UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO REGIONAL DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

GEORGES CAVALCANTI E CAVALCANTE

BIOPROCESSO DE PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA UTILIZANDO SORO DE LEITE CAPRINO

GEORGES CAVALCANTI E CAVALCANTE

BIOPROCESSO DE PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA UTILIZANDO SORO DE LEITE CAPRINO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Tecnologia de Alimentos do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Marta Maria da Conceição

Catalogação na publicação Seção de Catalogação e Classificação

C376b Cavalcante, Georges Cavalcanti e.

BIOPROCESSO DE PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA UTILIZANDO SORO
DE LEITE CAPRINO / Georges Cavalcanti e Cavalcante. João Pessoa, 2019.
37 f.

Orientação: MARTA MARIA DA CONCEIÇÃO. Monografia (Graduação) - UFPE/CTDR.

1. Fermentação; Xanthomonas campestris; Soro de leite. I. CONCEIÇÃO, MARTA MARIA DA. II. Título.

UFPB/BC

GEORGES CAVALCANTI E CAVALCANTE

BIOPROCESSO DE PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA UTILIZANDO SORO DE LEITE CAPRINO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Tecnologia de Alimentos do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

João Pessoa, 26 de Setembro de 2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. a Dr. a Marta Maria da Conceição (Orientadora)

Prof. Dr. João Paulo de Sousa Prado (Avaliador)

Prof. Dr. Ismael Ivan Rockenbach (Avaliador)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ter me dado condições de lutar, alcançar meus objetivos e de manter a esperança em todos os momentos de minha vida.

À Universidade Federal da Paraíba e ao Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional pela acolhida e oportunidade de estudo.

À professora Marta Maria pela paciência por estes anos de orientação na iniciação científica e neste trabalho de conclusão de curso. Muito obrigado.

Aos meus pais Geraldo e Nina, por serem meus exemplos, pelos ensinamentos de vida, amor, amizade, compreensão, incentivo e dedicação. Obrigado por ensinar os valores da família. À minha esposa Vera e meus filhos Lucas, Letícia (que muito me ajudou na realização das análises de minha pesquisa) e Victor por fazerem parte de minha vida e entenderem minhas ausências. As minhas irmãs Magna e Sirley pela amizade verdadeira. À Leudo e Getúlio, a quem considero como irmãos. Aos meus sobrinhos, principalmente a Vinícius pela ajuda com os meios para a realização de meus experimentos.

Aos meus colegas de turma Flora, José Edinaldo, Jayme e Luiz Ricardo pelos ensinamentos, companheirismo e ajuda nas superações das dificuldades durante nossa jornada acadêmica.

Ao meu amigo Franklin pelos ensinamentos e ajuda nos diversos momentos conturbados de meus projetos de pesquisas e no meu Trabalho de Conclusão de Curso.

A todos os professores do curso, que de uma forma ou de outra ajudaram no meu crescimento pessoal e profissional.

A professora Patrícia pela acolhida e ajuda no Laboratório de Microbiologia do CTDR.

Aos técnicos dos Laboratórios do CTDR, que em nome de Cláudia Gouveia, agradeço pelos ensinamentos e acolhida, desde a minha primeira aula prática, durante todo o curso de Tecnologia de Alimentos e principalmente pela ajuda neste trabalho.

A todos que de certa forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado a todos!

"petta reddast" (Expressão Islandesa)

RESUMO

O soro do leite é um subproduto gerado a partir da precipitação de gorduras e caseína do leite durante a produção de queijos que geralmente é descartado diretamente em mananciais, causando sérios problemas ambientais. Por apresentar nutrientes e em decorrência da grande quantidade que é produzida no processamento de queijos, o soro de leite torna-se muito atrativo e economicamente viável em processos fermentativos, como a produção de goma xantana. A goma xantana é um biopolímero natural, com alto peso molecular, sendo produzida via processo aeróbio fermentativo, de bactérias fitopatogênicas do gênero Xanthomonas, em ambientes contendo fontes de carbono. Por possuir propriedades reológicas únicas, a goma xantana possui diversas aplicações em uma variedade de indústrias, como de alimentos, farmacologia, cosméticos e petróleo. É facilmente solúvel em água quente ou fria, com a capacidade de produzir alta viscosidade e atua como espessante, estabilizante e quando associada com outras gomas, promove uma textura lisa e cremosa em alimentos líquidos. O objetivo deste trabalho foi produzir goma xantana utilizando a Xanthomonas campestris, código UFPEDA 585, utilizando o soro do leite caprino como substrato. Além de caracterizar seus parâmetros físicos, químicos e tecnológicos. A goma xantana comercial foi utilizada como padrão na Espectroscopia de absorção na região do infravermelho para identificar a presença de bandas características na goma produzida através do bioprocesso, bem como na Termogravimetria que foi usada para avaliar os perfis térmicos. A maior produção de goma xantana foi observada quando utilizado, como meio alternativo, o soro de leite caprino em um período de fermentação de 72 horas (37,75 g/L). Na análise reológica, apesar de apresentar baixa viscosidade, as soluções de goma xantana obtidas neste estudo apresentaram um comportamento pseudoplástico. A comparação das bandas dos espectros FTIR da goma xantana comercial com a goma produzida com soro de leite caprino apresentaram grande semelhança entre si e as principais bandas que caracterizam a goma xantana foram ratificadas. A curva termogravimétrica da goma xantana produzida com meio alternativo apresentou perfil térmico similar a curva termogravimétrica da goma xantana comercial. Os resultados obtidos indicaram que o meio alternativo a base de soro de leite caprino pode ser promissor na produção de goma xantana, tornando-se uma alternativa de utilização do soro de leite caprino oriundo das queijarias.

Palavras-chave: Fermentação; Xanthomonas campestris; Soro de leite.

ABSTRACT

Whey is a byproduct generated from the precipitation of milk fats and casein during cheese production that is generally discarded directly in water sources, causing serious environmental problems. Because it has nutrients and due to the large amount that is produced in cheese processing, whey becomes very attractive and economically viable in fermentation processes, such as xanthan gum production. Xanthan gum is a high molecular weight natural biopolymer produced by aerobic fermentation of phytopathogenic bacteria of the genus Xanthomonas in environments containing carbon sources. Because of its unique rheological properties, xanthan gum has many applications in a variety of industries, such as food, pharmacology, cosmetics and petroleum. It is easily soluble in hot or cold water, with the ability to produce high viscosity and act as a thickener, stabilizer and when associated with other gums, promotes a smooth and creamy texture in liquid foods. The objective of this work was to produce xanthan gum using Xanthomonas campestris, code UFPEDA 585, using goat whey as substrate. In addition to characterize their physical, chemical and technological parameters. Commercial xanthan gum was used as standard in Infrared Absorption Spectroscopy to identify the presence of characteristic bands in the gum produced by the bioprocess, as well as in the Thermogravimetry that was used to evaluate the thermal profiles. The highest production of xanthan gum was observed when goat whey was used as an alternative medium in a 72-hour fermentation period (37.75 g / L). In the rheological analysis, despite presenting low viscosity, xanthan gum solutions obtained by strain Xanthomonas campestris, code UFPEDA 585 showed a pseudoplastic behavior. Comparison of the bands of the FTIR spectra of commercial xanthan gum with the goat whey produced gum showed great similarity to each other and the main bands characterizing the xanthan gum were ratified. The thermogravimetric curve of xanthan gum produced with alternative medium showed a thermal profile similar to the thermogravimetric curve of commercial xanthan gum. The results indicated that the alternative medium based on goat whey may be promising in the production of xanthan gum, becoming an alternative for the use of goat whey from cheese.

