



Produção de goma xantana por cepa selvagem de *Xanthomonas* spp. usando soro de leite como substrato na fermentação

Xanthan gum production by the wild strain of *Xanthomonas* spp. using whey as fermentation substrate

F. S. Ferraz¹; A. C. A. B. Rodrigues²; D. J. M. Abreu²; R. V. Souza¹; A. F. Almeida¹; C. C. A. Santos^{1*}

¹Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Tocantins, 77001-090, Palmas-TO, Brasil

²Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins, 77404-970, Gurupi-TO, Brasil

*claudiauler@uft.edu.br

(Trabalho avaliado e selecionado pela Comissão do III CTOCTA)

A goma xantana é um biopolímero microbiano de grande importância na indústria alimentícia. A produção desse polissacarídeo é influenciada diretamente pelas condições de cultivo, linhagens e substratos empregados como sacarose e glicose, o que tornam o processo oneroso. A busca por linhagens que apresentem boa relação quantidade/qualidade e por substratos que diminuam o custo de produção, como por exemplo os resíduos agroindustriais, tem sido foco de pesquisas recentes. O presente estudo visou produzir goma xantana utilizando o soro de leite em substituição parcial da sacarose no meio de fermentação, na proporção de 1:1. Utilizou-se a cepa selvagem de *Xanthomonas* sp. MN37.2, isolada de tecidos foliares de mangueira. A Fermentação controle foi conduzida com meio contendo 50g/L de sacarose. As fermentações foram realizadas à 28°C, à 180 rpm por 96 horas. O pH decaiu de 6,54 para 5,18 durante o processo fermentativo da cepa e a população de células viáveis aumentou de 10,15 log UFC/mL para 11,69 log UFC/mL. O rendimento de produção da goma na fermentação com adição de soro de leite foi de 62,13% quando comparado à fermentação com sacarose como única fonte de carbono, sendo 30,35 g/L e 48,85 g/L, respectivamente. Portanto, o soro de leite demonstra potencial para ser empregado como substrato de baixo custo na obtenção de goma xantana por bactérias do gênero *Xanthomonas*. Entretanto, estudos de otimização da formulação do meio de fermentação, bem como controle das etapas de recuperação da goma devem ser realizados afim de viabilizar a utilização em escala industrial desse subproduto.

Palavras-chaves: *Xanthomonas*, resíduos, biopolímero.

Xanthan gum is a microbial biopolymer of great importance in the food industry. The production of this polysaccharide is directly influenced by the cultivation conditions, strains and substrates used as sucrose and glucose, which make the process onerous. The search for strains that present a good quantity/quality ratio and for substrates that reduce the cost of production, such as agro-industrial residues, has been the focus of recent research. The present study aimed to produce xanthan gum using whey in partial replacement of sucrose in the fermentation medium, in a ratio of 1:1. The wild strain of *Xanthomonas* sp. MN37.2, isolated from mango leaf tissue. Control fermentation was carried out with medium containing 50g/L of sucrose. Fermentations were carried out at 28°C, at 180 rpm for 96 hours. The pH dropped from 6.54 to 5.18 during the fermentation process of the strain and the viable cell population increased from 10.15 log CFU/mL to 11.69 log CFU/mL. The gum production yield in the fermentation with the addition of whey was 62.13% when compared to the fermentation with sucrose as the only carbon source, being 30.35 g/L and 48.85 g/L, respectively. Therefore, whey demonstrates potential to be used as a low-cost substrate for obtaining xanthan gum by bacteria of the genus *Xanthomonas*. However, studies to optimize the formulation of the fermentation medium, as well as control the stages of gum recovery, must be carried out in order to enable the use of this by-product on an industrial scale.

Key words: *Xanthomonas*, waste, biopolymer.

1. INTRODUÇÃO

Polissacarídeos microbianos são polímeros extremamente importantes por terem capacidade de formar géis e soluções viscosas. A goma xantana (GX) é um dos polímeros mais importantes

comercialmente, pois possui características reológicas especiais em comparação com outras gomas, como alta viscosidade em baixas concentrações, pseudoplasticidade e estabilidade em uma ampla faixa de pH. Sendo então, utilizada como espessante, estabilizador e emulsificante nas indústrias farmacêutica, de petróleo e de alimentos [1].

