



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE
ALIMENTOS



THAÍS DE SOUZA SANTOS

**Biossíntese alternativa de goma xantana em água residual da
indústria de petróleo e resíduo de mandioca: produção e
caracterização**

Salvador
2021

THAÍS DE SOUZA SANTOS

Biossíntese alternativa de goma xantana em água residual da indústria de petróleo e resíduo de mandioca: produção e caracterização

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia- Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dr^a Carolina Oliveira de Souza

Salvador
2021

Dedico essa dissertação à minha mãe Lenia, meu esposo Camilo e à minha irmã Ana Maria, por todo amor, carinho, admiração e incentivo para que pudesse chegar até aqui. Vocês são a minha força.

“Em tudo dai graças; porque esta é a vontade de Deus.” (1 Tessalonicenses 5:18)

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por todo sustento, por nunca me desamparar durante esses sete anos entre graduação e mestrado. A ele toda honra e toda Glória.

À minha mãe, Lenia, pelo amor incondicional, por sempre incentivar a minha educação e acreditar que eu era capaz de ir tão longe. Ela é parte de tudo que sou e de tudo possa me tornar.

Ao meu esposo Camilo por toda dose de amor e preocupação. Obrigada por ser o meu maior motivador, por toda paciência e por estar sempre ao meu lado. Eu te amo.

À minha irmã Ana, por ser meu porto seguro e acreditar que eu seria capaz, que eu conseguiria e que eu chegaria aqui, obrigada por todo amor e cumplicidade de sempre.

Ao meu pai, à minha família e meus amigos, por todos os momentos de incentivo e apoio.

À professora Dr^a. Janice Izabel Druzian pela oportunidade, pelos ensinamentos e pelo amor a pesquisa.

À minha orientara professora Dr^a. Carolina Oliveira de Souza, por ser a minha inspiração quanto profissional, pelos ouvidos sempre atentos e coração sempre disposto a ensinar e ajudar. Obrigada por todos os ensinamentos ao longo desses anos.

A Denis pelos meses árduos de trabalho, por toda disponibilidade, atenção e conhecimento, você foi peça fundamental para o êxito desse projeto. A Gabriel por toda ajuda e treinamento.

Aos meus queridos amigos do LAPESCA, pelo apoio, troca de conhecimento, companheirismo e os diversos momentos de alegria. Em especial, a minha amiga Suellen, por dividir comigo vários desses momentos, tornando muitas vezes o fardo mais leve. A Thâmilla, Jamile, Gleice, Karina, Paulo Romano, Jania e Elba, que além de amigos, foram uma família em Salvador para mim.

À Universidade Federal da Bahia – UFBA, por meio do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos - PGAl pela oportunidade. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (134195/2019-1 e 440039/2019-3), pelo apoio e pela bolsa concedida.

E a todos que contribuíram de forma direta ou indiretamente para mais essa vitória.

Muitíssimo obrigada.

RESUMO

A goma xantana é um exopolissacarídeo microbiano que apresenta vasta aplicação industrial devido a propriedades desejáveis, tais como, elevada viscosidade, solubilidade em água, estabilização de emulsão e formação de gel. Nos últimos anos, estudos têm buscado avaliar a produção de goma xantana a partir da utilização de diferentes resíduos agroindustriais, a fim de reduzir custos e agregar valor aos produtos. Dessa maneira, este trabalho objetivou avaliar a produção de goma xantana em água residual da indústria petroquímica suplementada com resíduo do processamento da mandioca, bem como caracterizar os biopolímeros obtidos. Inicialmente foram avaliadas a composição físico-química e de metais na água residual da indústria petroquímica (água produzida) e a composição centesimal (umidade, proteína, lipídios, carboidratos e cinzas) do resíduo do processamento da mandioca. A produção foi realizada em shaker a 180 rpm, 30 °C, durante 72-96h de fermentação, sendo incorporado ao meio fermentativo 50 mL de água produzida e resíduo de mandioca (2% m/v). As gomas obtidas foram caracterizadas quanto à reologia (viscosidade aparente), índice de emulsificação, espectroscopia no infravermelho (FTIR) e estabilidade térmica (TGA/dTGA). A produção máxima foi obtida em 72 horas de fermentação (6,80 g L⁻¹), os resultados demonstram que não houve diferença significativa entre os tempos avaliados ($p \leq 0.05$). As viscosidades obtidas para as gomas foram 11,07 e 10,11 mPa·s, (72 e 96h respectivamente) a 25°C e 25s⁻¹ e à medida que a taxa de cisalhamento aumentou (1000s⁻¹), os valores de viscosidade reduziram (2,44 e 2,30 mPa·s para 72 e 96 h respectivamente), confirmando a sua característica pseudoplástica. O índice de emulsificação para as gomas de ambos os tempos, foi igual ou superior 50%, sendo considerado um bom agente emulsificante. Os resultados de FTIR demonstraram que as gomas obtidas nos diferentes tempos de fermentação apresentaram um comportamento espectral similar. As amostras apresentaram quatro eventos térmicos característicos da goma xantana e boa estabilidade térmica quando comparados com a goma comercial. Diante disto, os resultados mostram a possibilidade de produção de goma xantana em meio à água produzida e resíduo de mandioca.

Palavras-chave: Xantana; viscosidade; resíduos; *Xanthomonas axonopodis pv manihotis*

ABSTRACT

Xanthan gum is a microbial exopolysaccharide that has wide industrial application due to desirable properties such as high viscosity, water solubility, emulsion stabilization and gel formation. In recent years, studies have sought to evaluate the production of xanthan gum from the use of different agro-industrial residues, in order to reduce costs and add value to the products. Thus, this work aimed to evaluate the production of xanthan gum in wastewater from the petrochemical industry supplemented with cassava processing waste, as well as to characterize the biopolymers obtained. Initially, the physicochemical and metal composition of wastewater from the petrochemical industry (produced water) and the proximate composition (moisture, protein, lipids, carbohydrates and ash) of the cassava processing waste were evaluated. The production was carried out in a shaker at 180 rpm, 30 °C, during 72-96h of fermentation, with 50 mL of produced water and cassava residue (2% m/v) being incorporated into the fermentation medium. The gums obtained were characterized for rheology (apparent viscosity), emulsification index, infrared spectroscopy (FTIR) and thermal stability (TGA/dTGA). The maximum production was obtained in 72 hours of fermentation (6.80 g L⁻¹), the results show that there was no significant difference between the evaluated times ($p \leq 0.05$). The viscosities obtained for the gums were 11.07 and 10.11 mPa·s, (72 and 96h respectively) at 25°C and 25s⁻¹ and as the shear rate increased (1000s⁻¹), the values of viscosity reduced (2.44 and 2.30 mPa·s for 72 and 96h respectively), confirming its pseudoplastic characteristic. The emulsification index for the gums of both times was equal to or greater than 50%, being considered a good emulsifying agent. The FTIR results showed that the gums obtained at different times of fermentation showed a similar spectral behavior. The samples showed four thermal events characteristic of xanthan gum and good thermal stability when compared to commercial gum. Given this, the results show the possibility of producing xanthan gum, amid produced water and cassava residue.

Keywords: Xanthan; viscosity; waste; *Xanthomonas axonopodis pv manihotis*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

- Figura 1.** (A) Eletromicrografia de transmissão de *X. campestris* (x12000). (B) Colônias de *Xanthomonas spp.* em placa com ágar nutriente 15
- Figura 2.** Estrutura da goma xantana 19
- Figura 3.** Caminho de Entner - Doudoroff 21
- Figura 4.** Via metabólica da síntese de xantana e metabolismo da Glicose em *Xanthomonas Campestris* NRRL-1459 22
- Figura 5.** Fluxograma das etapas gerais de produção da goma xantana 24

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Viscosidade aparente das soluções de goma xantana a 0,5% (m/v) obtidas em diferentes tempos de fermentação (72 e 96h) em comparação com meio convencional (sacarose), em função da taxa de cisalhamento..... 59
- Figura 2.** Espectros FTIR das amostras de goma xantana nos tempos de fermentação 72 e 96 horas e goma comercial (Sigma)..... 63
- Figura 3.** Curvas TGA/DTG das amostras de xantana obtidas nos diferentes tempos de fermentação (72 e 96 horas) e da goma comercial Sigma 64

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Aplicações dos biopolímeros produzidos comercialmente em diversos setores.....	18
Tabela 2. Produção de goma xantana a partir de resíduos industriais.	31
Tabela 3. Caracterização físico-química do resíduo de mandioca.....	33

CAPÍTULO II

Tabela 1. Caracterização físico-química e de metais na Água produzida (AP)	57
Tabela 2. Valor médio da composição centesimal do resíduo da mandioca utilizado como substrato para a produção de goma xantana.	58
Tabela 3. Produção de goma xantana (g L^{-1}) em meio fermentativo produzido com cepa <i>Xanthomonas axonopodis pv manihotis</i> 1182 por 72h e 96 h (shaker).	58
Tabela 4. Parâmetros reológicos da goma xantana obtidas em diferentes tempos de fermentação e meio convencional (sacarose)..	60
Tabela 5. Índice de emulsificação da goma xantana em diferentes óleos em comparação a goma comercial	62
Tabela 6. Dados termogravimétricos das amostras de goma xantana fermentadas em Shaker (72 e 96 horas) e amostra comercial (Sigma).	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AP- Água produzida

ANOVA- Análise de Variância Simples

AOAC -Association of Official Analytical Chemists

EPS- Exopolissacarídeos

FAO – organização para alimentação e agricultura

FDA- Food and Drug Administration

FTIR – espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

GX- Goma Xantana

NRRL- Northern Regional Research Laboratories

IE- Índice de Emulsificação

INPI Instituto Nacional de Propriedade Industrial

TGA – Análise termogravimétrica

TG – Termogravimetria

DTG – Termogravimetria derivada

T_{onset} – Temperatura inicial de perda de massa

T_{endset} – Temperatura no final da degradação

$T_{\text{máx}}$ – Temperatura máxima de degradação

YM -Yeast Malt

n - índice de comportamento de escoamento

μ -viscosidade aparente

γ - taxa de cisalhamento

SÚMARIO

CAPÍTULO I: Revisão de Literatura

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos.....	13
1 <i>Xanthomonas</i> spp.	15
2 POLISSACARÍDEOS MICROBIANOS	16
3 GOMA XANTANA	18
3.1 Constituição química.....	19
3.2 Biossíntese de goma xantana	21
4 PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA	23
4.1 Fatores que influenciam na produção de goma xantana.....	25
4.1.1 Efeito da fonte de carbono e de nitrogênio	25
4.1.2 Efeito da temperatura	26
4.1.3 Efeito do pH.....	27
4.1.4 Efeitos dos sais.....	27
4.1.5 Efeitos da agitação e aeração	28
4.1.6 Efeito do tempo de fermentação	29
5 PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA COM DIFERENTES SUBSTRATOS	29
5.1 Resíduo de Mandioca.....	32
6 APLICAÇÃO DA GOMA XANTANA	33
6.1 Indústria de Alimentos	33
6.2 Indústria Petrolífera.....	34
6.2.1 Água produzida da indústria de petróleo.....	35
REFERÊNCIAS	37

CAPÍTULO II: Biossíntese alternativa de goma xantana em água residual da indústria de petróleo e resíduo de mandioca: produção e caracterização

RESUMO	47
ABSTRACT	48
1 INTRODUÇÃO	49
2 MATERIAL E MÉTODOS	50

2.1 Obtenção e caracterização da água produzida	50
2.2 Obtenção e caracterização do resíduo de mandioca.....	51
2.3 Reativação e manutenção do microrganismo	51
2.4 Inóculo.....	52
2.5 Produção de goma xantana.....	52
2.6 Recuperação da goma xantana.....	52
2.7 Viscosidade aparente.....	53
2.8 Índice de emulsificação (IE ₂₄)	53
2.9 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	54
2.10 Análise Termogravimétrica (TGA/ dTG).....	54
2.11 Análise Estatística	54
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
3.1 Caracterização da Água produzida (AP) e Resíduo de Mandioca.....	54
3.2 Produção de Goma Xantana	56
3.3 Viscosidade Aparente.....	57
3.4 Índice de Emulsificação com 24 hora (IE ₂₄)	59
3.5 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	61
3.6 Análise Termogravimétrica (TGA/ dTG).....	62
4 CONCLUSÃO	65
AGRADECIMENTOS	66
REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

Xanthomonas são bactérias gram-negativas, aeróbicas pertencentes à família *Pseudomonaceae* (PETRI,2015). Apresentam morfologia de bastonetes delgados movidos por flagelo único e secretam no meio um heteropolissacarídeo denominado Goma Xantana (MESOMO, 2007).

A goma xantana é um exopolissacarídeo microbiano produzido industrialmente por bactérias do gênero *Xanthomonas*, a partir da fermentação aeróbica de diferentes fontes de carbono. A xantana apresenta alto peso molecular e é classificada como um hetero-polissacarídeo, por apresentam em sua conformação unidades pentassacarídeas de glicose, manose e uma unidade de ácido glucurônico (SILVA *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2016; HABIBI & KHOSRAVI-DARANI, 2017).

Amplamente utilizada devido as suas excelentes propriedades físico-químicas, dentre elas a elevada viscosidade em baixas concentrações (0,05-1,0%), estabilização de emulsão e gelificação em ampla faixa de pH e temperatura (PETRI, 2015; GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000), justificando assim as propriedades desejáveis para utilização da nos diversos segmentos industriais: alimentícias, recuperação de petróleo, produtos farmacêuticos, cosméticos e têxteis (PALANIRAJ e JAYARAMAN, 2011; WANG *et al.*, 2016; DEMIRCI *et al.*, 2017).

Dentre os biopolímero microbiano mais comumente utilizado industrialmente, a xantana destaca-se por ter sua utilização aprovada desde 1969 pelo FDA (Food and Drug Administration) como polímero não tóxico e seguro, o que permitiu o seu uso como estabilizante e emulsificante sem nenhuma restrição em muitos produtos alimentícios (GHASHGHAEI *et al.*,2016). A produção de goma xantana é influenciada por diversos fatores como, tipo de cepa utilizada, fonte de carbono e nitrogênio e condições de cultivo (temperatura, pH, taxa de fluxo de ar, agitação e duração da fermentação), que influenciam diretamente no rendimento e estrutura da goma xantana produzida (HABIBI & KHOSRAVI-DARANIB, 2017).

No Brasil o consumo atinge cerca de 30 mil toneladas, de acordo com o Departamento de Comércio e Indústria do Brasil (TASLEEM *et al.*, 2020). Apesar da grande produção comercial, muitas vezes o custo de produção (substratos e processamento) são fatores limitantes. Na produção de goma xantana as fontes preferenciais de carbono são a glicose ou sacarose, mas, fontes alternativas têm sido

estudadas, a fim de tornar a produção mais viável do ponto de vista econômico (ASSIS *et al.*, 2014; DINIZ, DRUZIAN, & AUDIBERG, 2012).

A água produzida é produto do processo de extração de petróleo, sendo que parte da água fornecida pelas refinarias saem como água residual, o descarte da água produzida sem tratamento adequado é um grande problema ambiental e tecnologias eficazes de tratamento e reutilização destas águas são cruciais para gerenciar os danos ambientais que elas causam (KARRAY *et al.*, 2020). E a utilização de resíduos orgânicos, para a produção de polímeros também é uma alternativa viável. Durante a produção e processamento da mandioca, parte é dela convertido em resíduo, e esse tipo de resíduo é extremamente rico em carboidratos (EDAMA *et al.*, 2014).

Visando a redução nos custos de produção da goma xantana e a utilização de diversas fontes de carbono disponíveis no país, alguns autores já investigavam a produção utilizando resíduos industriais como meio alternativas, autores como, Costa *et al.* (2014); Gomes *et al.* (2015); Da Silva *et al.* (2018); Sujithra *et al.* (2019) e Ramos *et al.* (2020) e observaram a capacidade da *Xanthomonas* em produzir um bipolímero com características satisfatórias. Diante do exposto, o trabalho objetivou a produção e caracterização de goma xantana a partir da em água residual da indústria petroquímica e suplementada com resíduo do processamento da mandioca, bem como, avaliação da produção de goma xantana em diferentes tempos de fermentação (72 e 96h).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Produzir e caracterizar biopolímero tipo goma xantana obtido a partir de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* 1182 em água residual da indústria petroquímica, suplementada com resíduo do processamento da mandioca.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a composição físico-química e de metais na água residual da indústria petroquímica (água produzida);
- Avaliar a composição centesimal (umidade, proteína, lipídios, carboidratos e cinzas) do resíduo do processamento da mandioca;
- Avaliar a produção de goma xantana em água residual da indústria petroquímica suplementada com resíduo do processamento da mandioca em diferentes tempos de fermentação (72 e 96h);
- Caracterizar as gomas xantanas obtidas quanto à reologia (viscosidade aparente), índice emulsificante, espectroscopia no infravermelho (FTIR) e estabilidade térmica (TGA/dTGA).

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

Estes microrganismos são quimiorganotróficos, capazes de usar uma variedade de carboidratos, sais e ácidos orgânicos como fonte de carbono. São obrigatoriamente aeróbicos, crescem em meio complexo e em meio definido, utilizando principalmente a via Enter-Doudoroff para catabolismo da glicose (GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000).

2 POLISSACARÍDEOS MICROBIANOS

Vários microrganismos são identificados como produtores de biopolímeros microbianos e esses polímeros podem ser encontrados ligados à superfície celular ou extraídos do meio de fermentação. As bactérias os utilizam como materiais de armazenamento, produtos de estresses ambientais específicos (SANCHEZ-GARCIA *et al.*, 2010).

Os polissacarídeos são macromoléculas formadas por monossacarídeos e derivados ácidos, podendo ser sintetizado por bactérias, fungos e leveduras. Devido a suas funções biológicas, os polissacarídeos microbianos são divididos, em três grupos: (i) intracelular, localizados no interior das células ou como parte da membrana citoplasmática; (ii) integrantes da parede celular, parte estrutural das células; e (iii) polissacarídeos extracelulares (EPS), produzidos no interior da célula, sendo posteriormente secretados (SUTHERLAND, 1982).

Os polissacarídeos bacterianos que são sintetizados e secretados por vários microrganismos no ambiente extracelular, como polímeros solúveis ou insolúveis, são definidos como exopolissacarídeos (EPS). Por serem produzidos durante a fase estacionária do crescimento microbiano, estes EPSs são considerados metabólitos secundários. A sua produção está relacionada à capacidade dos microrganismos sobreviverem em condições adversas. Suas composições, funções, propriedades químicas e físicas, que estabelecem sua conformação primária, variam de uma espécie bacteriana para outra (PACE, 1991; ATES, 2015). Na natureza, eles têm um papel significativo na proteção da célula, adesão de bactérias às superfícies sólidas e participação em interações célula a célula (NICOLAUS *et al.*, 2010).

