

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

INGRID FERNANDA SILVANO PACHECO CORRÊA FURTADO

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FERMENTATIVOS UTILIZANDO
DIFERENTES IMPELIDORES NA PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA PELA
BACTÉRIA *Xanthomonas campestris* PARA APLICAÇÕES COSMÉTICAS**

PONTA GROSSA

2023

INGRID FERNANDA SILVANO PACHECO CORRÊA FURTADO

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FERMENTATIVOS UTILIZANDO
DIFERENTES IMPELIDORES NA PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA PELA
BACTÉRIA *Xanthomonas campestris* PARA APLICAÇÕES COSMÉTICAS**

**Determination of fermentative parameters using different impellers in the
production of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* bacteria for cosmetic
applications**

Dissertação apresentada como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, do
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)

Orientadora: Alessandra Novak Sydney.
Coorientador: Eduardo Bittencourt Sydney.

PONTA GROSSA

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

01/02/2023 14:03



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Ponta Grossa



INGRID FERNANDA SILVANO PACHECO CORREA FURTADO

DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FERMENTATIVOS UTILIZANDO DIFERENTES IMPELIDORES NA PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA PELA BACTÉRIA XANTHOMONAS CAMPESTRIS PARA APLICAÇÕES COSMÉTICAS

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Biotecnologia.

Data de aprovação: 20 de Dezembro de 2022

Dra. Alessandra Cristine Novak Sydney, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Maura Harumi Sugai Guerios, Doutorado - Universidade Positivo (Up)

Dra. Sabrina Avila Rodrigues, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 01/02/2023.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de desenvolver esse trabalho com saúde e disposição, me dando força e sabedoria a cada novo desafio.

Aos meus pais, Juarez e Elce por desde cedo me incentivarem a estudar e por sempre me apoiarem em todas as minhas escolhas.

Aos meus irmãos, Maria Carolina e Juarez Junior, por serem desde cedo meus exemplos de pessoas dedicadas e estudiosas.

Ao meu amado, Lucas, por ser meu conforto, ombro amigo e apoio em todos os momentos.

Aos meus amigos por me ajudarem a passar por cada obstáculo e desafio, especialmente os amigos que pude fazer durante o período de mestrado. Obrigada Rafa, Larissinha e Oshiro, sem vocês essa fase não teria sido tão proveitosa.

A todos os professores que tive ao longo de minha jornada por todo conhecimento compartilhado, um agradecimento especial ao ilustre e eterno professor Marcelão que infelizmente partiu durante a pandemia. À professora Alessandra e ao professor Eduardo pela orientação e apoio na elaboração deste trabalho. À professora Sabrina e professora Maria Carolina, por emprestarem seus laboratórios e equipamentos para o desenvolvimento de análises reológicas e microbiológicas, respectivamente.

A toda Coordenação do PPGBiotec e ao curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da UTFPR Campus Ponta Grossa.

A todos os professores, colegas e servidores da universidade que influenciaram direta e indiretamente neste trabalho.

E a Capes (cod. 001) pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste projeto.

Muito obrigada!

RESUMO

A goma xantana é um exopolissacarídeo de origem microbiana obtida pela bactéria *Xanthomonas campestris* por meio de um processo fermentativo. Essa goma possui diversas aplicabilidades na área alimentícia, petrolífera e cosmética, sendo utilizada como espessante, estabilizante e/ou emulsificante, tendo destaque frente a matérias-primas com funções similares por ser de origem biotecnológica, não requerer elevadas quantidades para ter atividade, além da sua produção ser independente de condições sazonais. Embora o processo de produção da goma xantana já tenha sido muito discutido na literatura, parâmetros como o coeficiente volumétrico de transferência de massa (k_{La}) e tempo de mistura (t_m) ainda não foram abordados para produção deste biopolímero pela *Xanthomonas campestris*. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi determinar os parâmetros k_{La} e t_m utilizando diferentes conjunto de impelidores (Rushton-Rushton, Rushton-Inclinada e Rushton-Elefante) em reator STR, frente a dispersões coloidais de goma xantana com concentrações variando entre 0,10% à 0,85% (m.v⁻¹), a fim de simular o processo fermentativo e assim determinar qual dos conjuntos funcionaria melhor sob condições de elevadas viscosidade. Para isso determinou-se o k_{La} pelo método dinâmico e o tempo de mistura por meio da resposta da sonda de pH. Ambos os testes foram conduzidos para velocidades de agitação de 200 e 600 rpm. Obteve-se melhores resultados para as impelidores do tipo Rushton-Elefante, com relevantes perfis de transferência de massa e mistura em concentrações elevadas. Este modelo foi então utilizado para fermentação a qual foi conduzida a temperatura de 28°C, com agitação de 300 rpm e aeração em 1 vvm nas primeiras 24 horas; nas 48 horas restantes utilizou-se 750 rpm e 1,2 vvm. Após a fermentação obteve-se produtividade de 0,26 g.L⁻¹.h⁻¹, valor duas vezes superior ao reportado na literatura sob condições de suplementação e parâmetros fermentativos similares, o que sugere que os parâmetros utilizados possam favorecer esse processo. Um perfil observado para goma xantana durante o processo foi ação tamponante em meio ácido e embora esse resultado ainda não tenha sido reportado na literatura, se validado pode apresentar um novo caminho para pesquisas nas linhas cosméticas, especialmente por este ativo apresentar-se como um substituto interessante para formulações contendo acrilato. Recomenda-se, portanto, que trabalhos futuros sejam conduzidos para validar essa hipótese.

Palavras-chave: biopolímero; cosméticos; biorreator; fermentação.

ABSTRACT

Xanthan gum is an exopolysaccharide of microbial origin obtained by the bacterium *Xanthomonas campestris* from fermentation process. This gum has several applicability in the food, petroleum and cosmetic areas, being used as a thickener, stabilizer and/or emulsifier, standing out compared to raw materials with similar functions because it is of biotechnological origin, does not require high amounts to be active, in addition to the its production to be independent of seasonal conditions. Although the xanthan gum production process has already been much discussed in the literature, parameters such as the volumetric mass transfer coefficient (k_{La}) and mixing time (t_m) have not yet been addressed for the production of this biopolymer by *Xanthomonas campestris*. In this sense, the objective of this work was to determine the k_{La} and t_m parameters using different sets of impellers (Rushton-Rushton, Rushton-Inclinada and Rushton-Elefante) in a STR reactor, against colloidal dispersions of xanthan gum with concentrations ranging from 0.10% to 0.85% (m.v⁻¹), in order to simulate the fermentation process and thus determine which of the sets would work best under conditions of high viscosity. For this, the k_{La} was determined by the dynamic method and the mixing time by means of the pH probe response. Both tests were conducted at stirring speeds of 200 and 600 rpm. Better results were obtained for Rushton-Elefante type impellers, with relevant mass transfer and mixing profiles at high concentrations. This model was then used for fermentation, which was carried out at a temperature of 28°C, with stirring at 300 rpm and aeration at 1 vvm in the first 24 hours; in the remaining 48 hours, 750 rpm and 1.2 vvm were used. After fermentation, a productivity of 0.26 g.L⁻¹.h⁻¹ was obtained, twice the value reported in the literature under conditions of supplementation and similar fermentation parameters, which suggests that the parameters used may favor this process. A profile observed for xanthan gum during the process was buffering action in an acid medium and although this result has not yet been reported in the literature, if validated it may present a new path for research in cosmetic lines, especially because this active is presented as a substitute interesting for formulations containing acrylate. Therefore, it is recommended that future studies be conducted to validate this hypothesis.

Keywords: biopolymer; cosmetics; bioreactor; fermentation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Biorreator A pneumático e B agitado mecanicamente	14
Figura 2 - Relações geométricas de um biorreator tanque agitado.....	15
Figura 3 - escoamento radial em (a) e axial em (b)	18
Figura 4 - Tipos de impelidores	18
Figura 5 - Perfil gráfico de um fluido Newtoniano e dos principais fluidos Não Newtonianos presents em bioprocessos.	21
Figura 6 - Método dinâmico para determinação do coeficiente volumétrico de transferência de massa por meio da inserção de um gás secundário.....	24
Figura 7 - Estrutura química da goma xantana.....	32
Figura 8 - Processo de simulação do processo fermentativo	37
Figura 9 - Patamar ilustrando o tempo de mistura (t_m) para ocorrer a variação de pH.....	38
Figura 10 - Processo de produção laboratorial de goma xantana	40
Figura 11 - Perfil gráfico da viscosidade aparente para dispersões coloidais de goma xantana acrescidas de sacarose nas concentrações de 0,10% a 0,70% linearizadas para fluido Pseudoplástico	42
Figura 12 - Perfil gráfico da viscosidade aparente para dispersões coloidais de goma xantana nas concentrações de 0,10% a 0,70% linearizadas para fluido Pseudoplástico	43
Figura 13 - Variação da viscosidade aparente de dispersões coloidais de goma xantana (GX) e goma xantana acrescida de sacarose (GX-S) em função da concentração das dispersões	45
Figura 14 - k_{La} em função da concentração das dispersões aquosas de goma xantana acrescida de sacarose (GX-S) para 200 rpm.....	47
Figura 15 - k_{La} em função da concentração das dispersões aquosas de goma xantana acrescida de sacarose (GX-S) para 600 rpm.....	47
Figura 16 - Reposta do tempo de mistura(s) após adição de HCl 30 Molar para rotação de 600 rpm	49
Figura 17 - Resposta do tempo de mistura(s) após adição de NaOH 10 Molar para rotação de 600 rpm	49
Figura 18 - Correlação entre a viscosidade aparente e o k_{La} para os conjuntos a) Rushton-Rushton (RT-RT), b) Rushton-Inclinada (RT-I) e c) Rushton-Elefante (RT-E)	50
Figura 19 - Correlação entre a viscosidade aparente e o tempo de mistura para os conjuntos a) e b) Rushton-Rushton (RT-RT), c) e d) Rushton-Inclinada (RT-I) e e) f) Rushton-Elefante (RT-E)	51

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Biopolímeros com os principais microrganismos produtores e aplicações	27
Quadro 2 - Tipos de impelidores utilizados para produção de goma xantana ..	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições operacionais em biorreatores agitados mecanicamente	30
Tabela 2 - Aplicações cosméticas da goma xantana	33
Tabela 3 - Dispersão coloidal de goma xantana acrescida de sacarose com notação em % (m.v⁻¹) e em g.L⁻¹	35
Tabela 4 - Diâmetro, largura e distância entre os impelidores do tipo Rushton, Elefante e Inclínada	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivo geral	12
2.2	Objetivos específicos	12
3	REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1	Biorreatores	13
3.1.1	Biorreatores agitados mecanicamente	14
3.1.2	Modelos de impelidores.....	17
3.2	Tipos de fluidos	19
3.2.1	Parâmetros de monitoramento em biorreatores	22
3.3	Polissacarídeos microbianos	26
3.3.1	<i>Xanthomonas campestris</i> e características do processo produtivo	28
3.3.2	Goma xantana, suas aplicações e o mercado.....	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1	Determinação de parâmetros para processo fermentativo em biorreator aerado	35
4.2	Manutenção e produção de goma xantana pela bactéria <i>X. campestris</i>	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1	Determinação de parâmetros para processo fermentativo em biorreator aerado	41
5.1.1	Viscosidade aparente das dispersões coloidais de goma xantana comercial acrescidas de sacarose e de goma xantana puras	41
5.1.2	Coeficiente volumétrico de transferência de massa (k_{La}) e tempo de mistura (t_m) pelo método dinâmico em diferentes velocidades de rotação	45
5.1.3	Correlação entre parâmetros em biorreator aerado	50
5.2	Fermentação de <i>Xanthomonas campestris</i> em biorreator SRT e purificação	52
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
	REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

Polissacarídeos são moléculas formadas por carboidratos abundantemente distribuídos na natureza sendo produzidos por todos os tipos de organismos, destacando-se as plantas, animais, bactérias, fungos e microalgas (JINDAL; SINGH KHATTAR, 2018; NELSON; COX, 2021). Esses biopolímeros possuem características biológicas variadas, como a habilidade de armazenar energia e a elevada capacidade em se dispersar em água. Esta última característica é visualizada em boa parte dos polissacarídeos e quando atrelada ao elevado peso molecular do biopolímero promove à estrutura propriedades espessantes, estabilizantes, emulsificantes e gelificantes, as quais são de grande interesse por parte das indústrias alimentícias, cosméticas e farmacêuticas (NELSON; COX, 2021). Polissacarídeos como a pectina, alginato, goma guar, goma arábica e a goma xantana são exemplos de alguns dos tipos de biopolímeros com essa propriedade.

Dentre os polissacarídeos citados a goma xantana merece destaque devido à sua versatilidade, uma vez que a sua produção não depende de condições climáticas e sazonais, nem tampouco seu processo produtivo tem potencial de promover danos ao ecossistema, sendo considerada uma alternativa sustentável. A goma xantana é um exopolissacarídeo produzido e excretado ao meio naturalmente por bactérias do gênero *Xanthomonas sp.* Existem diferentes espécies produtoras, mas a *Xanthomonas campestris* comumente é escolhida devido à sua elevada produtividade (LEI; EDMUND, 2017).

Em função de suas características reológicas interessantes, como potencial espessante, emulsificante e estabilizante, a goma xantana foi o primeiro polissacarídeo aprovado para comercialização pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 1964 (KUMAR; RAO; HAN, 2017). Desde então a produção industrial passou a ser dominada por empresas multinacionais como a Cargill, *Dow Du Pont* e *Archer Daniels Midland Company*, sediadas na América do Norte (MARKET, 2022). Por se tratar de um bioproduto produzido por grandes e poucas empresas, há muito segredo industrial nesse processo complexo e lucrativo, onde estima-se, de acordo com Market Research Future (2022), um crescimento de aproximadamente 6% até 2030, avaliado em \$1,2 bilhões de dólares.