A GX é um exopolissacarídeo, produzido por fermentação, empregando bactérias do gênero *Xanthomonas sp.* O processo fermentativo de obtenção da GX é diretamente influenciado por condições de cultivo, substratos e linhagens [2]. Assim, devido à clara dependência do metabolismo dos microrganismos utilizados, rendimento e propriedades da GX, o primeiro passo que precisa ser adotado para um processo específico de produção é a seleção de linhagens [3]. Nesse sentido, o isolamento de microrganismos a partir de recursos naturais tem sido utilizado como importante ferramenta na busca por cepas que apresentem alto rendimento no processo de bioconversão e obtenção de GX com qualidade reológica [4].

O Brasil é um grande importador de GX, toda a demanda de mercado provém de importações [1]. Entretanto, o país tem elevado potencial econômico para fabricação deste polímero em escala industrial, por ser detentor de matérias-primas básicas de menor custo como os resíduos agroindustriais e álcool proveniente do setor sucroalcooleiro. Assim, o Brasil apresenta-se numa posição vantajosa e competitiva, pois sob o aspecto comercial o custo do meio de fermentação é um fator crítico do processo de produção do polissacarídeo [5].

As fontes de carbono preferenciais utilizadas na produção de goma xantana são glicose e sacarose, que possuem um elevado custo e resultam na alta de preço do produto final [6]. No entanto fontes alternativas têm sido sugeridas, visando principalmente o aproveitamento de resíduos gerados pela agroindústria e a redução do custo total de produção para a CX [7]. O reaproveitamento de tais resíduos em processos biotecnológicos objetiva agregar valor e diminuir a demanda de material descartado sem que seu potencial seja explorado [8].

O soro de leite é um subproduto do leite rico em nutrientes, como proteínas, vitaminas, sais minerais e lactose (4% a 5%) e é economicamente viável em processos fermentativos, sendo um dos resíduos que pode vir a substituir a glicose e a sacarose [9]. A grande vantagem do uso do soro neste processo, é o baixo custo na obtenção da GX e o adequado aproveitamento desse material que é de fácil obtenção e abundante em todo o Brasil, inclusive na Amazônia Legal.

Tendo em vista que selecionar substratos alternativos e novas linhagens de *Xanthomonas sp.* são importantes para fomentar o uso sustentável da biodiversidade e o aumento da produção brasileira de goma xantana, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de produção desse biopolímero utilizando cepa selvagem de *Xanthomonas spp.* MN 37.2. Ademais, se avaliou a viabilidade de substituição parcial da sacarose pelo soro de leite como fonte de carbono no processo fermentativo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras do soro de leite utilizadas no trabalho foram adquiridas de um agricultor local no município de Gurupi, Tocantins, Brasil. As amostras foram coletadas assepticamente e armazenadas sob temperatura de congelamento até o início das análises.

2.1 Análise da composição centesimal do soro de leite

Os parâmetros analisados para a composição centesimal do soro de leite foram: teor de cinzas e umidade, lipídios, proteínas e carboidratos. Sendo o teor de cinzas e umidade determinados seguindo a metodologia e os cálculos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) [10].

Para a quantificação de lipídios e proteínas das amostras, utilizou-se os métodos de Gerber e Kjeldahl, respectivamente [11, 12]. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em valores médios e desvio padrão. Quanto a determinação de carboidratos utilizou-se o método de Antrona [13].

2.2 Produção da goma xantana

A produção de GX foi realizada com a cepa MN 37.2 componente do banco de microrganismos do Laboratório de Biotecnologia / Análise de Alimentos e Purificação de Produtos (LABAP) da Universidade do Estado do Tocantins – UET, que foi isolada a partir de folhas de mangueira (*Mangifera indica*) que continham sinais de patologia causada por *Xanthomonas sp.*, a cepa apresentou resultados morfo-celulares e bioquímicos condizentes com características de *Xanthomonas sp.*, descritas por Holt e Bergey (1994) [14], podendo ser observado na Tabela 1.

Tabela 1: Caracterização morfo-celular e bioquímica do isolado MN 37.2.