Keywords: Fermentation; Xanthomonas campestris; Whey.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura química primária da goma xantana
Figura 2 – Meios YM líquido para pré-inóculo de <i>Xanthomonas campestris</i> , código UFPEDA 585, meio alternativo soro de leite e meio tradicional – sacarose
Figura 3 – Aspecto das colônias de <i>Xanthomonas campestris</i> , código UFPEDA 585, crescidas em meio YM-ágar, 30 °C ± 5 °C por 48 horas
Figura 4 – Aspecto das gomas produzidas pela X <i>anthomonas campestris</i> , código UFPEDA 585
Figura 5 – Viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento para as amostras de goma xantana experimentais
Figura 6 - Espectros infravermelho da goma xantana comercial (GXC) e goma xantana
produzida por meio alternativo de soro de leite caprino (GXSL) pela Xanthomonas campestris,
código UFPEDA 58530
Figura 7 – Curvas termogravimétricas da goma xantana comercial (GXC) e goma xantana
produzida por meio alternativo de soro de leite caprino (GXSL) pela Xanthomonas campestris,
código UFPEDA 58532

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Exemplos de propriedades tecno-funcionais conferidas a alimentos po
concentrados proteicos de soro19
Tabela 1 – Análise físico-química do soro de leite caprino
Tabela 2 – Produção de goma xantana em 80 mL de meio alternativo Soro de Leite caprino meio tradicional (Sacarose) em dois tempos de fermentação
Tabela 3 – Test-t: comparação das médias de produtividade de goma xantana no tempo de 72
horas
Tabela 4 – Viscosidade aparente da goma xantana
Tabela 5 - Intervalos de temperatura e percentuais de perda de massa das gomas

SUMÁRIO

	1 Intr	odução	11
	2 Obj	etivos	13
	2.1	Objetivo geral	13
	2.2	Objetivos específicos	13
	3 Fur	damentação teórica	14
	3.1	Goma Xantana	14
	3.2	Xanthomonas campestris	16
	3.3	Síntese da goma xantana	17
	3.4	Soro de Leite	18
	4 Ma	terial e métodos	20
	4.1	Microrganismos	20
	4.2	Soro de leite caprino	20
	4.3	Metodologia	21
	4.3	1 Manutenção do microrganismo	21
	4.3	2 Determinações físico-químicas no soro de leite caprino	21
	4.3	3 Produção do inóculo	22
	4.3	4 Produção da goma xantana	23
	4.3	5 Precipitação, recuperação e rendimento de goma xantana	24
	4.3	6 Viscosidade	24
	4.3	7 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho	24
	4.3	8 Termogravimetria	24
	4.4	Análises estatísticas	
	5 Res	ultados e discussão	25
	5.1	análise físico-química do soro de leite caprino	25
UFPE	5.2 DA 585	Característica morfológica da colônia de <i>Xanthomonas campestris</i> , c 26	ódigo
	5.3	Produção de Goma xantana a partir do meio de cultivo alternativo	26
	5.4	Viscosidade aparente	28
	5.5	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	30
	5.6	Termogravimetria	31
	6 Cor	nclusões	32
	REFERÍ	ÈNCIAS	34
	ANEXO	1 – Declaração de liberação de responsabilidade	37

1 Introdução

A biotecnologia destaca-se como um campo promissor de atuação na indústria, onde nos últimos anos, a busca por microrganismos com potencial biotecnológico vem crescendo (PEREIRA; FERRAZ, 2016).

A utilização de polissacarídeos atrai interesse nas mais diversas áreas de pesquisas devido a suas estruturas, propriedades reológicas e o seu uso na indústria de alimentos, por serem utilizados como espessantes, geleificantes, emulsificantes, estabilizantes e encapsuladores em diversos produtos (SILVA, 2017; SOUZA e GARCIA-CRUZ, 2004).

Os polissacarídeos que apresentam uma alta afinidade por água e possuem capacidade de aumentar a viscosidade da solução, mesmo em pequenas concentrações, são chamados de gomas, podendo ser encontrados em diversas plantas, algas marinhas e em produtos de fermentações bacterianas (PETRI, 2015). O uso destes polissacarídeos pela indústria de alimentos é para garantir o espessamento e a produção de agentes geleificantes (SAMPAIO, 2014).

A goma xantana é um exopolissacarídeo, que apresenta na estrutura de sua cadeia principal (1,4) β-D-glicose, produzido por processos fermentativos de microrganismos do gênero *Xanthomonas*, espécie *X. campestris* (PETRI, 2015; SOBENES, 2015), destacando-se como um dos mais importantes polissacarídeos produzidos em escala industrial (PETRI, 2015). Em decorrência de sua conformação e de acordo com os substituintes, pode estar associada com outros biopolímeros como as carragenas, alginatos, pectinas, gelatinas, galactomananas ou glucomananas (SAMPAIO, 2015 *apud* RINAUDO, 2008). Assim, a produção de goma xantana é influenciada por diversos fatores, tais como: condições de fermentação, composição de nutrientes e tipo de cepa *Xanthomonas* utilizada.

As *Xanthomonas* pertencem à família *Pseudomonacea* e com exceção da *Xanthomonas maltophilia* todas são causadoras de doenças em plantas, ou seja fitopatogênicas. Apresentam morfologia de bastonetes delgados, são gram-negativas, catalase positiva, oxidase negativa e móveis por flagelo único. Estas bactérias são quimiorganotróficas, capazes de usar carboidratos, sais e ácidos orgânicos como fonte de carbono, estritamente aeróbios (PEREIRA E FERRAZ, 2016 apud SUTHERLAND, 1999; GARCÍA-OCHOA, 2000; OLIVEIRA, 2009).

As bactérias do gênero *Xanthomonas*, por serem aeróbicas e também microaerófilicas, possuir uma temperatura ótima de crescimento entre 25-30 °C, de rápido crescimento, que

produz turbidez em meio líquido com 2-3 dias de fermentação, são fáceis de serem cultivadas e mantidas em laboratório (DRUZIAN e PAGLIARINI, 2007). No entanto, o custo do meio fermentativo é um gargalo da produção comercial de goma xantana, o que impulsiona a utilização de substratos alternativos.

O Brasil produz uma grande quantidade de substratos classificados como resíduos e subprodutos que são descartados pelas agroindústrias, tornando-se agentes poluidores do meio ambiente ou utilizados em pequena escala para a alimentação de animais, que podem ser utilizados como fontes alternativas de substrato em bioprocessos para obtenção de goma xantana (da SILVA, 2017; DRUZIAN e PAGLIARINI, 2007). Estudos vem sendo realizados com o intuito de avaliar e aprimorar a síntese de goma xantana utilizando o soro de leite como substrato alternativo (da SILVA, 2017). Neste sentido, ressalta-se a importância da utilização de substratos alternativos na produção de goma xantana de forma eficiente e ambientalmente sustentável.

A indústria de laticínios produz uma grande quantidade de resíduos durante a fabricação de queijos. O soro de leite é rico em nutrientes e se torna atrativo por ser economicamente viável em processos fermentativos (da COSTA, NUCCI E OLIVEIRA Jr, 2014). A utilização do soro como substrato alternativo para a produção de goma xantana, poderá ajudar a reduzir os impactos ambientais oriundos dos efluentes líquidos das indústrias de queijos, bem como atender à demanda de goma xantana no Brasil (da COSTA, NUCCI E OLIVEIRA Jr, 2014 *apud* BEZERRA, 2008; MIZUBUTI, 1994; NERY *et al.* 2008).

.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir e caracterizar goma xantana com *Xanthomonas campestris*, código UFPEDA 585, utilizando o soro do leite caprino como substrato.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter o soro de leite caprino;
- Determinar a composição centesimal do soro de leite caprino;
- Produzir goma xantana com *Xanthomonas campestris*, código UFPEDA 585 utilizando substrato alternativo e tradicional;
- Determinar a produtividade e viscosidade das gomas produzidas;
- Identificar a goma produzida com substrato alternativo por Espectroscopia de absorção na região do infravermelho e Termogravimetria.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 GOMA XANTANA

Estruturas químicas poliméricas constituídas de unidades repetidas de monômeros, são denominadas de biopolímeros e são produzidas por organismos vivos. Os polissacarídeos constituem um grupo importante de biopolímeros que podem ser obtidos de plantas, sementes, algas, bactérias, fungos e animais, destacando-se por propriedades estruturais e características de grande interesse tecnológico e comercial (da SILVA, 2017).

Podemos definir as gomas como moléculas de alto peso molecular, que apresentam características hidrofílicas ou hidrofóbicas, e comumente possuem propriedades coloidais de formarem géis ao combinar-se com um solvente apropriado. Na indústria de alimentos, gomas são polissacarídeos ou derivados, que são obtidos de plantas ou microrganismos, que produzem soluções ou misturas viscosas e/ou formação de géis, com funções de emulsificação, estabilizante e espessante (DOSSIÊ gomas, 2015).