Portanto, uma grande oportunidade e também um desafio é elucidar os pontos técnicos envolvidos ao processo de produção de goma xantana, com o objetivo de

favorecer a maior competitividade entre as empresas no mercado. Neste sentido, sabendo que a bactéria *Xanthomonas campestris* é aeróbica obrigatória e a produção de goma xantana ao longo do processo torna o meio mais viscoso, se faz importante determinar parâmetros fermentativos como coeficiente volumétrico de transferência de massa (k_{La}), tempo de mistura (t_m) e definir o melhor conjunto de impelidores para o processo. Esses parâmetros são essenciais e muito relevantes para auxiliar empresas que desejam se colocar no mercado e também são informações de grande valia para a comunidade científica em relação a essa temática, tendo em vista que podem ajudar no projeto e dimensionamento de novos equipamentos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Determinar parâmetros fermentativos durante a produção de goma xantana pela bactéria *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 em reator STR utilizando diferentes conjuntos de impelidores a fim de auxiliar a replicação em escala industrial e utilizar este ativo em aplicações cosméticas.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a viscosidade das dispersões coloidais de goma xantana comercial acrescidas ou não de sacarose;
- Simular um processo fermentativo para obtenção de goma xantana por meio do preparo de um biorreator do tipo STR preenchido com dispersões coloidais contendo goma xantana e sacarose em diferentes proporções;
- Determinar o coeficiente volumétrico de transferência de massa (k_La) e tempo de mistura (t_m) em diferentes velocidades de rotação, utilizando diferentes conjuntos de impelidores;
- Realizar fermentação da *Xanthomonas campestris* ATCC 1391 em biorreator STR utilizando as melhores condições e parâmetros obtidos previamente.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

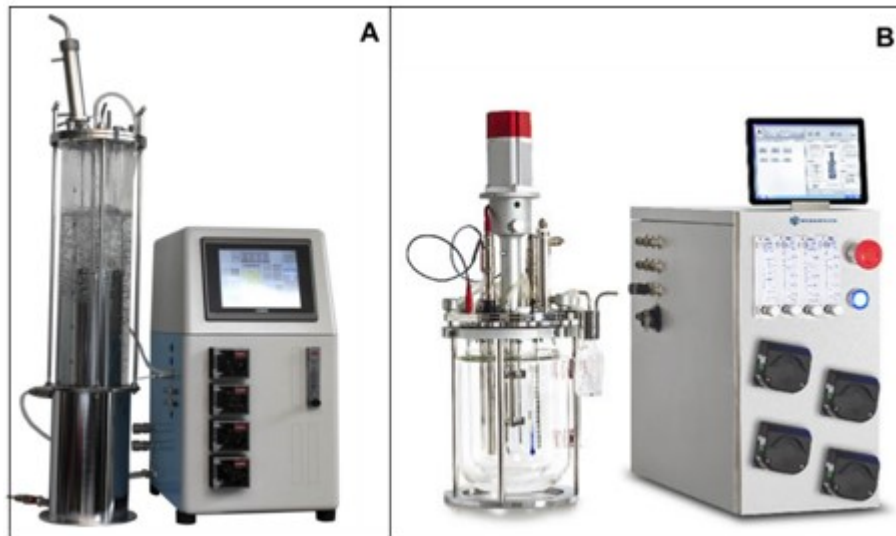
3.1 Biorreatores

Biorreatores podem ser definidos como reservatórios nos quais ocorrem reações bioquímicas a partir de um agente biológico ou parte dele (NAJAFPOUR, 2015). Esses reservatórios podem ter diversas geometrias que dependem muito para qual finalidade será aplicado, mas de maneira geral, para o cultivo de microrganismos e células animais, são preferencialmente utilizados biorreatores pneumáticos e agitados mecanicamente (SAHA, 2016).

Biorreatores pneumáticos são tanques cilíndricos e compridos destinados para processos biológicos que não podem sofrer tensões cisalhantes, como cultivo de alguns fungos, microalgas e células animais (Figura 1A); são assim considerados por não possuírem sistema de agitação de modo que a transferência de massa e energia ocorre a partir da inserção de ar na parte inferior do biorreator (SAHA, 2016).

Já biorreatores agitados mecanicamente - *Stirred Tank Reactors STR* (Figura 1B) são tanques cilíndricos, com altura total padrão variando de uma a duas vezes o seu diâmetro (SPIER *et al.*, 2011). Esses biorreatores possuem um eixo central no qual são inseridos impelidores que realizam a transferência de massa e energia para o sistema (XIE *et al.*, 2014). De acordo com Precedence Research (2022), biorreatores do tipo STR compuseram em 2021 cerca de 82% do total de biorreatores utilizados e vendidos industrialmente ao redor do mundo.

Figura 1 - Biorreator A pneumático e B agitado mecanicamente

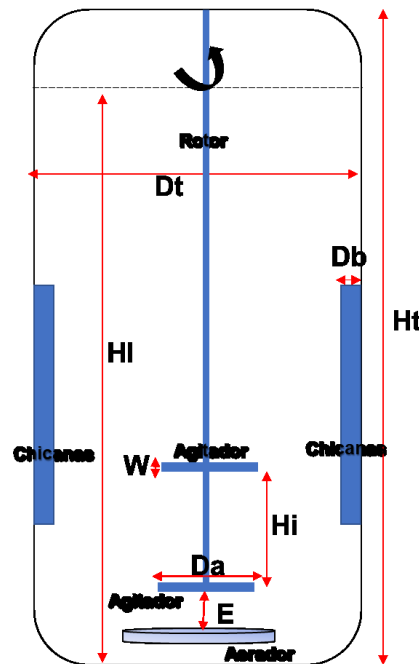


Fonte: Aatoria própria (2023)

3.1.1 Biorreatores agitados mecanicamente

Biorreatores agitados mecanicamente podem ter formatos cilíndricos ou cúbicos, dependendo da sua relação geométrica, contudo biorreatores cilíndricos são preferencialmente escolhidos devido ao aumento do tempo de contato do oxigênio dissolvido em função da maior coluna de líquido, o que proporciona o aumento de pressão no fundo do tanque, favorecendo o aumento do gradiente gás-líquido (NAJAFPOUR, 2015). Nesse contexto as relações geométricas mostram-se muito importantes pois além de auxiliarem em problemas de produtividade de forma simples e assertiva, como a disponibilidade de oxigênio dissolvido, também facilitam o ganho de escala (DORAN, 2012). A Figura 2 ilustra as principais relações geométricas utilizadas para o dimensionamento de biorreatores padrão.

Figura 2 - Relações geométricas de um biorreator tanque agitado



Relação geométrica:

$$\frac{HI}{Ht} = 0,70 - 0,80$$

$$\frac{Ht}{Dt} = 1,00 - 2,00$$

$$\frac{Da}{Dt} = 0,33 - 0,50$$

$$\frac{Db}{Dt} = 0,08 - 0,10$$

$$\frac{C}{Da} = 1,00$$

$$\frac{E}{W} = 1$$

Legenda: HI: Altura do líquido; Ht: Altura total; Dt: Diâmetro do tanque; Da: Diâmetro do agitador; Db: Diâmetro da chicana; C: Distância da pá até o fundo do tanque; Hi: distância entre os impelidores; E: distância entre a pá e o aerador; W: altura da pá.

Fonte Autoria própria (2023)

As escalas de biorreatores variam em função dos processos que neles ocorrem. Biorreatores de bancada possuem volumes de 1 a 10 L e são usados no início de processos fermentativos, uma vez que nessa etapa deseja-se conhecer e otimizar a fermentação a partir de melhorias de meios de cultura, condições de pH, temperatura, oxigênio dissolvido etc. (DORAN, 2012).

Ainda na escala de bancada é definido, de acordo com o processo fermentativo e microrganismo, um critério para o aumento de escala que precisa ser realizado de forma coerente pois impactará diretamente na produtividade do processo fermentativo (RAVINDRA, 2015). Assim, vários critérios podem ser usados, como a manutenção constante da velocidade na ponta do impelidor (v_{tip}) para células sensíveis a cisalhamento ou ainda, para microrganismos estritamente aeróbicos, pode-se manter constante o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) (DORAN, 2012).

A partir da definição do critério é projetado o biorreator em escala piloto, que atinge volumes que variam de 50 a 500 L, e esse modelo é utilizado para avaliar e validar o comportamento do bioprocessamento com o aumento de escala (JAGANI *et al.*, 2010). Caso o comportamento avaliado apresente boa produtividade e características similares às visualizadas em escala de bancada, é então projetado o biorreator em

escala industrial. Biorreatores industriais têm volumes variando de 5 a 200 m³ (RAVINDRA, 2015).

Ademais, conforme ilustra a Figura 2, biorreatores do tipo agitados mecanicamente são compostos por um eixo central, impelidores, aerador e chicanas. No eixo central são posicionados impelidores separados por uma distância denominada H_i (DORAN, 2012). Esse eixo é responsável por realizar o movimento rotacional dentro do biorreator que promove a movimentação dos fluidos. Ainda, os biorreatores podem ser equipados por sondas responsáveis por medir durante a fermentação a temperatura, o oxigênio dissolvido, o nível de espuma, dióxido de carbono, entre outros.

Há relações geométricas, abaixo dispostas, do número de impelidores - n^o (Equação 1) e da distância entre eles - H_i (Equação 2) descrita por Doran (2012).

$$\frac{H_L - Da}{Da} > n^o > \frac{H_L - 2Da}{Da} \quad \text{(Equação 1)}$$

$$Da \leq H_i \leq 2Da \quad \text{(Equação 2)}$$

Onde:

H_L : Altura do líquido;

Da : Diâmetro do agitador.

Na Figura 2 é possível visualizar também que o aerador está posicionado logo abaixo dos impelidores. O aerador injeta ar dentro do biorreator e quando disposto abaixo dos agitadores, estes fazem com que ocorra a quebra das bolhas de ar e permite estas sejam transformadas em oxigênio dissolvido (DORAN, 2012). Um filtro é adicionado na entrada de ar para evitar contaminações.

Além disso, utiliza-se chicanas nas laterais do tanque para evitar a formação de vórtices e zonas mortas durante a agitação e conseqüentemente a coalescência de bolhas e perda de potência (DORAN, 2012). Também é deixado um espaço vazio, que pode variar de 10 a 30% do volume total, denominado de *headspace* para segurança do sistema caso haja formação de gotículas de líquido do gás de escape ou para acomodar qualquer espuma que possa se desenvolver no sistema (DORAN, 2012; NAJAFPOUR, 2015).

3.1.2 Modelos de impelidores

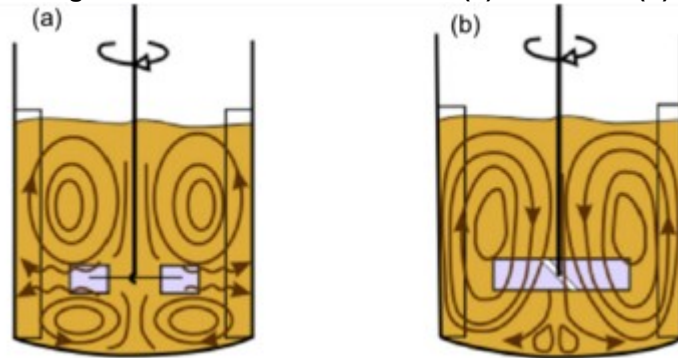
Em processos agitados mecanicamente os impelidores são acessórios essenciais pois é por meio deles que ocorre a homogeneização do meio, bem como a transferência de ar às células (XIE *et al.*, 2014). Há diversos modelos de impelidores que promovem diferentes formas de mover o fluido no interior do biorreator. Assim de acordo com o efeito que se almeja, podem ser escolhidos diferentes modelos, ou mesmo diferentes combinações, obtendo-se assim variados tipos de tensão e movimentação do líquido (AMANULLAH *et al.*, 1998; DORAN, 2012).

Cada modelo de impelidor, de acordo com a sua geometria, é capaz de promover movimentos diferentes no líquido e nas células do caldo fermentado (AMEUR; SAHEL; KAMLA, 2017). Esses movimentos podem ser radiais ou axiais, como ilustra a Figura 3.

O escoamento radial ocorre no sentido do agitador com direção às paredes formando caminhos de turbulência, uma vez que ele age estourando as bolhas de ar para promover maior aeração, conforme ilustra a Figura 3A. Os impelidores de escoamentos radiais mais comuns são impelidores com geometria plana simples, turbinas (Figura 4) ou discos (DORAN, 2012; BUSTAMANTE, 2013). Já no escoamento axial o fluido pode ser direcionado para cima (ascendente) ou para a base do biorreator (descendente), ilustrado pela Figura 3B, de acordo com a orientação das impelidores e seguindo sempre o giro do motor.

Modelos com geometria angular configuram impelidores axiais, como a turbina de baixo cisalhamento ou convencionalmente chamada de orelha de elefante e as impelidores inclinadas (Figura 4).

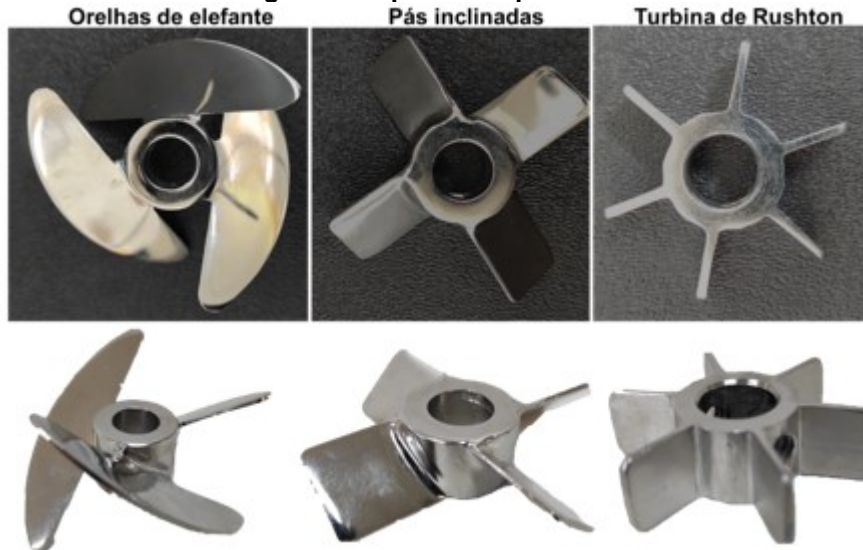
Figura 3 - Escoamento radial em (a) e axial em (b)



Legenda: O escoamento radial (a) ocorre no sentido do agitador com direção às paredes formando caminhos de turbulência, uma vez que ele age estourando as bolhas de ar para promover maior aeração, enquanto o escoamento axial (b) age favorecendo a mistura com movimentos que seguem a rotação do motor.