Código	Gram	-
	Forma	Bastonetes
	Agrupamento	Curtos
	KOH	+
	Catalase	+
	Oxidase	-
	Motilidade	+
	Gelatinase	-
	Indol	+
	Hidrólise do amido	+
	H ₂ S	+
	DPP-MF	+
	DPP-CMC	+

Legenda: DPP- Detecção de Polissacarídeo em Placa; CMC- Carboximetilcelulose.

Como substrato para substituição parcial da sacarose foi utilizado o soro de leite, na proporção de 1:1. As etapas do processo são descritas na sequência do fluxograma (Figura 1).

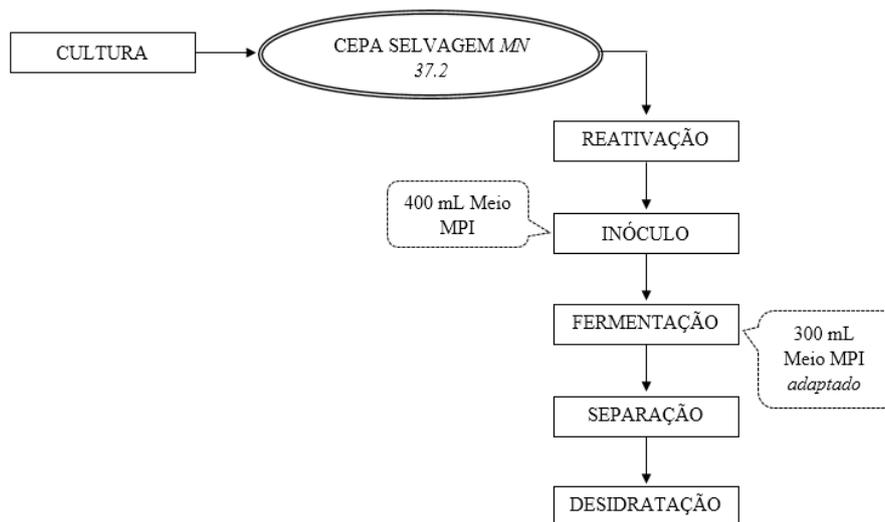


Figura 1: Fluxograma da produção de goma xantana.

2.3 Preparo do inóculo

Para o preparo do inóculo, a cepa MN 37.2 foi reativada previamente em meio MP-I sólido cuja composição em g/L é: 50 de sacarose, 5 de KH₂PO₄, 0,2 de MgSO₄.7H₂O,

2 de $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$, 2 de Ácido Cítrico, 0,0060 de H_3BO_3 , 0,0040 de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,0020 de CaCl_2 , 0,0034 de ZnSO_4 e 15 de Ágar Bacteriológico [3]. As placas foram incubadas por 48 horas à $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Retirou-se uma colônia isolada e transferiu-se asépticamente para um tubo contendo 2 mL de meio MP-I líquido (sem ágar). Após o período de incubação, 24 horas à $28 \pm 2^\circ\text{C}$, centrifugou-se em velocidade de 4000 rpm por 15 minutos, descartou-se o sobrenadante de forma a se conservar o *pellet*. O *pellet* foi transferido para um Erlenmeyer contendo 10 mL de meio líquido MP-I, incubou-se em agitador orbital Lucadema® em uma velocidade de 120 rpm à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. As células foram novamente centrifugadas descartando-se o sobrenadante e conservando o *pellet* que foi transferido para um Erlenmeyer contendo 50 mL do mesmo meio e incubou-se sob as mesmas condições. Repetiu-se todo o processo para a passagem do *pellet* para um Erlenmeyer contendo 400 mL do meio MP-I, e procedeu-se novamente os passos citados anteriormente.

2.4 Processo fermentativo

Para a produção da goma Xantana foi inoculado cerca de 20% v/v do meio fermentativo composto por meio MP-I modificado para a proporção de 1:1 (soro de leite – sacarose) e a fermentação foi conduzida em batelada realizada em incubadora orbital a 250 rpm, temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ por 120 horas [15]. Foram realizadas três repetições para o isolado previamente caracterizado e selecionado para a produção. Como controle foram realizadas fermentações com meio MP-I tendo a sacarose $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ como única fonte de carbono.