Dependendo do tipo de microrganismo, os EPSs podem ser encontrados na forma de cápsulas ao redor da célula, tornando-se parte da parede celular, ou na forma de limos (mucos) que são excretados para o meio extracelular, sendo capazes de se difundirem na fase líquida durante o processo de fermentação, havendo alteração no

meio de cultivo, com formação inicial de um fluido Newtoniano de baixa viscosidade até que se atinja, ao final, um fluido não-Newtoniano de alta densidade (SILVA et al., 2006).

Os EPSs são compostos principalmente de carboidratos (uma ampla gama de resíduos de açúcar) e alguns substituintes não-carboidratos (como acetato, piruvato, succinato e fosfato) (ATES, 2015). A maioria das bactérias produtoras de EPSs produzem homopolissacarídeos, constituído por um único tipo de monossacarídeos, como a goma dextrana ou heteropolissacarídeos, que possuem estrutura mais complexa, podendo conter além de monossacarídeos outros compostos, como a goma xantana (KUMAR *et al.*, 2018).

Alguns EPSs bacterianos relatados nas últimas décadas emergiram como biopolímeros industrialmente importantes com valor comercial significativo, utilizados como biomateriais, a exemplo da celulose bacteriana ou como modificadores reológicos de sistemas aquosos, por exemplo, goma xantana (NIKNEZHAD *et al.*, 2015; DEMIRCI *et al.*, 2017). Vários polímeros bacterianos são produzidos comercialmente e aplicados em diversos setores, conforme descrito na Tabela 1. Xantana, dextrana e pululana são exemplos de polissacarídeos microbianos com mercado considerável devido às suas propriedades excepcionais (ATES, 2015). A goma xantana tem sido usada para melhorar a capacidade de fluxo em diversos setores da indústria farmacêutica, de alimentos, petrolífera, cosmética e médica (PALANIRAJ & JAYARAMAN 2011).

O grande interesse pelos polissacarídeos microbianos em substituição aos polissacarídeos convencionais, é devido as suas muitas propriedades físico-químicas e reológicas que permitem a formação de soluções viscosas em ampla faixa de pH, temperatura, alta estabilidade em soluções aquosas, atuando como novos biomateriais com ampla e aplicações em muitos setores industriais, como têxteis, detergentes, adesivos, recuperação de óleo microbiana aprimorada, tratamento de águas residuais, dragagem, fabricação de cerveja, cosmetologia, farmacologia e aditivos alimentares (GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000; ROSALAM & ENGLAND, 2006; RÜHMANN *et al.*, 2015).

Tabela 1- Aplicações dos biopolímeros produzidos comercialmente em diferentes setores.

Biopolímeros	Microrganismos	Aplicações	Referência
Xantana	<i>Xanthomonas</i>	Laticínios, bebidas, confeitaria, temperos, produtos de panificação, xaropes e alimentos para animais, produtos farmacêuticos, cosméticos, papel, tintas e indústrias têxteis.	Palaniraj & Jayaraman (2011); Ates, (2015); Petri (2015).
Dextrana	<i>Leuconostoc e Streptococcus</i>	Indústrias alimentícia, farmacêutica (antitrombótico), emulsificante, espessante, carreador e estabilizador.	Patel <i>et al.</i> (2011); Hu, Lu, & Luo, (2021).
Pululana	<i>Aureobasidium pullupans</i>	Material de embalagem, adesivos para dentaduras, emulsificantes e estabilizadores para produtos alimentícios, aglutinante, lubrificante, agente gelificante, produtos de higiene bucal e substituto do plasma sanguíneo.	Sheng,Zhu,Tong, (2014); Ates, (2015).
Levana	<i>Zimomona mobilis</i>	Espessante e estabilizantes em alimentos, propriedades cosméticas, bem como imonumodulador e anticarcinogênico.	Srikanth <i>et al.</i> (2015); Öner, Hernández, Combie, (2016); Domżał-Kędzia <i>et al.</i> (2019).
Gelana	<i>Sphingomonas elodea</i>	Agente gelificante, espessante, emulsificante, e estabilizante.	Osmalek;Froelih; Tasarek, (2014); NG <i>et al.</i> (2020).
Alginato bacteriano	<i>Azotobacter vinelandii</i>	Preparação de alimentos, aplicação de curativo, aplicação de drogas e engenharia de tecido.	Cheng <i>et al.</i> , (2020); Raus <i>et al.</i> (2020).

3 GOMA XANTANA

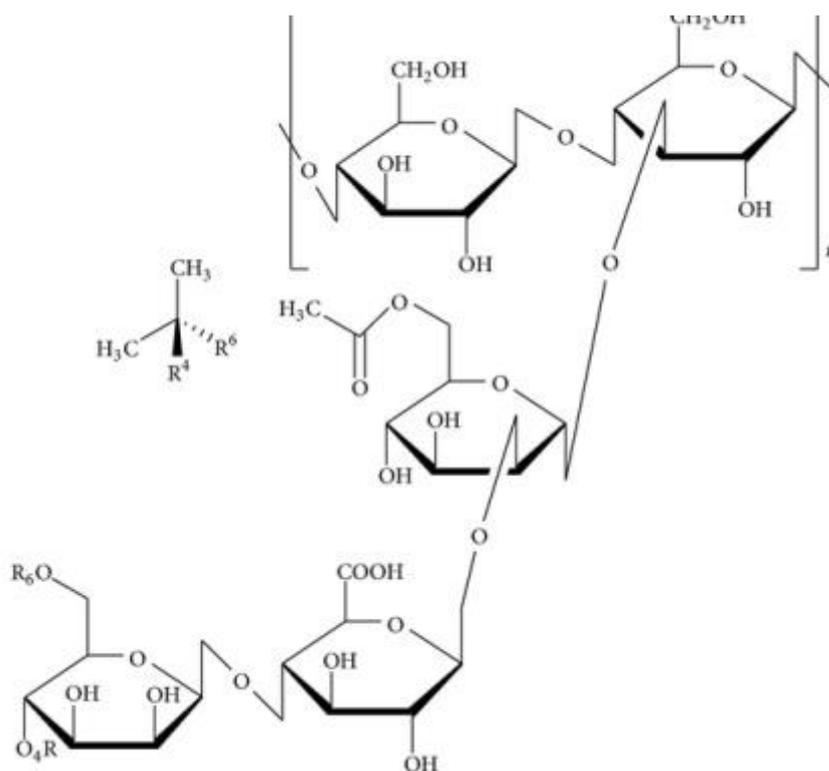
A goma xantana é um heteropolissacarídeo natural, de alto peso molecular, produzido a partir de fontes de carbono por fermentação, principalmente por bactérias gram-negativas do gênero *Xanthomonas* sp., descoberta em meados de 1950, pela *Northern Regional Research Laboratories* (NRRL) do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (BORN *et al.*, 2002). A primeira produção industrial foi realizada em 1960, seguida pela disponibilidade comercial em 1964, sendo considerado um produto não tóxico, que não causa sensibilização, irritação ocular ou cutânea, em consequente, foi aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos em 1969 (Fed. Reg. 345376) (MARGARITIS & ZAJIC, 1978; KENNEDY & BRADSHAW, 1984). Mundialmente, as principais indústrias produtoras de xantana nos EUA são

Merck e Pfizer, na França a Rhone Poulenc, Mero Rousselot-Santia e Sanofi-Elf, e na China, a Saidy Chemical (KUMAR *et al.*, 2018).

3.1 Constituição química

A goma xantana é um polissacarídeo aniônico, constituído por um esqueleto (1 → 4) – β -D- glicose substituído em cada segunda unidade por uma cadeia lateral de trissacarídeo carregada, contendo duas unidades de D- manose ligadas na posição do O-3 e um ácido D- glucurônico (β 1-2). Aproximadamente 50% dos resíduos terminais de manose são piruvilados e o resíduo não terminal geralmente carrega um grupo acetil na posição O-6 (SWORN, 2009; PALANIRAJA & JAYARAMANB, 2011) (Figura 2).

Figura 2. Estrutura da goma xantana



(Fonte: Hamcerencu *et al.*, 2007).

A goma xantana é um exopolissacarídeo hidrossolúvel, aniônico, ramificado, extracelular, com unidades repetidoras de pentassacarídeos. A estrutura primária da goma xantana é linear formada por duas unidades de glicose, duas de manose e uma unidade de ácido glicurônico, na razão molar 2,8:2,0:2,0 e possui uma distribuição da

massa molecular entre 2 e 20 milhões de Da (SHRAMA et al.,2014). As ramificações trissacarídicas aparecem aderidas à cadeia principal do polímero, e dela resulta a estrutura rígida que variam de acordo com o processo fermentativo, condições operacionais e a linhagem de *Xanthomonas* utilizada (MISAKI, 1993). A rigidez da cadeia principal, aliado a solubilidade induzida pelas cadeias trissacarídicas laterais, destaca a sua principal característica de modificar a reologia ou o comportamento de fluxo das soluções, estas propriedades são determinadas pela sua composição química, que dependente, principalmente, da quantidade de substituintes acetil e piruvil, juntamente com os ácidos glucurônico, que além de conferir tonicidade, aumentando a solubilidade do meio, e são determinadas pelo peso molecular do polímero, arranjos e das ligações moleculares (PACE, 1991; GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000).

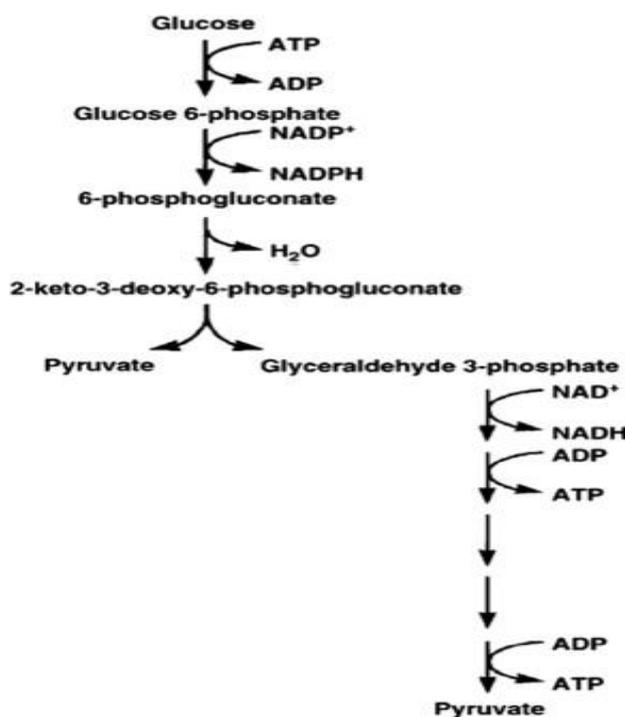
Em solução aquosa, a goma xantana exibe uma estrutura de filamento de dupla hélice secundária ordenada à baixa temperatura (DESPLANQUES, *et al.*, 2012). As suas propriedades mecânicas e dinâmicas, em solução aquosa, foram investigadas, chegando à conclusão de que a sua estrutura secundária apresenta duas conformações: ordenada (hélice) ou desordenada (espiral), a transição conformacional ocorre principalmente dependente da temperatura, força iônica da solução e de características estruturais como o conteúdo de ácido pirúvico e ácido acético. Alta concentração e adição de sais são a favor da estrutura ordenada, e a alta temperatura favorece a estrutura desordenada (CHOPPE *et al.*, 2010; DARIO *et al.*, 2011). Quando seca, a cadeia lateral do trissacarídeo fica alinhado com a cadeia principal e estabiliza a conformação, devido as interações não covalentes, principalmente ligação de hidrogênio. Em solução, as cadeias laterais envolvem a cadeia principal protegendo e impedindo ligações, e com isso, contribui para a estabilidade da goma sob condições adversas (HABIBI & KHOSRAVI-DARANI, 2017).

Devido as suas muitas propriedades físico-químicas e reológicas, a goma xantana apresenta comportamento pseudoplástico, solúvel em meio aquoso prontamente disperso em água fria ou quente, apresenta excelente estabilidade a temperatura (10°C a 90°C), a viscosidade é pouco afetada na presença de sais e pH sendo afetada apenas com valores de pH >12 e < 1 ((HABIBI e KHOARAVI-DARANI, 2017). Sendo assim a rigidez da cadeia principal da xantana, aliada à solubilidade induzida pelas cadeias laterais, e demais características da sua estrutura química, conferem características únicas que tornaram a xantana tão importante para diferentes setores industriais (DIAZ, VENDRUSCOLO & VENDRUSCOLO 2004).

3.2 Biossíntese de goma xantana

A via biossintética da xantana é complexa. Inicialmente ocorre à transformação de glicose em piruvato usando a via de Entner-Doudoroff (Figura 3). De acordo com Palaniraj & Jayaraman (2011), pensa-se que a o processo bioquímico para síntese da goma xantana seja semelhante à síntese de exopolissacarídeos por outras bactérias gram-negativas, sendo dividida em três partes: (a) captação de açúcares simples e conversão em derivados nucleotídeos; (b) montagem de subunidades de pentassacarídeo no interior da membrana ligadas a um transportador de fosfato poliprenol; e (c) a adição de grupos acetil e piruvato durante polimerização e a secreção do polímero para o meio de crescimento. A partir do conhecimento do processo biossintético, este pode ser otimizado, visando o aumento da produção e a redução dos custos.

Figura 3. Caminho de Entner – Doudoroff.



(Fonte: FLICKINGER & DRAW, 1999).

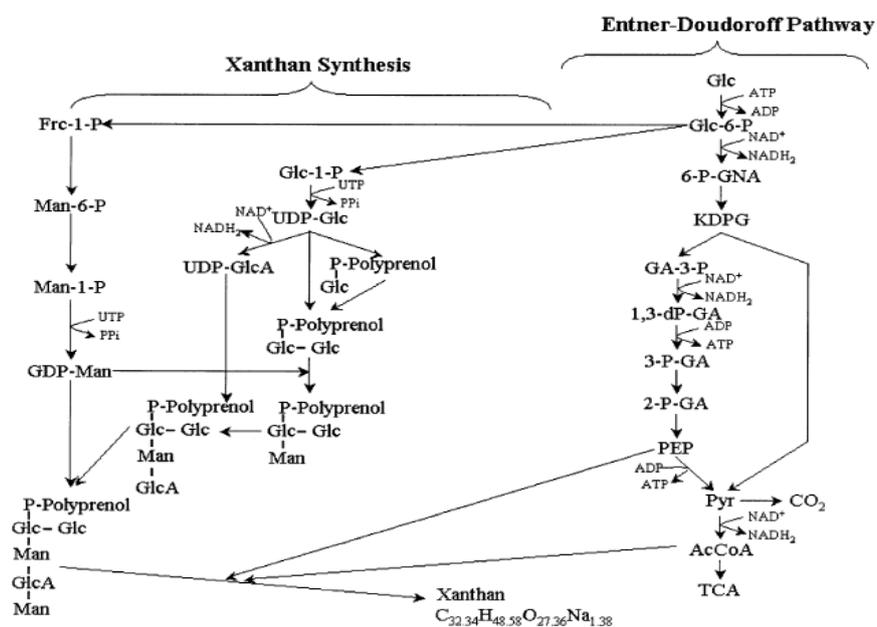
A síntese do biopolímero se inicia por adições sucessivas de D-glicose-1-fosfato e D-glicose a partir de 2 mol de UDP D-glicose. Posteriormente D-manose e ácido D-glucorônico são adicionados a partir do GDP-manose e ácido UDP-glucorônico, respectivamente. Os grupos O- acetil são transferidos de acetil-CoA para o resíduo interno de manose, e o piruvato de fosfoenol piruvato é adicionado à manose terminal (ROSALAM & ENGLAND, 2006). Cada uma dessas etapas requer substratos

específicos e enzimas específicas para a conclusão. Se o substrato ou a enzima estiver ausente, a etapa será bloqueada (SILVA *et al.*, 2001; KUMAR *et al.*, 2018).

A Figura 3 apresenta a via de *Entner-Doudoroff* em *X. campestris*, em conjunto com a via do ciclo do ácido tricarboxílico, mecanismo predominante para o catabolismo da glicose. Uma pequena porção de glicose é encaminhada através da via da pentose fosfato (ROSALAM & ENGLAND, 2006; PALANIRAJ & JAYARAMAN, 2011).

O processo, para ocorrer, obtém energia através de um sistema de transporte específico, o qual assegura a liberação do polímero do carregador lipídico e o transporte pela membrana externa. Para a síntese de goma xantana é necessário 11 ATP para cada subunidade de cinco hexoses polimerizadas. Para cada molécula de glicose a via de Entner-Doudoroff produz duas moléculas de NADPH e uma molécula de ATP para ser utilizada nas reações de biossíntese (Figura 4). E a energia excedente do metabolismo da *Xanthomonas campestris* é direcionada para a biossíntese da goma xantana e aumento da produção (ROSEIRO *et al.*, 1993).