A goma xantana é um biopolímero natural, com alto peso molecular, sendo produzida via processo aeróbio fermentativo, de bactérias fitopatogênicas do gênero *Xanthomonas*, em ambientes contendo fontes de carbono. A bactéria *Xanthomonas* apresenta células em formas de bastonetes, gram-negativas e ocorrem predominantemente isoladas (SILVA *et al*, 2016 *apud* SILVA, SCHIMIDT, 2015; DEMIRCI *et al*, 2019).

A goma xantana apresenta cadeia principal de (1,4) β-D-glicose com estrutura semelhante a celulose. A esta cadeia principal estão ligados alternadamente correntes laterais de trissacarídeos, através de O-3 (D-glicose da cadeia principal) ao C1 do primeiro resíduo β-d-manose. Um conjunto de piruvato está ligado às posições 4 e 6 desta unidade de manose terminal (SOBONES e MONTE ALEGRE, 2015). Sua estrutura ramificada, composta por glicose, manose, ácido glicurônico, ácido pirúvico e grupos acetila (Figura 1), e o alto peso molecular conferem uma alta viscosidade, mesmo em baixas concentrações (PEREIRA e FERRAZ, 2016).

Figura 1 – Estrutura química primária da goma xantana

Legenda: M* - sítio de ligação de cátions. Fonte: HUBLICK (2012).

Por possuir propriedades reológicas únicas, a goma xantana possui diversas aplicações em uma variedade de indústrias, como de alimentos, farmacologia, cosméticos e petróleo (DEMIRCI *et al.*, 2019). É facilmente solúvel em água quente ou fria, com a capacidade de produzir alta viscosidade, estável em temperaturas de 0 °C a 100 °C na faixa de pH de 1 a 3, estável ao ciclo de gelo e degelo sem provocar sinérese. Atua como espessante, estabilizante e quando associada com outras gomas, promove uma textura lisa e cremosa em alimentos líquidos (ADITIVOS INGREDIENTES, 2015).

A qualidade da goma xantana pode ser ajustada utilizando diferentes cepas de *Xanthomonas* e condições de fermentações. Diversos parâmetros, como temperatura, pH, volume do inóculo, velocidade de mistura, taxa de fluxo de ar, diferentes espécies de *Xanthomonas* e outras fontes de nutrientes podem ser utilizadas para a produção da gomas, objetivando melhorar o rendimento e as propriedades reológicas (DEMIRCI *et al.*, 2019)..

De acordo com Luvielmo e Scamparina (2009), este polímero tem sido o mais utilizado em alimentos no Brasil e no mundo, sendo seu uso aprovado pelo FDA (*Food and Drug Adminstration*) em 1969. No ano de 1980 foi aprovado também na Europa pelo SCF (*Scientific Committee on Food*). Em 1986 o *Join FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – JECFA* (Comitê da Organização Mundial de Saúde de Especialistas na área de Aditivos

Alimentares) alterou o requisito da ingestão diária aceitável (ADI) para "não especificado" (DOSSIÊ estabilizantes, 2016).

O uso da goma xantana no Brasil é regulamentado pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 45, de 03 de novembro de 2010, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), onde as quantidades permitidas variam de acordo com as normas BPF de cada alimento (BRASIL, 2010).

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

3.2 XANTHOMONAS CAMPESTRIS

As bactérias do gênero *Xanthomonas*, produtoras de goma xantana, pertencem à família *Xanthomonadaceae*, e constitui um grupo fitopatogênico importante (da SILVA, 2017 *apud* BUTTNER; BONAS, 2010; EUZÉBY, 2016), que infecta uma variedade de plantas, entre elas algumas de interesse para a agricultura. São bacilos gram-negativos curtos, retos, isolados ou em pares, e medem entre 0,4 a 0,7 μm de largura e 0,8 a 2 μm de comprimento. São móveis e possuem um único flagelo com aproximadamente 1,7 a 3,0 μm de comprimento. Apresentam resultados positivos para o teste de catalase e podem produzir gás sulfidrico, testes negativos para urease, oxidase, nitrato-redutase, indol e acetoina (da SILVA, 2017 *apud* SADDLER; BRADBURY, 2015).

As *Xanthomonas* necessitam de uma fonte de carboidrato, uma fonte de nitrogênio, de minerais e de aminoácidos como o glutamato ou a metionina. Apresentam temperatura ótima de crescimento entre 20 a 30 °C, com um mínimo de 4 °C e máximo de 39 °C (da SILVA, 2017 *apud* SADDLER; BRADBURY, 2015; DRUZIAN e PAGLIARINI, 2009), com pH de crescimento entre 6,5 a 7,5 e em pH abaixo de 4,5 ocorre inibição do crescimento (da SILVA, 2017 *apud* SWINGS; CIVEROLO, 1993).

3.3 SÍNTESE DA GOMA XANTANA

A produção da goma xantana consiste nas etapas de obtenção do pré-inóculo, inóculo, fermentação, pasteurização, remoção das células, precipitação, separação e secagem da goma. Fatores como o tipo de reator, composição do meio e as condições da cultura (temperatura, pH e concentração de oxigênio dissolvido) influenciam na produção (LUVIELMO e SCAMPARINA, 2009 *apud* GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000).

Pereira e Ferraz (2016) citam Luvielmo e Scamparina (2009), que descrevem o processo de fermentação para produção da goma xantana nas seguintes etapas:

- A cepa microbiana selecionada é preservada através de métodos adequados, que mantenham suas propriedades desejadas. Para a produção, culturas de Xanthomonas campestris puras são cultivadas usando fermentação aeróbica submersa (Sutherland, 1999);
- O meio composto por uma fonte de carboidratos, nitrogênio e sais minerais é esterilizado, via calor úmido. Segundo os autores, as concentrações de glicose entre 30g 40g.kg⁻¹ de meio é necessário para precipitar o polímero e é reduzida pela metade com o uso de 0,1% de cloreto de sódio;
- Após esterilizado, o meio de cultura é inoculado com a cultura selecionada. Em função da goma atuar como uma espécie de cápsula bacteriana, sua produção está associada com o crescimento celular. Durante o período de inoculação, ocorre o aumento da concentração celular, mas diminui a produção de goma xantana;
- Após produzida, a goma xantana é precipitada em solvente (isopropanol, etanol ou acetona), posteriormente é separada, secada, moída, peneirada e embalada.

A produção de goma xantana, com condições controladas de fermentação, garante um material de qualidade e fornecimento constante não influenciada por variações climáticas (LUVIELMO e SCAMPARINA, 2009). Na produção da goma xantana, bactérias do gênero *Xanthomonas* convertem, por meio de um processo fermentativo, um substrato (glicose) em um produto (goma xantana). Para o processo fermentativo, com o cultivo controlado de estirpes selecionadas de microrganismos em um meio de cultura contendo nutrientes necessários ao metabolismo celular, ocorre a formação de metabólitos tais como anticorpos, proteínas ou biopolímeros (da SILVA, 2017).

No processo fermentativo da *Xanthomonas* diferentes meios de cultivo e substratos podem ser utilizados, com variações em rendimentos em relação ao volume e composição do meio (DRUZIAN e PAGLIARINI, 2009). Entretanto, existe a possibilidade de utilização de fonte de carbono a partir de resíduos da agropecuária, possibilitando a redução dos custos de produção (LOPES *et al.*, 2015). A agroindústria brasileira produz uma grande quantidade de resíduos que são descartados de forma errônea, tornando-se agentes poluidores do meio ambiente. A utilização de substratos alternativos, como o soro de leite, na produção da goma xantana pode ajudar a minimizar os problemas ambientais com o descarte de efluentes (MESOMO, 2007).

De acordo com Pereira e Ferraz (2016), para Menezes *et al.* (2012) o Brasil tem um elevado potencial econômico para implantação de indústrias de goma xantana, por possuir matérias primas básicas de menor custo de produção e recuperação da goma.