2.5 Recuperação da goma xantana

A recuperação de GX foi realizada de acordo com Brandão et al. (2013) [15]. O caldo fermentado foi centrifugado em velocidade de 4000 rpm por 40 minutos, o sobrenadante foi separado do *pellet*. Ao sobrenadante foram adicionadas 3 partes de álcool etílico 98°GL para 1 parte de caldo fermentado, para precipitação da goma. Essa foi separada com o auxílio de um bastão de vidro e transferida para placas previamente taradas. A goma produzida foi armazenada em estufa à 30°C por 72 horas. O rendimento da goma foi mensurado por gravimetria expressa em g de GX por litro de meio fermentativo (g/L). A goma foi então retirada das placas e armazenada em embalagens plásticas. O *pellet* restante não foi descartado antes de se realizar a quantificação de massa celular, determinado em estufa à 60°C por 24 horas e então pesado em balança analítica.

2.6 Cinética do processo fermentativo

Para verificar o consumo de substrato, a produção da goma e da biomassa foi realizado a cinética do processo fermentativo. O consumo do substrato foi mensurado através de açúcares redutores presentes no caldo de fermentação [16]. A produção do biopolímero foi quantificada, seguindo o procedimento de recuperação da GX. Para a produção de biomassa foi utilizada técnica de plaqueamento por microgota, na qual foi expressa em log UFC/mL. Para os cálculos de cinética do processo fermentativo, utilizou-se as equações descritas por Hiss (2001) [17], para um tempo final de fermentação de 96 horas.

2.7 Análises físico-químicas

2.7.1 Análise de açúcares redutores e mensuração de pH

Os açúcares redutores foram determinados seguindo o método de DNS descrito por Moldonade et al. (2013) [18], utilizando ácido 3,5 dinitrosalícílico. A partir dos dados obtidos e

da curva de calibração, construída de acordo com Miller (1959) [16], foi possível averiguar a variação dos açúcares redutores ao longo do processo, considerando a diluição, quando houvesse.

Quanto a mensuração do pH (pHmetro, mPA210), essa foi realizada de acordo com o método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (1985) [10].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização físico-química do soro de leite

A caracterização do soro de leite foi efetuada para determinar os constituintes nutricionais presentes no substrato que integrou o meio fermentativo. Os resultados obtidos (média \pm desvio padrão) para as análises físico-químicas do soro de leite estão elucidados na Tabela 2.

Tabela 2: Análises físico-químicas do soro de leite.

Análise	Resultados
Umidade (%)	92,92 \pm 0,032
Cinzas (%)	0,48 \pm 0,0033
Proteína Bruta (%)	1,08 \pm 0,12
Lipídeos totais (%)	0,43 \pm 0,11
Carboidratos (%)	4,54 \pm 0,02

O soro de leite apresentou alto teor de umidade 92,92%. O teor de cinzas quantificado foi de 0,48%. Os valores para proteínas e lipídeos foram, respectivamente, 1,08% e 0,43%. Quanto aos carboidratos o percentual encontrado foi de 4,54%. Os valores determinados neste trabalho apresentam-se semelhantes aos relatados por Nery et al. (2008) [19], que encontraram valores de 93,39% para umidade, 0,47% para cinzas, 2,24% para proteínas, para lipídeos 0,46% e 3,44% de carboidratos, quando avaliaram o soro de leite obtido da produção do queijo muçarela com leite desnatado, como substituto integral da sacarose na produção de goma xantana. Os requerimentos nutricionais mínimos necessários do meio fermentativo para a biossíntese de goma xantana são fontes de carbono, nitrogênio e fosfato, a utilização desses compostos é de elevada importância na fermentação por linhagens de *Xanthomonas sp.* pois servirão, não só para o crescimento da biomassa, como também para a biossíntese da goma xantana.

Algumas rotas metabólicas fazem parte da síntese da goma xantana, a via Entner-Doudoroff é citada como a principal delas, a qual é responsável pelo desenvolvimento da biomassa. O catabolismo da glicose nessa via é cerca de 80% até o piruvato, o que dá sequência à via do ácido tri-carboxílico e a via da pentose-fosfato, em que metabolizam a glicose remanescente, sendo ainda a principal via responsável pela biossíntese da goma xantana [20].