Figura 4. Via metabólica da síntese de xantana e metabolismo da Glicose em *Xanthomonas Campestris* NRRL-1459



(Fonte: CHIA-HSU & LO, 2003)

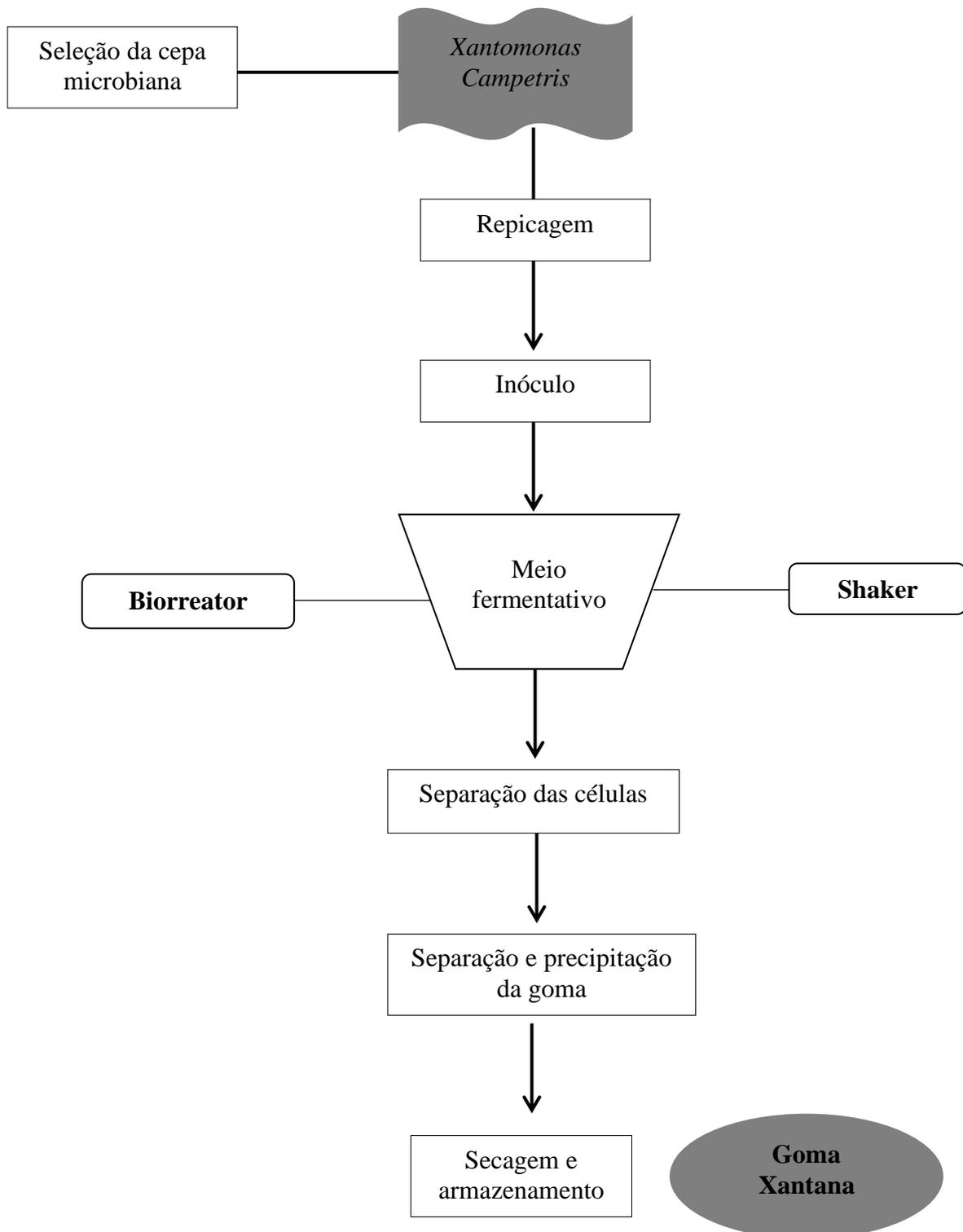
4 PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA

O microrganismo comumente usado para a produção de goma xantana é a bactéria *Xanthomonas campestris*. Comercialmente, a xantana é considerado um polissacarídeo microbiano importante, com consumo anual no Brasil estimado em cerca de 30 mil toneladas, de acordo com o Departamento de Comércio e Indústria do Brasil (TASLEEM *et al.*, 2020). Segundo o relatório de pesquisa de mercado, a produção de goma xantana em 2018 foi 240 mil toneladas, sendo projetado um aumento de 5,1% até 2021, movimentando US\$ 455,9 milhões até 2027. Alimentos e bebidas são os maiores segmentos de aplicação, com uma participação estimada de 46% e projeção de US\$ 201,1 milhões entre 2020-2027 (Global Xanthan Gum Industry, 2021).

Para o processo de produção são necessários, macronutrientes, como carbono e nitrogênio e micronutrientes (como potássio, ferro e cálcio). A otimização das condições operacionais muitas vezes é requerida, uma vez que o crescimento do microrganismo, o rendimento a estrutura e a produção da goma xantana, são influenciados por fatores como: o tipo de biorreator usado, o modo de operação, a composição do meio de cultivo e condições de operacionais (temperatura, pH, concentração de oxigênio dissolvido) (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000).

O processo de obtenção da goma xantana é dividido nas seguintes etapas: 1) seleção da cepa microbiana; 2) inóculo; 3) fermentação; 4) separação das células; 5) separação e precipitação da goma; 6) secagem e armazenamento. A produção de goma xantana segue a sequência do fluxograma apresentado na Figura 5.

Figura 5. Fluxograma das etapas gerais de produção da goma xantana



(Fonte: AUTORIA PRÓPRIA)

A cultura de *Xanthomonas* selecionada é preservada, por métodos que mantenham as propriedades desejadas em longo prazo. Uma pequena quantidade da cultura preservada é expandida pelo crescimento em superfícies sólidas ou em meio líquido (repicagem), para obter o meio de cultura necessário para ser inoculado. No inóculo, ocorre um aumento da concentração celular, mas com produção reduzida de goma xantana, uma vez que ela, ao redor da célula; impede o transporte de nutrientes e estende a fase *lag* de crescimento. Após a obtenção do inóculo, ocorre o preparo do meio fermentativo, que contém substratos e nutrientes necessários para o crescimento celular, no final da fermentação, o caldo fermentativo contém goma xantana, células bacterianas e muitos outros produtos do meio de cultivo. Para recuperação, as células geralmente são removidas por um processo de filtração ou centrifugação. Posteriormente é realizada a precipitação usando solventes (isopropanol, etanol ou acetona). A adição de solvente promove a precipitação da goma, diminuindo a afinidade da água pelo polímero e a ligação dos cátions que estão presentes. Após a precipitação, o produto separado é desidratado e seco mecanicamente para enfim ser embalado (GARCIA-OCHOA *et al.*, 1993; LUVIELMO & SCAMPARINI, 2009; PALANIRAJA & JAYARAMAN, 2011).

4.1 Fatores que influenciam na produção de goma xantana

4.1.1 Efeito da fonte de carbono e de nitrogênio

A cultura de *Xanthomonas* para crescer e se reproduzir, necessita de nutrientes específicos. As fontes de carbono mais frequentemente usadas são glicose e sacarose, e a concentração afeta o rendimento, sendo preferida uma concentração de 2 a 4%, pois concentrações mais altas desses substratos inibem o crescimento (PAPAGIANNI *et al.*, 2001; PALANIRAJA & JAYARAMAN, 2011). A estrutura da cadeia principal da goma não é influenciada pelas fontes de carbono e nitrogênio empregadas, entretanto, as cadeias laterais são afetadas por essas variáveis, e conseqüentemente, formam xantanas com diferentes rendimentos e massas moleculares (PALANIRAJ & JAYARAMAN, 2011).

De acordo com Luvielmo & Scamparini (2009), o nitrogênio é um nutriente essencial, como componente orgânico ou como molécula inorgânica. A razão C/N normalmente utilizada para a produção é menor que aquela usada durante o crescimento

(GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000). Geralmente, baixas concentrações são úteis para a produção da goma xantana de 2 a 4% de glicose ou sacarose e 0,05 a 1% de nitrogênio. De acordo com Palaniraj & Jayaraman (2011), o amônio é um substrato que favorece o crescimento das *Xanthomonas* e conseqüentemente o aumento da biomassa, enquanto o nitrato favorece maior acúmulo de goma xantana.

Zhang e Chen (2010) avaliaram a melhor produção de goma a partir de diferentes proporções de monossacarídeos (75% glicose/25% xilose e 25% glicose/75% xilose). A taxa de produção da goma xantana em $\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$ foi 0,18 e 0,04 respectivamente, sendo a glicose, a fonte de carbono preferida para a produção. Rosalam & Inglaterra, (2006), observaram que concentrações altas de nitrogênio influenciam o rápido crescimento celular, e a glicose é o substrato preferível para produção de goma xantana.

4.1.2 Efeito da temperatura

A influência da temperatura na produção de goma xantana tem sido amplamente estudada. As temperaturas empregadas para produção de goma xantana podem variar de 25 a 34 ° C, mas a cultura a 28 e 30 ° C é bastante comum (PALANIRAJA & JAYARAMANB, 2011). Sugere-se que quaisquer sais na formulação sejam adicionados à solução antes do tratamento térmico para maximizar a estabilidade e minimizar quaisquer efeitos na reologia da xantana que levem a alterações conformacionais, uma vez que a maioria das aplicações em alimentos adicionam sais na forma de sódio, potássio e/ou cálcio, para elevar a temperatura (HABIBI & KHOSRAVI-DARANIB,2017).

Gilani *et al.*, (2011), avaliaram a influência da temperatura na cinética de produção de goma xantana por *X. campestris* em melão e relataram que a temperatura ideal para crescimento máximo foi obtida a 32°C, com produção máxima de 17,1 g L^{-1} . Com o aumento da temperatura de cultivo, ocorre também o decréscimo da massa molecular e produção do polímero. A viscosidade das soluções de goma xantana também diminui com um aumento temperatura devido a alterações de conformação molecular. Esse comportamento é totalmente reversível de 10 a 90 ° C (PALANIRAJ & JAYARAMAN, 2011).

4.1.3 Efeito do pH

Autores (GUMUS *et al.*, 2010; PALANIRAJA & JAYARAMANB, 2011) concordaram que o pH próximo a neutralidade é o ideal para o crescimento de *X. campestris*. Durante a produção, o pH diminui para valores próximos a 5 por causa de grupos ácidos presentes na cadeia lateral da xantana (BORGES *et al.*, 2008). Gracia-Ochoa *et al.*, (2000) afirma que o controle do pH melhora o crescimento celular, mas não tem efeito sobre a produção da goma xantana. As soluções de xantana têm boa estabilidade em pH baixo e as diferenças em suas aplicações estão relacionadas a menores concentrações de goma (HABIBIA & KHOSRAVI-DARANIB, 2017). Sworn *et al.* (2009) destacam que a goma xantana por ser um polímero aniônico, a redução do pH, converte os grupos carboxilatos de ionizado para a forma não ionizada ($\text{COO}^- + \text{H}^+ = \text{COOH}$), com consequente supressão da repulsão eletrostática entre as cadeias laterais, formando uma molécula mais compacta, o que pode resultar em redução da viscosidade. Essa alteração é reversível após a neutralização e ionização dos grupos carboxilatos, permitindo que a goma xantana retorne à conformação original, com a recuperação da viscosidade. Isso indica que as mudanças estão relacionadas à conformação molecular, e não à degradação (HABIBI & KHOARAVI-DARANI, 2017).

García-Ochoa *et al.*, (2000) observaram que para o crescimento do *Xanthomonas campestris* os melhores intervalos de pH e temperatura são: entre 6,0 a 7,5 e de 25°C a 27°C respectivamente, já para a produção da goma xantana e qualidade do polímero os melhores intervalos de pH e temperatura são: entre 7,0 – 8,0 e de 25°C - 30°C. Sendo assim, a interação entre o pH e a temperatura é de pouca importância para o crescimento da célula e parece também ter uma influência negativa na produção dos polissacarídeos (LUVIELMO & SCAMPARINI, 2009).

4.1.4 Efeitos dos sais

O efeito do sal na produção da goma xantana depende diretamente da concentração da goma. Em altas concentrações de goma xantana ou altas concentrações de sais a viscosidade aumenta e esse efeito é atribuído ao aumento da interação entre as moléculas do polímero (GARCIA-OCHOA *et al.*, 2000).

Sais monovalentes, como o cloreto de sódio, causam uma ligeira diminuição na viscosidade, devido à redução das interações moleculares resultantes da diminuição das forças eletrostática intermoleculares. Autores destacam que essa diminuição esta

relacionada à triagem de carga de repulsões eletrostáticas da cadeia lateral do trissacarídeo, resultando em uma molécula mais compacta e reduzindo a viscosidade. (JANG *et al.*, 2015; BAK, & YOO, 2018; REINOSO *et al.*, 2019).

Concentrações de sal superiores a 1-2% (m/v) na água utilizada para a produção, podem diminuir a hidratação da goma xantana, sendo necessário hidratar a goma antes da adição do sal. A goma hidratada tem boa tolerância ao sal (até 20–30%) sem afetar adversamente a viscosidade (MILAS *et al.*, 1986). Jang *et al.* (2015) avaliaram a viscosidade em função da taxa de cisalhamento para diferentes concentrações de NaCl a 25°C e observaram que a viscosidade da goma xantana era relativamente insensível a concentrações de sal de até 20% em peso.

Os estudos da adição de sais nas soluções de xantana e os efeitos na viscosidade apresentam resultados contraditórios, concluindo que características reológicas de um biopolímero dependem diretamente da bactéria utilizada, de todo o processo de fermentação e recuperação, e das condições de utilização da goma (DIAZ; VENDRUSCOLO; VENDRUSCOLO, 2004).

4.1.5 Efeitos da agitação e aeração

A agitação e a aeração são parâmetros necessários para evitar condições de anaerobiose decorrentes da alta viscosidade do meio pela formação do polissacarídeo, visto que a bactéria é estritamente aeróbia. Sendo assim, é necessária a combinação adequada desses parâmetros para evitar a limitação na transferência de oxigênio ou condições de estresse hidrodinâmico (BORGES & VEDRUSCULO, 2008; CASAS; SANTOS; GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000).

Assis *et al.* (2014) relatam que taxa de mortalidade cresce à medida que a velocidade de agitação aumenta. A partir dos resultados obtidos, os autores demonstraram que as variáveis respostas Y_1 (biomassa), Y_2 (viscosidade aparente) e Y_3 (conteúdo de glicose), são reduzidas quando variáveis independentes X_1 (aeração/ vvm) e X_2 (agitação/rpm) estão no nível mais baixo ou mais alto. O teste realizado a 1.0vvm/783 rpm demonstrou reduções de 84,35, 72,86 e 65,82% em Y_1 , Y_2 e Y_3 , respectivamente, quando comparado aos dados do ponto central (1.0vvm/500 rpm). Assim, os autores concluíram que as condições de aeração e agitação se tornam importantes uma vez que altas velocidades de agitação são responsáveis pelo estresse

hidrodinâmico e possíveis danos às células e em baixa velocidade de rotação a uma limitação na transferência de oxigênio.

A taxa de oxigenação recomendável para a produção de goma xantana é de 1,5 – 3,5 mM O₂/ minuto, associado a um bom nível e aeração é importante para obter uma boa produção, uma vez que ocorre grande aumento da viscosidade do meio durante a fermentação (WOICIECHOWSKI, 2001).

4.1.6 Efeito do tempo de fermentação

Em escala industrial, o efeito do tempo na produção da goma xantana é um fator importante e tem sido estudado na tentativa de reduzir o tempo de cultivo. Através dos experimentos realizados por Nejadmansouri *et al.*, (2020), foi constatado um tempo de fermentação entre 30-48 h para *Xanthomonas Campestris* e após 48 horas, as células entraram na fase estacionária, onde o crescimento celular é interrompido, isto pode ser justificado provavelmente devido à alta viscosidade do caldo, que pode afetar, a transferência de massa e também de oxigênio.

Miranda *et al.*, (2019), avaliaram o tempo de fermentação em três patovares de *Xanthomonas* por 168h (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* 645, *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* 290, e *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 1155), sendo observado que após 40h de fermentação, o crescimento de *Xanthomonas* entra na fase estacionária, atingindo valores máximos de produtividade de 0,047, 0,039, e 0,149 g L⁻¹ h⁻¹ a 72, 96, e 24 h para as produções com as linhagens 645, 290 e 1155 e consumo máximo de glicose 84, 90, e 65% respectivamente. Autores relatam que conforme o tempo de fermentação aumenta, as células crescem exponencialmente, resultando em consumo rápido da fonte de carbono (PALANIRAJ e JAYARAMAN, 2011).

5 PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA COM DIFERENTES SUBSTRATOS

A produção de goma xantana em escala industrial é realizada principalmente em um sistema de fermentação submersa, monitorando diferentes variáveis do processo, como cepa de *Xanthomonas*, fontes carbono e nitrogênio, pH, temperatura, tamanho do inóculo, taxa de fluxo de ar, agitação e duração da fermentação (HABIBI & KHOSRAVI-DARANIB, 2017). Na escala de bancada, as condições operacionais de produção são mais simples, tendo em vista sua maior flexibilidade e menor custo de

operação, sendo possível a seleção do microrganismo, o estudo das condições operacionais e otimização do processo (BANDINO & SCHMIDELL, 2001).

O custo do meio de fermentação é visto como uma oportunidade de valor. Os meios sintéticos usados para a produção de xantana contêm glicose ou sacarose como fontes de carbono e, portanto, seu custo representa um fator crítico no processo de produção do ponto de vista econômico (LI *et al.*, 2016), diferentemente quando são utilizados substratos alternativos, onde a menor suplementação com nutrientes é necessária, resultando em menor custo de processo e minimizando problemas ambientais. Por esta razão, estudos têm focado no uso de resíduos industriais como alternativas naturais para servir como substratos fermentescíveis para a produção de goma xantana (Tabela 2).

Alguns trabalhos avaliariam a produção de xantana a partir de resíduos agroindustriais, como por exemplo, Diniz, Druzian & Audibert (2012) avaliaram a utilização da casca de cacau e soro de leite como substratos fermentativos para *X. campestris* 1182 e obtiveram máximo de produção de 7,34 e 12,01 g L⁻¹ em 28 °C, 250 rpm por 120 horas, respectivamente. Niknezhad *et al.* utilizaram o soro de queijo, subproduto do processamento da indústria de laticínio e alcançaram após 48 h de fermentação uma produção de 16,65 g L⁻¹ para *X. campestris* e 12,28 g L⁻¹ para *X. pelargonii*, concluindo que o soro de queijo é uma fonte barata e abundante de carbono para produção de goma xantana. A utilização da *Xanthomonas* para produção de goma xantana utilizando resíduos descartados da indústria, podem ser destacados por Bajic *et al.* (2017), que avaliaram a produção em águas residuais obtidas de diferentes partes do processo de produção de uma indústria de confeitaria. Os autores demonstraram que o custo do meio sintético para produção de xantana é de US\$ 0,5308/kg, enquanto que, para o uso de águas residuais da indústria de confeitaria não há custos para a matéria-prima e conseqüentemente, o dispêndio com o processo de produção é menor. o menor custo para o processo de produção.

Tabela 2 - Produção de goma xantana a partir de resíduos industriais.