Pereira e Ferraz (2016) citam que Nitschke *et al.* (2001) e Oliveira (2009) estudaram a influência da composição do meio de cultura na produção de goma xantana. O meio de cultura consiste geralmente de glicose ou sacarose como fonte de carbono, extrato de levedura ou peptona como fonte de nitrogênio e ainda fósforo e traços de outros minerais. Para os autores, a proporção de carbono e nitrogênio no meio de cultura influencia a produção de goma xantana, sendo que esta razão é menor para a produção do que a usada durante o crescimento.

3.4 SORO DE LEITE

O soro do leite é um subproduto gerado a partir da precipitação de gorduras e caseína do leite durante a produção de queijos (SOARES, 2014 *apud* SERPA *et al.*, 2009).

Do volume total do leite utilizado nas indústrias de queijos, o soro de leite representa de 80 a 90% e contém aproximadamente 55% dos nutrientes do leite: proteínas solúveis, lactose, vitaminas, minerais e uma quantidade mínima de gordura, podendo ser utilizado na sua forma original para a produção de bebidas lácteas (ALVES et al., 2014). Sua obtenção pode ser realizada em laboratório ou em indústrias de processamento de leite por três operações: pela coagulação enzimática, resultando na coagulação da caseína, matéria prima para a produção de queijo, e no soro doce; pela precipitação ácida no pH isoelétrico das caseínas, resultando na caseína isoelétrica e no soro ácido; e pela separação física das micelas de caseína por microfiltração, obtendo-se um concentrado de micelas e as proteínas do soro (ALVES et al., 2014 apud MORIN et al., 2007).

O soro de leite que é oriundo da produção do queijo geralmente é descartado diretamente em mananciais, causando sérios problemas ambientais. Algumas fábricas

construíram tanques de armazenamento, mas despejavam de forma errônea no meio ambiente; outros destinavam o soro produzido para a alimentação animal (ARAUJO et al., 2019). Rohlfes *et al.* (2014) descrevem que para Marquardt *et al.*(2011), a produção anual de queijo no Brasil tem-se mantido em cerca de 540.000 toneladas/ano, o que corresponde à produção aproximada de 5,4 milhões de toneladas de soro de leite, onde apenas 15% é aproveitado para a produção de bebidas lácteas.

Atualmente o soro de leite passou a ser melhor aproveitado, seja como isolamento de proteínas do soro para serem utilizadas como suplementos alimentares, como ingredientes para a produção de bebidas lácteas, bem como o interesse científico em estudar isoladamente seus componentes (ARAUJO *et al.*, 2019). Por apresentar grande quantidade de nutrientes presente no resíduo e pela grande quantidade que é produzida no processamento de queijos, o soro de leite tornase muito atrativo e economicamente viável em processos fermentativos, sendo reconhecido como um ingrediente de alto valor agregado em muitos produtos alimentícios (da COSTA, 2014).

Com o desenvolvimento de novas tecnologias e o melhor entendimento do soro como matéria prima que pode conferir à tecnologia alimentar novas potencialidades, em função das propriedades nutricionais e tecno-funcionais de suas proteínas, este coproduto tornou-se valorizado pelas indústrias alimentícias, pela funcionalidade que pode conferir aos alimentos (ALVES *et al.*, 2014). O quadro 1 apresenta algumas aplicações industriais dos concentrados proteicos do soro.

Quadro 1 – Exemplos de propriedades tecno-funcionais conferidas a alimentos por concentrados proteicos de soro

Propriedade funcional	Setor alimentar	Percentual de proteína	Aplicações
Viscosidade	Sobremesas	35	Chandatas Marshmallayy Navgat Damas
Viscosidade	Sobremesas	33	Chocolates, Marshmallow, Nougat, Barras
			de cereais, Glacê.
Solubilidade,	Bebidas	35	Bebidas fortificadas com proteínas, Bebidas
estabilidade			isotônicas, Piña Colada, Bebidas
coloidal			gaseificadas, Chás gaseificados, bebidas
			para crianças, sucos, Iogurtes, bebidas
			substituintes de refeições.
Emulsificação	Sopas, alimentos	85	Sopas com baixo teor ou zero gorduras,
	infantis		Molhos para saladas, Queijos fundidos
Formação de	Confeitaria	35	Glacê, Creme de leite UHT, Chantily,
espuma			Chocolates aerados.
Geleificação	Produtos lácteos	65	Iogurte, FrozenYogurt, Sorvete.
Elasticidade	Panificação	65	Brownie, Bolo, Cookis, Pães, Muffins,
			Massas para pizza, Biscoitos, Waffles.
Absorção de	Produtos de carne	85	Salsicha, Bife de hambúrguer, Presunto,
água e gordura			Nuggets e embutidos

Fonte: Alves et al., 2014 Adaptado de USDEC

O soro de leite é um meio alternativo que apresenta resultados satisfatórios na produção da goma xantana, por conter uma elevada quantidade de lactose e quantidades

adequadas de nitrogênio, entre outros fatores (SOBONES e MONTE ALEGRE, 2015; da COSTA, 2014). Estudar e selecionar fontes de carbono para a bactéria *Xanthomonas campestris*, para a obtenção de polissacarídeos em quantidade e propriedades de interesse econômico, é um desafio que vem sendo enfrentado por vários grupos de pesquisa. Por mais que a tecnologia para a produção de goma xantana esteja ligada à sacarose como substrato, torna-se necessário estudar, em paralelo, fontes alternativas viáveis (da COSTA, 2014).

Nos dias atuais, o leite caprino e seus derivados (queijos, iogurtes e bebidas lácteas) vêm ganhando destaque nos países em desenvolvimento, por serem promissores alimentos funcionais na promoção da saúde e prevenção de doenças. A fabricação de queijos destaca-se pelo crescente mercado econômico da matriz láctea, mas apresenta alguns inconvenientes, como a produção do soro de queijo (ARAUJO *et al.*, 2019).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos para a caracterização físico-química do soro de leite caprino foram realizados no Laboratório de Bromatologia do Centro de Ciências e da Saúde (CCS). Para a produção da goma xantana foi utilizado o Laboratório de Microbiologia do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional (CTDR) e as análises de caracterização da goma xantana foram realizadas no Laboratório do Núcleo de Pesquisa e Extensão Laboratório de Combustíveis e Materiais (NPE-LACOM), da Universidade Federal da Paraíba.

4.1 MICRORGANISMOS

A linhagem utilizada foi a *Xanthomonas campestris*, código UFPEDA 585, gentilmente cedida da Coleção de Microrganismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA).

4.2 SORO DE LEITE CAPRINO

O soro de leite caprino, meio alternativo utilizado como fonte de carbono, foi produzido a partir da coagulação do leite caprino oriundo da Fazenda Pendência Carminha – Juazeirinho – PB, adquirido no comércio local do município de João Pessoa – PB. Foi adicionado ao leite caprino, previamente aquecido a uma temperatura de 34 °C, o coagulante líquido comercial (HA-LA) contendo uma protease oriunda do *Aspergillus niger* var. *awamori*. Após 45 minutos foi separada a massa coagulada (precipitação da caseína do leite) do soro. Imediatamente após a separação, o soro de leite foi armazenado em recipientes plásticos,

previamente limpos, e encaminhados para congelamento, onde foram mantidos em temperatura de \pm -18 °C.

4.3 METODOLOGIA

4.3.1 Manutenção do microrganismo

O microrganismo foi mantido em meio YM padrão contendo: extrato de levedura (Merck) – 3,0 g.L⁻¹; extrato de malte (Acumedia) 3,0 g.L⁻¹; peptona (Himedia) 5,0 g.L⁻¹; glicose (Neon) 10,0 g.L⁻¹; agar 20,0 g.L⁻¹; água destilada q.s.p) (FORNARI, 2006 *apud* JEANNES *et al.*, 1976). Os cultivos foram realizados a cada quinze dias e após crescimento a 30 °C \pm 5 °C por 48 horas, a cultura foi armazenada sob refrigeração.

4.3.2 Determinações físico-químicas no soro de leite caprino

4.3.2.1 Umidade

A umidade presente no soro de leite caprino foi determinada pesando-se 1g da amostra em cápsulas de porcelana previamente tarada. A amostra foi submetida à secagem em estufa estabilizada à 105 °C por 3 horas. Em seguida, as cápsulas foram resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e realizada a pesagem. Foi realizada a operação de aquecimento e resfriamento até peso constante (IAL, 2008).