Fonte: Adaptado de Bustamante (2013)

Figura 4 - Tipos de impelidores



Fonte: A autoria própria (2023)

Dos impelidores apresentados na Figura 4, os mais utilizados industrialmente são as turbinas de Rushton e turbinas do tipo orelha de elefante (RAVINDRA, 2015). A turbina de Rushton gera um escoamento radial unidirecional, causando maior tensão cisalhante, mas ao mesmo tempo é um eficiente impelidor para a transferência de oxigênio para o meio; enquanto o segundo impelidor (orelha de elefante) é utilizado para líquidos viscosos e para células que não podem sofrer altas tensões cisalhantes, possuindo fluxo ascendente ou descendente dependendo de como é posicionada (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000; DORAN, 2012; BUSTAMANTE, 2013).

3.2 Tipos de fluidos

Biorreatores agitados mecanicamente podem ser empregados para fermentação de diversos microrganismos, células, tecidos animais ou vegetais. Assim o sucesso do processo fermentativo depende, além das condições de cultivo, do modelo de biorreator, conjunto de instrumentos e conhecimento sobre o comportamento do microrganismo e meio fermentado (CUNHA *et al.*, 2015).

Ao longo da fermentação a viscosidade do meio pode ser influenciada por diferentes fatores, como a produção de biomassa, produção do bioproduto, contaminações ou ainda a produção de algum tipo de intermediário (como gases ou espuma), como salienta Zhong *et al.* (2012). Portanto ter o conhecimento da viscosidade do meio fermentado e as suas características ao longo da fermentação, isto é saber se há variações do tipo de fluido ao longo do processo, é crucial para a obtenção de bons resultados em produtividade do bioproduto de interesse (LOPES *et al.*, 2015).

Durante a fermentação o meio de cultivo é o fluido de desenvolvimento do microrganismo pois é a partir dele que ocorre a dissolução de nutrientes, oxigênio e transferência de calor e massa para o sistema. Este fluido pode apresentar características distintas do ponto de vista físico, podendo ser considerado newtoniano ou não-newtoniano (VALDOVINOS-GARCÍA *et al.*, 2021).

De acordo com Irgens, (2014) os fluidos newtonianos são fluidos que obedecem à lei linear de atrito de Newton (Equação 3), onde a viscosidade é constante durante todo o processo fermentativo, uma vez que a tensão viscosa é linearmente dependente da taxa de deformação. Exemplos são gases ou bioprodutos de baixo peso molecular (DORAN, 2012). Os fluidos que não seguem a lei linear são chamados de não newtonianos e esses fluidos são geralmente altamente viscosos (IRGENS, 2014). Muitos processos fermentativos apresentam materiais com comportamento não-newtoniano, como amidos, polissacarídeos, caldos de cultura contendo células suspensas ou produção de biopolímeros por fermentação (DORAN, 2012).

$$\tau = \mu \frac{du}{dy} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

μ : viscosidade dinâmica dado em kg (m.s)^{-1} ;

τ : tensão de cisalhamento dada por N.m^{-2} ;

$\frac{du}{dy}$: taxa de deformação sob à influência da tensão de cisalhamento.

De acordo com Doran (2012) os fluidos não newtonianos encontrados em bioprocessos são geralmente Pseudoplásticos, Plástico de Bingham e/ ou Plástico de Casson (Figura 5). Ao sofrer uma tensão cisalhante cada fluido apresenta diferentes padrões uma vez que a razão entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento não são constantes (DORAN, 2012). Mas ainda assim é possível determinar a viscosidade aparente, definida por μ_a , conforme ilustra a Equação 4.

$$\mu_a = \frac{\tau}{\frac{du}{dy}} \quad (\text{Equação 4})$$

É importante ressaltar que diferentemente da viscosidade medida para fluidos newtonianos, a viscosidade aparente depende da força de cisalhamento exercida sobre o fluido, portanto não há sentido em especificar a viscosidade aparente sem também informar a tensão de cisalhamento ao qual o fluido foi submetido (DORAN, 2012).

De acordo com Doran (2012) fluidos Pseudoplásticos obedecem a lei de potência, definida pela Equação 5, quando $n < 1$.

$$\tau = K * \left(\frac{du}{dy}\right)^n \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

τ : é a tensão de cisalhamento;

K é o índice de consistência;

é a taxa de cisalhamento;

n é o índice de comportamento, em que para fluidos pseudoplásticos $n < 1$.

Assim, substituindo a Equação 5 na Equação 4, temos que:

$$\mu_a = \frac{\tau}{\frac{du}{dy}} = K * \left(\frac{du}{dy}\right)^{n-1} \quad (\text{Equação 6})$$

Desta forma, sendo $n < 1$ para fluidos Pseudoplásticos, a Equação 6 indica que a viscosidade aparente decresce com o aumento da tensão de cisalhamento e por isso este tipo de fluido é conhecido como fluido de cisalhamento (DORAN, 2012).

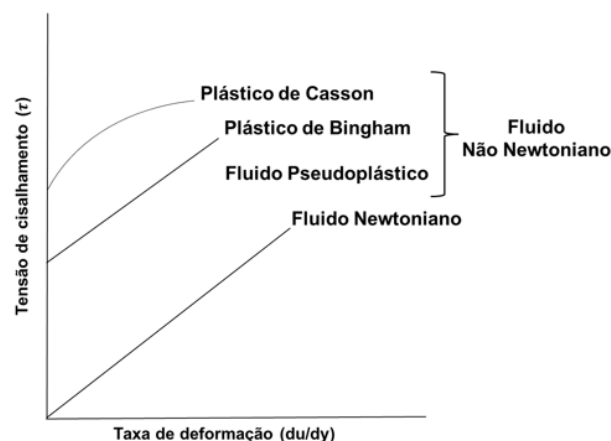
Outrossim, fluidos plásticos como é fluido Plástico de Bingham e/ ou Plástico de Casson, não produzem nenhum movimento até que alguma força finita ou tensão de escoamento tenha sido aplicada, sendo esta tensão mínima o suficiente para quebrar o padrão de inércia destes tipos de fluidos e chamada de τ_0 (DORAN, 2012). Para fluidos Plásticos de Bingham a Equação 7 descreve seu comportamento.

$$\tau = \tau_0 + Kp * \left(\frac{du}{dy}\right) \quad (\text{Equação 7})$$

Em que τ_0 representa a tensão de cisalhamento para romper o estado de inercia; e Kp representa a razão constante entre a mudança na tensão de cisalhamento e a mudança da taxa de cisalhamento. É importante ressaltar que o fluido Plástico de Bingham apresenta comportamento de um fluido Newtoniano após o rompido da inércia e por isso apresenta comportamento linear posterior a tensão sofrida, como ilustra a Figura 5. Já o fluido Plástico de Casson, após ter o rompimento da inércia apresenta comportamento de um fluido pseudoplastico, como ilustra a Figura 5 e representa a Equação 8.

$$\tau^{1/2} = \tau_0^{1/2} + Kp * \left(\frac{du}{dy}\right)^{1/2} \quad (\text{Equação 8})$$

Figura 5 - Perfil gráfico de um fluido Newtoniano e dos principais fluidos Não Newtonianos presents em bioprocessos



Legenda: Fluido Newtoniano apresenta comportamento linear conforme a taxa de cisalhamento aumenta; Fluido Pseudoplástico é um fluido Não Newtoniano pois tem a viscosidade aparente reduzida com o aumento da tensão de cisalhamento; Plástico de Bingham é um fluido não newtoniano que após sofrer uma tensão de cisalhamento apresenta perfil newtoniano e Plástico de Casson é um Fluido Não Newtoniano que apresenta comportamento Pseudoplástico após ter sofrido uma tensão de cisalhamento.

Fonte: Autoria própria (2023)

Em função da existência de diferentes perfis de fluidos, devido a variação da viscosidade, é comum analisarmos o comportamento destes materiais por meio de um reômetro, instrumento capaz de medir a taxa de deformação do fluido, através da aplicação de uma força, em função da sua taxa de cisalhamento. Existem diferentes modelos de reômetros que podem ser aplicados, contudo utiliza-se com maior frequência o reômetro rotacional que funciona através da aplicação de uma dada tensão sob uma superfície móvel, gerando gráficos a partir da leitura do torque pela força de cisalhamento exercida sobre o fluido que está em contato com as duas superfícies (móvel e parada) (MAXWEL, 2016).

3.2.1 Parâmetros de monitoramento em biorreatores

Além do tipo de fluido, é crucial conhecer parâmetros que podem afetar a mistura dentro de biorreatores. Neste sentido, para fluidos não newtonianos e microrganismos aeróbicos, alguns dos principais parâmetros a serem monitorados são coeficiente volumétrico de transferência de massa (k_{LA}), taxa de consumo específico de oxigênio microbiano (q_o) e tempo de mistura (t_m) (DORAN, 2012).

O coeficiente volumétrico de transferência de massa (k_{LA}) é um parâmetro que determina a taxa que um componente gasoso (oxigênio, nitrogênio ou dióxido de carbono, por exemplo) pode transferir entre a fase gasosa e a fase líquida (DORAN, 2012). Esse parâmetro representa crucial importância em bioprocessos pois culturas de células aeróbicas absorvem oxigênio da fase líquida e assim conseguem realizar a respiração microbiana, de modo que um elevado k_{LA} representa maior eficiência com a qual o oxigênio consegue ser dissipado dentro do biorreator (YOSHIDA, 2015).

Alguns dos fatores que podem afetar diretamente o k_{LA} são: o tamanho das bolhas de ar dissipadas, pois quanto menor o tamanho da bolha de ar, maior é o tempo de residência no biorreator e a área superficial; a vazão de ar, tendo em vista que quanto maior a disponibilidade de oxigênio maior pode ser o k_{LA} ; a temperatura, uma vez que ela é inversamente proporcional ao k_{LA} , e por fim as características do aspersor, pois a configuração do aspersor influencia na quantidade de ar fornecida pelo sistema (DREW, 1999; DORAN, 2012; STANBURY; WHITAKER; HALL, 2017).

Existem diferentes métodos descritos na literatura para determinação do k_{LA} , sendo o método dinâmico considerado o mais prático, de forma que o coeficiente volumétrico de transferência de massa pode ser determinado a partir da remoção do oxigênio por meio de outro gás, como por exemplo o dióxido de carbono (STANBURY;

WHITAKER; HALL, 2017). Vale ressaltar que a sonda de oxigênio faz a leitura do oxigênio dissolvido (A) presente no meio; e o valor mensurado pode ser convertido em concentração de oxigênio a partir da multiplicação pela concentração máxima de oxigênio dissolvido (C_0) no seio líquido a uma temperatura e pressão específica (DORAN, 2012), a fim de obter a concentração de oxigênio em um dado tempo (Equação 9).

$$C_{O_2} = \frac{A}{A_{max}} * C_0 \quad (\text{Equação 9})$$

Onde:

C_0 : Concentração máxima de oxigênio dissolvido a uma temperatura pré-estabelecida (7,76 mg.L⁻¹ a 28°C);

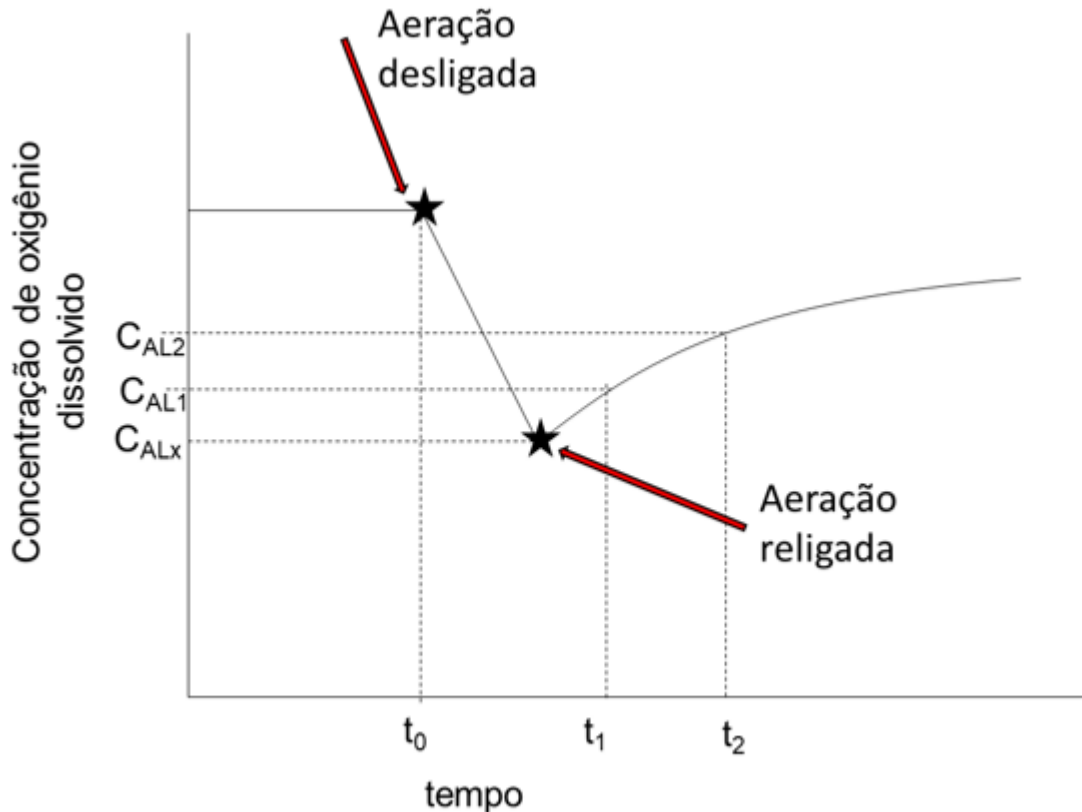
C_{O_2} : Concentração de oxigênio mg.L⁻¹;

A: Valor mensurado para oxigênio dissolvido no tempo t;

A_{max} : Valor máximo mensurado para o oxigênio dissolvido.