Resíduo	Cepa Bacteriana	Condição de Fermentação	Máximo de Produção (g L ⁻¹)	Referência
Soro de Leite e Casca de Cacau	<i>X. campestris</i> pv. <i>manihotis</i> 1182	28°C/250rpm/120 h	12,01 e 7,34	Diniz, Druzian & Audibert (2012)
Glicerina Residual do Biodiesel e Resíduo Líquido de Sisal	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>manihoti</i> 1182	28°C/250rpm/120 h	0,65 e 1,42	Assis <i>et al.</i> (2014)
Casca de Camarão fermentada	<i>X. campestris</i> pv. <i>manihotis</i> 1182	28°C/250rpm/120h	2,64	Costa <i>et al.</i> (2014)
	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> 254		2,60	
	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> 629		1,95	
Bagaço de cana de açúcar	<i>X. campestris</i> pv. 254	28°C/250rpm/120h	8,44	Gomes <i>et al.</i> (2015)
Soro de queijo	<i>X. campestris</i> 1473	28°C/250rpm/48h	16,65	Niknezhad <i>et al.</i> (2015)
	<i>X. pelargonii</i> 1474		12,28	
Resíduos de cozinha hidrolisado	<i>X. campestris</i> LRELP -1	30°C/180rpm/120h	11,73	Li <i>et al.</i> (2016)
Águas residuais da indústria de confeitaria	<i>X. campestris</i> ATCC 13951	30°C/200rpm/72h	23,98	Bajić <i>et al.</i> (2017)
Casca de Coco (CS) e Casca de Cacau (CH)	<i>X. campestris</i> 1866	28°C/250rpm/96h	3,57 (CS)- 4,48 (CH)	Da Silva <i>et al.</i> (2018)
	<i>X. campestris</i> 1867		2,64 (CS)- 3,89 (CH)	
Resíduos de pão	<i>X. axonopodis vesicatoria</i>	28°C/300rpm/72h	14,3	Demirci <i>et al.</i> (2019)
Bagaço de Mandioca	<i>X. campestris</i> NCIM 2956	30°C/200rpm/120h	3,28	Sujithra <i>et al.</i> (2019)
Água produzida da Indústria de Petróleo	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>manihotis</i> 1182	30°C/180rpm/96h	8,69	Ramos <i>et al.</i> (2020)

5.1 Resíduo de Mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é uma raiz rica em amido, cultivada principalmente regiões tropicais, sendo um alimento básico importante para mais de 500 milhões de pessoas no mundo (FALADE & AKINGBALA, 2010). O Brasil é o quarto maior produtor de mandioca, com uma produção de 17,6 milhões de toneladas (FAO, 2020). No entanto, durante as etapas de processamento, partes das raízes frescas da mandioca são descartadas como resíduo (EDAMA *et al.*, 2014).

O resíduo de mandioca compreende a casca, que é resultante da pré-limpeza da raiz, composta pela casca (casca rachada), casca interna (entre a camada cortical e o cilindro central) e pontas de mandioca (SOUTO *et al.*, 2017). Considerando os problemas ambientais ocasionados pelo descarte dos resíduos orgânicos, uma alternativa para o aproveitamento desses rejeitos, é a utilização como substratos fermentescíveis (VILHALVA *et al.*, 2012; ASSIS *et al.*, 2014). A Tabela 3 apresenta estudos que caracterizaram os resíduos do processamento de mandioca quanto as suas propriedades físicas e químicas.

Tabela 3- Caracterização físico-química do resíduo de mandioca

Resíduo	Resultados	Referência
Soro de mandioca	Umidade (%):8,69; Carboidrato (%): 3,45; Cinzas (%):1,56.	Brandão <i>et al.</i> (2010)
Caules	Nitrogênio (%):0,81; Carbono (%):44,12; Umidade (%): 9,62; Cinza (%): 2,83; Hemicelulose (%):11,8; Celulose (%): 39,45; Lignina (%):20,17.	Veiga <i>et al.</i> (2016)
Não especificado	Nitrogênio (%):0,44; Carbono (%):41,7; Cinza (%): 1,9; Amido (%):38,4; Hemicelulose (%):46,7; Lignina (%):5,7.	Zhang <i>et al.</i> (2016)
Casca	Umidade (g 100g ⁻¹): 72,53; Cinzas (g 100g ⁻¹): 1,63; pH:4,85; Amido (g 100g ⁻¹):60,68; Proteína (g 100g ⁻¹):3,97; Açúcares (g 100g ⁻¹):1,08; Lipídios (g 100g ⁻¹):0,86, Acidez Total (mL NaOH 1M 100 g ⁻¹): 5,18.	Souto <i>et al.</i> (2017)
Bagaço de mandioca	Umidade (%): 87,97; Cinzas (g 100g ⁻¹): 0,21; pH:4,54; Amido (%):64,27; Fibra Crua (g 100g ⁻¹): 4,32; Proteína (g 100g ⁻¹):0,61; Açúcares (g 100g ⁻¹):7,79; Lipídios (g 100g ⁻¹):0,15.	Martinez <i>et al.</i> (2018)
Polpa de mandioca	Nitrogênio (%): 0,04; Carbono (%) 45,53; Umidade (%):15,13; Cinzas 1,12; Hemicelulose (%):21,1; Celulose (%):31,7; Lignina (%):16,2.	Nam <i>et al.</i> (2020)
Cascas, caules e folhas	Nitrogênio (%):3,0; Carbono (%)38,91; Umidade (%):10; Cinzas (%):6,31; Hemicelulose (%):49,1; Celulose (%):13,99; Lignina (%):2,35.	Cruz <i>et al.</i> (2021)

*Resultados expressos em média.

Os resultados mostram que os resíduos de mandioca têm alto conteúdo de carbono (38,91–80%) e contêm <4% de nitrogênio. A análise estrutural revela que são

compostos de 13,99-39,45% de celulose, 11,8-49,1% de hemicelulose e 2,35-16,5% de lignina, celulose e hemicelulose. O resíduo apresenta um pH considerado ácido e a umidade varia de 8,69-87,97%. Souto *et al.* (2018), destacam que as diferenças na composição podem ser atribuídas às variedades de mandioca, épocas de plantio e colheita. Os estudos demonstraram baixos teores de lipídios e de cinzas.

Os resíduos sólidos deixados após a extração da mandioca e o descarte incorreto desse resíduo pode vir a causar problemas ambientais. Assim é necessário o incentivo para o reaproveitamento do mesmo, a exemplo da bioconversão do resíduo de mandioca como fonte de substrato para produção de goma xantana (DOS SANTOSA *et al.*,2016; SUJITHRA *et al.* ,2019).

6 PLICAÇÃO DA GOMA XANTANA

Os biomateriais baseados em goma xantana têm sido amplamente utilizados na indústria de alimentos (ROSALAM & ENGLAND, 2006; SHARMA *et al.*, 2006; HABIBI & KHOSRAVI-DARANI, 2017), cosméticos (GARCIA-OCHOA, *et al.*, 2000; PALANIRAJ & JAYARAMAN, 2011), médica e farmacêutica (MURPHY MCDEVITT & ENGLER, 2014; PETRI, 2015; KUMAR *et al.*,2018), tratamentos de água (MITTAL *et al.*, 2016), indústria de petróleo e recuperação de petróleo (GARCIA-OCHOA *et al.*,2000; JANG *et al.*, 2015; GHOURASSI-BARR & ALIOUCHE, 2016), artigos de higiene pessoal (PALANIRAJ & JAYARAMAN, 2011), dentre outros.

6.1 Indústria de Alimentos

A grande maioria dos polissacarídeos utilizados nas indústrias de alimentos é derivada de plantas e algas. O biopolímero microbiano mais comumente utilizado industrialmente é a goma xantana, sua utilização foi aprovada em 1969 pelo FDA (Food and Drug Administration), como polímero não tóxico e seguro que permitiu o seu uso como estabilizante e emulsificante sem nenhuma restrição em produtos alimentícios (GHASHGHAEI *et al.*,2016).

Muitos alimentos exigem propriedades únicas de texturização, viscosidade, sabor, aparência e controle do teor de água, a goma xantana permite melhorar todas essas propriedades e a característica reológica do produto final (PALANIRAJ & JAYARAMAN, 2011). Em solução aquosa, a goma xantana apresenta comportamento

pseudoplástico, possui alta estabilidade em uma ampla faixa de pH, temperatura e força iônica, além de ser estável sob cisalhamento durante o processamento e a embalagem do produto (PETRI,2015).

6.2 Indústria Petrolífera

Os polissacarídeos naturais são biopolímeros atraentes para melhorar a viscosidade nas operações de exploração de petróleo devido à alta resistência à degradação mecânica e térmica, e sua biodegradabilidade, o que garante que eles não permaneçam no ambiente (HASAN & ABDEL-RAOUF, 2018).

As propriedades reológicas dos EPSs favorecem aplicações nos diversos segmentos industriais, devido a suas características físico-químicas, viscosidade em diferentes faixas de pH, salinidade e temperatura (FREITAS et al., 2011; LUVIELMO & SCAMPARINI, 2009). Na indústria petrolífera, a goma xantana é empregada como fluido de perfuração de poços e na recuperação secundária e terciária do petróleo, além de ser utilizado como lubrificação das brocas de perfuração.

A recuperação melhorada de petróleo com utilização de micro-organismo vem do inglês MEOR (Microbial Enhanced Oil Recovery), baseia-se na injeção de microrganismos com nutrientes essenciais no óleo e sob condições ambientais favoráveis, a população microbiana cresce exponencialmente e seus produtos metabólicos mobilizam o óleo residual (BACHMANN, JOHNSON & EDYVEAN, 2014). A utilização de biopolímeros, por exemplo, é empregada na água de injeção como fluido de perfuração e na recuperação terciária. A capacidade de aumentar a viscosidade de cisalhamento, juntamente com sua excelente estabilidade sob alta salinidade e alta temperatura, torna a goma xantana adequada para projetos de recuperação avançada de petróleo (de Mello Luvielmo, & Scamparini, 2009).

Em estudo realizado com resíduos da indústria de petróleo, Ramos *et al.*, (2020) produziram goma xantana em meio à base de água produzida suplementada com glicerina bruta e sacarose. Os autores obtiveram uma produção de goma xantana de 8,69 g L⁻¹, concluindo que a produção a partir de *Xanthomonas axonopodis pv. homenihotis* 1182 é viável e o polímero produzido tem potencial significativo para ser utilizado pela indústria de petróleo durante as estratégias de recuperação de óleo.

6.2.1 Água produzida da indústria de petróleo

A água produzida é a água aprisionada nas formações subterrâneas que é trazida à superfície juntamente com petróleo e gás durante as atividades de produção desses fluidos (AMINI *et al.*, 2012). Consiste na água associada ao óleo durante o processo de extração do petróleo e pode ser resultante da mistura do óleo do poço com a água do mar que se encontra ao redor deste ou pela injeção de água no campo de petróleo para levar o óleo profundo à superfície (AL-GHOUTI *et al.*, 2019).

A quantidade de água produzida gerada durante a produção de petróleo depende das características e da vida produtiva de cada campo, quanto mais maduro for o reservatório, maior será o volume produzido desse efluente. Portanto, o volume da água produzida está diretamente ligado com a vida útil do reservatório, podendo chegar a dez vezes ou até mais o volume de produção de óleo (NEFF *et al.*, 2011).

A água produzida não é um produto único à composição e suas propriedades físicas dependem da localização geográfica do campo, idade e profundidade da formação geológica, método de extração e tipo de hidrocarboneto produzido, conforme a composição química no reservatório (AL-GHOUTI *et al.*, 2019). Esse efluente é composto de óleo e graxas (O&G), constituído por uma mistura de hidrocarbonetos: Fenóis, Naftaleno (como ciclo-hexano e dimetil Ciclopentano), Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno (BTEX), Hidrocarbonetos poliaromático (PAHs), ácidos orgânicos, compostos naturais orgânicos e inorgânicos, e aditivos químicos (biocidas e inibidores de corrosão) (ALJUBOURY *et al.*, 2017; AL-GHOUTI *et al.*, 2019).

A poluição ambiental apresenta grandes desafios para a indústria petróleo, pois estima-se que 80–90% da água fornecida pelas refinarias de petróleo e plantas petroquímicas sai como água residual (JAFARINEJAD & JIANG, 2019). O volume da água produzida a partir de um reservatório específico não permanece constante. Inicialmente, a produção de água é muito menor, mas aumenta com a idade do reservatório (NASIRI & JAFARI, 2017; AL-GHOUTI *et al.*, 2019).

O descarte da água produzida sem tratamento adequado é um grande problema ambiental, sendo assim, é necessário o desenvolvimento de tecnologias a fim de reduzir os poluentes presentes nas águas residuais industriais em especial das refinarias de petróleo (KARRAY *et al.*, 2020). Tecnologias eficazes de tratamento e reutilização destas águas são cruciais para gerenciar os danos ambientais que elas causam. Segundo El-Naas (2014), tais tecnologias são benéficas para as indústrias de petróleo: 1)

fornece uma fonte adicional de água através da reciclagem da água residual; 2) melhoram a recuperação de petróleo bruto; e 3) reduzem o impacto no meio ambiente.

O gerenciamento da água produzida resulta em custos consideravelmente elevados e que representam um percentual significativo nos custos de produção (AMINI *et al.*, 2012). Para o tratamento de águas residuais de refinarias, vários métodos foram desenvolvidos e alguns processos aeróbicos e anaeróbicos foram estudados, sendo o tratamento biológico (como bactérias, fungos, leveduras, microalgas, enzimas, etc.) e a biorremediação, as alternativas mais econômicas, uma vez que os tratamentos físico-químicos são de altos custos e complexidade operacional (ALJUBOURY *et al.*, 2017; KARRAY *et al.*, 2020).

O tratamento da água produzida pode ajudar no seu gerenciamento, incluindo na reutilização para fins agrícolas e industriais (AL-GHOUTI *et al.*, 2019). Li *et al.*, (2005) utilizaram em meio a água residual sob condições anaeróbicas o *Bacillus sp.*(M-12). Após o tratamento, foi observado a diminuição significativa da demanda química de oxigênio (DQO) das águas residuais de 2600 mg L⁻¹ para 800 mg L⁻¹ após 4 dias, demonstrando que esta bactéria, portanto, tem grande potencial no tratamento de águas residuais.

Várias são as tentativas de cultivar *Xanthomonas campestris* em diferentes substratos, como resíduos de cozinha (LI *et al.*, 2016), águas residuais da indústria de confeitaria (BAJIC, 2017) etc., mas há poucos dados sobre a produção de goma xantana a partir de águas residuais da indústria de petróleo. Dentre os estudos, Ramos *et al.* (2020) relataram a produção de 8,69 g L⁻¹ de goma xantana em 72 horas à 120rpm e 30°C, em água produzida suplementada com sacarose e glicose como substratos alternativos para a produção de goma xantana.

A principal vantagem de usar materiais de base natural, especialmente subprodutos agrícolas e polímeros naturais como adsorventes alternativos para o tratamento de água e água residuais, é que eles estão disponíveis em grandes quantidades, têm baixo valor econômico e são ecologicamente corretos (SOETAREDJO *et al.*, 2018). Sendo assim, a otimização de processos biotecnológicos utilizando substratos de baixo custo, como resíduos agroindustriais e subprodutos, é a alternativa mais viável para a produção de produtos de valor agregado e a solução para o descarte de resíduos sólidos.

REFERÊNCIAS

- AL-GHOUTI, M. A.; AL-KAABI, M. A.; ASHFAQ, M. Y.; DA'NA, D. A. Produced water characteristics, treatment and reuse: A review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 28, p. 222-239, 2019.
- ALJUBOURY, D. A. D. A.; PALANIANDY, P.; ABDUL AZIZ, H. B.; FERROZ, S. A. D. A. Treatment of petroleum wastewater by conventional and new technologies-A review. **Glob. Nest J**, v. 19, p. 439-452, 2017.
- AMINI, S.; MOWLA, D.; GOLKAR, M.; ESMAEILZADEH, F. Mathematical modelling of a hydrocyclone for the down-hole oil-water separation (DOWS). **Chemical Engineering Research and Design**, v. 90, n. 12, p. 2186-2195, 2012.
- ASSIS, D. J.; BRANDÃO, L. V.; COSTA, L. A. S.; FIGUEIREDO, T. V. B.; SOUZA, L. S.; PADILHA, F. F.; DRUZIAN J. I. (2014). A study of the effects os aeration and angitation on the properties and production of xanthan gum from crude glycerin derived from biodiesel using the response surfasse methodology. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, n. 5, pág. 2769-2785, 2014.
- ASSIS, D. J.; COSTA, L. A. S.; CAMPOS, M. I.; SOUZA, C. O. de.; DRUZIAN J. I., NUNES, I. L.; PADILHA, F. F. Influence of the nature agro-industrial waste fermented by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* the porperties of xanthan gums resulting. **Polímeros Ciência e Tecnologia**, v. 24, n. 2, p. 176-183, 2014.
- ATES, O. Systems biology of microbial exopolysaccharides production. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 3, p. 200, 2015.
- BACHMANN, R. T.; JOHNSON, A. C.; EDYVEAN, R. G. Biotechnology in the petroleum industry: an overview. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 86, p. 225-237, 2014.
- BAJIĆ, B. Ž.; VUČUROVIĆ, D. G.; DODIĆ, S. N.; GRAHOVAC, J. A.; DODIĆ, J. M. Process model economics of xanthan production from confectionery industry wastewaters. **Journal of environmental management**, v. 203, p. 999-1004, 2017.
- BAK, J. H.; YOO, B. Intrinsic viscosity of binary gum mixtures with xanthan gum and guar gum: Effect of NaCl, sucrose, and pH. **International journal of biological macromolecules**, v. 111, p. 77-81, 2018.
- BANDINO Jr, A. C.; SCHMIDELL, W. Variação de escala. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. de A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biocnologia Industrial**. 1ªed, v. 2, São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA, p. 333-354, 2001.
- BORGES, C. D.; VENDRUSCOLO, C. T. Goma Xantana: características e condições operacionais de produção. Semina: **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 29, n. 2, p. 171-188, 2008.

BORN, K.; LANGENDORFF, V.; BOULENGUER, P. Xanthan, In: STEINBÜCHEL, A.; VANDAMME, E.J.; DE BAETS, S. **Biopolymers. Weinheim: Wiley-VCH**, v. 5, p. 259-291, 2002.

BRANDÃO, L. V.; ESPERIDIÃO, M. C.; DRUZIAN, J. I. Utilização do soro de mandioca como substrato fermentativo para a biosíntese de goma xantana: viscosidade aparente e produção. **Polímeros**, v. 20, n. 3, p. 175-180, 2010.

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

CHENG, D.; JIANG, C.; XU, J.; LIU, Z.; MAO, X. Characteristics and applications of alginate lyases: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2020.

CHOPPE, E.; PUAUD, F.; NICOLAI, T.; BENYAHIA, L. Rheology of xanthan solutions as a function of temperature, concentration and ionic strength. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 4, p. 1228-1235, 2010.

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

CROSSMAN, L.; DOW, J. M. Biofilm formation and dispersal in *Xanthomonas campestris*. **Microbes infection**, v. 6, p. 623-629, 2004.

CRUZ, G.; RODRIGUES, A. D. L. P.; DA SILVA, D. F.; GOMES, W. C. Physical-chemical characterization and thermal behavior of cassava harvest waste for application in thermochemical processes. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 143, n. 5, p. 3611-3622, 2021.

DA SILVA, J. A.; CARDOSO, L. G.; DE JESUS ASSIS, D.; GOMES, G. V. P.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; DE SOUZA, C. O.; DRUZIAN, J. Xanthan Gum Production by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* IBSBF 1866 and 1867 from Lignocellulosic Agroindustrial Wastes. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 186, n. 3, p. 750-763, 2018.

DÁRIO, A. F.; HORTÊNCIO, L. M.; SIERAKOWSKI, M. R.; NETO, J. C. Q.; PETRI, D. F. The effect of calcium salts on the viscosity and adsorption behavior of xanthan. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 669-676, 2011.