4.3.2.2 pH

A determinação do pH do soro de leite caprino foi efetuada utilizando um pHmetro digital, marca Quimis, previamente calibrado com soluções tampões de pH 7,0 e 4,0, com leituras diretas na amostra (IAL, 2008).

4.3.2.3 Acidez em ácido láctico

Foi transferido 10 mL da amostra para um béquer de 100 ml e adicionado 5 gotas de fenolftaleína. Em seguida foi realizada a titulação da amostra com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, utilizando uma bureta, até o aparecimento de uma coloração rósea (IAL, 2008).

4.3.2.4 Gordura

A metodologia consiste na quebra de emulsão do soro de leite pela adição de ácido sulfúrico e álcool isoamílico. O ácido sulfúrico dissolve as proteínas e a lactose, liberando e

separando a gordura. Foram transferidos para os butirômetros 10 mL de ácido sulfúrico e adicionado lentamente 11 mL da amostra de soro de leite caprino. Em seguida acrescentou-se 1 mL de álcool isoamílico. Foi realizada a centrifugação por 5 minutos (centrífuga de butirômetro Quimis - modelo Q222B2), levada para um banho-maria a 63 ± 2 °C por 3 minutos, com a rolha para baixo. Após o aquecimento, a camada amarela-clara foi colocada dentro da escala graduada do lactobutirômetro e realizada a leitura direta. O valor obtido corresponde diretamente à porcentagem de gordura (IAL, 2008).

4.3.2.5 **Proteína**

O teor de proteínas foi determinado pela técnica micro Kjeldahl (AOAC, 2005). Para a etapa de digestão da amostra, pesou-se 0,5 g da amostra e transferiu-se para o tubo de Kjeldahl. Em seguida foram adicionados 5 mL de ácido sulfúrico e cerca de 0,5 g da mistura catalítica. Levou-se ao aquecimento em chapa elétrica, na capela, até atingir 350°C constante por 1 hora até a solução se tornar azul-esverdeada, etapa de digestão. Logo após o resfriamento, o material foi encaminhado para a etapa de destilação e posteriormente titulado com solução de hidróxido de sódio 0,1 M. Foi utilizado como fator de conversão de nitrogênio em protídeos 6,38 (IAL, 2008).

4.3.2.6 Lactose

O método de Munson-Walker foi utilizado para determinar o teor de lactose na amostra do soro de leite caprino. O método consiste na redução de íons cúpricos a íons cuproso pela lactose em meio alcalino aquecido. (IAL, 2008).

4.3.2.7 Minerais – Cinzas

Na análise de cinzas, as amostras, após serem submetidas a perda de umidades, foram carbonizadas e em seguida levadas para um forno tipo Mufla (FORNITEC – modelo 1934) a uma temperatura de 550 °C, até ficarem com uma coloração branca, ligeiramente acinzentada. As amostras foram resfriadas em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. As operações de aquecimento e resfriamento foram repetidas até peso constante (IAL, 2008).

4.3.3 Produção do inóculo

A produção do inóculo foi realizada retirando-se assepticamente duas alçadas de cultura *Xanthomonas campestris*, código UFPEDA 585 crescida em meio YM padrão (Yeast-

Malt) e adicionadas em erlemeyers de 250 mL contendo 60 mL do meio YM líquido com pH ajustado para 7,2 com a utilização de hidróxido de sódio e autoclavado (121 °C/15 min). Os frascos foram incubados em agitador orbital, com agitação de 120 rpm a uma temperatura de 28 °C ± 2 °C por 24 horas (FORNARI, 2006; da COSTA, NUCCI e OLIVEIRA, 2014).

4.3.4 Produção da goma xantana

Para a realização dos experimentos foram utilizados o meio YM líquido contendo a *Xanthomonas campestris*, código UFPEDA 585, após 24 horas de incubação, a uma agitação de 120 rpm e uma temperatura de 28 °C ± 2 °C – pré-inóculo. Para a produção da goma xantana foi utilizado como substrato alternativo o soro de leite caprino. Além disso, foi utilizada a sacarose como substrato tradicional de produção do biopolímero para efeito de comparação (figura 2). Os meios, acondicionados em erlenmeyers de 250 mL, tiveram o pH ajustado para 7,2 com hidróxido de sódio, e em seguida autoclavados a uma temperatura de 121 °C por 15 minutos. Foram adicionados 20 mL do pré-inóculo em 80 mL dos meios alternativos soro de leite e a base de sacarose e em seguida incubados em uma incubadora shaker refrigerada (modelo Luca-223), com agitação de 180 rpm a 28 °C ± 2 °C por 72 horas. Foi avaliado na pesquisa a produtividade de goma xantana durante os tempos de 48 hora e 72 horas de fermentação.

Figura 2 – Meios YM líquido para pré-inóculo de *Xanthomonas campestris*, código UFPEDA 585, meio alternativo soro de leite e meio tradicional - sacarose



a) meio YM líquido; b) meio alternativo soro de leite caprino; c) meio tradicional (sacarose)

4.3.5 Precipitação, recuperação e rendimento de goma xantana

O caldo resultante da fermentação foi centrifugado em uma velocidade de 7000 rpm por 30 minutos a temperatura de ± 4 °C em uma centrífuga eppendorf (modelo centrifuge 5430 R) para a remoção das células. Após a retirada das células ao sobrenadante foi adicionado álcool etílico absoluto P.A. (Dinâmica) em uma proporção de 1:3 (amostra/álcool, v/v), para a precipitação da goma. Em seguida, esta solução foi armazenada sob refrigeração a ± 4°C durante 24 horas. Após o término do tempo de refrigeração as amostras foram centrifugadas a 7000 rpm, durante 30 minutos, a temperatura de ± 4 °C para a recuperação do biopolímero precipitado que foi seco a uma temperatura de 50 °C por 24 horas, em estufa de circulação de ar (TECNAL- TE-394/2) e em seguida foi ressuspenso em água mili-q e liofilizados (TERRONE equipamentos LTDA). O rendimento de produção da goma xantana foi determinado por diferença entre o peso final e inicial do precipitado após secagem em estufa (FORNARI, 2006).

4.3.6 Viscosidade

Para a determinação da viscosidade, a goma xantana produzida foi diluída na concentração de 5% (m/m), em água destilada, submetida a agitação por 2 horas, seguida de aquecimento a 60 °C por 20 minutos. As amostras solubilizadas foram mantidas em temperatura ambiente por 24 horas. Foi utilizado um viscosímetro Brookfield (DV-II+ VISCOMETER), com adaptador para pequenas amostras e *spindle* sc4-18, determinando-se as curvas de viscosidade aparente (cP) em função da taxa de cisalhamento (s⁻¹) (TRINDADE, MUNHOZ e BURKERT, 2014).

4.3.7 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em Espectrofotômetro marca Shimadzu, modelo IR Prestige, utilizando pastilhas de KBr no intervalo de 4000-400 cm⁻¹.

4.3.8 Termogravimetria

As curvas termogravimétricas foram obtidas em Analisador Térmico marca Netzsch utilizando atmosfera dinâmica de nitrogênio, fluxo de 50mL/min, razão de aquecimento de 10 °C/min, massa de 10mg, no intervalo de temperatura ambiente até 700°C.

4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram avaliados estatisticamente utilizando-se o teste t de *Student*.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO SORO DE LEITE CAPRINO

As análises físico-químicas do soro de leite caprino (Tabela 1) foram realizadas para a determinação de algumas características que poderiam influenciar na produção e qualidade da goma xantana produzida.

	físico-quíi		

Análise	Resultados
Umidade (%)	$92,99 \pm 0,11$
Extrato seco total (%)	$7,01 \pm 0,11$
Cinzas (%)	0.36 ± 0.08
Proteínas (%)	$0,79 \pm 0,08$
Lipídios (%)	$0,\!17 \pm 0,\!06$
Lactose (%)	$3,73 \pm 0,01$
Acidez em ácido láctico (%)	$0,\!08\pm0,\!01$
рН	$6,64 \pm 0,02$

Em seus estudos, Soares (2014) encontrou valores de 92,3 % \pm 0,09 para umidade, 0,68 % \pm 0,02 para cinzas, 0,94 % \pm 0,00 de proteína, para lipídios 0,14 % \pm 0,06, lactose 3,26 % \pm 0,11, acidez em ácido láctico 0,12 % \pm 0,00 e pH 6,30 \pm 0,11, quando avaliou o soro de leite caprino congelado, proveniente da fabricação de queijo tipo Minas frescal elaborado com leite de cabra, em Santa Maria – RS.