O método dinâmico consiste em iniciar a aeração até atingir o nível de saturação máxima de oxigênio dentro da temperatura e pressão pré-determinado, após este momento a aeração é desligada (Figura 6) e injeta-se um novo gás que fará com a concentração de oxigênio dissolvido no meio decaia até uma concentração X, denominada por C_{ALX} ; na sequência desliga-se a injeção de dióxido de carbono e religa-se a aeração a fim de ser medida a concentração de oxigênio dissolvido de modo que a Equação 10 é capaz de descrever esse processo (DORAN, 2012).

Figura 6 - Método dinâmico para determinação do coeficiente volumétrico de transferência de massa por meio da inserção de um gás secundário



Legenda: Método dinâmico consiste na medição do $k_L a$ por meio da inserção de um gás secundário. Os coeficientes C_{ALx} , C_{AL1} e C_{AL2} e C_{ALe} correspondem a concentração de oxigênio entre a interface ar líquido e na concentração x ; concentração de oxigênio entre a interface ar líquido no tempo 1 logo após ter sido religada a aeração, concentração de oxigênio entre a interface ar líquido e na concentração 2 antes de atingir o estado estacionário, respectivamente.

Fonte: Adaptado de Doran (2012)

$$C = C_0 - (C_0 - C_{O2})^{-k_L a * (t - t_1)} \quad (\text{Equação 10})$$

Onde:

C : concentração de oxigênio medida de acordo com tempo ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3}$).

C_0 : concentração máxima de oxigênio ao retornar à aeração ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$);

$k_L a$: coeficiente volumétrico de transferência de massa (h^{-1});

C_{O2} : concentração de oxigênio dissolvido assim que o ar foi religado ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3}$);

t_1 : tempo inicial em que o ar foi religado (s);

t : tempo em função da concentração de oxigênio (s);

Vale ressaltar que o $k_L a$ é um produto de dois termos onde “ k_L ” é o coeficiente convectivo de transferência de massa e “ a ” é a área interfacial da bolha, a qual também pode ser expressa pela razão entre a área total das bolhas (A_T) e o volume

útil do biorreator (V) (SCHMIDELL NETTO; LIMA; AQUARONE, 2001). Contudo, como não é possível definir a área da bolha, usualmente utiliza-se o coeficiente volumétrico de transferência de massa (k_La).

Outro parâmetro passível de determinação e que também sofre influência direta do k_La é a taxa de consumo de oxigênio por volume de meio Q_o , que é produto de dois fatores, sendo a taxa de consumo específico de oxigênio microbiano, dado por q_o , e a concentração celular dado por X (Equação 11) (STANBURY; WHITAKER; HALL, 2017). Esse parâmetro é importante pois avalia a taxa de consumo de oxigênio pelas células dentro do biorreator, sendo este geralmente não definido na literatura científica pois é intrínseco ao microrganismo e muito importante para o dimensionamento de novos biorreatores (DORAN, 2012).

$$\frac{dC}{dt} = k_La(C_S - C) - q_oX \quad (\text{Equação 11})$$

Onde:

q_o taxa de consumo específico de oxigênio microbiano ($\text{gmol.g}^{-1}\text{h}^{-1}$);

X : concentração celular (g.L^{-1})

Q_o : taxa de consumo de oxigênio por volume de meio ($\text{gmol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)

Outro parâmetro importante e muito útil é o tempo de mistura (t_m) pois ele diz respeito a quão homogêneo o sistema está, bem como avalia a velocidade geral para atingir tal homogeneidade; de forma que quanto menor a resposta do tempo de mistura, melhor será a homogeneidade do sistema (DORAN, 2012). A determinação deste parâmetro pode ser conduzida por meio da injeção de substâncias que modificarão o pH, por exemplo e o tempo de resposta pode ser determinado por meio do tempo em que a sonda de pH leva para responder (DORAN, 2012; STANBURY; WHITAKER; HALL, 2017). De acordo com Stanbury, Whitaker e Hall (2017) esse parâmetro pode ser afetado por diferentes circunstâncias como volume do tanque, viscosidade do fluido, tipo de impelidor e velocidade de rotação.

3.3 Polissacarídeos microbianos

Polissacarídeos são moléculas formadas por monossacarídeos e podem ser oriundos de fontes vegetais, como caules de plantas, raízes ou tecidos vegetais, ou ainda a partir de microrganismos, como fungos, bactérias ou microalgas (MORRIS; HARDING, 2009; MUHAMAD *et al.*, 2017). Os polissacarídeos microbianos são produzidos sob diversas condições possuindo características importantes diante do metabolismo celular, sendo utilizados como fonte de energia (glicogênio), composição estrutural ou também como mecanismo de defesa contra patógenos presentes no ambiente, sendo esses polissacarídeos chamados de exopolissacarídeos (EPS) por serem excretados para o meio extracelular (MADIGAN, MARTINKO, BENDER, 2016).

Dessa forma, é possível classificar os polissacarídeos microbianos em três grupos de acordo com a localização morfológica, sendo estes o interior celular, parede celular ou meio extracelular. Àqueles situados no interior celular são responsáveis por fornecerem fonte de carbono e energia para a célula; os presentes na parede celular fornecem proteção à estrutura celular, podendo citar os lipopolissacarídeos, peptídeoglicanos e ácidos tecóides; enquanto os do meio extracelular, os quais são produzidos na forma de cápsulas ou biofilmes, são responsáveis pela defesa da célula (TABUCHI, 2018).

Os polissacarídeos preferíveis industrialmente, originados por microrganismos, são os excretados para o meio extracelular, uma vez que além de não ser necessário extrair o bioproduto da parte interna da célula microbiana, eles podem atingir altas concentrações, conforme relatado por Ravella *et al.* (2010) que conseguiram 40,1 g.L⁻¹ por dia, em cultivo em tanque agitado e exopolissacarídeo.

Comercialmente exopolissacarídeos com atividade hidrocoloide, isto é, polímeros capazes de formar dispersões viscosas ou géis em água, são aqueles que possuem maior interesse devido as suas propriedades espessantes, estabilizadoras, emulsificantes e gelificantes tornando-o aplicável às indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica (SAHA; BHATTACHARYA, 2010).

Os exopolissacarídeos, em comparação com hidrocoloides de origem animal ou sintética, são sustentáveis, geralmente atóxicos, não são sazonais, podem apresentar-se quimicamente diferentes de acordo com a fonte de carbono utilizada para o seu cultivo e podem ser obtidos em elevada concentração a um custo reduzido

(AHMAD; MUSTAFA; MAN, 2015; LOPES *et al.*, 2015; AHMED; LIANFU; MAHDI, 2016).

Dos diferentes exopolissacarídeos existentes no mercado, destacam-se a dextrana, xantana, gelana, curdlana e celulose bacteriana, conforme ilustra o Quadro 1. Nesta também estão indicados os principais microrganismos produtores, aplicações de destaque, produtividade e as respectivas referências para cada biopolímero.

Quadro 1 - Biopolímeros com os principais microrganismos produtores e aplicações

Biopolímeros	Microrganismos produtores comercialmente	Principais propriedades	Produtividade laboratorial (g.L ⁻¹)	Referências
Dextrana	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Agente que aumenta a viscosidade, textura, estabilidade e propicia melhor emulsificação ao meio	23,8	(AHMED; LIANFU; MAHDI, 2016; JORGE <i>et al.</i> , 2021; VERMA <i>et al.</i> , 2020)
Xantana	<i>Xanthomonas campestris</i>	Estabilizante, emulsificante e agente que propicia maior retenção de água	24,5	(HUSSAIN <i>et al.</i> , 2021; MENDONÇA <i>et al.</i> , 2021; SALAH, <i>et al.</i> 2011)
Gelana	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> ,	Agente estabilizante, com estabilidade térmica e não sensível a variações de pH	14,75	(MAZEN; MILAS; RINAUDO, 1999; VERMA <i>et al.</i> , 2020; WANG <i>et al.</i> , 2006)
Curdlana	<i>Agrobacterium</i> sp.	Agente que propicia maior retenção de água e possui estabilidade térmica	51,94	(LIANG <i>et al.</i> , 2017; MARTINEZ <i>et al.</i> , 2014)
Alginato bacteriano	<i>Azotobacter vinelandii</i>	Espessante, estabilizante e gelificante	3,5	(CLEMENTI <i>et al.</i> , 1995; MÜLLER; SANTOS; BRIGIDO, 2011; VERMA <i>et al.</i> , 2020)
Celulose bacteriana	<i>Gluconacetobacter xylinus</i>	Estabilizador de emulsões	5,89	(COIMBRA, 2016; COSTA <i>et al.</i> , 2017)

Fonte: Autoria própria (2023)

Conforme apresentado no Quadro 1, alguns dos principais biopolímeros utilizados na indústria possuem atividades semelhantes, tais como capacidade de estabilizar soluções bem como atividade espessante. Em destaque dentre os

biopolímeros apresentados tem-se a goma xantana, principalmente por ela ser o biopolímero com maior importância comercial (PETRI, 2015). Esta goma pode ser aplicada, devido às suas características, em diferentes setores industriais, como na melhoria da capacidade do solo, aplicações cosméticas, biomédicas, alimentícias, farmacêuticas (PETRI, 2015; MENDONÇA *et al.*, 2021).

3.3.1 *Xanthomonas campestris* e características do processo produtivo

A goma xantana é um exopolissacarídeo produzido por bactérias gram negativas do gênero *Xanthomonas sp.*, sendo as principais espécies produtoras são *Xanthomonas campestris*, *Xanthomonas pelagonii*, *Xanthomonas phaseoli* e *Xantomonas malvacearum* sob condições de fermentação aeróbica. Todas apresentam motilidade, devido à presença de flagelos, morfologia de colônias amarelas, lisas e viscosas e são catalase-positiva (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000). Dessas bactérias a espécie de maior destaque é a *Xanthomonas campestris* tendo em vista as altas produtividades obtidas mediante a conversão de substrato em biopolímero de produção e a capacidade de tolerar altas faixas de pH (FREITAS; ALVES; REIS, 2015; HUSSIAN, 2018).

Xanthomonas campestris é fitopatogênica e excreta polissacarídeos ao meio externo como forma de defesa contra o hospedeiro (superfície do vegetal), causando uma série de doenças e sintomas nas plantas nas quais estão associadas, incluindo necrose, doenças vasculares ou parenquimatosas em folhas, ramos ou frutos de muitas plantas (SUTHERLAND, 1982).

Os meios de cultivos tradicionalmente utilizados para manter as bactérias do gênero *Xanthomonas sp.* são meios contendo em gramas por litro (g.L⁻¹) extrato de malte 3,0, dextrose 10,0 e extrato de levedura 3,0. Em estado sólido adiciona-se digestão enzimática de gelatina 5,0 ou ágar-ágar 20,0, mantendo os cultivos sob agitação orbital a 180 rpm, por 48 h a 28 °C (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000; DEMIRCI *et al.*, 2017; MIRANDA *et al.*, 2020).

Já os meios de cultivos utilizados para produção de goma xantana requerem em sua constituição nitrogênio, sais de fosfato e outros microelementos que auxiliam na indução da produção do exopolissacarídeo (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000). Neste sentido, comumente utiliza-se meios complexos como por exemplo o meio proposto por Cadmus *et al.* (1978) contendo em sua composição 1,2% de glicose, 0,15% de extrato de levedura, 0,15% de extrato de malte, 0,25% de peptona, 0,15% de fosfato

diamônico, 0,25% de fosfato dipotássico e 0,005% de sulfato de magnésio anidro com meio com pH ajustado à 7,0 ao final; e o meio proposto por García-Ochoa *et al.* (2000) composto por (em g.L⁻¹) sacarose, 40,0; ácido cítrico, 2,1; nitrato de amônio. 1,144; fosfato dissódico, 2,866; cloreto de magnésio, 0,507; sulfato de sódio, 0,089; ácido bórico, 0,006; óxido de zinco, 0,006; cloreto de ferro III hexahidratado, 0,020; carbonato de cálcio, 0,020 e ácido clorídrico concentrado 0,13 mL.L⁻¹, com pH ajustado a 7,0 por meio da adição de hidróxido de sódio.

A temperatura utilizada para produção de goma xantana pode variar de 25 a 35°C, entretanto para obter altas taxas produtivas de goma xantana em utiliza-se geralmente temperatura igual a 28°C por um período de 72 horas (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000; MUDOI; BHARALI; KONWAR, 2013). Outrossim, o pH ótimo para produção de goma xantana deve ser próximo a neutralidade, senão neutro ao longo de toda fermentação (CADMUS *et al.*, 1978; GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000; MUDOI; BHARALI; KONWAR, 2013).

Como a *Xanthomonas sp.* são bactérias aeróbicas estritas é de suma importância que ocorra aeração durante o cultivo e que o ar esteja disponível o máximo de tempo possível para às células, o que ocorre por meio da agitação. Nessa perspectiva a literatura reporta utilização de diferentes condições acerca da aeração e velocidade de agitação de modo que a Tabela 1 reúne as informações mais relevantes encontradas.

Tabela 1 - Condições operacionais em biorreatores agitados mecanicamente

Microrganismo	Temperatura (°C)	pH	Velocidade (rpm)	Taxa de aeração (vvm)	Volume do biorreator (L)	Tempo de cultivo (h)	Produção de goma xantana (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .h ⁻¹)	Referências
<i>X. campestris mangiferaeindicae</i> 2103	28	7	497,96	0,97	4,50	120	5,59	0,047	(ASSIS <i>et al.</i> , 2014)
<i>X. campestris</i> CCTCC M2015714	30	7	400	1,00	7,00	60	33,9	0,56	(WANG <i>et al.</i> , 2017)
<i>X. campestris</i> pv <i>pruni</i>	28	7	300	3,00	3,00	66	8,15	0,12	(BORGES; VENDRUSCOLO, 2008)
<i>X. arbuticola</i> pv. <i>juglandis</i>	30	7	200	1,00	1,50	72	8,22	0,11	(GUMUS <i>et al.</i> , 2010)
<i>X. begonia</i>	30	7	200	1,00	1,50	72	7,74	0,11	(GUMUS <i>et al.</i> , 2010)
<i>X. vesicatoria</i>	30	7	200	1,00	1,50	72	6,40	0,09	(GUMUS <i>et al.</i> , 2010)
<i>X. diffenbachia</i>	30	7	200	1,00	1,50	72	0	0	(GUMUS <i>et al.</i> , 2010)
<i>X. campestris</i> NRRL B-1459 (ATCC13951)	30	7	200	1,00	1,50	72	7,46	0,10	(GUMUS <i>et al.</i> , 2010)
<i>X. campestris</i> ATCC 33913	30	7	600	1,00	2,00	72	6,99	0,10	(PSOMAS; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES; KYRIAKIDIS, 2007)

Fonte: Autoria própria (2023)

Na literatura pouco se é discutido em relação aos tipos de impelidores utilizados para fermentação de goma xantana, contudo dos documentos encontrados que relatam a utilização, boa parte ocorre por meio de turbinas do tipo Rushton, conforme pode ser observado pelo Quadro 2.