DEMIRCI, A.S.; PALABIYIK, I.; ALTAN, D.D.; APAYDIN, D.; GUMUS, T. Yield and rheological properties of exopolysaccharide from a local isolate: *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 30, p. 18-23, 2017.

DE MELLO LUVIELMO, M., & SCAMPARINI, ARP. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 5, n. 1, pág. 50-67, 2009.

DESPLANQUES, S.; RENOU, F.; GRISEL, M.; MALHIAC, C. Impact of chemical composition of xanthan and acacia gums on the emulsification and stability of oil-in-water emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 2, p. 401-410, 2012.

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

DINIZ, D. 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** (São Carlos. Impresso), v.1, 2012.

DOMŻAŁ-KĘDZIA, M.; LEWIŃSKA, A.; JAROMIN, A.; WESELSKI, M.; PLUSKOTA, R.; ŁUKASZEWICZ, M. Fermentation parameters and conditions affecting levan production and its potential applications in cosmetics. **Bioorganic chemistry**, v. 93, p. 102787, 2019.

DOS SANTOSA, F. P.; JRA, A. M. O.; NUNESA, T. P.; DE FARIAS SILVAB, C. E.; DE SOUZA ABUD, A. K. Bioconversion of agro-industrial wastes into xanthan gum. **Chemical Engineering**, v. 49, 2016.

EDAMA, N.A.; SULAIMAN, A.; RAHIM, S.N. A. Enzymatic saccharification of Tapioca processing wastes into biosugars through immobilization technology. **Biofuel Research Journal**, v. 1, n. 1, p. 2-6, 2014.

EL-NAAS, M. H.; ALHAIJA, M. A.; AL-ZUHAIR, S. Evaluation of a three-step process for the treatment of petroleum refinery wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 56-62, 2014.

ESGALHADO, M. E.; ROSEIRO, J. C.; AMARAL-COLLAÇO, M. T. Interactive effects of pH and temperature on cell growth and polymer production by *Xanthomonas campestris*. **Process Biochemistry**, v. 30, n. 7, p. 667 – 671, 1994.

FALADE, K. O.; AKINGBALA, J. O. Utilization of cassava for food. **Food Reviews International**, v. 27, n. 1, p. 51-83, 2010.

FLICKINGER, M.C.; DREW, S.W. (Eds.), *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation*. Wiley, New York, pp. 2695–2711.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. Produzir mais com menos: Mandioca. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i2929o.pdf>>. Acessado em: dezembro de 2020.

FREITAS, F.; ALVES, V. D.; REIS, M. AM. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. **Trends in biotechnology**, v. 29, n. 8, p. 388-398, 2011.

GARCÍA-OCHOA, F.; CASAS, J.A.; MOHEDANO, A.F. Precipitation of xanthan gum. **Separation Science and Technology**, v. 28, p. 1303–1313, 1993.

GARCIA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GOMEZ, E. Xanthan gum: Production, Recovery, and Properties. **Biotechnology Advanced** v. 18, n. 7, p. 549-579, 2000.

GHASHGHAEI, T.; SOUDI, M. Reza; HOSEINKHANI, S. Optimization of xanthan gum production from grape juice concentrate using Plackett-Burman design and response surface methodology. **Applied Food Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 15-23, 2016.

GHOUMRASSI-BARR, S.; ALIOUCHE, D. Um estudo reológico do polímero Xanthan para recuperação aprimorada de óleo. **Journal of Macromolecular Science, Parte B**, v. 55, n. 8, p. 793-809, 2016.

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

GILBERT, L.; LOISEL, V.; SAVARY, G.; GRISEL, M.; PICAR, C. Stretching properties of xanthan, carob, modified guar and celluloses in cosmetic emulsions. **Carbohydrate polymers**, v. 93, n. 2, p. 644-650, 2013.

Global Xanthan Gum Industry in Global Industry Analysts. ID:5960548, 185 pages, 2021. Disponível em: https://www.reportlinker.com/p05960548/Global-Xanthan-Gum-Industry.html?utm_source=GNW. Acessado em: 26 de junho de 2021.

GOMES, G. V.; ASSIS, D. D. J.; DA SILVA, J. B.; SANTOS-EBINUMA, V. D. C.; COSTA, L. A.; DRUZIANL, J. I. Obtaining xanthan gum impregnated with cellulose microfibrils derived from sugarcane bagasse. **Materials Today: Proceedings**, v. 2, n. 1, p. 389-398, 2015.

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

HABIBI, H.; KHOSRAVI-DARANI, K. Effective variables on production and structure of xanthan gum and its food applications: A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 10, p. 130-140, 2017.

HASAN, A. M.; ABDEL-RAOUF, M. E. Applications of guar gum and its derivatives in petroleum industry: A review. **Egyptian journal of petroleum**, v. 27, n. 4, p. 1043-1050, 2018.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATHM, P. H. A.; STALEY, J. T. - Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Philadelphia (USA): Lippinott Williams and Wilkins. 9 ed., p. 100-174, 1994.

HU, Q.; LU, Y.; LUO, Y. Recent advances in dextran-based drug delivery systems: From fabrication strategies to applications. **Carbohydrate Polymers**, p. 117999, 2021.

JAFARINEJAD, S.; JIANG, S. C. Current technologies and future directions for treating petroleum refineries and petrochemical plants (PRPP) wastewaters. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, 2019.

JANG, H. Y.; ZHANG, K.; CHON, B. H.; CHOI, H. J. Enhanced oil recovery performance and viscosity characteristics of polysaccharide xanthan gum solution. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 21, p. 741-745, 2015.

KARRAY, F.; ALOUI, F.; JEMLI, M.; MHIRI, N.; LOUKIL, S.; BOUHDIDA, R.; SAYADI, S. Pilot-scale petroleum refinery wastewaters treatment systems: Performance and microbial communities' analysis. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 141, p. 73-82, 2020.

KENNEDY, J. F.; BRADSHAW, I. J. Production, properties and applications of xanthan. **Progress in industrial microbiology**, v. 19, p. 319-371, 1984.

KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. Bergey's Manual of determinative bacteriology. 9^o Ed. Editora Williams & Wilkins, p.787, 1994.

KUMAR, A.; RAO, K. M.; HAN, S. S. Application of xanthan gum as polysaccharide in tissue engineering: A review. **Carbohydrate polymers**, v. 180, p. 128-144, 2018.

LI, P.; LI, T.; ZENG, Y.; LI, X.; JIANG, X.; WANG, Y.; ZHANG, Y. Biosynthesis of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* LREL1-1 using kitchen waste as the sole substrate. **Carbohydrate polymers**, v. 151, p. 684-691, 2016.

LI, Q.; KANG, C.; ZHANG, C. Waste water produced from an oilfield and continuous treatment with an oil-degrading bacterium. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 873-877, 2005.

LUVIELMO, M. M.; SCAMPARINI, A. R. P. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos tecnológicos**. v.5. n.1. p.50- 67, 2009.

HAMCERENCU, M.; DESBRIERES, J.; POPA, M.; KHOUKH, A.; RIESS, G. New unsaturated derivatives of Xanthan gum: Synthesis and characterization. **Polymer**, v. 48, n. 7, p. 1921-1929, 2007.

MAC FADDIN, J. S. Biochemical test for identification of medical bacteria. Lippincott Williams & Wilkins, 3th ed, 2000.

MARGARITIS, A.; ZAJIC, J. E. Mixing, mass transfer, and scale-up of polysaccharide fermentations. **Biotechnology and bioengineering**, v. 20, n. 7, p. 939-1001, 1978.

MARTINEZ, D.G; FEIDEN, A.; BARICCATTI, R.; DE FREITAS ZARA, K.R. Ethanol production from waste of cassava processing. *Applied Sciences*, v. 8, n. 11, p. 2158, 2018.

MESOMO, M. C. Produção de goma xantana em biorreator utilizando meio á base de soro de queijo. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Programa de

Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erichim, 2007.

MILAS, M.; RINAUDO, M. Properties of xanthan gum in aqueous solutions: role of the conformational transition. **Carbohydrate Research**, v. 158, p. 191–204, 1986.

MIRANDA, A. L.; COSTA, S. S.; ASSIS, D. D. J.; DE JESUS, C. S.; GUIMARÃES, A. G.; DRUZIAN, J. I. Influence of strain and fermentation time on the production, composition, and properties of xanthan gum. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 137, n. 15, p. 48557, 2020.

MISAKI, A. Structural aspects of some functional polysaccharides. In: NISHIARI, K.; DOI, E. (ed.) *Food Hydrocolloids*. New York, Plenum Press, p. 147-150, 1993.

MITTAL, H.; KUMAR, V.; RAY, S. S. Adsorption of methyl violet from aqueous solution using gum xanthan/Fe₃O₄ based nanocomposite hydrogel. **International journal of biological macromolecules**, v. 89, p. 1-11, 2016.

MORRIS, E. R. Rheology of hydrocolloids. In: PHILLIPS, G.O.; WEDLOCK, D.J.; WILLIAMS, P.A. *Gums and stabilisers for the food industry*. Oxford: Pergamon Press, 1984. p.57-78.

MURPHY, W.L.; MCDEVITT, T.C.; ENGLER, A.J. Materials as stem cell regulators. **Nature Materials**, v. 13, p. 547–557, 2014.

NAM, N. H.; LINH, V. N.; DUNG, L. D.; HA, V. T. T. Physico-chemical characterization of forest and agricultural residues for energy conversion processes. **Vietnam Journal of Chemistry**, v. 58, n. 6, p. 735-741, 2020.

NASIRI, M. JAFARI, I. Produced water from oil-gas plants: A short review on challenges and opportunities. **Periodica Polytechnica Chemical Engineering**, v. 61, n. 2, p. 73-81, 2017.

NEFF, J.; LEE, K.; DeBLOIS, E.M. 2011-a. Produced water: Overview of composition, fates and effects. Cap. 1 In: *Produced water, environmental risks and advances in mitigation technologies*. Lee, K. & Neff, J. (eds.). Springer Science, 608p.

NEJADMANSOURI, M.; SHAD, E.; RAZMJOOEI, M.; SAFDARIANGHOMSHEH, R.; DELVIGNE, F.; KHALES, M. Production of xanthan gum using immobilized *Xanthomonas campestris* cells: Effects of support type. **Biochemical Engineering Journal**, v. 157, p. 107554, 2020.

NG, J. Y.; OBUOBI, S.; CHUA, M. L.; ZHANG, C.; HONG, S.; KUMAR, Y.; EE, P. L. R. Biomimicry of microbial polysaccharide hydrogels for tissue engineering and regenerative medicine—A review. **Carbohydrate polymers**, p. 116345, 2020.

NICOLAUS, B.; KAMBOUROVA, M.; TOKSOY ONER, E. Exopolysaccharides from extremophiles: from fundamentals to biotechnology. **Environmental Technology**, v. 31, n. 10, p. 1145-1158, 2010.

NIKNEZHAD, S. V.; ASADOLLAHI, M. A.; ZAMANI, A., BIRIA, D.; DOOSTMOHAMMADI, M. Optimization of xanthan gum production using cheese whey and response surface methodology. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n. 2, p. 453-460, 2015.

ÖNER, E. T.; HERNÁNDEZ, L.; COMBIE, J. Joan. Review of levan polysaccharide: from a century of past experiences to future prospects. **Biotechnology advances**, v. 34, n. 5, p. 827-844, 2016.

OSMAŁEK, T.; FROELICH, A.; TASAREK, S. Application of gellan gum in pharmacy and medicine. **International journal of pharmaceutics**, v. 466, n. 1-2, p. 328-340, 2014.

PACE, G. Polímeros microbianos. In: BU'LOOCK, J.; KRISTIENSEN, B. *Biotecnología Básica*. Zaragoza: Acríbia, p. 449-462, 1991.

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

PAPAGIANNI, M.; PSOMAS, S.K.; BATSILAS, L.; PARAS, S.V.; KYRIAKIDIS, D.A.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M. Xanthan production by *X. campestris* in batch cultures. **Process Biochemistry**, v. 37, n. 1, p. 73-80, 2001.

PATEL, S.; MAJUMDER, A.; GOYAL, A. Potentials of exopolysaccharides from lactic acid bacteria. **Indian journal of microbiology**, v. 52, n. 1, p. 3-12, 2012.

PETERS, H. U.; HERBST, H.; HESSELINK, P. G. M.; LU, ÈNDSORF. H.; SCHUMPE, A.; DECKWER, W. D. The influence of agitation rate on xanthan production by *Xanthomonas campestris*. **Biotechnology and Bioengineering**, n. 34, p. 1393-1397, 1989.

PETRI, D. F. Xanthan gum: A versatile biopolymer for biomedical and technological applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 23, 2015.

PETTITT, D. J. Xanthan Gum. In GLICKSMAN M. *Food Hydrocolloids*, v.1, CRC Press, cap. 5, p.128-149, 1982.

RAMOS, B.F.M.; DE ALMEIDA, P.F.; CHINALIA, FA. BACTERIAL Xanthan and Ramnolipid Simultaneous Production using Industrial Oil Produced Water. **Environmental Technology**, p. 1-15, 2020.

RAUS, R. A.; NAWAWI, W. M. F. W.; NASARUDDIN, R. R. Alginate and Alginate Composites for Biomedical Applications. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2020.

REINOSO, D.; MARTIN-ALFONSO, M. J.; LUCKHAM, P. F.; MARTINEZ-BOZA, F. J. Rheological characterisation of xanthan gum in brine solutions at high temperature. **Carbohydrate polymers**, v. 203, p. 103-109, 2019.

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.

ROSEIRO, J.C. EMERY, A.N, SIMOES, P. ESTEVÃO, F. COLLAÇO, M.T. Production of xanthan by in-flow cultures of *Xanthomonas campestris*. **Applied Microbiology & Biotechnology**, v.38, n.6, p. 709-713, 1993.

RÜHMANN, B.; SCHMID, J.; SIEBER, V. High throughput exopolysaccharide screening platform: from strain cultivation to monosaccharide composition and carbohydrate fingerprinting in one day. **Carbohydrate polymers**, v. 122, p. 212-220, 2015.

SANCHEZ-GARCIA, M. D.; LAGARON, J. M.; HOA, S. V. Effect of addition of carbon nanofibers and carbon nanotubes on properties of thermoplastic biopolymers. **Composites science and technology**, v. 70, n. 7, p. 1095-1105, 2010.

SHARMA, B.; NARESH, L.; DHULDHOYA, N.; MERCHANT, S.; MERCHANT, U. Xanthan gum - A boon to food industry. **Food Promot Chronic**. v. 1, p. 27-30, 2006.

SHARMA, A.; GAUTAM, S.; WADHAWAN, S. *Xanthomonas*. **Bhabha Atomic Research Centre**, Mumbai, India, 2014.

SHENG, L.; ZHU, G.; TONG, Q. Comparative proteomic analysis of *Aureobasidium pullulans* in the presence of high and low levels of nitrogen source. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 43, p. 10529-10534, 2014.

SILVA F. R.; VETTORE, A. L.; KEMPER, E. L.; LEITE, A.; ARRUDA, P. Fastidious gum: The *Xilella fastidiosa* exopolysaccharide possibly involved in bacterial pathogenicity. **FEMS Microbiology Letters**, n. 203, p. 165-171, 2001.

SILVA, M. L. C.; MARTINEZ, P. F.; IZELI, N. L.; SILVA, I. R.; VASCONCELOS, A. F. D.; CARDOSO, M. S.; STELUTTI, R. M.; GEISE, E. C.; BARBOSA, A. M. 2005. Caracterização química de glucanas fúngicas e suas aplicações biotecnológicas. **Quimica Nova**, V. 29, N. 1, p.85-92, 2006.

SILVA, M. F.; FORNARI, R. C.; MAZUTTI, M. A.; DE OLIVEIRA, D.; PADILHA, F. F.; CICHOSKI, A. J.; TREICHEL, H. Production and characterization of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 1, p. 119-123, 2009.

SOETAREDJO, F. E.; ISMADJI, S.; FOE, K.; YI-HSU, J. Recent advances in the application of polymer-based nanocomposites for removal of hazardous substances from water and wastewater. **New Polymer Nanocomposites for Environmental Remediation**, p. 499-540, 2018.

SOUTO, L.R.F; CALIARI, M.; SOARES JUNIOR, M.S; FIORDA, F.A; GARCIA, M.C . Utilization of residue from cassava starch processing for production of fermentable sugar by enzymatic hydrolysis. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 1, p. 19-24, 2017.

SRIKANTH, R.; REDDY, C. H. S.; SIDDARTHA, G.; RAMAIAH, M. J.; UPPULURI, K. B. Review on production, characterization and applications of microbial levan. **Carbohydrate polymers**, v. 120, p. 102-114, 2015.

SUJITHRA, B.; DEEPIKA, S.; AKSHAYA, K.; PONNUSAMI. Production and optimization of xanthan gum from three-step sequential enzyme treated cassava bagasse hydrolysate. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 21, p. 101294, 2019.

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

SWORN, Graham. Goma xantana. In: Manual de hidrocolóides. **Woodhead Publishing**, 2009. p. 186-203.

TASLEEM, S.; ANWAR, F.; ARIF, M.; KHAN, AN, ALI, A., ALI, S.; SHAH, SA. Production of Xanthan gum from *Xanthomonas campestris* isolated from Cruciferous Vegetables. 2020.

VEIGA, J.P.S; VALLE, T.L; FELTRAN, J.C; BIZZO, W.A. Characterization and productivity of cassava waste and its use as an energy source. **Renewable energy**, v. 93, p. 691-699, 2016.

VILHALVA, D. A. A.; SOARES JÚNIOR, M. S., CALIARI, M.; SILVA, F. A. Secagem convencional de casca de mandioca proveniente de resíduos de indústria de amido. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 3, p. 331-339, 2012.

WANG, Z.; WU, J.; GAO, MJ.; ZHU, L.; ZHAN, XB. High production of xanthan gum by a glycerol-tolerant strain *Xanthomonas campestris* WXLB-006. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 47, n. 5, p. 468-472, 2017.

WOICIECHOWSKI, A.L. Desenvolvimento de bioprocesso para a produção de goma xantana a partir de resíduos agroindustriais de café e de mandioca, Tese de doutorado- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

ZHANG, Z.; CHEN, H. Fermentation performance and structure characteristics of xanthan produced by *Xanthomonas campestris* with a glucose/xylose mixture. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 160, n. 6, p. 1653-1663, 2010.

ZHANG, K.; WU, S.; YANG, H.; LI, G. Catalytic conversion of cassava residues to ethylene glycol via a one-pot hydrothermal reaction. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, n. 7, p. 2443-2450, 2017.

