de laticínios. **Série Sistema de Gestão Ambiental**. Viçosa: UFV. 2011. 21p.

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

STORK, C.R.; NUNES, G.L.; DE OLIVEIRA, B.B.; BASSO, C. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. **Ciência Rural**, v. 43, p. 537-543, 2013.

SUTHERLAND, I.W. **Food Biotechnology**. 2 ed. New York: LLC. 2006. 243p.

SUTHERLAND, L. S.; AMADO, C.; SOARES, C. G. Statistical experimental design techniques to investigate the strength of adhesively bonded T-joints. **Composite Structures**. v. 159, p. 445-454, 2017.

SCHWARTZ, R.D.; BODIE, E.A. Production of a high viscosity whey-glucose broths by a *X. campestris* strain. **Applied and Enviromental Microbiology**. v. 51, n. 1, p. 203-205. 1986.

TONELI, J.T.de C.L.; MURR, F.E.X.; PARK, K.J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. v. 7, n. 2, p. 181-204. 2005.

TRUJILLO-CAYADO, L.A.; ALFARO, M.C.; MUÑOZ, J.; RAYMUNDO, A.; SOUSA, I. Development and rheological properties of ecological emulsions formulated with a biosolvent and two microbial polysaccharides. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 141, p. 53-58, 2016.

YAHOU, M. M.; MOSTEFA-MOULAI, N.; LE CERF, D. Synthesis, physicochemical, structural and rheological characterizations of carboxymethyl xanthan derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 154, p. 267-275, 2016.

VIEIRA, T.M.F.S. **Uso do planejamento experimental para otimização da extração de compostos antioxidantes de frutas, especiarias e resíduos agroindustriais**. 2015. 100p.Tese (Livre Docência),Universidade de São Paulo, São Paulo-SP,Brasil, 2015.

VORHÖLTER, F-J; SCHNEIKER, S.; GOESMANN, A.; KRAUSE, L.; BEKEL, T.; KAISER, O.; LINKE, B.; PATSCHKOWSKI, T.; RUCKERT, C.; SCHMID, J.; SIDHU, V. K.; SIEBER, V. The genome of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* B100 and its use for the reconstruction of metabolic pathways involved in xanthan Biosynthesis. **Journal of Biotechnology**, v. 134, p. 33-45, 2008.

WANG, Z.; WU, J.; ZHU, L.; ZHAN, X. Activation of glycerol metabolism in *Xanthomonas campestris* by adaptive evolution to produce a high-transparency and low-viscosity xanthan gum from glycerol. **Bioresource Technology**, v. 211, p. 390-397, 2016.

WANG, Z.; WU, J.; ZHU, L.; ZHAN, X. Characterization of xanthan gum produced from glycerol by a mutant strain *Xanthomonas campestris* CCTCC M2015714. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 521-526, 2017.

WIBERG, D.; ALKATHEEB, R.S.; WINKLER, A.; ALBERSMEIER, A.; SCHATSCHNEIDER, S.; ALBAUM, S.; NIEHAUS, K.; HUBLIK, G.; PÜHLER, A.; VORHÖLTER, F-J. Draft genome of the xanthan producer *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. **Journal of Biotechnology**,v. 204, p. 45-46, 2015.

WU, D.; Recycle technology for potato peel waste processing: A review. **Procedia Environmental Sciences**, v. 31, p. 103-107, 2016.

XU, L.; DONG, M.; GONG, H.; SUN, M.; LI, Y. Effects of inorganic cations on the rheology of aqueous welan, xanthan, gellan solutions and their mixtures. **Carbohydrate Polymers**. v. 121, p. 147-154, 2015.

ZABOT, G. L.; MECCA, J.; MESOMO, M.; SILVA, M.F.; DAL PRA, V.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J.V.; CASTILHOS, F.; TREICHEL, H.; MAZUTTI, M.A. Hybrid modeling of xanthan gum bioproduction in batch bioreactor. **Bioprocess and Biosystem Engineering**, v. 34, p. 975-986, 2011.

ZABOT, G. L.; SILVA, M. F.; TERRA, L. d.; FOLETTO, E. L.; JAHN, S. L.; DAL PRÁ, V. OLIVEIRA, J. V.; TREICHEL, H.; MAZUTTI, M. A. Simulation of the xanthan gum production in continuous fermentation systems. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 1, p. 301-308, 2012.

ZACARCHENCO, P.B.; PITHAN-SILVA, R. de O.; SPADOTI, L.M.; SILVA-ALVES, A.T.; DENDER, A.G.F.V. Soro de leite e derivados: benefícios, características e suas aplicações. **Indústria de Laticínios**. v. 109, ano XIX, p. 48-51, 2015.

ZHENG, P.; FAN, W.; WANG, S.; HAO, P.; WANG, Y.; WAN, H.; HAO, Z.; LIU, J.; ZHAO, X. Characterization of polysaccharides extracted from *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A.DC. affecting activation of chicken peritoneal macrophages. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 96, p. 775-785, 2017.