Quadro 2 - Tipos de impelidores utilizados para produção de goma xantana

Impelidores	Geometria dos impelidores e distâncias no eixo	Referências
Duas turbinas de Rushton	Distância de 0,108 m entre os impelidores	(SÁNCHEZ <i>et al.</i> , 1992)
Duas turbinas de Rushton	Diâmetro de 0,1 m e largura de 0,02 m. Distância entre os impelidores variando de 0,03 a 0,09 m	(NAKAJIMA; FUNAHASHI; YOSHIDA, 1990)
Duas turbinas de Rushton	Diâmetro de 0,064 m e 0,013 m de largura, com espaço de 0,080 m entre si	(SAUID <i>et al.</i> , 2013)
Duas turbinas de Rushton grandes	-	(AMANULLAH <i>et al.</i> , 1998)
Seis impelidores semi-elípticas	Espessura de 0,008 m, diâmetro de 0,020 m, profundidade 0,052 m e distância do fundo do tanque de 0,200 m	(AMEUR; SAHEL; KAMLA, 2017)
Duas turbinas de Rushton	Diâmetro de 0,085 m	(ENSHASY; HOMOSANY, 2011)

Autoria própria (2023)

Sánchez *et al.* (1992) utilizaram três tipos de impelidores, sendo turbina de Rushton (RT), turbina de Rushton com inclinação de 45° (R45) e misturador tipo A310 *lightnin* (A310), utilizando-os em combinações RT-RT, RT-R45 e RT- A310 para produção de goma xantana obtendo como melhor resultado maiores concentrações de goma xantana para a combinação RT-RT. Já Nakajima, Funahashi e Yoshida, (1990) utilizaram apenas modelo duplo de turbinas de Rushton, assim como Enshasy e Homosany (2011) e Sauid *et al.* (2013) para produção de goma xantana (Quadro 2).

Não obstante, Amanullah *et al.* (1998) testaram diferentes *designs* de turbinas, turbina Rushton (SRT), turbina Rushton grande (LRT), *Prochem Maxflo T* (PMD) e Scaba 6SRGT (SRGT), encontrando como melhor desempenho o modelo LRT-LRT. Enquanto Ameer, Sahel e Kamla (2017) avaliaram o uso de um único modelo de impelidor, composto por seis impelidores semi-elípticas para produção de goma xantana.

Todos esses parâmetros, velocidade de agitação, quantidade de ar inserida no biorreator e tipos de impelidores, são cruciais para um bom rendimento de goma xantana durante a fermentação. Neste sentido, após a fermentação, que dura cerca de três dias, a goma xantana deve ser separada do meio de cultivo e da bactéria *X. campestris*. Nesta etapa é necessário realizar um processo de centrifugação, com

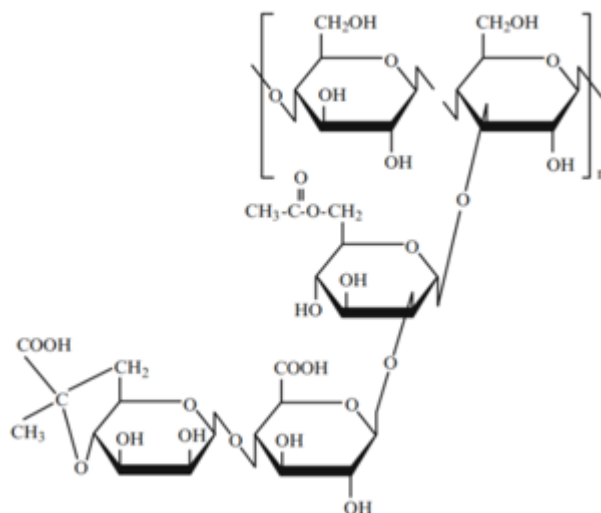
13.000 RPM, a 4°C por 7 minutos, para separar as células do meio fermentado com a goma xantana (MORRIS; HARDING, 2009).

As células devem ser esterilizadas devido a fito-patogenicidade da *X. campestris* e posteriormente descartadas, enquanto o meio de cultivo com goma xantana deve ser precipitado em etanol, na concentração de três partes de solvente para uma parte de meio de cultivo (MORRIS; HARDING, 2009), na sequência a goma xantana deve ser seca em estufa a 80°C para concentrar e posteriormente moída, enquanto o etanol utilizado na precipitação deve ser recuperado.

3.3.2 Goma xantana, suas aplicações e o mercado

A estrutura da goma xantana, originada pelas bactérias supracitadas, é de heteropolissacarídeo composto por uma unidade de glicose, ligada através de ligações glicosídicas β -1,4, com cadeias laterais de trissacarídeos conforme ilustra a Figura 7 (FREITAS; ALVES; REIS, 2015). Segundo García-Ochoa *et al.* (2000) o nível de substituintes de grupos acil na molécula depende das condições de cultivo do biopolímero, tendo impacto sobre as suas propriedades reológicas. Por essas características esse biopolímero tem sido aplicado as indústrias alimentícias, farmacêuticas, cosméticas e biomédicas.

Figura 7 - Estrutura química da goma xantana



Fonte: Freitas, Alves e Reis (2015)

De modo geral as principais características da goma xantana que a tornam tão atraentes são: ser um excelente espessante, o que proporciona aumento da viscosidade de soluções mesmo sob concentrações muito baixas; em soluções

aquosas apresenta características pseudoplásticas favorecendo atividades de misturas, bombeamentos, enchimentos e derramamentos; possui elevada estabilidade em amplas faixas de pH, temperatura e força iônica; é estável sobre tensões cisalhantes durante o processamento e é solúvel em águas frias e quentes (GOWTHAMAN; PRASAD; KARANTH, 1999; LO; ARGIN-SOYSAL; HSU, 2007; SHARMA; GAUTAM; WADHAWAN, 2014; FREITAS; ALVES; REIS, 2015; PETRI, 2015).

Devido a sua estrutura química, a goma xantana tem propriedades atrativas a aplicações cosméticas, ressaltando a capacidade de estabilizar emulsões, pseudoplasticidade, atuar como agente de condicionamento da pele promovendo liberação controlada de cosméticos, agente promotor de aumento de viscosidade e atuar com atividades surfactantes/emulsificantes (FIUME *et al.*, 2016). Nesta perspectiva, segundo Fiume *et al.* (2016) esse biopolímero tem sido aplicado em todas as categorias de cosméticos sendo relatado em mais de 3,470 produtos, dentre eles produtos de higiene bucal como em pastas de dentes, produtos sem enxague, desodorantes, produtos para bebês, dentre outros. A Tabela 2 apresenta as principais aplicações cosméticas desse biopolímero, concentrações relatadas e funções para cada produto.

Tabela 2 - Aplicações cosméticas da goma xantana

Aplicação	Concentração (%)	Funcionalidade
Farmacêutica (cremes e suspensões)	0,1 - 1	Estabilizador de emulsão e propiciador de uniformidade em dosagem de formulações
Pasta de dente, shampoos e loções	0,2 - 1	Espessante e estabilizador
Produtos de bebê	0,2 - 0,6	Estabilizador de formulações
Esmaltes e colorações de cabelo	4 - 6	Espessante e estabilizador
Desodorantes	0 - 0,6	Estabilizador

Fonte: Adaptado de García-Ochoa *et al.* (2000) e Fiume *et al.* (2016)

Esse biopolímero foi aprovado para aplicações como agente estabilizador e emulsificador em produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos, sem restrições, desde 1969 pela FDA que é a agência federal do Departamento de Saúde e serviços humanos dos Estados Unidos devido a sua atoxicidade (MECCA, 2010). Desde então houve um crescimento no uso desse biopolímero pelos mercados supracitados, atingindo em 2020 produção mundial de US\$ 576,11 milhões com estimativa de US\$ 827,57 milhões até 2028 (MARKET, 2022).

Dessa produção global as principais empresas produtoras de goma xantana são empresas americanas *CP Kelco*, *Merck* e *Pfizer*; francesas: *Rhone Poulenc* e *Sanofi-Elf*; e australiana *Jungbunzlauer* (MARKET, 2022). O Brasil, apesar de ter potencial econômico e em matérias primas para criação de uma planta para a produção de goma xantana, ainda importa esse biopolímero de países estrangeiros, como das empresas mencionadas.

Devido às características versáteis e atrativas da goma xantana em relação a outros polímeros para aplicações cosméticas, sua produção em 2020 rendeu cerca de US\$ 397 milhões e estima-se que em 2027 deve atingir a marca de US\$ 455,9 milhões (aumento de 15%), produzido principalmente por empresas americanas, com destaque para *Archer Daniels Midland Company*, *Cargill*, *DowDuPont*, *Ingredion* e *Jungbunzlauer Suisse AG* (REPORT, 2021). Por se tratar de um bioproduto produzido principalmente por poucas empresas, há muito segredo industrial sobre esse processo tão complexo e lucrativo.

Essa disparidade também pode ser percebida pelo número de patentes geradas pelos Estados Unidos da América, que é o país líder na produção de invenções de 1970 a fevereiro de 2022. Os EUA têm um total de 15.314 invenções, seguido pelo Japão (8.231), Alemanha (6.376) e França (5.383). Nesse sentido, as empresas que mais apresentaram invenções foram *L'oreal* (1.903), *Shiseido Co Ltd* (1.488), *Kao Corp* (1.221) e *Pola Chem Ind Inc* (801). Segundo a Espacenet, uma das plataformas de referência para buscas de patentes, ao buscar o termo "goma xantana E cosméticos" as três patentes mais relevantes do ano de 2021 são relatadas pela China e referem-se ao uso da goma xantana com diferentes pesos para a entrega de ativos dermatológicos (CN113559015A), descreve a metodologia para preparação de molécula de goma xantana com ácido málico para aplicações cosméticas (CN113185620A) e a metodologia para preparação de nanopartículas de lisozima com goma xantana para aplicações cosméticas (CN112972393A), uma vez que esta técnica aumenta a biocompatibilidade e estabilidade da solução.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Determinação de parâmetros para processo fermentativo em biorreator aerado

Visando estimar o comportamento fermentativo durante a produção de goma xantana em biorreator, foi conduzido os testes descritos abaixo em um biorreator *Technal* modelo *Tec- Bio 3,0V* de 2,5L. Assim, simulou-se o processo por meio da realização de medições de k_La e t_m para dispersões coloidais de goma xantana comercial acrescida de sacarose. Utilizou-se as soluções de goma xantana acrescidas de sacarose por este ser o componente em maior concentração no meio proposto por García-Ochoa *et al.* (2000) utilizado em processos fermentativos com *X. campestris* para produção de goma xantana.

Para os testes de simulação do processo fermentativo variou-se as concentrações de goma xantana de 0,15% em 0,15% (m.v⁻¹) dentro da faixa de 0,10% a 0,85% (m.v⁻¹), enquanto a concentração de açúcar (sacarose) utilizada foi de 40 g.L⁻¹ e o volume final para cada dispersão foi de 1,5 L, conforme ilustra a Tabela 3. Escolheu-se esses valores pois de acordo com a literatura a produtividade (g.L⁻¹) máxima reportada fica em torno de 8 g.L⁻¹, para bactérias não mutantes, conforme ilustra a Tabela 1 do item 3.3 do referencial teórico.

Tabela 3 - Dispersão coloidal de goma xantana acrescida de sacarose com notação em % (m.v⁻¹) e em g.L⁻¹

Dispersão coloidal de goma xantana % (m.v-1)	Dispersão coloidal de goma xantana (g.L ⁻¹)	Sacarose (g.L ⁻¹)
0,1%	1,00	40
0,25%	2,50	40
0,40%	4,00	40
0,55%	5,50	40
0,70%	7,00	40
0,85%	8,50	40

Fonte: Autoria própria (2023)

Cada uma das dispersões coloidais de goma xantana preparadas (acrescidas ou não de açúcar) fora analisada quanto a sua viscosidade em viscosímetro *Brookfield DV III Ultra*, utilizando-se o *spindle* SC4-34 e variando a tensão de cisalhamento do spindle, dada em 1.s⁻¹, de 0, 8,4, 16,8, 25,2 e 33,6 a fim de obter diferentes perfis de cisalhamento. Este processo foi conduzido conforme descrito por Maxwell (2016). Ao final foi realizado a linearização dos dados (Equação 12) para ambas as dispersões

coloidais de goma xantana (contendo e ou não sacarose) partir da Equação 6 contida no referencial teórico (Item 3.2) para determinar o tipo de fluido, o perfil gráfico e a equação da reta para cada dispersão coloidal.

$$\mu_a = \frac{\tau}{\frac{du}{dy}} = K * \left(\frac{du}{dy}\right)^{n-1} \quad (\text{Equação 6})$$

$$\log \mu_a = \log(K) * n \log\left(\frac{du}{dy}\right) \quad (\text{Equação 12})$$

Em que n é o coeficiente angular da reta e log (K) é o coeficiente linear. Para fluidos pseudoplásticos n <1.