De acordo com Palaniraj e Jayaraman (2011) [21], a formação da goma xantana pode ser dividida em três etapas: no início da primeira os açúcares simples serão acessados pelos microrganismos e convertidos a derivados do grupo uridil e assim os precursores GDP-manose, UDP-glicose e UDP-ácido glicurônico serão ativados. As subunidades de pentassacarídeos serão formadas durante a segunda etapa, juntamente com o carregamento de isopentilpirofosfato, os açúcares doarão sequencialmente seus resíduos para o aceptor lipídico isoprenilfosfato para a formação de uma unidade de pentassacarídeo-P-P-lipídeo. Por fim, na terceira etapa, são inclusas a polimerização e a excreção da goma. As unidades de pentassacarídeos serão polimerizadas formando a goma xantana, a sequência correta será garantida pelos carregadores fosfato-álcool-isoprenóides e lipídeos-isoprenóides. Os grupos acetil e piruvil serão introduzidos nesse último estágio da síntese e a etapa final do processo de biossíntese ocorre quando a goma é excretada

para o meio extracelular. O conhecimento do processo biossintético é de grande importância em estudos que objetivam maior controle e otimização da produção de goma xantana.

3.2 Produção de goma xantana

A cinética do processo fermentativo foi calculada a partir da biomassa, quantificação de açúcares redutores e do cálculo de rendimento da goma xantana. Os valores dos parâmetros cinéticos do processo fermentativo estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3: Parâmetros cinéticos da fermentação com cepa de *Xanthomonas* spp MN 37.2.

Parâmetros	Fermentações	
	Soro de leite	Sacarose
$Y_{x/s}$	n.d.*	0,5799
$Y_{p/s}$	n.d.*	7,4965
$Y_{p/x}$	11,66	0,0773
P_p (g.L ⁻¹ .h ⁻¹)	0,1508	0,0508

*n.d.: não determinado.

Para o experimento onde o substrato empregado na fermentação era composto por sacarose e soro de leite na proporção 1:1, o fator de conversão substrato – biomassa ($Y_{x/s}$) não pôde ser mensurado, pois ao longo das 96 horas de fermentação houve o aumento da concentração de açúcares redutores. Essa elevação nos teores de açúcares redutores indica a atividade enzimática pela *Xanthomonas* sp., ocorrendo a hidrólise da lactose, um dissacarídeo, em monossacarídeos, glicose e galactose. Para a fermentação realizada com sacarose como fonte exclusiva de carbono a cepa MN 37.2, obteve um fator de conversão substrato – biomassa ($Y_{x/s}$) de 0,579. O estudo dos fatores de conversão demonstra que quanto menor a eficiência da conversão do substrato em biomassa, representado por $Y_{x/s}$, melhor para o processo, já que valores baixos indicam maior disponibilidade de substrato para conversão em produto.

A conversão de substrato em produto ($Y_{p/s}$) para a fermentação controle foi de 7,4965, no entanto para a fermentação com soro de leite também não foi possível determinar este parâmetro, em decorrência do aumento de açúcares redutores. Sendo assim, sugere-se que a quantificação dos açúcares totais seja utilizada em detrimento dos açúcares redutores para avaliar a cinética microbiana.

Comparando-se a concentração de produto (P_p) obtida a partir do uso da sacarose, fonte de carbono comumente utilizada em processos fermentativos industriais, com o valor obtido com a fermentação contendo soro de leite, nota-se que o rendimento é maior para a bioconversão a partir da fonte alternativa, sendo 0,1508 g.L⁻¹.h⁻¹. Este valor é compatível com o de Brandão et al. (2013) [15], que obtiveram uma concentração de produto equivalente a 0,21 g.L⁻¹.h⁻¹ ao realizar a fermentação da espécie *Xanthomonas campestris* pv. *magiferaeindicae* no meio convencional composto por 2% de sacarose e 0,36 g.L⁻¹.h⁻¹ em meio complexo composto por glicerina. Sendo assim, pode-se inferir que a substituição parcial da sacarose pelo soro de leite proporcionou uma alta produção de goma xantana, devendo então ser otimização das condições de cultivo e de fermentação para se conseguir atingir um processo de produção de goma xantana viável, que possa vir a ser aplicado industrialmente.