O índice de proteína encontrado na pesquisa de MESOMO (2007), quando caracterizou o soro de queijo mussarela, apresentou um valor semelhante (0,80 % \pm 0,04) para a proteína e uma diferença para a lactose (4,48 % \pm 0,20). Ainda em relação à proteína, FORNARI (2006) encontrou valores de 0,833 % e 0,863 % para o soro de queijo mussarela e prato, respectivamente, e para a lactose encontrou valores de 4,27 % para o soro de queijo mussarela e de 3,67 % para o soro de queijo Prato. Da SILVA (2017) descreve que encontrou um valor de 0,73 % para proteína no soro de leite proveniente da fabricação de queijo Minas

Padrão. Variações na composição do soro de leite podem ocorrer devido a fatores como raça do animal, fase de lactação, alimentação e tipo de queijo processado.

5.2 CARACTERÍSTICA MORFOLÓGICA DA COLÔNIA DE *XANTHOMONAS CAMPESTRIS*, CÓDIGO UFPEDA 585

Com o plaqueamento da cultura em meio YM-ágar observou-se que as colônias de *Xanthomonas campestris*, código UFPEDA 585, apresentaram uma coloração amarela clara e aspecto liso e brilhante (Figura 3). Mesomo (2007) cita que esta descrição está de acordo com o relatado por ROTTAVA (2005) e GOLLO (2006). A pigmentação das colônias deve-se às xantomonadinas que são pigmentos característicos do gênero *Xanthomonas*.

Figura 3 – Aspecto das colônias de *Xanthomonas campestris*, código UFPEDA 585, crescidas em meio YM-ágar, $30 \, ^{\circ}\text{C} \pm 5 \, ^{\circ}\text{C}$ por 48 horas.



5.3 PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA A PARTIR DO MEIO DE CULTIVO ALTERNATIVO

Após a precipitação em álcool etílico absoluto da goma xantana produzida, observamos que ela apresentava um aspecto brilhante e com uma certa viscosidade (Figura 4). O escurecimento (coloração marrom) apresentado na goma xantana produzida a partir do soro do leite caprino, provavelmente ocorreu devido à degradação dos açúcares e proteínas presentes no soro, no momento do procedimento de autoclavagem do mesmo.

Figura 4 – Aspecto das gomas produzidas pela Xanthomonas campestris, código UFPEDA 585





Goma xantana do soro de leite caprino

Goma xantana da sacarose

A

Tabela 2 apresenta os dados referentes à produção de goma xantana obtida pela estirpe *Xanthomonas campestris*, código UFPEDA 585. Observou-se que a maior produtividade ocorreu quando utilizado, como meio alternativo, o soro de leite caprino em um período de fermentação de 72 horas (37,75 g/L), ou seja, quando utilizado o meio alternativo em relação ao meio tradicional.

Tabela 2 – Produção de goma xantana em 80 mL de meio alternativo Soro de Leite caprino e meio tradicional (Sacarose) em dois tempos de fermentação.

Amostra*	Tempo de	Produção (g.L ⁻¹)
	fermentação	
GXSL 1	48 horas	35,5
GXSL 2	72 horas	37,75
GXSC 1	48 horas	11,75
GXSC 2	72 horas	13

^{*} GXSL 1 e GXSL 2 – goma xantana produzida com meio alternativo Soro de leite caprino; GXSC 1 e GXSC 2 – goma xantana produzida com meio tradicional (sacarose).

O teste t de *Student* foi utilizado para avaliar se há diferença significativa entre as médias de produtividade de goma xantana em dois meios de cultivo diferentes (Tabela 3). O pvalor foi calculado para o nível de confiança do teste de 95%. Foi observado um pvalor abaixo de 0,05 (pvalor < 0,05) indicando que a hipótese nula é rejeitada e a diferença entre as médias é estatisticamente significativa. Dessa forma, o meio de cultura que utilizou soro de leite caprino

apresentou uma maior produção de goma xantana o valor obtido é estatisticamente significativo quando comparado com o valor produzido pelo meio com sacarose comercial.

Tabela 3 – Test-t: comparação das médias de produtividade de goma xantana no tempo de 72 horas

	GXSL2	GXSC2
Média	3,018166667	1,0405
Variância	0,050776083	9,408E-05
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	2	
Stat t	15,18735536	
P(T<=t) bi-caudal	0,004307473	
t crítico bi-caudal	4,30265273	

^{*} GXSL2 - goma xantana produzida com meio alternativo Soro de leite caprino; GXSC 2 – goma xantana produzida com meio tradicional (sacarose).

Para Costa *et al.* (2014), os melhores valores obtidos para a produção de goma xantana após a fermentação com a estirpe *Xanthomonas campestris* (n°1537) utilizando como meio alternativo soro de leite e a sacarose foram de 5,176 g/L e 1,406 g/L, respectivamente. Já da Silva (2017) conseguiu em sua pesquisa, utilizando diferentes estirpes de *Xanthomonas campestris* as seguintes produções: Xc1182 – 6,72 g/L-1; Xc1230 – 7,89 g/L; Xc1866 – 3,65 g/L; Xc2414 – 4,09 g/L.

Em seus experimentos, Fornari (2006) conseguiu uma produção, em um tempo de fermentação de 72 horas, de 24,34 g/L para o soro de queijo prato e de 25,42 g/L para o soro de queijo muçarela utilizando a bactéria *Xanthomonas campestris* pv *mangiferaeindicae* IBSBF 1230. Com a cepa *Xanthomonas campestris* pv *manihotis* IBSBF 1182, conseguiu uma produção de 24,34 g/L e de 26,35 g/L, utilizando soro de queijo prato e muçarela, respectivamente.

5.4 VISCOSIDADE APARENTE

Com a finalidade de verificar a qualidade das gomas produzidas foi avaliada a viscosidade aparente, demonstrando o comportamento das soluções aquosas do biopolímero contendo 5% de goma (Tabela 4).

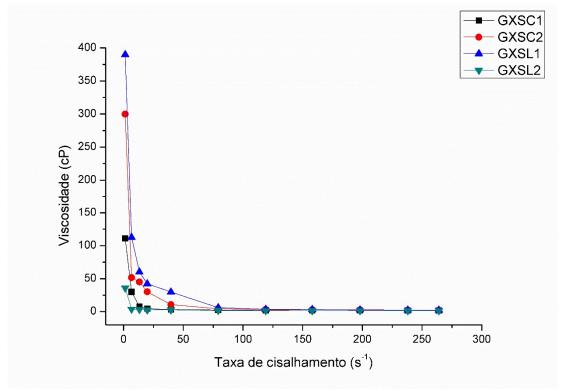
Tabela 4 –	Viscosidade a	narente da	goma xantana.
I WO OIW I	I IDOCDIGACO A	parente aa	- Ollie Halloulla.

Amostra*	Tempo de	Viscosidade aparente (cP)
	fermentação	
GXC		952
GXSL 1	48 horas	1,06
GXSL 2	72 horas	1,40
GXSC 1	48 horas	1,29
GXSC 2	72 horas	1,38

^{*} GXSL 1 e GXSL 2 – goma xantana produzida com meio alternativo Soro de leite caprino; GXSC 1 e GXSC 2 – goma xantana produzida com meio tradicional (sacarose); GXC – goma xantana comercial.

Apesar de apresentar baixa viscosidade, as soluções de goma xantana obtidas pela estirpe *Xanthomonas campestris*, código UFPEDA 585, mostraram um comportamento pseudoplástico. Verificou-se que com o aumento da taxa de cisalhamento, as viscosidades aparentes das gomas produzidas decresceram (Figura 5).