ZHU, X.; CHENG, Y.; CHEN, P.; PENG, P.; LIU, S.; LI, D.; RUAN, R.; Effect of alkaline and high-pressure homogenization on the extraction of phenolic acids from potato peels. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 37, p. 91-97, 2016.

ZOCAL, R. **Queijos: produção e importação**, ago. 2016. Disponível na internet via www url: <http://www.baldebranco.com.br/queijos-producao-e-importacao/>. Arquivo capturado em 28/02/17

APÊNDICE A – Dados cinéticos experimentais

Nesta seção, apresentam-se tabelados os dados cinéticos representados graficamente no texto.

Exp. 1: SORO DE LEITE				Exp. 1: SORO DE LEITE/ Réplica		
Tempo (h)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Goma (g/L)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Goma (g/L)
0	29.8187	0,303	0	30.6497	0.298	0
24	27.3534	0.325	14,754	28.3506	0.401	18,033
32	25.2759	0.534	18,282	23,9463	0.383	17,190
48	20.0406	0,552	16,992	22.2289	0.583	18,544
56	20.7054	0.583	17,835	21.6749	0.614	20,297
72	19.0988	0.579	19,469	20.2345	0.659	19,419

Exp. 2: CASCA DE COCO				Exp. 2: CASCA DE COCO/ Réplica		
Tempo (h)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Goma (g/L)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Goma (g/L)
0	1,9562	0,507	0	1,7586	0,401	0
24	1,6795	0,708	5,650	1,3436	0,561	4,276
32	--	0,712	6,429	0,9880	0,739	5,458
48	1,3436	0,779	7,004	0,9682	--	8,133
56	1,0077	0,716	7,902	0,9089	0,741	9,800
72	0,4347	0,654	9,862	0,3557	0,681	8,120

Exp. 3: CASCA DE BATATA				Exp. 3: CASCA DE BATATA/ Réplica		
Tempo (h)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Goma (g/L)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Goma (g/L)
0	1,5807	0.392	0	1,4622	0.289	0
24	1,2843	0.494	2,542	1,2251	0.574	2,855
32	1,3436	0.614	4,135	0,9287	0.725	2,860
48	0,8299	0.797	3,650	0,6521	0.712	2,930
56	0,7311	0.721	4,743	0,6718	0.685	5,195
72	0,6125	0.672	6,647	0,6520	0.619	5,832

Exp. 4: SORO DE LEITE + CASCA DE COCO				Exp. 4: SORO DE LEITE + CASCA DE COCO/ Réplica		
Tempo (h)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Goma (g/L)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Goma (g/L)
0	8,4964	0,138	--	7,9629	0,120	--
24	7,9037	0,289	--	7,6666	0,369	--
32	7,8444	0,828	--	7,4097	0,654	--
48	7,5282	0,868	--	7,3702	0,694	--
56	6,9157	0,921	--	7,2121	0,832	--
72	6,7379	1,095	--	6,8367	1,179	--

Exp. 5: SORO DE LEITE + CASCA DE BATATA				Exp. 5: SORO DE LEITE + CASCA DE BATATA / Réplica		
Tempo (h)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Goma (g/L)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Goma (g/L)
0	8,2692	0,316	0	8,1013	0,298	0
24	8,0025	0,380	0,519	8,0321	0,623	1,392
32	6,4612	0,581	4,438	4,4755	0,690	7,569
48	6,3131	0,587	16,228	xx	0,734	8,033
56	5,5721	0,621	10,823	5,7499	0,748	7,697
72	5,3943	0,641	14,036	4,6236	0,701	8,964

Exp. 6: CASCA DE BATATA + CASCA DE COCO				Exp. 6: CASCA DE BATATA + CASCA DE COCO / Réplica		
Tempo (h)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Goma (g/L)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Goma (g/L)
0	1,5610	0,343	0	1,2843	0,432	0
24	1,1460	0,530	1,403	0,9484	0,614	1,395
32	1,1559	0,676	3,131	0,7113	0,743	2,859
48	0,4545	0,716	4,190	0,3853	0,801	4,405
56	0,2964	0,672	3,041	0,3557	0,690	3,426
72	0,3359	0,619	3,754	0,1482	0,690	3,674

Casca de coco BIORREATOR					
Tempo (h)	Substrato (g/L)	Células (g/L)	Tempo (h)	Substrato (g/L)	Células (g/L)
0	2.39	0.134	66	1.92	0.360
12	2.33	0.138	74	1.82	0.392
18	2.27	0.154	80	1.82	0.369
24	2.21	0.178	92	1.75	0.407
30	2.17	0.267	128	1.66	0.285
42	2.15	0.294	152	1.60	0.525
48	2.11	0.320	176	1.45	0.445
54	2.00	0.343	200	1.36	0.447