CAPÍTULO II

Biossíntese alternativa de goma xantana em água residual da indústria de petróleo e resíduo de mandioca: produção e caracterização

Biossíntese alternativa de goma xantana em água residual da indústria de petróleo e resíduo de mandioca: produção e caracterização

RESUMO

Devido a suas excelentes propriedades reológicas, a goma xantana tem ampla aplicação em diversos setores (alimentício, farmacêutico, petroquímico etc.), no entanto, os custos de produção ainda são considerados elevados. Dessa maneira, o objetivo desse estudo foi avaliar a produção de goma xantana em água residual da indústria petroquímica suplementada com resíduo de mandioca, bem como suas propriedades. Para a produção foi utilizada a cepa *Xanthomonas axonopodis pv manihotis* 1182 em dois tempos de fermentação 72-96 horas. A água produzida e o resíduo de mandioca foram caracterizados quanto aos parâmetros físico-químicos. As análises viscosidade aparente; índice emulsificante; espectroscopia no infravermelho (FTIR) e estabilidade térmica (TGA/dTGA), foram realizadas com a finalidade de caracterizar as gomas produzidas. A produção máxima foi obtida em 72 horas de fermentação (6,80 g L⁻¹) e todas as amostras apresentaram comportamento pseudoplástico e índice de emulsificação após 24 h igual ou superior 50%. A partir dos resultados de FTIR, as gomas obtidas nos diferentes tempos de fermentação apresentaram um comportamento espectral similar. As amostras apresentaram quatro eventos térmicos característicos da goma xantana e demonstraram boa estabilidade quando comparados com a goma comercial. Assim, *Xanthomonas* é capaz de produzir goma xantana em meio à água produzida e resíduo de mandioca como substrato alternativo de modo eficiente, garantindo um polímero de baixo custo e reduzindo danos ambientais.

Palavras-chave: Água produzida, biopolímero, resíduo de mandioca, *X. axonopodis*

ABSTRACT

Due to its excellent rheological properties, xanthan gum has wide application in several sectors (food, pharmaceutical, petrochemical, etc.), however, production costs are still considered high. Thus, the aim of this study was to evaluate the production of xanthan gum in wastewater from the petrochemical industry supplemented with cassava waste, as well as its properties. For production, the strain *Xanthomonas axonopodis* pv *manihotis* 1182 was used in two stages of fermentation 72-96 hours. Produced water and cassava residue were characterized in terms of physicochemical parameters. Apparent viscosity analyses; emulsifying index; Infrared spectroscopy (FTIR) and thermal stability (TGA/dTGA) were performed in order to characterize the produced gums. The maximum production was obtained in 72 hours of fermentation (6.80 g L^{-1}) and all samples showed pseudoplastic behavior and emulsification index after 24 h equal to or greater than 50%. From the FTIR results, the gums obtained at different fermentation times showed a similar spectral behavior. The samples showed four thermal events characteristic of xanthan gum and demonstrated good stability when compared to commercial gum. Thus, *Xanthomonas* is able to efficiently produce xanthan gum amid produced water and cassava waste as an alternative substrate, ensuring a low-cost polymer and reducing environmental damage.

Keywords: Produced water, biopolymer, cassava waste, *X. axonopodis*

1 INTRODUÇÃO

Xanthomonas são bactérias gram negativas, aeróbicas, isolada em 1940 por Vers, que observou a capacidade das mesmas em aumentar a viscosidade do meio, como resultado da secreção de um heteropolissacarídeo aniônico denominado goma xantana - polímero de alto peso molecular, hidrossolúvel, ramificado com unidades repetidoras de pentassacarídeo (MESOMO 2007; HABIBI & KHOSRAVI-DARANI, 2017).

Os exopolissacarídeos (EPS) são recursos importantes devido as suas muitas propriedades físico-químicas e reológicas que permitem a formação de soluções viscosas. Alguns EPS emergiram como biopolímeros importantes com valor comercial e com ampla faixa de atuação em diversos setores da indústria alimentícia, farmacêutica e petroquímica. Por exemplo, a goma xantana, amplamente utilizada devido a suas propriedades reológicas de excelência, permitindo a formação de soluções viscosas em uma ampla faixa de pH, temperatura, compatibilidade com a maioria dos sais metálicos e alta estabilidade em soluções (NIKNEZHAD *et al.*,2015, DEMIRCI *et al.*, 2017).

A goma xantana é considerada um dos polissacarídeos naturais mais amplamente utilizado no setor industrial, com produção mundial de 150.000 e 160.000 toneladas/ano, aumentando a uma taxa anual de 5–10% (DEMIRCI *et al.*,2017). Fatores, como composição do substrato, temperatura, pH, agitação e aeração, assim como a cepa bacteriana, influenciam na composição, viscosidade e rendimento do biopolímero (GARCÍA-OCHOA *et al.*,2000, PALANIRAJ & JAYARAMAN,2011).

Na produção da goma xantana, o custo do meio fermentescível é visto como uma oportunidade de valor. Os meios sintéticos usados para a produção possuem glicose ou sacarose como fontes de carbono e, portanto, do ponto de vista econômico, seu custo representa um fator crítico no processo de produção, uma vez que requer maior suplementação para obtenção de um bom rendimento do polímero (LI *et al.*, 2017). Visando a redução nos custos de produção, a utilização de resíduos agroindustriais e subprodutos de baixo custo é uma alternativa viável para o aproveitamento desses rejeitos, bem como uma solução para o descarte de resíduos sólidos e desenvolvimento de novos produtos (ASSIS *et al.*, 2014; DOS SANTOSA *et al.*,2016).

Durante o processo de extração do petróleo, estima-se que 80–90% da água fornecida pelas refinarias e plantas petroquímicas é descartada como água residual

(JAFARINEJAD & JIANG, 2019). A água produzida consiste na água associada ao óleo durante o processo de extração do petróleo e pode ser resultante da: mistura do óleo do poço com a água do mar ou pela injeção de água no campo de petróleo para levar o óleo profundo à superfície (AL-GHOUTI *et al.*, 2019). O descarte da água produzida sem tratamento adequado é um grande problema ambiental, sendo necessário o desenvolvimento de novas tecnologias a fim de reduzir os poluentes presentes nas águas e permitir o seu uso em diferentes setores (KARRAY *et al.*, 2020).

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é um dos alimentos mais consumidos do mundo e cultivados por pequenos produtores (FALADE & AKINGBALA, 2010). O Brasil é o quarto maior produtor de mandioca, com uma produção de 17,6 milhões de toneladas (FAO, 2020). Durante as etapas de processamento, grandes quantidades de resíduos sólidos são gerados, incluindo partes da polpa e casca da mandioca (EDAMA *et al.*, 2014). Considerando os problemas ambientais ocasionados pelo descarte de resíduos orgânicos, uma alternativa para produção de goma xantana é a utilização do resíduo de mandioca como substrato fermentescível.

Autores já relataram a produção de goma xantana a partir do cultivo de *Xanthomonas* em diferentes substratos como: soro de mandioca (BRANDÃO *et al.*, 2010), casca de camarão fermentada (COSTA *et al.*, 2014), resíduos de cozinha (LI *et al.*, 2017), águas residuais da indústria de confeitaria (BAJIC *et al.*, 2017), casca de coco e casca de cacau (Da Silva *et al.*, 2018) e água produzida da indústria petroquímica (RAMOS *et al.*, 2020). Assim, acredita-se que a *Xanthomonas* tem potencial para produzir goma xantana utilizando diferentes resíduos como fonte de carbono, contribuindo para redução dos custos do processo de produção e minimizando danos ambientais causados pelo descarte inadequado. Diante do exposto, este trabalho objetivou produzir e caracterizar goma xantana sintetizada por *Xanthomonas axonopodis pv manihotis* 1182 em meio contendo água produzida da indústria petroquímica e resíduo de mandioca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção e caracterização da água produzida

A água produzida (AP) foi coletada em um poço de perfuração de petróleo localizado no município de Santo Amaro das Brotas (10° 46 '44" S, 37° 3' 30" w), a 41

km da cidade de Aracaju-SE, acondicionada e transportada para o laboratório de Análise de Alimentos (LAPESCA), localizado na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, onde foram realizadas as análises.

A composição química da AP foi analisada no Laboratório de Biotecnologia e Ecologia de Microrganismos do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia - UFBA, Salvador - BA. As características físico-químicas determinadas foram: pH, salinidade e cloreto, determinado pelos respectivos métodos padrão SM-4500(H⁺)B; SM-2520C; SM-4500-Cl⁻B e metais, determinados por Espectrometria de Emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP) (EPA-620A).

2.2 Obtenção e caracterização do resíduo de mandioca

O resíduo de mandioca (casca externa e casca interna) utilizado como substrato fermentativo alternativo, foi doado de uma casa de farinha localizada na cidade de Inhambupe-BA. O resíduo foi seco em estufa com circulação e renovação de ar (Tecnal, modelo 394/1) a uma temperatura média $45 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. Posteriormente o resíduo seco foi triturado, peneirado em malha de abertura 500 μm (32 mesh), embalado e armazenado sob refrigeração.

A composição centesimal do resíduo da mandioca, o material triturado foi avaliado físico-quimicamente quanto a sua composição em termos de umidade, cinzas e proteína (Kjeldahl), conforme as especificações da AOAC (1997). A determinação de lipídios totais foi feita por método a frio utilizando clorofórmio:metanol:água (2:2:1) (BLIGH & DYER, 1959), e o teor de carboidratos foi calculado pela diferença entre 100 e a soma dos percentuais de umidade, proteína, lipídios totais e cinzas.

2.3 Reativação e manutenção do microrganismo

A cepa utilizada no estudo foi a *Xanthomonas axonopodis pv manihotis* 1182, doada pela Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico - IBSBF, Campinas-SP, na forma liofilizada e mantida em ultrafreezer a -80°C .

Antes de iniciar a produção a cepa de *Xanthomonas axonopodis pv manihotis* 1182 foi reativada. A cultura foi incubada em meio YM padrão (Acumedia®) em tubos de ensaio a 28°C por 24h em estufa bacteriológica (Tecnal, modelo TE 398/2). O meio YM padrão é composto de 0,5% digestão enzimática de gelatina, 0,3% m/v de extrato

de malte, 0,1 % dextrose, 0,3% m/v de extrato de levedura, dissolvidos em água destilada e esterilizada antes da inoculação (121°C por 15 min- Autoclave vertical, Alpha).

A repicagem foi realizada em placas de Petri (descartáveis e estéreis) contendo meio ágar YM (Acumedia®), composto por: 0,5% digestão enzimática de gelatina, 0,3% extrato de malte, 0,1% dextrose, 0,3 % extrato de levedura e 2 % ágar. Para tanto, uma alçada (~10 µL) da cultura foi transferida para a placa e incubada em estufa bacteriológica (Tecnal, modelo TE 398/2) por 24 horas a 28 °C até o crescimento da colônia (ASSIS *et al.*, 2014, LI *et al.*, 2016).

2.4 Inóculo

De acordo com a metodologia descrita por Assis *et al.* (2014), o inóculo foi preparado em meio YM-padrão e uma alçada (~10 µL) da cultura de *X. campestris* 1182 foi incubada em erlenmeyers de 250 mL contendo 50 mL de caldo YM em agitador orbital (Tecnal, TE-424), a 180 rpm e 28 ± 2 °C por 24h.

2.5 Produção de goma xantana

A produção da goma xantana foi realizada em shaker (Agitador orbital Tecnal, TE-424) a 180 rpm, 30 °C por 72 e 96h. A fermentação foi conduzida em erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL do meio fermentescível e 10 mL do inóculo (10 % v /v). O meio utilizado foi composto por K₂HPO₄ (0,5% m/v), citrato de sódio (0,1% m/v), 50 mL de água produzida e resíduo de mandioca (2% m/v). Posteriormente o pH foi ajustado para 7,0 (NaOH 1,0% m/v) e antes da transferência do inóculo, o meio foi pasteurizado (60°C /30min). Em seguida, procedeu-se a incubação em agitador orbital a (180 rpm a 30° C \pm 1 ° por 72 e 96h) (RAMOS *et al.*,2020).

2.6 Recuperação da goma xantana

Para a separação da goma xantana produzida em cada fermentação (72 e 96h), o caldo fermentativo foi centrifugado (Eppendorf, modelo 5702R) em uma velocidade de 4.400 rpm por 20 minutos à temperatura de -5°C. Ao sobrenadante foi adicionado etanol (96 °GL) na proporção de 1:3 (v/v) para a precipitação da goma xantana e deixado em repouso por 24 horas. Posteriormente o material precipitado foi filtrado à vácuo, transferido para placa de Petri previamente tarada e seco em estufa sem

circulação de ar (Ética, modelo 410/ND) a 30 °C por 24 horas. Após a secagem o material foi pesado, coletado das placas e transferido para eppendorfs devidamente etiquetado (ASSIS *et al.*,2014).

2.7 Viscosidade aparente

A viscosidade aparente foi obtida utilizando um reômetro (Haake Rheotest, Mod. 2.1) de cilindros concêntricos acoplado a um banho-maria. Para avaliar o comportamento da viscosidade aparente, soluções aquosas de goma xantana (0,5% m/v) foram elaboradas e mantidas sob refrigeração por 12 horas antes da análise. As medidas foram feitas na temperatura de 25°C e taxas de cisalhamento entre 4,5 e 1000 s⁻¹ (Assis *et al.*,2014). Os dados reológicos foram ajustados ao modelo de Ostwald-de Waele conforme Equação (1).

$$\mu = K (\dot{\gamma})^{n-1} \quad (1)$$

onde K é o índice de consistência, n é o índice de comportamento de escoamento, μ é a viscosidade aparente e $\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento.

2.8 Índice de emulsificação (IE₂₄)

O ensaio de índice de emulsificação foi realizado seguindo a metodologia descrita por Iyer *et al.* (2006). Para isso, soluções aquosas de goma xantana (0,1% m/v) foram misturadas com diferentes óleos (mineral, girassol, soja e oliva) em tubos de ensaios na proporção de 2:3 (v/v). Posteriormente os tubos foram agitados em vórtex por 2 min e deixados em repouso por 24 horas. Em seguida o índice de emulsificação foi determinado pela relação em centímetros (cm) entre a altura da camada emulsificada e a altura total da camada de líquido em O índice de emulsificação (IE₂₄) foi calculado de acordo com a Equação (2).

$$IE_{24} = (\text{Altura da camada emulsionada}) * 100 / (\text{Altura total do líquido}) \quad (2)$$

2.9 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As amostras de goma xantana foram analisadas qualitativamente por FTIR (PerkinElmer Model Spectrum 100) entre 4000 e 400 cm^{-1} , usando o acessório ATR (reflexão total atenuada) com cristal de seleneto de zinco (GOMES *et al.*,2015).

2.10 Análise Termogravimétrica (TGA/ dTG)

As análises termogravimétricas (TGA) foram realizadas em um analisador termogravimétrico (Perkin Elmer, Pyris 1 TGA). Nas análises foram utilizadas massas de aproximadamente 5,0 mg, cadinho de alumínio, faixa de temperatura de 30 a 600 °C, taxa de aquecimento de 15 °C min^{-1} e atmosfera inerte de nitrogênio com vazão de 20 mL min^{-1} (MIRANDA *et al.*,2020).

2.11 Análise Estatística

Foi realizada a análise de variância (ANOVA) e a comparação das médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), para comparar a produção da goma xantana nos diferentes tempos de produção (72 e 96h).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização da Água produzida (AP) e Resíduo de Mandioca

Os principais componentes encontrados na água produzida (AP), juntamente com suas concentrações, estão expressos na Tabela 1. A água produzida contém sais inorgânicos, metais, uma grande variedade de compostos químicos e apresentou pH de 5,19. Para a produção de goma xantana, autores concordam que o pH próximo a neutralidade é o ideal para o crescimento de *Xanthomonas*, sendo assim, foi necessário neutralizar o meio antes da inoculação da bactéria (GUMUS *et al.*, 2010; PALANIRAJA & JAYARAMANB, 2011). Gracia- Ochoa *et al.* (2000) afirma que o controle do pH melhora o crescimento celular, mas não tem efeito sobre a produção.

Tabela 1. Caracterização físico-química e de metais na Água produzida (AP)

Parâmetro	Resultado	Método
pH	5,19	SM- 4500 H ⁺ B
Salinidade (%)	> 80	SM - 2520 B
Cloreto (mg L ⁻¹)	77.861	SM - 4500-Cl ⁻ B
Sulfato (mg L ⁻¹)	320,48	SM- 4500 SO ₄ E
Fósforo (mg L ⁻¹)	0,21	SM - 4500 P B/E
Zinco (mg L ⁻¹)	0,0124	EPA - 6020A
Manganês (mg L ⁻¹)	1,9	EPA - 6020A
Ferro (mg L ⁻¹)	20	EPA - 6020A
Cobre (mg L ⁻¹)	0,00148	EPA - 6020A
Cromo (mg L ⁻¹)	< 0,0050	EPA - 6020A
Níquel (mg L ⁻¹)	< 0,0050	EPA - 6020A
Cádmio (mg L ⁻¹)	< 0,00050	EPA - 6020A
Chumbo (mg L ⁻¹)	< 0,0050	EPA - 6020A

A água produzida utilizada nesse estudo apresentou alta salinidade (> 80%). Alghouti *et al.* (2019) destacam que cloreto e sódio são considerados os íons salinos mais abundantes em águas produzidas, enquanto o fosfato está presente em menores concentrações. O nível de cloreto encontrado nesse estudo foi de 77,861 mg L⁻¹, resultado semelhante (71,438 mg L⁻¹) ao reportado por Sampaio *et al.* (2020) ao avaliarem a produção de goma xantana em água produzida de um campo de petróleo.

A água produzida contém diversos metais como ferro, chumbo, cromo, bário, níquel, zinco, cádmio e manganês. Apesar da presença desses metais e a possível toxicidade da água, bactérias como *Xanthomonas* podem desenvolver diversos mecanismos para adaptar-se ao ambiente, o que possibilita seu desenvolvimento nesse meio (BANJERDKIJ & MONGKOLSUK, 2003).

Os resultados da composição centesimal do resíduo da mandioca estão expostos na Tabela 2. O resíduo utilizado no processo fermentativo para produção da goma xantana apresentou 10,74% de umidade e 89,26% de matéria seca, dos quais 77,53% são carboidratos, 5,93% lipídios, 3,70% cinzas e 2,10% proteínas. Estes compostos são de grande importância considerando sua utilização como substratos na fermentação pelas bactérias *Xanthomonas*, uma vez que irão fazer parte dos nutrientes necessários, tanto para o crescimento celular, como para a biossíntese de goma xantana (BRANDÃO *et al.*, 2010). A relação C:N para o resíduo de mandioca foi de aproximadamente 40:1 (Tabela 2). Segundo Sujithra *et al.* (2019), uma elevada

concentração de nitrogênio no meio pode ser necessária para o crescimento celular, mas pode levar a produção de goma xantana com propriedades reológicas inadequadas. Por outro lado, meios contendo elevado teor de fonte de carbono e baixo teor de nitrogênio, favorece o acúmulo de xantana. Assim, devido a sua composição química e relação C:N favorável, o resíduo de mandioca é um substrato alternativo para a produção de goma xantana. Pois no geral, os processos industriais tendem a buscar meios que disponibilizem condições tanto para o crescimento como para o acúmulo de goma (VASHITZ; SHEINTUCH, 1991).