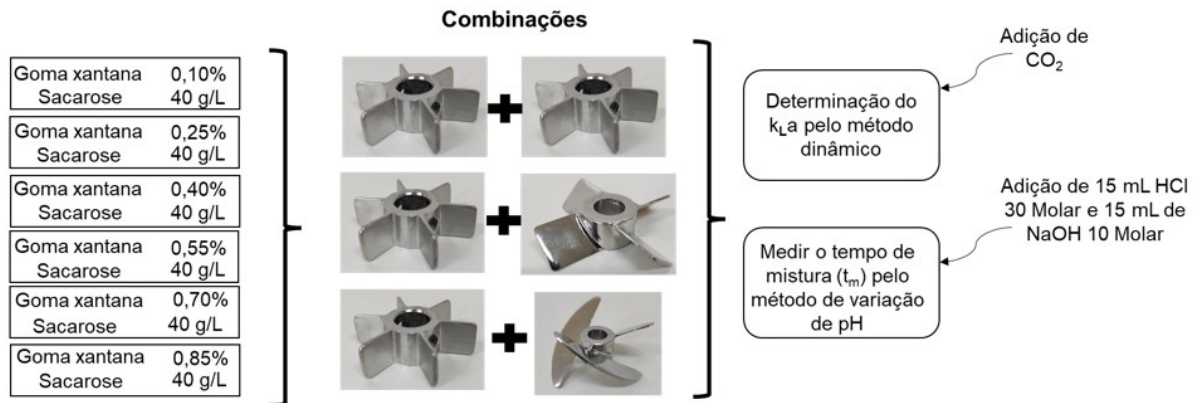
Empregou-se para cada um dos testes três conjuntos de impelidores diferentes, Rushton-Rushton (RR), Rushton-Elefante (RE) e Rushton-Inclinada (RI), a fim de eleger qual seria o melhor para utilização em processo fermentativo e avaliou-se a agitação de 200 rpm e 600 rpm para cada um dos impelidores dentro das concentrações mencionadas (Figura 8). A Tabela 4 ilustra as dimensões para cada um dos impelidores, a distância entre eles, bem como a distância do impelidor Rushton até o aerador. Os impelidores do tipo Rushton estão presentes em todos os conjuntos sendo este o primeiro impelidor posicionado no rotor a fim de ficar mais próximo ao aerador e favorecer a quebra de bolhas de ar.

Tabela 4 - Diâmetro, largura e distância entre os impelidores do tipo Rushton, Elefante e Inclinada

Informações	Medidas (m)
Diâmetro do impelidor (Da) - Rushton	0,0438
Largura do impelidor - Rushton	0,0161
Diâmetro do impelidor (Da) - Elefante	0,0630
Largura do impelidor - Elefante	0,0249
Diâmetro do impelidor (Da) - Inclinada	0,0576
Largura do impelidor - Inclinada	0,0237
Distância entre os impelidores	0,0210
Distância entre Rushton e o aerador (E)	0,0110

Fonte: Autoria própria (2023)

Figura 8 - Processo de simulação do processo fermentativo



Legenda: Simulação de processo fermentativo para produção de goma xantana utilizando dispersões de goma xantana variando de 0,10% a 0,85% sendo 0,85% valor médio de produtividade de goma xantana; e utilizando 40 g.L⁻¹ de sacarose por ela ser o maior componente do meio de cultivo para indução de goma xantana. Neste processo foi determinado o k_{LA} e tempo de mistura (t_m) utilizando impelidores do tipo Rushton-Rushton, Rushton Inclinada e Rushton-Elefante.

Fonte: Autoria própria (2023)

Utilizou-se para medição do k_{LA} o método dinâmico. Como parâmetro para a máxima transferência de oxigênio, na temperatura de 28°C, foi utilizado o valor de 7,76 mg.L⁻¹ (DORAN, 2012). Com este dado foi possível os valores de converter o oxigênio dissolvido mensurados pela sonda de oxigênio, como expresso na Equação 9 do referencial teórico (Item 3.2.1), em concentração de oxigênio dissolvido. Na sequência utilizou-se a Equação 10, também descrita no mesmo item anterior do referencial teórico, para obter o k_{LA} de cada uma das condições propostas.

Para medição do tempo de mistura (t_m) empregou-se a metodologia de (ZHANG *et al.*, 2014) com adaptações para quantidade utilizada e concentração de ácido e base, de modo que utilizou-se solução de hidróxido de sódio 10 mol.L⁻¹ e de ácido clorídrico a 30 mol.L⁻¹, utilizando-se 15 mL de cada solução, iniciando sempre as medições com o pH neutralizado. Ao final obteve-se como resultado t_m para solução ácida e solução básica. O t_m corresponde a variação de tempo assim que houve a mudança até o equilíbrio do pH, representado pela Equação 13 e ilustrado pela Figura 9.

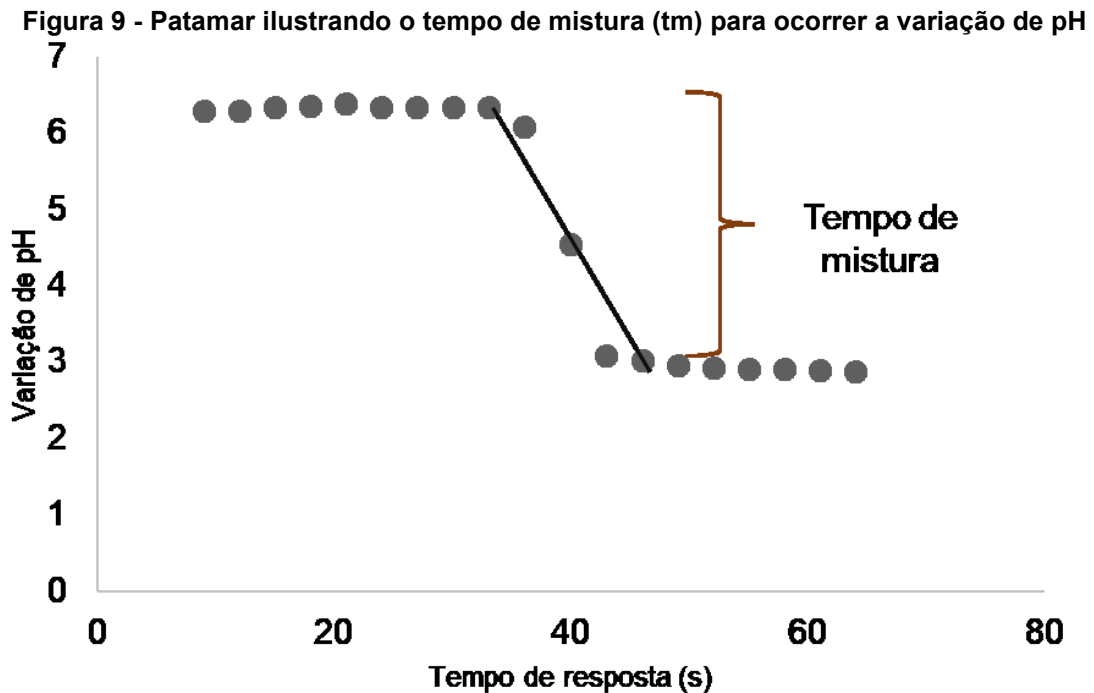
$$t_m = (t_{final} - t_{inicial}) * 0,1 \quad (\text{Equação 13})$$

Onde:

t_m : tempo de mistura (tm)(s);

t_{final} : último ponto após a estabilização do pH que remete ao momento posterior a adição de ácido ou base (s);

t_{inicial} : último ponto antes da variação brusca de pH (s).



Fonte: Autoria própria (2023)

4.2 Manutenção e produção de goma xantana pela bactéria *X. campestris*

A manutenção da bactéria *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 foi feita em meio de cultivo denominado *Yeast Malt Broth* (YM), composto por 10 g.L⁻¹ glicose, 3 g.L⁻¹ extrato de levedura, 3 g.L⁻¹ extrato de carne, 5 g.L⁻¹ peptona. Essa bactéria foi incubada à temperatura de 28°C com agitação de 180 rpm por 48 horas (MUDOI; BHARALI; KONWAR, 2013). Regularmente realizou-se análise em microscópio óptico para assegurar que não havia contaminação e contagem de células por meio da câmara de Neubauer.

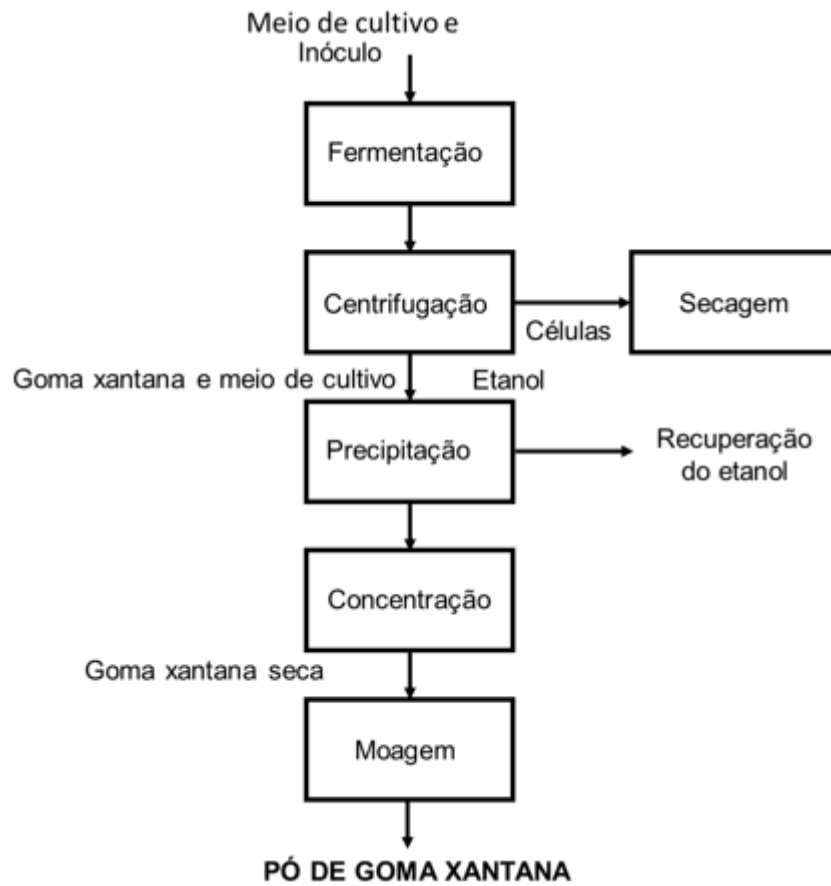
A produção de goma xantana ocorre em meios de cultivos complexos capazes de induzir a bactéria à produção do biopolímero de interesse. Neste sentido, utilizou-se meio de cultivo descrito por García-Ochoa *et al.* (2000) composto por (em g.L⁻¹) sacarose, 40,0; ácido cítrico, 2,1; nitrato de amônio, 1,144; fosfato dissódico, 2,866; cloreto de magnésio, 0,507; sulfato de sódio, 0,089; ácido bórico, 0,006; óxido de zinco, 0,006; cloreto de ferro III hexahidratado, 0,020; carbonato de cálcio, 0,020 e

ácido clorídrico concentrado $0,13 \text{ mL.L}^{-1}$, com pH ajustado a 7,0 por meio da adição de hidróxido de sódio.

Cultivou-se inicialmente em triplicata a bactéria em meio complexo descrito acima, em *shaker*, com rotação de 200 rpm, a temperatura de 28°C por 72 horas. Realizou-se contagem de células da fermentação prévia e a partir deste meio propagou-se para o biorreator de 2.000 mL. Realizou-se cultivo em biorreator com aeração, nas primeiras 24 horas, de 1 vvm (volume de ar por volume de meio de cultivo), temperatura de 28°C e rotação de 300 rpm; enquanto nas 48 horas seguintes utilizou-se a mesma temperatura, 750 rpm e 1,5 vvm. Realizou-se coletas a cada oito horas de cultivo para contagem de células em câmara de Neubauer.

Ao final das 72 horas a contagem células começou a reduzir e parou-se a fermentação. Então contabilizou-se o total de meio de cultivo e realizou-se a centrifugação em centrifuga refrigerada Excelsa 4 modelo 280, sob a temperatura de 4°C , 10.000 rpm (7,154 Fg) e 10 minutos, conforme metodologia descrita por (MORRIS; HARDING, 2009). Separou-se o precipitado e colocou-se em estufa a 80°C para determinar a quantidade de biomassa, enquanto o sobrenadante foi precipitado com etanol para recuperar a goma xantana.

A precipitação foi realizada por meio da utilização de três partes de etanol para uma parte de meio de cultivo, a fim de obter a goma xantana a qual passou na sequência por uma etapa de concentração. Esta etapa constituiu-se de secagem em estufa a 80°C para remoção da água. Posteriormente esta goma xantana foi moída a fim de obter o pó de goma xantana. O etanol utilizado no processo de precipitação da goma xantana foi recuperado por meio de rota- evaporação. A Figura 10 ilustra o processo de produção.