Figura 5 – Viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento para as amostras de goma xantana experimentais



Lopes (2015) descreve vários estudos os quais demonstram que, variando a estirpe da *Xanthomonas*, bem como as condições do processo, diferentes características do comportamento da goma e seu rendimento podem ser alterados. Relata ainda que um excelente resultado em termos de produtividade foi obtido através da realização do processo de produção

de goma xantana por *Xanthomanas arboricola* pv, *pruni* estirpe 31, mas a goma produzida apresentou uma menor viscosidade.

Em seus estudos, da Silva (2017) citando diversos autores relata que um dos fatores que provoca uma maior influência nas características físico-químicas dos biopolímeros sintetizados é a estirpe de *Xanthomonas* utilizada, sendo que a goma pode apresentar diferentes proporções de unidades monossacarídeas e de grupos acetato e piruvato, e que esta variação da composição química irá influenciar nas ligações intra e intermoleculares alterando as propriedades reológicas da goma.

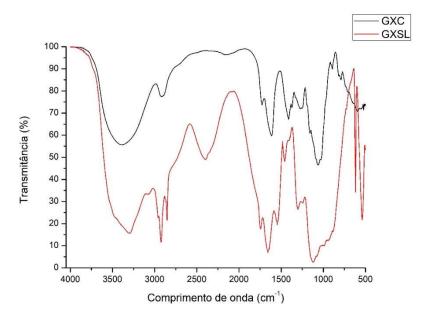
Fornari (2006) descreve que diferentes linhagens de *Xanthomonas campestris* podem produzir goma xantana com diferentes composições, viscosidade e rendimento, reforçando a importância de pesquisas de novas linhagens que possam produzir goma xantana com elevado rendimento em meio de soro de queijo.

Considerando os dados obtidos de maior produtividade e viscosidade foi caracterizada por FTIR e Termogravimetria a amostra de goma xantana produzida com soro de leite caprino em 72 horas de fermentação.

5.5 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

O espectro FTIR da goma xantana comercial foi utilizado como padrão para identificar a presença de bandas características na goma produzida através do bioprocesso (Figura 6).

Figura 6 – Espectros infravermelho da goma xantana comercial (GXC) e goma xantana produzida por meio alternativo de soro de leite caprino (GXSL) pela Xanthomonas campestris, código UFPEDA 585.

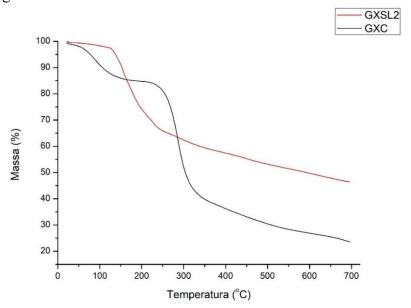


Os espectros apresentaram grande semelhança entre si e as principais bandas que caracterizam a goma xantana foram ratificadas. A comparação dos espectros FTIR da goma xantana comercial com a goma produzida com soro de leite caprino foram quase idênticos diferindo apenas na região de 2400 cm⁻¹ na qual observa-se uma banda ausente no produto comercial. Essa banda pode ser atribuída provavelmente a um subproduto da fermentação ou nutriente do meio de cultivo, sendo necessárias outras análises para determinar qual componente a caracteriza. De acordo com Sujitha *et al.* (2019), as bandas de absorção forte e larga a 3400cm⁻¹ e 3430cm⁻¹ correspondem ao alongamento de hidroxila. As bandas de absorção entre 2900 e 3050cm-1 correspondem ao alongamento C-H dos grupos aldeído, CH₂ ou CH₃. O pico em 1709 cm⁻¹ foi devido ao alongamento das vibrações de carbonil (CO) dos grupos acetil. Os picos característicos de 1639,4 cm⁻¹ e 1416,9 cm⁻¹ foram atribuídos à vibração de estiramento do carboxil. Uma forte absorção do grupo carbonila foi detectada entre 1640-1700cm⁻¹. O ângulo de deflexão C-H e a vibração de alongamento C-O-C foram observados na faixa de 1410-1420cm⁻¹ e 1020-1125cm⁻¹.

5.6 TERMOGRAVIMETRIA

A curva termogravimétrica da goma xantana produzida com meio alternativo apresentou perfil térmico similar a curva termogravimétrica da goma xantana comercial (Figura 7) indicando três etapas de perda de massa atribuídas a desidratação e decomposição do polímero (Tabela 5).

Figura 7 – Curvas termogravimétricas da goma xantana comercial (GXC) e goma xantana produzida por meio alternativo de soro de leite caprino (GXSL2) pela Xanthomonas campestris, código UFPEDA 585.



Amostra	Intervalo de temperatura (°C)	Perda de massa (%)
Goma xantana comercial (GXC)	23-152	14,3
	190-341	44,5
	345-700	17,3
	resíduo	23,9
Goma xantana produzida com soro de leite (GXSL)	23-97	1,5
, ,	105-402	41,4
	402-700	10,6

Tabela 5 – Intervalos de temperatura e percentuais de perda de massa das gomas.

resíduo

O primeiro evento de perda de massa é atribuído à perda de água, ou desidratação. No segundo evento de perda de massa, ocorre a decomposição do biopolímero, e está associado à ruptura das principais ligações de goma xantana.

46,5

Considerando a temperatura inicial da segunda etapa de perda de massa (início do processo de decomposição) a goma produzida com soro de leite apresentou menor estabilidade térmica atribuída a mudanças estruturais provocadas por diferentes fontes de carbono. Ou seja, houve decomposição de massa a partir da aplicação de 105 °C de temperatura.

6 CONCLUSÕES

- A goma xantana foi produzida utilizando a estirpe Xanthomonas campestris, código UFPEDA 585 em meio de soro de leite caprino utilizando agitação a 180 rpm, temperatura de 28 °C ± 2 °C e tempo de fermentação de 72 horas.
- O meio alternativo soro de leite apresentou maior produção quando comparado com o meio tradicional sacarose, sendo promissor na produção de goma xantana, contribuindo assim para a diminuição do custo de produção da goma e tornando-se uma alternativa de utilização do soro de leite caprino oriundo das queijarias.
- O espectro FTIR da goma xantana produzida com soro de leite apresentou bandas características do padrão comercial de goma xantana, confirmando que a estirpe Xanthomonas campestris, código UFPEDA 585, pode ser utilizada para a produção de goma xantana.
- As curvas termogravimétricas da goma xantana produzida com soro de leite e da goma xantana comercial apresentaram perfil térmico semelhante. No entanto a goma produzida com soro de leite apresentou menor estabilidade térmica, possivelmente atribuída a mudanças estruturais provocadas por diferentes fontes de carbono.
- A goma xantana produzida apresentou baixa viscosidade mas comportamento reológico
 pseudoplástico característico das soluções de polímeros de polissacarídeos. Como a
 viscosidade depende da massa molecular sugere-se que a goma obtida apresenta baixa

- massa molecular. Para goma xantana com baixa viscosidade destacam-se aplicações na retenção de aromas e agentes suspensivos.
- Considerando a produção e a viscosidade da goma xantana oriunda da fermentação dos meios pela estirpe Xanthomonas campestris, código UFPEDA 585, outros testes podem ser aplicados para otimizar o processo fermentativo.

<u>REFERÊNCIAS</u>

Aditivos Ingredientes. **Os Tipos de Gomas e suas Aplicações na Indústria**, Editora Insumos, n. 116, mar. 2015. Disponível em:

https://aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201601/2016010030333001453488327.p df. Acesso em: 19 ago. 2018.

ALVES, M. P. *et al.* Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 3, p. 212-226, maio/jun. 2014. Disponível em: https://doi.org/10.14295/2238-6416.v69i3.341. Acesso em: 16 abr. 2019.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução – RDC 45, de 03** de novembro de 2010. Dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as boas práticas de fabricação – BPF. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Resolu%25C3%25A7%25C3%25A3o%2Bda%2BDiretoria%2BColegiada%2B%2BRDC%2Bn%2B%2B45%2Bde%2B03%2Bde%2Bnovembro%2Bde%2B2010.pdf/23734a57-21c1-4f71-9916-c6fa09edb8c5. Acesso em: 16 abr. 2019.