Tabela 2. Valor médio da composição centesimal do resíduo da mandioca utilizado como substrato para a produção de goma xantana.

Parâmetros	Resultados (%)
Umidade	10,74 ± 0,12
Cinzas	3,70 ± 0,06
Lipídios	5,93 ± 0,10
Proteínas	2,10 ± 0,05
Carboidratos	77,53 ± 0,13

3.2 Produção de Goma Xantana

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos para produção de goma xantana (g L^{-1}) em água produzida e resíduo da mandioca como meios alternativos, em shaker e em diferentes tempos de fermentação (72 e 96 horas).

Tabela 3. Produção de goma xantana (g L^{-1}) em meio fermentativo produzido com cepa *Xanthomonas axonopodis pv manihotis* 1182 por 72h e 96 h (*shaker*).

Tempo (horas)	Produção da Goma Xantana (g L^{-1})
	Shaker
72	6,80 ± 0,74 ^a
96	5,96 ± 1,83 ^a

Valores expressos como desvio padrão médio. Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna denotam diferenças significativas (ANOVA, $p < 0,05$).

A produtividade da goma xantana é influenciada pela cepa microbiana específica, tempo de fermentação e fonte de carbono utilizada (GARCÍA-OCHOA *et al.*

2000). O tempo de cultivo tem influência na quantidade e qualidade do biopolímero produzido (MOREIRA *et al.*, 2001). Neste estudo, a máxima produção (6,8 g L⁻¹) foi observada no menor tempo de fermentação (72h), mas sem diferenças significativas ($p > 0,05$).

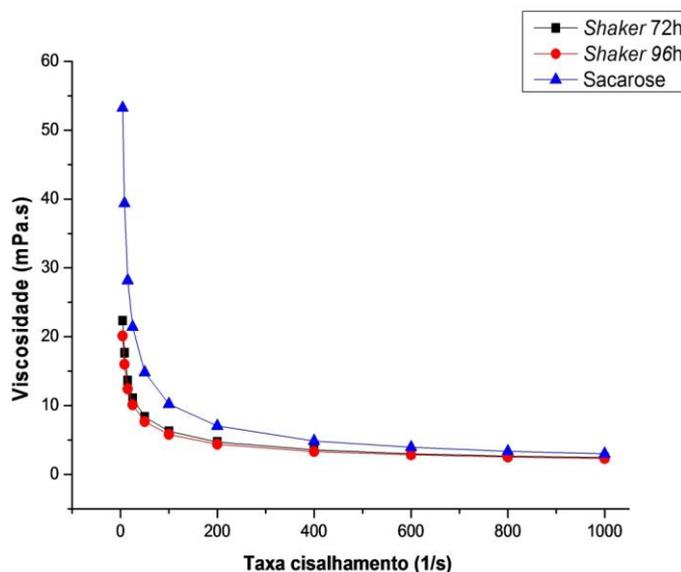
Quando a produção de goma xantana obtida no presente estudo é comparada à de autores que utilizaram diferentes meios fermentativos, os valores são variáveis. Ramos *et al.* (2020), obtiveram produção média de 8,69 g L⁻¹ com *Xanthomonas axonopodis pv. manihotis* 1182 em água produzida, enquanto Brandão *et al.* (2010), relataram uma produção de 11,72 g L⁻¹ utilizando *Xanthomonas campestris manihotis* 1182 em soro de mandioca. Já Da Silva *et al.* (2018) obtiveram produção de 3,57 e 2,64 g L⁻¹ usando cascas de coco e 4,48 e 3,89 g L⁻¹ usando casca de cacau com diferentes cepas de *Xanthomonas campestris* (1866 e 1867). Assim, é possível concluir que a produção é influenciada não somente pela linhagem do microrganismo, mas também pelo meio fermentescível utilizado (SOUZA & VENDRUSCOLO, 2000).

3.3 Viscosidade Aparente

As propriedades reológicas das gomas xantanas foram avaliadas através da análise de viscosidade aparente, parâmetro utilizado para verificar a qualidade das gomas. Os resultados encontrados para as amostras em diferentes tempos (72 e 96h) foram comparados com os resultados obtidos com meio convencional (sacarose) conforme descrito por Assis *et al.* (2014). A curva de viscosidade em função da taxa de cisalhamento é ilustrada na Figura 1.

A temperatura ambiente (25 °C) e taxa de cisalhamento 25 s⁻¹, as viscosidades aparentes das soluções de goma xantana obtidas a partir da fermentação do resíduo de mandioca em meio à água produzida foram de 11,07 e 10,11 mPa·s, (72 e 96h respectivamente). As amostras apresentaram valores inferiores aos obtidos com o emprego de *Xanthomonas* 1182 e sacarose (21,23 mPa·s,) (ASSIS *et al.*, 2014) e soro de mandioca como substratos fermentescíveis (18,09 mPa·s) (BRANDÃO *et al.*, 2010). Costa *et al.* (2014) avaliaram a viscosidade aparente utilizando 10% de extrato aquoso de casca de camarão e obtiveram resultado de 48,53 mPa·s. Isso demonstra a influência do substrato no desempenho metabólico das *Xanthomonas* e consequentemente na viscosidade das gomas obtidas.

Figura 1. Viscosidade aparente das soluções de goma xantana a 0,5% (m/v) obtidas em diferentes tempos de fermentação (72 e 96h) em comparação com meio convencional (sacarose – Assis et al., 2014), em função da taxa de cisalhamento.



A viscosidade da goma xantana é importante pelas suas propriedades espessantes, assim como seus efeitos reológicos e pseudoplásticos em soluções aquosas; essas propriedades determinam suas aplicações industriais e, portanto, são os principais indicadores de qualidade da xantana (DEMIRCI *et al.*, 2017; HABIBI *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2017).

A partir da regressão de potência foi realizado o ajuste do modelo de Ostwald-de Waele aos dados experimentais. Os parâmetros reológicos das gomas produzidas pelos diferentes tempos de fermentação (72 e 96h), em comparação com meio convencional (sacarose) estão expressos na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros reológicos da goma xantana obtidas em diferentes tempos de fermentação e meio convencional (sacarose).

Gomas	K (mPa.s ⁿ)	n	R ²
Shaker 72h	41,39	0,59	0,99
Shaker 96h	36,71	0,59	0,98
Sacarose (Assis <i>et al.</i> , 2014)	119,6	0,46	0,99

K (índice de consistência); n (índice de comportamento de escoamento).

O coeficiente de correlação (R^2) variou de 0,98 e 0,99, indicando que os modelos são válidos e podem ser usado na representação do comportamento das soluções de todas as gomas produzidas (Tabela 4).

A pseudoplasticidade do fluido é também caracterizada pelo valor do índice do comportamento de escoamento (n). Se $n = 1$, o fluido tem comportamento newtoniano, enquanto $n < 1$ indica comportamento pseudoplástico (DARIO *et al.*,2011) . Todas as amostras de gomas tiveram resultados <1 , indicando o comportamento pseudoplástico característico das xantanas. O valor do índice de consistência (K) indica o grau de resistência do fluido diante do escoamento, ou seja, quanto maior o valor de K mais viscoso será o fluido (GOMES *et al.*,2015). Dentre os resultados obtidos e em comparação aos relatados por Assis *et al.* (2014), a goma produto da fermentação em sacarose, apresenta maior índice de consistência, sendo considerada mais viscosas quando comparadas as obtidas nesse estudo.

Os resultados confirmam que as gomas xantana sintetizadas foram distintas em comportamento e qualidade. Podemos observar que o índice de consistência (K) de soluções aquosas de goma xantana obtidas em meio convencional (Sacarose) é 2 vezes maior (119,6 mPa.sⁿ) que os obtidos a partir de xantanas produzidas em meio alternativo contendo resíduo de mandioca e água produzida da indústria de petróleo (41,39 e 36,71 mPa.sⁿ). Esse comportamento pode ser explicado devido à alta salinidade da água produzida (>80%), que influencia diretamente nos baixos valores de viscosidade. Sais monovalentes, como cloreto de sódio, promovem a repulsão eletrostática da cadeia lateral do polímero, resultando em uma molécula mais compacta e conseqüentemente com menor viscosidade (BAK, & YOO, 2018). Mesmo diante do exposto, as gomas xantanas produzidas apresentaram valores de K e n típicos de fluidos pseudoplásticos, destacando a qualidade dos biopolímeros produzidos a partir de *Xanthomonas* em meio a água produzida e resíduo de mandioca.

3.4 Índice de Emulsificação com 24 hora (IE₂₄)

As propriedades reológicas dos polissacarídeos permitem que estes sejam usados para produzir soluções com viscosidades altas e com capacidade de manter o sistema de dispersão estável. Por causa de seu comportamento pseudoplástico a goma xantana em baixas taxas de cisalhamento apresenta alta viscosidade de modo a melhorar a estabilidade de emulsões, dependendo da concentração e da estrutura do polímero

(LONG *et al.*, 2013; LÓPEZ-ORTEGA *et al.*, 2020). Os resultados do índice de emulsificação (IE) das gomas xantanas após 24 h em diferentes óleos estão expressos na Tabela 5. Os resultados obtidos foram comparados com a goma xantana comercial (Sigma Aldrich G1253).

Tabela 5. Índice de emulsificação das gomas xantanas obtidas (72 e 96h) e comercial (Sigma) em diferentes óleos.

Gomas	Índice de emulsificação (%)			
	Óleo mineral	Óleo de Girassol	Óleo de Soja	Azeite de Oliva
Sigma	50	63	55	62
<i>Shaker</i> 72h	55	60	56	60
<i>Shaker</i> 96h	52	50	56	63

As amostras produzidas com 72 e 96h em AP e resíduo de mandioca apresentaram índice de emulsificação maior em azeite de oliva (60 e 63% respectivamente) em comparação com os outros óleos. Da Silva *et al.* (2018) encontraram valores superiores quando avaliaram a atividade emulsificante de gomas sintetizadas por *X. campestris* cepas 1866 e 1867 a partir das cascas de coco e de cacau. Os autores obtiveram para a cepa 1866 o melhor IE em 24 horas com azeite de oliva, atingindo valores de 72 e 75% (casca de coco e cacau respectivamente). Para a goma comercial, o maior índice (63%) foi observado após 24h em óleo de girassol. Prasanna *et al.* 2012 encontraram resultados semelhantes, onde os maiores índices para a goma sigma comercial foram destacados para o óleo de girassol (69,5%) após 24 horas de repouso, em comparação com outros diferentes óleos (óleo de laranja, óleo de coco e azeite de oliva).

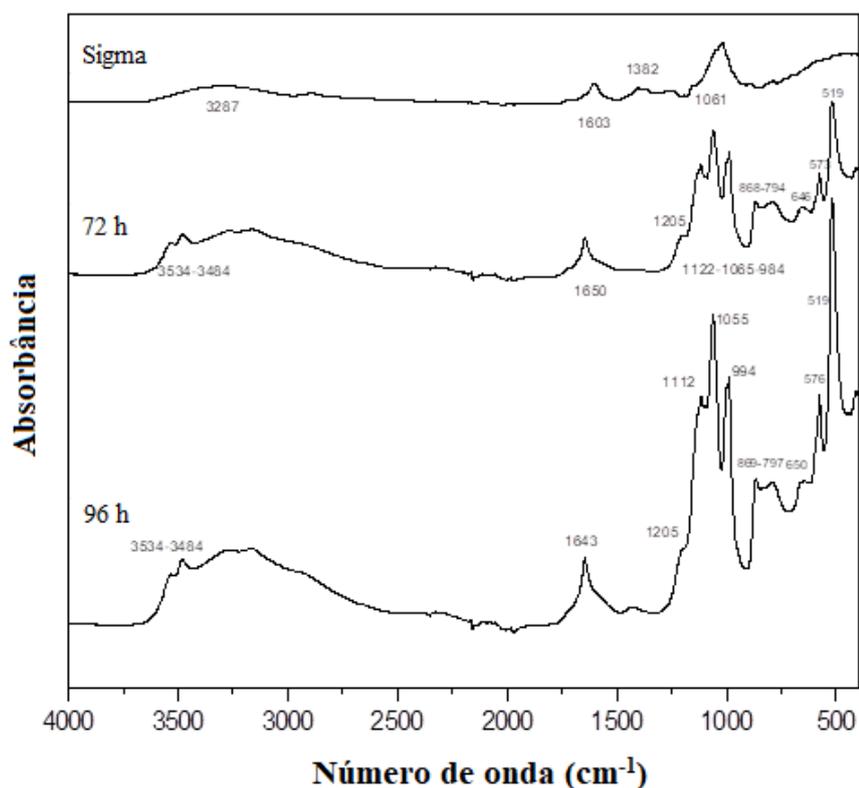
Polissacarídeos bacterianos, como a goma xantana são fortes bioemulsificantes com aplicação reconhecida na indústria de alimentos e cosméticos e são capazes de emulsionar uma ampla gama de compostos hidrofóbicos (HAIDAR *et al.* (2020). Devido à sua natureza pseudoplástica, ela confere excelente estabilidade às emulsões óleo em água, evitando que as gotículas de óleo coalesçam (DÁRIO *et al.*, 2011). As emulsões são consideradas estáveis se o índice de emulsificação for igual ou superior a 50% após 24 h de repouso (RAMOS *et al.*, 2020). No presente estudo, em relação às

medidas de EI após 24 h, as amostras mantiveram valores igual ou superior 50%, sendo consideradas um bom agente emulsificante para todos os óleos testados.

3.5 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 2 apresenta os espectros de infravermelho da goma xantana sintetizada pela cepa *Xanthomonas axonopodis pv manihotis* 1182 nos diferentes tempos de fermentação (72 e 96 horas) e da goma comercial (Sigma). A partir dos resultados, pode-se inferir que as GX obtidas nos diferentes tempos de fermentação apresentaram um comportamento espectral similar.

Figura 2. Espectros FTIR das amostras de goma xantana nos tempos de fermentação 72 e 96 horas e goma comercial (Sigma).



Todas as amostras apresentaram banda de absorção entre 3600-3200 cm^{-1} , característica do alongamento axial do grupo hidroxila (-OH), entre 1650-1600 cm^{-1} , referente à deformação do grupo C=O dos enóis (NEJADMANSOURI *et al.*, 2021) e de 1390-1200 cm^{-1} , atribuída à deformação angular da ligação C-H. A banda referente à vibração de alongamento do grupo acetil atribuída à ligação O-acetiléster do ácido urônico, foi observado em 1060 cm^{-1} . Entre 1100-900 cm^{-1} diferentes bandas características dessa região podem ser atribuídas à ligação glicosídica C-O-C, as vibrações de alongamento C-C e C-O e curvatura C-H, típicas deste polissacarídeo (XU *et al.*, 2015; SOUZA & ROJAS, 2017). Autores relatam que bandas menores 1000 cm^{-1} são decorrentes da presença de prováveis ligações entre monossacarídeos (FARIA *et al.*, 2011, AHUJA *et al.*, 2012).

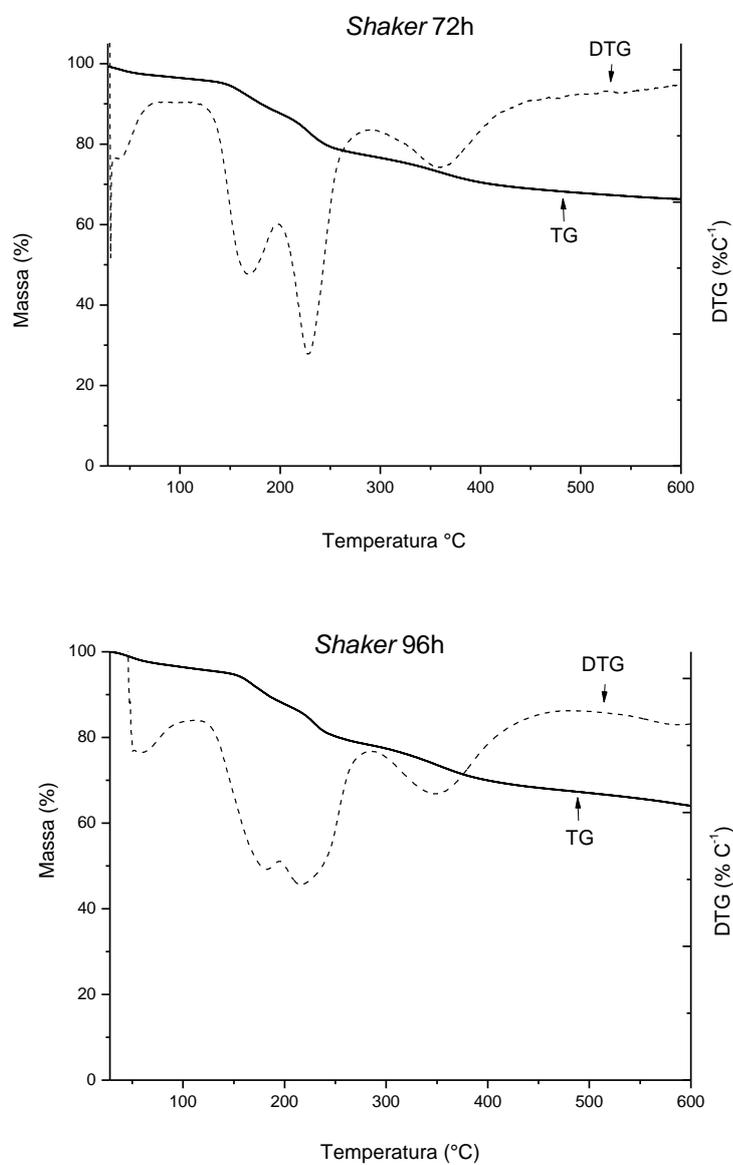
Diferentemente da goma comercial Sigma, as gomas obtidas a partir da fermentação em meio à água produzida (72 e 96h), apresentaram bandas na região entre 860-790 cm^{-1} , relacionadas às vibrações do grupo benzeno. De acordo com Jia *et al.*, (2019), que analisaram os espectros de FTIR de águas residuais petroquímicas, bandas presentes em 728,67 cm^{-1} podem ser atribuídas ao benzeno m-dissubstituído ou benzeno 1,3,5-trissubstituído. A água produzida é rica em hidrocarbonetos aromáticos, principalmente monocíclicos, representados pelo benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (FAKHURU *et al.*, 2009). Uma vez que a água produzida foi utilizada no meio fermentativo, esses compostos também podem estar presentes na goma produzida.