Figura 10 - Processo de produção laboratorial de goma xantana

Fonte: Autoria própria (2023)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação de parâmetros para processo fermentativo em biorreator aerado

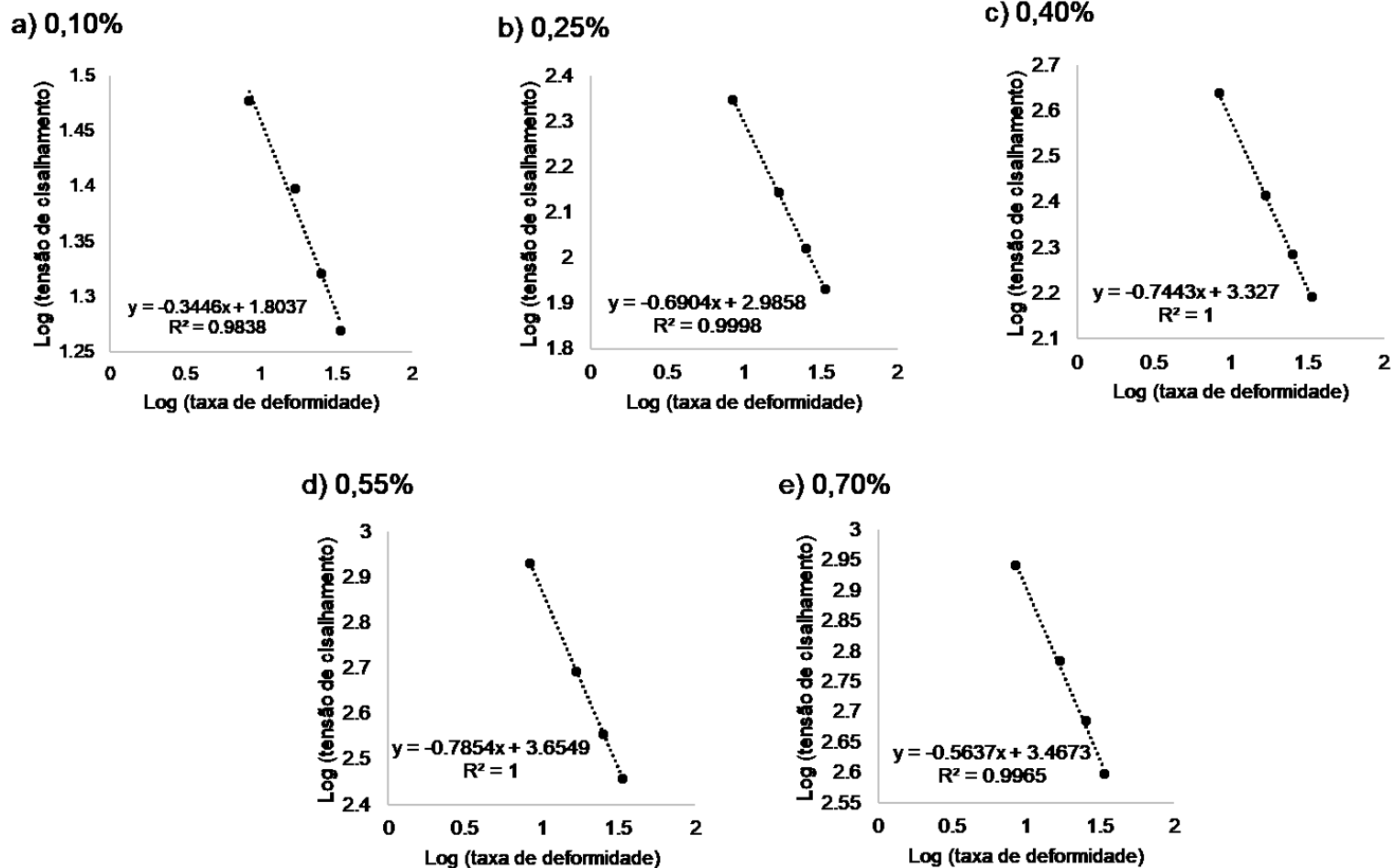
5.1.1 Viscosidade aparente das dispersões coloidais de goma xantana comercial acrescidas de sacarose e de goma xantana puras

Com intuito de entender o comportamento da viscosidade aparente das dispersões coloidais de goma xantana acrescida de açúcar (simulando o meio de cultivo) e de goma xantana pura, realizou-se análises em reômetro frente a diferentes tensões de cisalhamento do *spindle*, conforme descrito no item 4.1 do referencial teórico. Ao final foi conduzida a linearização dos dados e a partir desta confirmou-se que ambas as dispersões coloidais de goma xantana (contendo e não contendo açúcar) possuem perfil Pseudoplástico pois “n”, coeficiente angular da reta, foi em todos os casos menor que 1, condição primária para um fluido ser considerado pseudoplástico de acordo com Doran (2012).

A característica de Pseudoplaticidade para goma xantana já é bem conhecida e reportada por diversos autores, incluindo Nakajima, Funahashi e Yoshida (1990), Filomena *et al.* (2015) e Fagioli *et al.* (2019). Esse é um aspecto desejável do ponto de vista industrial uma vez que essa característica permite aplicações diversas, por exemplo, por indústrias na área de cosméticos esse comportamento favorece a sua aplicação em uma ampla gama de produtos desde shampoos (mais densos) até aerossóis (JUNGBUNZLAUER, 2017).

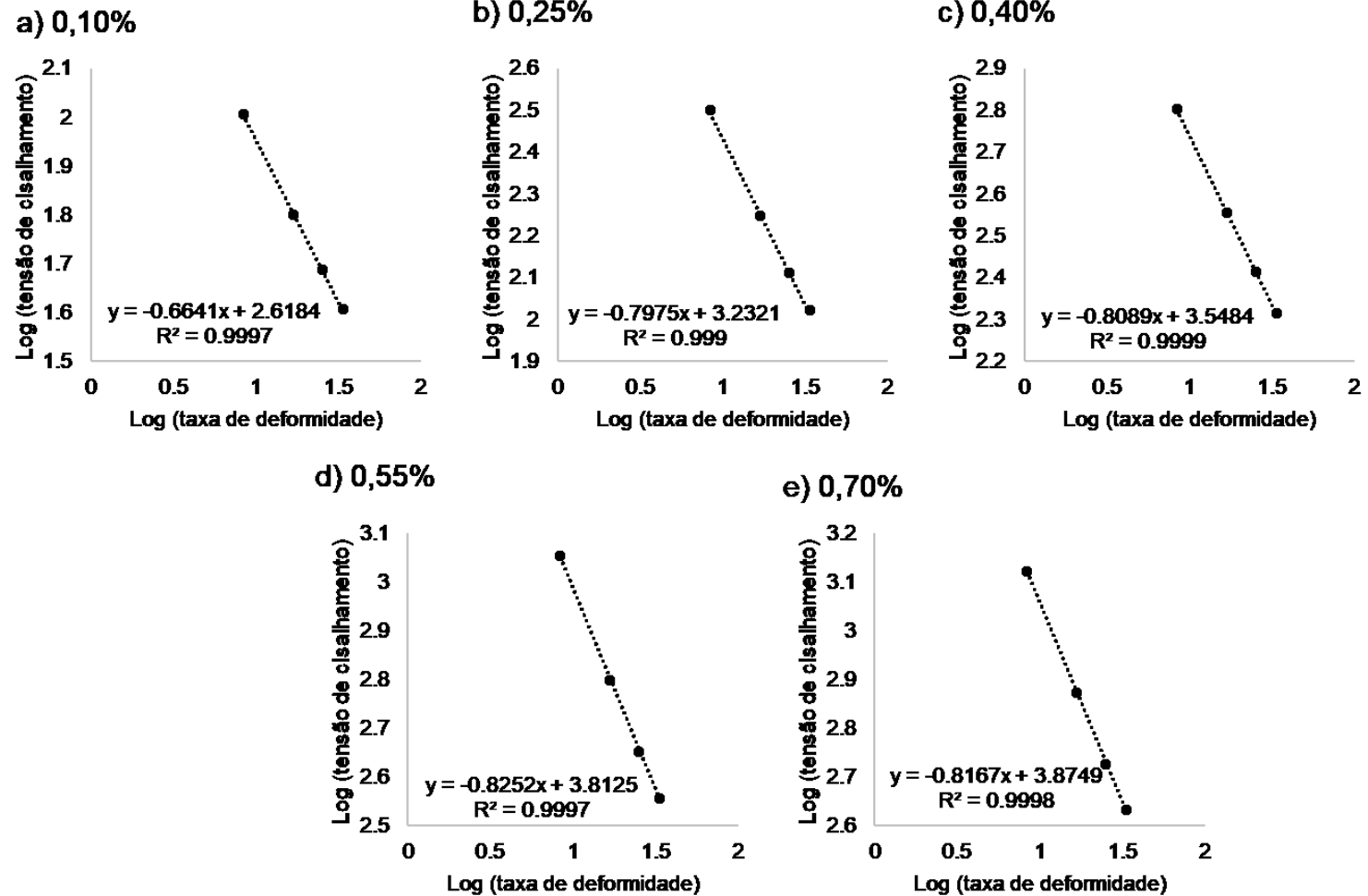
As Figuras 11 e 12 ilustram os perfis gráficos após a linearização em que às equações da reta correspondem a viscosidade aparente para cada perfil. É importante ressaltar que a viscosidade de 0,85% (m.v⁻¹) ou 8,5 g.L⁻¹ para ambos os modelos de dispersões de goma xantana (contendo e não contendo açúcar) não apresentaram leitura pelo reômetro devido a elevada viscosidade das dispersões. Enquanto para as demais concentrações houve leitura pelo reômetros e durante a linearização todas apresentaram coeficiente de correlação superior a 0,9, demonstrando a alta correlação entre a taxa de deformidade e a taxa de cisalhamento, de modo que quanto maior a taxa de cisalhamento, maior será a deformidade obtida.

Figura 11 - Perfil gráfico da viscosidade aparente para dispersões coloidais de goma xantana acrescidas de sacarose nas concentrações de 0,10% a 0,70% linearizadas para fluido Pseudoplástico



Fonte: Autoria própria (2023)

Figura 12 - Perfil gráfico da viscosidade aparente para dispersões coloidais de goma xantana nas concentrações de 0,10% a 0,70% linearizadas para fluido Pseudoplástico

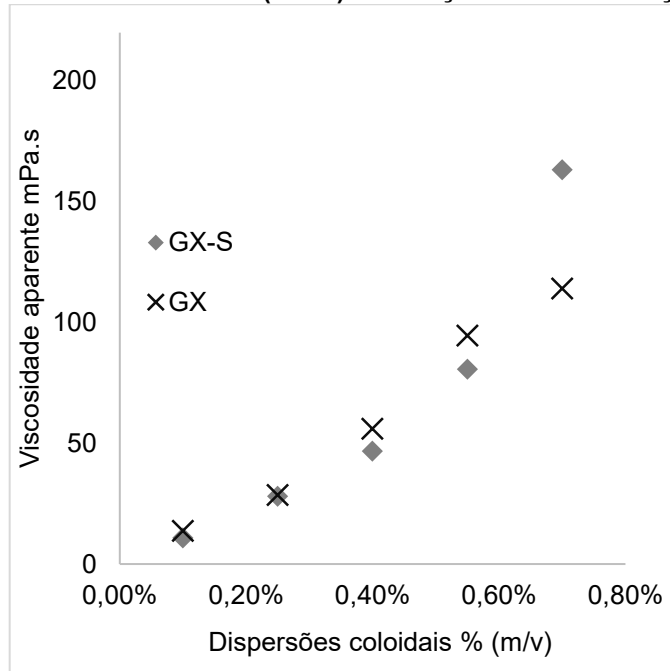


Fonte: Autoria própria (2023)

A partir dos dados obtidos pelo processo de linearização e considerando uma tensão de cisalhamento de 168 s^{-1} , que também pode ser compreendida como 600 rpm, obteve-se a Figura 13 que corresponde à variação da viscosidade aparente com o incremento das concentrações das dispersões coloidais de goma xantana (GX) e goma xantana acrescida de sacarose (GX-S). Analisando a Figura 11, percebe-se que há um aumento gradual da viscosidade aparente com o incremento da concentração para ambas as dispersões coloidais (GX e GX-S), o que já era esperado. Contudo, GX apresentou viscosidade aparente superior à dispersão coloidal GX-S nas concentrações de 0,1% a 0,55% ($13,82 > 10,89$; $28,67 > 28,15$; $56,02 > 46,85$ e $94,66 > 80,75 \text{ mPa.s}$, sendo $\text{GX} > \text{GX-S}$ respectivamente). O perfil apresentado por GX pode estar relacionado a solvatação da água livre, fator este que de acordo com Koshkin, Evtushenko e Muraeva (1985) pode proporcionar o aumento na viscosidade aparente.

Zhu e Zheng (2021) sintetizaram um copolímero de goma xantana em associação com outros materiais e perceberam que as características reológicas do material sintetizado foram diferentes à goma xantana individual especialmente em relação a viscosidade, solvatação da água livre e atividade em temperaturas superiores a $120 \text{ }^\circ\text{C}$. De acordo com os autores, essas características podem estar diretamente relacionadas às interações intermoleculares que cada uma das moléculas teve entre si, alterando as suas características individuais e formando um novo material com características únicas.

Figura 13 - Variação da viscosidade aparente de dispersões coloidais de goma xantana (GX) e goma xantana acrescida de sacarose (GX-S) em função da concentração das dispersões



Legenda: GX representa a dispersão coloidal de goma xantana pura enquanto GX-S corresponde a dispersão coloidal de goma xantana acrescida de sacarose.

Fonte: Autoria própria (2023)

5.1.2 Coeficiente volumétrico de transferência de massa (k_{LA}) e tempo de mistura (t_m) pelo método dinâmico em diferentes velocidades de rotação

O biorreator é um equipamento robusto que fornece informações sobre o processo fermentativo. Neste sentido, avaliou-se o coeficiente volumétrico de transferência de massa (k_{LA}) e tempo de mistura (t_m) em função de diferentes concentrações de goma xantana e três modelos de impelidores, com o objetivo de determinar qual seria a melhor condição para o processo fermentativo.

Dessa forma, para a determinação do k_{LA} em função dos parâmetros analisados foi necessário utilizar as Equações 9 e 10 do referencial teórico e assim obter os resultados ilustrados pelas Figura 14 e 15 para 200 e 600 rpm, respectivamente. Vale ressaltar que para concentrações superiores a 0,55% ($m.v^{-1}$) ou 5,50 $g.L^{-1}$ sob velocidade de agitação de 200 rpm não possível mensurar os valores de k_{LA} , provavelmente devido a elevada viscosidade das dispersões coloidais dificultando a transferência de oxigênio ao meio e assim a leitura pela sonda de oxigênio.