A Figura 2 mostra a cinética do processo fermentativo da cepa selvagem de *Xanthomonas* sp. MN 37.2 para a fermentação controle, com sacarose como única fonte de carbono e para o substrato contendo soro de leite em sua composição.

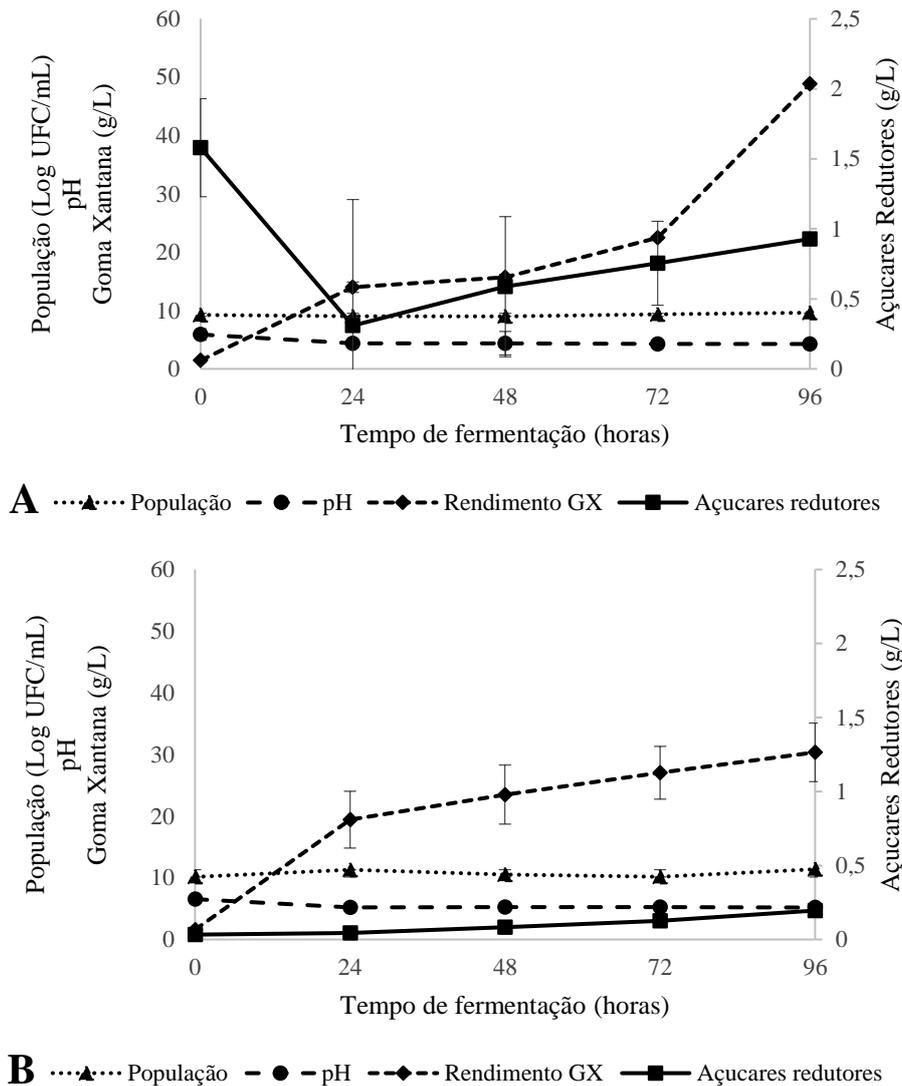


Figura 2: Cinética do processo fermentativo da cepa selvagem MN 37.2: A) Fermentação com sacarose como única fonte de carbono; B) Fermentação com substituição parcial da sacarose por soro de leite.