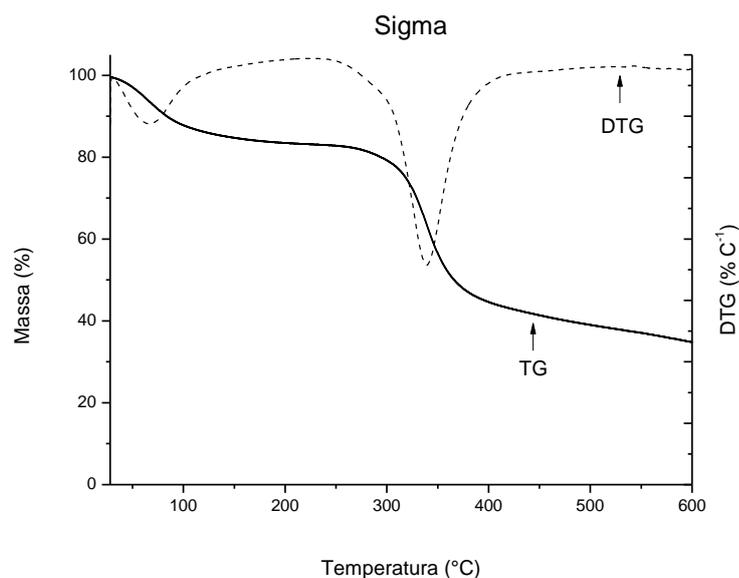
3.6 Análise Termogravimétrica (TGA/ dTG)

As curvas TGA/DTG estão apresentadas na Figura 3 apresentam o mecanismo de decomposição térmica das xantanas. A análise termogravimétrica avaliou as temperaturas iniciais de degradação (T_{onset}), temperaturas de decomposição máxima (T_{max}) e perdas de massa (%PM) das amostras de gomas obtidas em dois tempos de fermentação, sendo os valores comparados aos da goma xantana comercial Sigma (referência).

A partir da análise das curvas termogravimétricas é possível observar que as amostras de xantanas produzidas nos tempos de fermentação (72 e 96 h) exibiram comportamento de decomposição térmica semelhante. As curvas TGA/DTG (Figura 3) dessas amostras, apresentaram 4 eventos térmicos, sendo dois desses eventos, similares aos apresentados pela goma xantana comercial Sigma (Tabela 6).

Figura 3. Curvas TGA/DTG das amostras de xantana obtidas nos diferentes tempos de fermentação (72 e 96 horas) e da goma comercial Sigma.





O primeiro evento térmico apresentado por todas as amostras e com T_{onset} iniciando em aproximadamente 30°C , correspondente à desidratação/perda de água do polímero, e foi associado a perdas de massa de 12,85%, 2,91% e 3,18%, para as gomas comercial, 72 e 96 h, respectivamente. Segundo Gomes *et al.* (2015), a absorção de água pela goma xantana é devido à presença de grupos polares em sua estrutura química, especialmente o grupo $-\text{OH}$.

Para a amostra de goma comercial, a curva indica um único estágio de perda de massa (39,84%) no intervalo de $248,21^{\circ}\text{C} - 423,02^{\circ}\text{C}$, correspondente ao 4º evento térmico apresentado pelas amostras de gomas produzidas em diferentes tempos de fermentação (72h – $T_{\text{onset}} 249,72^{\circ}\text{C}$ e 96h – $T_{\text{onset}} 287,34^{\circ}\text{C}$). Segundo Da Silva *et al.*, (2018), este evento é atribuído à degradação da cadeia polimérica da xantana, que começa rompendo os grupos pertencentes à cadeia lateral, e subsequentemente desdobramento da cadeia principal. Em comparação a goma comercial, as gomas obtidas neste estudo apresentaram temperaturas iniciais de degradação térmicas semelhantes. Dessa forma, essas curvas permitem obter informações importantes sobre a estabilidade térmica das amostras, indicando que as gomas produzidas podem ser utilizadas nos processos térmicos que envolvam as mesmas temperaturas da goma comercial.

Tabela 6. Dados termogravimétricos das amostras de goma xantana fermentadas em *Shaker* (72 e 96 horas) e amostra comercial (Sigma).

Amostras	Eventos	Parâmetros		
		T _{onset}	T _{max}	% PM
<i>Shaker 72</i>	1	27,44	39,29	2,91
	2	115,41	168,78	7,61
	3	198,10	227,42	8,27
	4	249,62	360,00	7,01
<i>Shaker 96</i>	1	27,03	57,32	3,78
	2	109,04	183,17	8,29
	3	195,00	217,22	10,84
	4	287,34	347,25	8,27
Sigma	1	24,69	66,24	12,85
	2	248,21	341,91	39,84

Temperaturas iniciais de degradação (T_{onset}, °C), Temperaturas de decomposição máxima (T_{max}) e perdas de massa (%PM).

Conforme apresentado na Figura 5 e Tabela 6, somente as gomas produzidas com água produzida e resíduo da mandioca (72 e 96h), apresentaram eventos térmicos na faixa de 109,04°C – 198,10°C (T_{onset} de 115,41°C - 109,04°C e 198,10°C - 195,00°C, respectivamente), que podem ser atribuídos à perda de solventes ligados ao polímero. Devido à alta massa molecular e ramificação, no momento da precipitação, as moléculas de goma xantana podem acomodar grande quantidade de solvente residual (água e/ou álcool) em suas camadas de solvatação, aprisionando as moléculas dos solventes em estruturas altamente organizadas chamadas de clatratos (CIESIELSKI & TOMASIK, 2005). A formação dessas estruturas pode justificar a presença dos eventos térmicos (2 e 3) observados nas curvas das gomas. Scheirs *et al.* (2000) ao avaliarem a evolução da água durante a degradação térmica do polissacarídeo celulose, observaram que aproximadamente 9% do total de água é atribuído à umidade fisicamente desorvida em temperaturas próximas a 100°C, enquanto os 91% restantes de água, em temperaturas superiores (até 300°C).

4 CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que é possível produzir goma xantana pela cepa *X. axonopodis* pv. *Manihotis* 1182 a partir da fermentação em água produzida e resíduo de

mandioca como meio alternativo, sendo a maior produtividade obtida com 72h de fermentação. Os polímeros produzidos apresentaram comportamento reológico pseudoplástico, porém, com baixa viscosidade quando comparados ao produzido em meio convencional, provavelmente influenciado pelos altos teores de salinidade na água produzida. O índice de emulsificação demonstrou que as amostras de goma xantana tem excelente capacidade de estabilizar emulsões em diferentes óleos. A análise termogravimétrica apresentou a possibilidade de as gomas serem utilizadas em processos que demandem altas temperaturas. Assim, a *Xanthomonas* tem potencial para produzir goma xantana utilizando diferentes resíduos como fonte de carbono reduzindo dos custos do processo de produção e minimizando danos ambientais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CNPq (134195/2019-1 e 440039/2019-3) pelo apoio financeiro prestado.

REFERÊNCIAS

AHUJA, M.; KUMAR, A.; SINGH, K. Synthesis, characterization and in vitro release behavior of carboxymethyl xanthan. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 51, p. 1086-1090, 2012.

AL-GHOUTI, M. A.; AL-KAABI, M. A.; ASHFAQ, M. Y.; DA'NA, D. A. Produced water characteristics, treatment and reuse: A review. *Journal of Water Process Engineering*, v. 28, p. 222-239, 2019.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16th ed., Horwitz, W. (ed.), Gaithersburg, Maryland, USA, 1997.

ASSIS, D. J.; COSTA, L. A. S.; CAMPOS, M. I.; SOUZA, C. O. de.; DRUZIAN J. I., NUNES, I. L.; PADILHA, F. F. Influence of the nature agro-industrial waste fermented by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* the properties of xanthan gums resulting. *Polímeros Ciência e Tecnologia*, v. 24, n. 2, p. 176-183, 2014.

ASSIS, D. J.; BRANDÃO, L. V.; COSTA, L. A. S.; FIGUEIREDO, T. V. B.; SOUZA, L. S.; PADILHA, F. F.; DRUZIAN J. I. (2014). A study of the effects os aeration and angitation on the properties and production of xanthan gum from crude glycerin derived from biodiesel using the response surfasse methodology. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 172, n. 5, pág. 2769-2785, 2014.

CIESIELSKI, W.; TOMASIK, P. Metal complexes of xanthan gum. *Prace Naukowe. Chemia i Ochrona Środowiska/Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie*, v. 10, p. 141--148, 2005.

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

BAJIĆ, B. Ž.; VUČUROVIĆ, D. G.; DODIĆ, S. N.; GRAHOVAC, J. A.; DODIĆ, J. M. Process model economics of xanthan production from confectionery industry wastewaters. **Journal of environmental management**, v. 203, p. 999-1004, 2017.

BANJERDKIJ, P.; VATTANAVIBOON, P.; MONGKOLSUK, S. Cadmium-induced adaptive resistance and cross-resistance to zinc in *Xanthomonas campestris*. **Current microbiology**, v. 47, n. 3, p. 0260-0262, 2003.

BAK, J. H.; YOO, B. Intrinsic viscosity of binary gum mixtures with xanthan gum and guar gum: Effect of NaCl, sucrose, and pH. **International journal of biological macromolecules**, v. 111, p. 77-81, 2018.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. *Canadian journal of biochemistry and physiology*. **A rapid method of lipid extraction and purification**, v. 37, p. 911-917, 1959.

BRANDÃO, L. V.; ESPERIDIÃO, M. C.; DRUZIAN, J. I. Utilização do soro de mandioca como substrato fermentativo para a biosíntese de goma xantana: viscosidade aparente e produção. **Polímeros**, v. 20, n. 3, p. 175-180, 2010.

DA SILVA, J. A.; CARDOSO, L. G.; DE JESUS ASSIS, D.; GOMES, G. V. P.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; DE SOUZA, C. O.; DRUZIAN, J. Xanthan Gum Production by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* IBSBF 1866 and 1867 from Lignocellulosic Agroindustrial Wastes. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 186, n. 3, p. 750-763, 2018.

DÁRIO, A. F.; HORTÊNCIO, L. M.; SIERAKOWSKI, M. R.; NETO, J. C. Q.; PETRI, D. F. The effect of calcium salts on the viscosity and adsorption behavior of xanthan. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 669-676, 2011.

DEMIRCI, A.S.; PALABIYIK, I.; ALTAN, D.D.; APAYDIN, D.; GUMUS, T. Yield and rheological properties of exopolysaccharide from a local isolate: *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 30, p. 18-23, 2017.

DOS SANTOSA, F. P.; JRA, A. M. O.; NUNESA, T. P.; DE FARIAS SILVAB, C. E.; DE SOUZA ABUD, A. K. Bioconversion of agro-industrial wastes into xanthan gum. **Chemical Engineering**, v. 49, 2016.

EDAMA, N. A.; SULAIMAN, A.; RAHIM, S. N. A. Enzymatic saccharification of Tapioca processing wastes into biosugars through immobilization technology. **Biofuel Research Journal**, v. 1, n. 1, p. 2-6, 2014.

FALADE, K. O.; AKINGBALA, J. O. Utilization of cassava for food. **Food Reviews International**, v. 27, n. 1, p. 51-83, 2010.

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

FAKHRU'L-RAZI, A.; PENDASHTEH, A.; ABDULLAH, L. C.; BIAK, D. R. A.; MADAENI, S. S.; ABIDIN, Z. Z. Review of technologies for oil and gas produced water treatment. **Journal of hazardous materials**, v. 170, n. 2-3, p. 530-551, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. Produzir mais com menos: Mandioca. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i2929o.pdf>>. Acessado em: dezembro de 2020.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. *Biotechnol. Adv.*, 18, p.549-579 (2000).

GOMES, G. V.; ASSIS, D. D. J.; DA SILVA, J. B.; SANTOS-EBINUMA, V. D. C.; COSTA, L. A.; DRUZIANL, J. I. Obtaining xanthan gum impregnated with cellulose microfibrils derived from sugarcane bagasse. **Materials Today: Proceedings**, v. 2, n. 1, p. 389-398, 2015.

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

HABIBI, H.; KHOSRAVI-DARANI, K. Effective variables on production and structure of xanthan gum and its food applications: A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 10, p. 130-140, 2017.

Haidar, CN; PEREIRA, MM; LIMA, Á. S.; NERLI, BB E MALPIEDI, LP. Biosurfactants produced by *Pseudomonas syringae* pv *tabaci*: A versatile mixture with interesting emulsifying properties. **Process Biochemistry**, v. 97, p. 121-129, 2020.

HASAN, A. M.; ABDEL-RAOUF, M. E. Applications of guar gum and its derivatives in petroleum industry: A review. **Egyptian journal of petroleum**, v. 27, n. 4, p. 1043-1050, 2018.

IYER, A.; MODY, K.; JHA, B. Emulsifying properties of a marine bacterial exopolysaccharide. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, n. 1-2, p. 220-222, 2006.

JAFARINEJAD, S.; JIANG, S. C. Current technologies and future directions for treating petroleum refineries and petrochemical plants (PRPP) wastewaters. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, 2019.

JAMAL, M.T.; PUGAZHENDI, A. Isolation and characterization of halophilic bacterial consortium from seagrass, Jeddah coast, for the degradation of petroleum hydrocarbons

and treatment of hydrocarbons-contaminated boat fuel station wastewater. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 23, n. 1, p. 77-88, 2021.

JIA, X.; JIN, D.; LI, C.; LU, W. Characterization and analysis of petrochemical wastewater through particle size distribution, biodegradability, and chemical composition. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 27, n. 2, p. 444-451, 2019.

LI, P.; LI, T.; ZENG, Y.; LI, X.; JIANG, X.; WANG, Y.; 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.

LONG, Z.; ZHAO, Q.; LIU, T.; KUANG, W.; XU, J.; ZHAO, M. Influence of xanthan gum on physical characteristics of sodium caseinate solutions and emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 1, p. 123-129, 2013.

LÓPEZ-ORTEGA, M. A.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, A. I.; CAMACHO-RUIZ, R. M.; CÓRDOVA, J.; DEL ROCÍO LÓPEZ-CUELLAR, M.; CHAVARRÍA-HERNÁNDEZ, N.; GONZÁLEZ-GARCÍA, Y. Physicochemical characterization and emulsifying properties of a novel exopolysaccharide produced by haloarchaeon *Haloferax mucosum*. **International journal of biological macromolecules**, v. 142, p. 152-162, 2020.

KARRAY, F.; ALOUI, F.; JEMLI, M.; MHIRI, N.; LOUKIL, S.; BOUHDIDA, R.; SAYADI, S. Pilot-scale petroleum refinery wastewaters treatment systems: performance and microbial communities' analysis. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 141, p. 73-82, 2020.

MESOMO, M. C. Produção de goma xantana em biorreator utilizando meio á base de soro de queijo. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erichim, 2007.

MIRANDA, A. L.; COSTA, S. S.; ASSIS, D. D. J.; DE JESUS, C. S.; GUIMARÃES, A. G.; DRUZIAN, J. I. Influence of strain and fermentation time on the production, composition, and properties of xanthan gum. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 137, n. 15, p. 48557, 2020.

MOREIRA, A.S.; VENDRUSCOLO, J.L.S.; GIL-TURNES, C.; VENDRUSCULO, C.T. Screening among 18 novel strains of *Xanthomonas campestris* pv *pruni*. **Food Hydrocolloids**. v.15, p.469-474. 2001.

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

NEJADMANSOURI, M.; RAZMJOOEI, M.; SAFDARIANGHOMSHEH, R.; SHAD, E.; DELVIGNE, F.; KHALES, M. Semi-continuous production of xanthan in biofilm reactor using *Xanthomonas campestris*. **Journal of biotechnology**, v. 328, p. 1-11, 2021.

NIKNEZHAD, S. V.; ASADOLLAHI, M. A.; ZAMANI, A., BIRIA, D.; DOOSTMOHAMMADI, M. Optimization of xanthan gum production using cheese whey and response surface methodology. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n. 2, p. 453-460, 2015.

PRASANNA, PHP; BELL, A.; GRANDISON, AS; CHARALAMPOPOULOS, D. Emulsifying, rheological and physicochemical properties of exopolysaccharide produced by *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CCUG 52486 and *Bifidobacterium infantis* NCIMB 702205. **Carbohydrate polymers**, v. 90, n. 1, p. 533-540, 2012.

RAMOS, B.F.M.; DE ALMEIDA, P.F.; CHINALIA, FA. BACTERIAL Xanthan and Ramnolipid Simultaneous Production using Industrial Oil Produced Water. **Environmental Technology**, p. 1-15, 2020.

SAMPAIO, I.C.; CRUGEIRA, P.J.; SOARES, LG; DOS SANTOS, J.N.; DE ALMEIDA, PF.; PINHEIRO, AL.; SILVEIRA JR, L. Composition of Xanthan gum produced by *Xanthomonas campestris* using produced water from a carbonated oil field through Raman spectroscopy. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 213, p. 112052, 2020.

SCHEIRS, J.; CAMINO, G.; TUMIATTI, W. Overview of water evolution during the thermal degradation of cellulose. **European Polymer Journal**, v. 37, n. 5, p. 933-942, 2001.

SOUZA, A. da S.; VENDRUSCOLO, C. T. Produção e caracterização dos biopolímeros sintetizados por *Xanthomonas campestris* pv *pruni* cepas 24 e 58. **Ciência e Engenharia**, v. 8, n. 2, p. 115-123, 2000.

SOUZA, C. J.; GARCIA-ROJAS, E. E. Interpolymeric complexing between egg white proteins and xanthan gum: Effect of salt and protein/polysaccharide ratio. **Food Hydrocolloids**, v. 66, p. 268-275, 2017.

SUJITHRA, B.; DEEPIKA, S.; AKSHAYA, K.; PONNUSAMI. Production and optimization of xanthan gum from three-step sequential enzyme treated cassava bagasse hydrolysate. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 21, p. 101294, 2019.

VASHITZ, O.; SHEINTUCH, M. Analysis of polymer synthesis rates during steady-state growth of *X. campestris*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 37, n. 4, p. 383-385, 1991.

WANG, Z.; WU, J.; GAO, MJ.; ZHU, L.; ZHAN, XB. High production of xanthan gum by a glycerol-tolerant strain *Xanthomonas campestris* WXLB-006. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 47, n. 5, p. 468-472, 2017.

XU, W.; JIN, W.; LI, Z.; LIANG, H.; WANG, Y.; SHAH, B. R.; LI, B. Synthesis and characterization of nanoparticles based on negatively charged xanthan gum and lysozyme. **Food research international**, v. 71, p. 83-90, 2015.