COSTA, M. R. M. F. da; NUCCI, E. R.; OLIVEIRA JR, E. N. Produção de goma xantana a partir de soro de leite. *In*: **XX** Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Blucher Chemical Engineering Proceedings, volume 1, 2015, p. 1319-1326, ISSN 2359-1757. Disponível em: http://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/produo-de-goma-xantana-a-partir-de-soro-de-leite-16772. Acesso em: 5 fev. 2018.

DEMIRCI, A. S. *et al.* Xanthan gum biosynthesis using Xanthomonas isolates from waste bread: Process optimization and fermentation kinetics. **LWT**, v. 101, p. 40–47, mar. 2019. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643818309691. Acesso em: 2 set. 2019.

Dossiê Estabilizantes. Food Ingredients Brasil, Editora Insumos, n° 38. 2016. Disponível em: https://document.onl/documents/dossie-estabilizantes-estabilizantes-fib-food-revista-ficombruploadarquivos20160720160.html. Acesso em: 10 out. 2018.

Dossiê Gomas. Food Ingredients Brasil, Editora Insumos, n° 32. 2015. Disponível em: http://www.revista-fi.com/materias/441.pdf. Acesso em: 19 ago. 2018.

DRUZIAN, J. I.; PAGLIARINI, A. P. Produção de goma xantana por fermentação do resíduo de suco de maçã. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol. 27(1), p. 26-31, jan-mar, 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000100005. Acesso em: 23 ago. 2018.

FORNARI, R. C. G. Aproveitamento de soro de queijo para a produção de goma xantana. 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. Erechim, RS. 2006. Disponível em: http://uricer.edu.br/eal_hp/DissertPDF/Turma2004/DissertRejaneGollo2006.pdf. Acesso em: 2 fev. 2018.

INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de Alimentos**. Edição IV. 1ª edição digital. 2008. São Paulo, SP. Disponível em:

- http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.p df?attach=true. Acesso em: 14 jun. 2016.
- LOPES, B. de M.; LESSA, V. L; SILVA, B. M; CARVALHO FILHO, M. A. da S.; SCHINITZLER, E.; LACERDA, L. G. xanthan gum: properties, production conditions, quality and economic perspective. **Journal of Food and Nutrition Reseach.** Vol. 54, N° 3, p. 185-194, 2015. Disponívem em: http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=SK2016013996. Acesso em: 14 abr. 2019.
- LUVIELMO, M. DE M.; SCAMPARINI, A. R. P. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos Tecnológicos**, vol. 5, n° 1, p. 50-67, 2009. Disponível: http://www.revistas.unisinos.br/index.php/estudos_tecnologicos/article/view/4964/2210. Acesso em: 21 set. 2018.
- MESOMO, M. C. **Produção de goma xantana em biorreator utilizando meio à base de soro de queijo**. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. Erechim, RS. 2007. Disponível em: http://www.uricer.edu.br/cursos/arq trabalhos usuario/572.pdf. Acesso em: 22 jun. 2018.
- NERY, T. B. R.; BRANDÃO, L. V.; ESPERIDIÃO, M. C. A.; DRUZIAN, J. I. Biossíntese de goma xantana a partir da fermentação de soro de leite: rendimento e viscosidade. **Química Nova,** vol. 31, n° 8, p. 1937-1941, 2008. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422008000800004&script=sci abstract&tlng=pt. Acesso em: 2 fev. 2018.
- PEREIRA, E. L.; FERRAZ, A. T. Bioprocessos para a produção de goma xantana utilizando resíduos agroindustriais como matérias-primas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 14, n. 2, p. 756-776, ago/dez. 2016. Disponível em: http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/3167. Acesso em: 26 jun. 2018.
- PETRI, D. F. S. Xanthan gum: a versatile biopolymer for biomedical and technological applications. **Journal of applied polymer Science,** v. 132, p. 23, 2015. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/app.42035. Acesso em: 26 jun. 2018.
- ROHLFES, A. L. B.; et al. Aproveitamento de subproduto de agroindustrias do setor queijeiro para desenvolvimento de produtos alimentícios e redução de impacto ambiental. **Tecnológica. Santa Cruz do Sul**, v. 18, n. 1, p. 13-18, jan-jun. 2014. Disponível em: https://online.unisc.br/seer/index.php/tecnologica/article/view/4077. Acesso em: 26 jun. 2018.
- SILVA, G. DE S; SCHIMTED, C. A. Prospecção tecnológica da produção de goma xantana ao longo dos anos. **Caderno Prospec**, v. 8, n° 1, p. 92-101, jan-mar, 2015. Disponível em: https://portalseer.ufba.br/index.php/nit/article/view/11584. Acesso em: 21 set. 2018.
- SILVA, J. A. da. *et al.*. Bioconversão de celulose microcristalina à goma xantana. *In:* **XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. Fortaleza, CE. 2016. Anais. Disponível em: https://proceedings.science/cobeq/cobeq-2016/papers/bioconversao-de-celulose-microcristalina-a-goma-xantana?lang=pt-br. Acesso em: 26 jun. 2018. SILVA, L. C. C da. **Utilização do soro de leite em bioprocesso para a produção de goma**

xantana. 2017. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e

- Derivados). Universidade Federal de Juiz de Fora. 2017. Disponível em: https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/4074. Acesso em: 2 fev. 2018.
- SOARES, C. D. M. Avaliação do leite de cabra cru, cru congelado, queijo minas frescal e do soro por diferentes períodos de tempo. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2014. Disponível em: http://repositorio.ufsm.br/handle/1/5766. Acesso em: 22 jun. 2019.
- SOBENES J.; MONTE ALEGRE R. Producão de goma xantana por x. Campestris atcc 13951 utilizando soro de queijo desproteinado. **Rev. Ion**. 2015; v. 28(2), p. 69-77, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.18273/revion.v28n2-2015006. Acesso em: 19 ago. 2018.
- SOUZA, D. M. de; GARCIA-CRUZ, C. H. Produção fermentativa de polissacarídeos extracelulares por bactérias. **Semina: ciências agrárias,** v. 25, n° 2, p. 253-262, jul-dez, 2004. Disponível em:
- https://www.researchgate.net/publication/276846166_Producao_fermentativa_de_polissacarid eos_extracelulares_por_bacterias. Acesso em: 23 ago. 2018.
- SUJITHRA, B.; DEEPIKA, S.; AKSHAYA, K.; PONNUSAMI, V. Production and optimization of xanthan gum from three-step sequential enzyme treated cassava bagasse hydrolysate. **Biocatalysis and Agricultural Biotecnology**, v. 21. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818119307844. Acesso em: 10 set. 2019.
- TRINDADE, R. A.; MUNHOZ, A. P.; BURKERT, C. A. V. Caracterização da goma xantana produzida por *Xanthomonas campestris* pv. *Mangiferaeindicae* IBSBF 1230 utilizando diferentes fontes de carbono. *In:* **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química.** Florianópolis, SC. 2014. Disponível em: http://www.proceedings.blucher.com.br/articledetails/caracterizao-da-xantana-produzida-por-xanthomonas-campestris-pv-mangiferaeindicae-ibsbf-1230-utilizando-diferentes-fontes-de-carbono-17129. Acesso em: 21 set. 2018.

ANEXO 1 – DECLARAÇÃO DE LIBERAÇÃO DE RESPONSABILIDADE

Coleção UFPEDA

Departamento de Antibióticos Centro de Ciências Biológicas Universidade Federal de Pernambuco Av. Prof. Artur de Sá, s/n CEP: 50.740-520

tel.: (81) 21268347 fax: (81) 21268346

e-mail:colecao_ufpeda@yahoo.com.br

COLEÇÃO DE MICRORGANISMOS

ADM-REG-013

Assunto: Declaração de liberação de responsabilidade

(1) Marta Maria da Conceição exercendo as funções de <u>Professora Associada</u> na (2) <u>UFPB</u> declara ter conhecimento de, e aceitar que, a Coleção UFPEDA não se responsabiliza por quaisquer eventuais danos ou acidentes que possam resultar do envio e/ou manuseio das seguintes culturas, cujo fornecimento foi solicitado:

Nome da espécie	Código UFPEDA
Kanthomonas campestris	585

(3) Leape	, aos <u>_{</u> de	Fevereixo	de 20 <u>14</u> .
(1) Nome			
(2) Instituição a que está vinculado)		

Curadora Coleção UFPEDA