No meio com adição do soro de leite, que além de sacarose possui lactose, constatou-se aumento da população inicial de $10,15 \log UFC/mL$ para uma população final de $11,69 \log UFC/mL$. Entretanto, como não foi possível observar uma fase estacionária, o processo fermentativo pode não ter chegado ao fim, pois ainda apresentava carboidratos disponíveis. Sugere-se, portanto, um aumento do tempo de fermentação a fim de verificar o comportamento da cepa MN 37.2 após as 96 horas. Ademais, para melhor adaptar a cepa ao meio contendo soro de leite, sugere-se reformular o meio de cultura para a produção do inóculo, inserindo o soro de leite gradativamente durante o crescimento, podendo desta forma, acelerar a metabolização da lactose durante o processo fermentativo para produção da goma xantana.

O rendimento de produção da goma xantana pela cepa MN 37.2 foi de $30,35 g \cdot L^{-1}$, valor superior aos obtidos por outros autores que também utilizaram soro de leite como substrato. Nery et al. (2008) [19], obtiveram rendimentos de $12,36$ e $21,91 g \cdot L^{-1}$ para duas estirpes diferentes. O meio utilizado era composto apenas por uréia, K_2PO_4 e o soro de leite, como fontes de nitrogênio, potássio e carbono, respectivamente, ou seja, a substituição da sacarose pelo resíduo foi total. As condições de cultivo, exceto a temperatura, também foram diferentes (250 rpm por 120 h). Diniz et al. (2012) [22], utilizaram as mesmas condições que os autores anteriormente citados, entretanto, a composição do meio de fermentação foi diferente, pois utilizaram 0,1% de extrato de levedura, 1,5% de lactose, 0,5% de K_2PO_4 , 0,1% de NaCl, 0,01 de $MgSO_4$ e 0,2% NH_4Cl . O

rendimento de Goma Xantana nesse estudo foi de $12,01 \text{ g.L}^{-1}$ pela estirpe *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*.

Outro parâmetro importante na produção de goma xantana é o pH, que decaiu durante o processo fermentativo, variando de 6,54 a 5,18. A literatura descreve que os melhores intervalos de pH para produção de goma e qualidade do polímero estão entre 7,0 e 8,0 [23]. Sugere-se assim, um maior controle dessa variável, para que se obtenção de goma de boa qualidade e até um maior rendimento, visto que o pH tem influência direta sobre o metabolismo e atividade enzimática.

4. CONCLUSÃO

O soro de leite apresentou composição viável para ser empregado como substrato para fermentação por bactérias do gênero *Xanthomonas*. A cepa selvagem de *Xanthomonas spp.* MN 37.2 apresentou resultados superiores aos anteriormente descritos na literatura para a produção de goma xantana, utilizando o soro de leite como substituto parcial da sacarose, sendo o rendimento obtido de 30,35%. Portanto, podemos inferir que o soro de leite apresenta potencial de emprego na produção de goma xantana. Ademais, maiores estudos para controle e otimização do processo, definição de parâmetros para recuperação da goma, bem como a caracterização do produto obtido devem ser realizados a fim de viabilizar a utilização do mesmo em escala industrial.

5. AGRADECIMENTOS

Agradecimentos ao Programa Institucional de Iniciação Científica da Universidade Federal do Tocantins pela concessão de bolsa de estudos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gondim TS, Pereira RG, Fiaux SB. Xanthan gum production by *Xanthomonas axonopodis* pv. *mangiferaeindicae* from glycerin of biodiesel in different media and addition of glucose. *Acta Sci. Biol Sci.* 2019 Apr;41(1):e43661. doi: 10.4025/actasciobiolsci.v41i1.43661
2. Murad HA, Abo-Elkhair AG, Azzaz HH. Production of xanthan gum from nontraditional substrates with perspective of the unique properties and wide industrial applications. *JSMC Microbiol.* 2019 Jun;1:6.
3. Luvielmo MM, Vendruscolo CT, Scamparini ARP. Seleção de linhagens de *Xanthomonas campestris* para a produção de goma xantana. *Semina.* 2007 Dez;28(2):161. doi: 10.5433/1679-0375.2007v28n2p161
4. Antunes AEC, Moreira AS, Vendruscol JLS, Vendruscolo CT. Síntese de biopolímeros xantana em meios convencionais e alternativos: viscosidade x composição. *Rev Bras Agrociê.* 2000 Maio;6(12):123-5. doi: 10.18539/cast.v6i12.316
5. Pereira EL, Ferraz AT. Bioprocessos para produção de goma xantana utilizando resíduos agroindustriais como matérias-primas. *Rev Univ Vale Rio Verde.* 2016 Dez;14(2):756-76. doi: 10.5892/ruvrd.v14i2.3167
6. Li P, Li T, Zeng Y, Li X, Jiang X, Wang Y, et al. Biosynthesis of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* LREL-1 using kitchen waste as the sole substrate. *Carbohydrate Polymers.* 2016 Oct;151:684-91. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.06.017
7. Silva JA, Cardoso LG, Assis DJ, Gomes GVP, Oliveira MBPP, Souza CO, et al. Xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* IBSBF 1866 and 1867 from lignocellulosic agroindustrial wastes. *Appl Biochem Biotechnol.* 2018;186:750-63. doi: 10.1007/s12010-018-2765-8
8. Niknezhad SV, Asadollahi MA, Zamani A, Biria D. Production of xanthan gum by free and immobilized cells of *Xanthomonas campestris* and *Xanthomonas pelargonii*. *Int J Biol Macromol.* 2016 Jan;82:751-6. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.10.065
9. Oliveira DF, Bravo CEC, Tonial IB. Whey of milk: a valuable product. *Rev Inst Laticínios Cândido Tostes.* 2012 Mar/Abr;67(385):64-71. doi: 10.5935/2238-6416.20120025
10. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Volume 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo: IMESP; 2008.

11. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA); Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/RS). MET POA/03/03/02: Determinação de lipídios em leite fluido pelo Método de Gerber. Brasília (DF): MAPA; 2014.
12. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA); Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO/RS. MET POA/11/02/01: Determinação de nitrogênio total em leite e derivados lácteos pelo Método de Micro-Kjedahl. Brasília (DF): MAPA; 2013.
13. Trevelyan WE, Harrison TS. Dosagem de glicídios totais pelo método de antrona. J Biochem. 1952;50:292.
14. Holt JG, Bergey DH. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9. ed. Baltimore (MD): W. & Wilkins; 1994.
15. Brandão LV, Assis DJ, López JA, Espiridião MCA, Echevarria EM, Druzian JI. Bioconversion from crude glycerin by *Xanthomonas campestris* 2103: xanthan production and characterization. Braz J Chem Engin. 2013 Dez;30(4):737-46. doi: 10.1590/s0104-66322013000400006
16. Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determinations of reducing sugar. Anal Chem. 1959;31(3):426-8. doi: 10.1021/ac60147a030
17. Hiss H. Cinética de processos fermentativos. In: Schmidell W, organizador. Biotecnologia Industrial. 2. ed. Vol. 2, Engenharia Bioquímica. São Paulo (SP): Edgard Blücher; 2001. p. 93-122.
18. Moldonade IR, Carvalho, PGB, Ferreira NA. Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. Brasília (DF): Embrapa Hortaliças; 2013. (Comunicado Técnico, 85).
19. Nery TBR, Brandão LV, Esperidião MCA, Druzian JI. Biossíntese de goma xantana a partir da fermentação de soro de leite: rendimento e viscosidade. Quim Nova. 2008 Nov;31(8):1937-41. doi: 10.1590/S0100-40422008000800004
20. Luvielmo MM, Scamparini ARP. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. Estudos Tecnológicos. 2009;5(1):50-67. doi: 10.4013/ete.2009.51.04
21. Palaniraj A, Jayaraman V. Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. J Food Engin. 2011 Set;106(1):1-12. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.03.035
22. Diniz DM, Druzian JI, Audibert S. Produção de goma xantana por cepas nativas de *Xanthomonas campestris* a partir de casca de cacão ou soro de leite. Polímeros. 2012 Jun;22(3):278-81. doi: 10.1590/s0104-14282012005000032
23. Habibi H, Khosravi-Darani K. Effective variables on production and structure of xanthan gum and its food applications: a review. Biocatal Agric Biotechnol. 2017 Abr;10:130-40. doi: 10.1016/j.bcab.2017.02.013