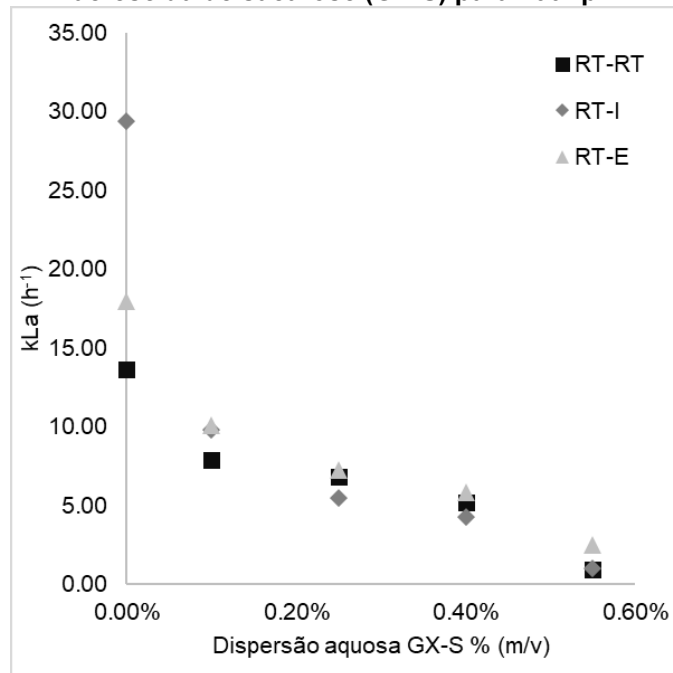
Ambos os perfis obtidos pelas Figuras 14 e 15 ilustram que os impelidores do tipo Rushton-Rushton favorecem a maior transferência de oxigênio, o que corrobora com Najafpour (2015) que diz que impelidores planos favorecem a mistura radial,

sendo bons para dispersão de gases ao meio pois quebram as bolhas de ar uniformemente. O autor ainda sugere que este modelo de impelidor seja posicionado logo abaixo do aerador, como ocorreu neste trabalho, para assim favorecer o processo de quebra de bolhas e transferência de oxigênio dissolvido ao meio.

Ainda nas Figuras 14 e 15 é possível perceber um decréscimo gradual do k_{LA} com o aumento da concentração das dispersões coloidais. Um ponto interessante nestas figuras é a performance dos impelidores Rushton-Rushton e Rushton-Elefante para a 0,85% (m.v⁻¹) ou 8,5 g.L⁻¹ sob agitação de 600 rpm (Figura 15), em que o obteve-se valores iguais a 3,12 h⁻¹ e 2,36 h⁻¹ respectivamente, para cada conjunto. Esses resultados ilustram a habilidade dos conjuntos Rushton-Rushton em transferirem oxigênio ao meio, fato que certamente motivou autores como Nakajima, Funahashi e Yoshida (1990), Enshasy e Homosany (2011) e Saudid *et al.* (2013), a utilizarem esse mesmo conjunto de impelidores combinados (Rushton-Rushton) para produção de goma xantana em seus estudos.

Por outro lado, esses resultados demonstram uma grande oportunidade em estabelecer o uso de impelidores combinados, mas com geometrias diferentes, para que possam favorecer a dissipação de oxigênio (Rushton posicionada próxima ao aerador) e a mistura por meio do uso de impelidores curvados, como as pás do tipo Elefante. Xie *et al.* (2014) de forma similar, realizaram a determinação do k_{LA} em dispersões coloidais de goma xantana utilizando diferentes impelidores e encontraram melhores resultados com as combinações Rushton-Rushton e Rushton seguido de um impelidor curvo, que os autores chamaram de WHu.

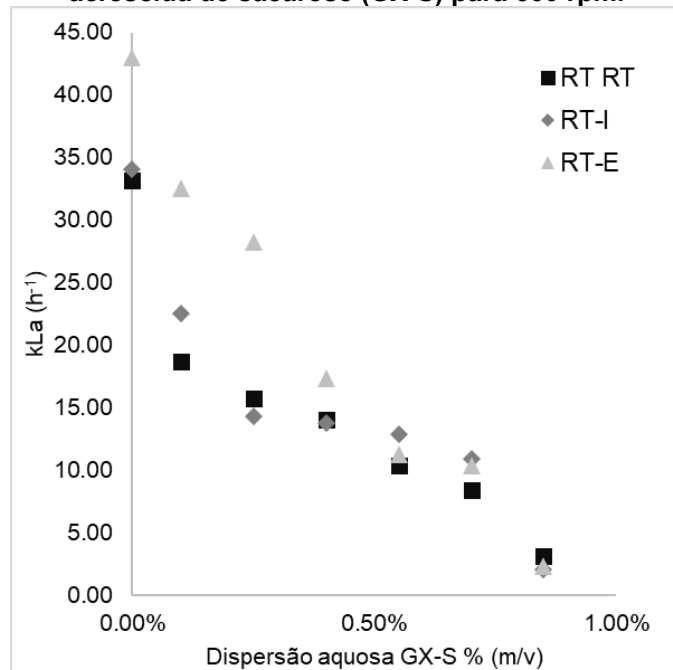
Figura 14 - k_{La} em função da concentração das dispersões aquosas de goma xantana acrescida de sacarose (GX-S) para 200 rpm



Legenda: RT- RT corresponde ao conjunto de impelidores Rushton- Rushton; RT-I ao conjunto Rushton Incilizada e RT-E Rushton- Elefante.

Fonte: Autoria própria (2023)

Figura 15 - k_{La} em função da concentração das dispersões aquosas de goma xantana acrescida de sacarose (GX-S) para 600 rpm.



Legenda: RT- RT corresponde ao conjunto de impelidores Rushton- Rushton; RT-I ao conjunto Rushton Incilizada e RT-E Rushton- Elefante.

Fonte: Autoria própria (2023)

Em relação ao tempo de mistura, utilizou-se como metodologia a resposta do eletrodo de pH por meio da injeção de ácido e base conforme descrito anteriormente

na metodologia e os resultados são ilustrados pelas Figuras 16 e 17. Vale ressaltar que não houve leitura para nenhuma das dispersões coloidais para a rotação de 200 rpm provavelmente pois esta velocidade não foi suficiente para promover uma boa mistura ao meio.

Além disso, é importante ressaltar que foi realizado uma adaptação à metodologia proposta por Zhang *et al.* (2014) pois em testes realizados previamente percebeu-se que era necessário adicionar uma quantidade de ácido três vezes superior à de base para que houvesse uma alteração no valor de pH. Por isso utilizou-se soluções de 30 Molar para o ácido clorídrico (HCl) e de 10 Molar para o hidróxido de sódio (NaOH).

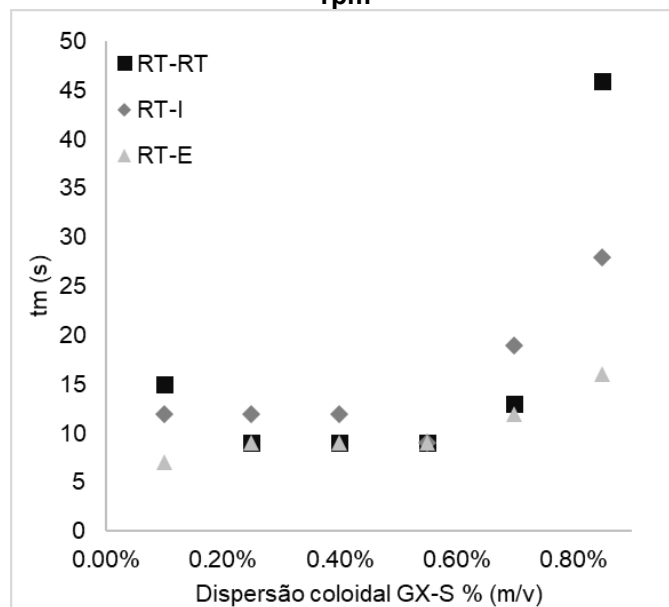
Esses resultados sugerem que a goma xantana possui ação tamponante em pH ácido e ainda não haviam sido reportados resultados similares na literatura e vai em desacordo com o que é reportado por muitos autores como: Gowthaman, Prasad e Karanth, (1999); Lo, Argin-Soysal e Hsu (2007); Sharma, Gautam e Wadhawan (2014); Freitas, Alves e Reis (2015) e Petri (2015), que salientam que a goma xantana é estável em uma ampla gama de pH, inclusive em pH ácido. Sugere-se que experimentos futuros sejam realizados para validar essa hipótese.

Não obstante, essa característica pode estar relacionada a estrutura química da goma xantana que possui grupos de ácidos glucurônicos ligados a manose que podem promover o caráter ácido observado (PETRI, 2015). A goma xantana ter ação tamponante em pH ácido pode ser interessante para área de cosméticos especialmente para o espessamento de cosméticos faciais com características ácidas, sendo um potencial substituto a compostos derivados de acrilato devido à grande procura do público feminino por produtos naturais. Sugere-se que em trabalhos futuros seja estudado esse perfil da goma xantana para propostas de substituição.

Analisando as Figuras 16 e 17, correspondentes a velocidade de rotação de 600 rpm e com adição de ácido 30 Mol e base 10 Mol, respectivamente, percebe-se um perfil similar para o tempo de mistura em função do tipo de impelidor, com resultados promissores para impelidores do tipo Rushton-Elefante; possuindo resposta três vezes mais rápida que para o conjunto Rushton-Rushton e duas vezes em relação a Rushton-Inclinada. Embora os impelidores Rushton-Inclinada e Rushton-Elefante tenham

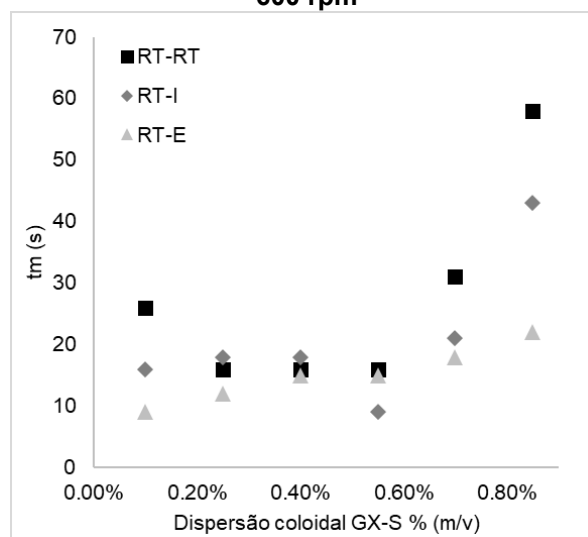
Esses resultados sugerem que este conjunto pode favorecer a mistura, possivelmente por favorecer movimentos radiais (pás do tipo Rushton) e axiais (pás do tipo Elefante) dentro do biorreator, que de acordo com Najafpour (2015) é essencial para uma boa transferência de massa e mistura. Embora esse seja um resultado promissor, ainda não foram reportados na literatura resultados que explorem o uso deste modelo de impelidor para auxiliar no tempo de mistura, assim sugere-se que mais estudos sejam desenvolvidos para favorecer essa hipótese.

Figura 16 - Resposta do tempo de mistura(s) após adição de HCl 30 Molar para rotação de 600 rpm



Fonte: Autoria própria (2023)

Figura 17 - Resposta do tempo de mistura(s) após adição de NaOH 10 Molar para rotação de 600 rpm

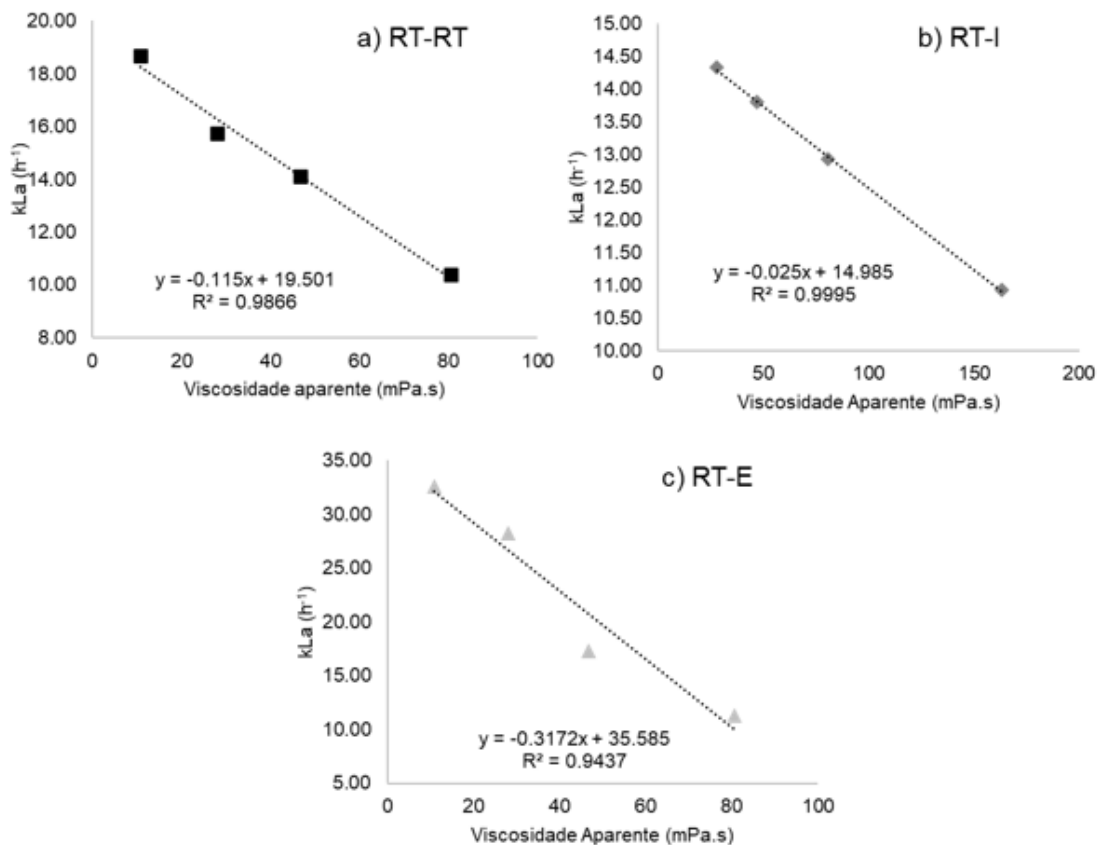


Fonte: Autoria própria (2023)

5.1.3 Correlação entre parâmetros em biorreator aerado

A correlação entre parâmetros é de suma importância para avaliar o impacto de uma variável sobre a outra. Neste sentido, correlacionando a viscosidade aparente, com tensão de cisalhamento de 168 1.s^{-1} e o k_{La} , para rotação de 600 rpm (Figura 18,), percebe-se que independentemente do tipo de impelidor usado, quanto maior a viscosidade aparente, menor é o k_{La} , o que já era esperado pois quanto maior a viscosidade do meio, maior será a dificuldade em transferir oxigênio, que corrobora com Doran (2012) e Najafpour (2015).

Figura 18 - Correlação entre a viscosidade aparente e o k_{La} para os conjuntos a) Rushton-Rushton (RT-RT), b) Rushton-Inclinada (RT-I) e c) Rushton-Elefante (RT-E)



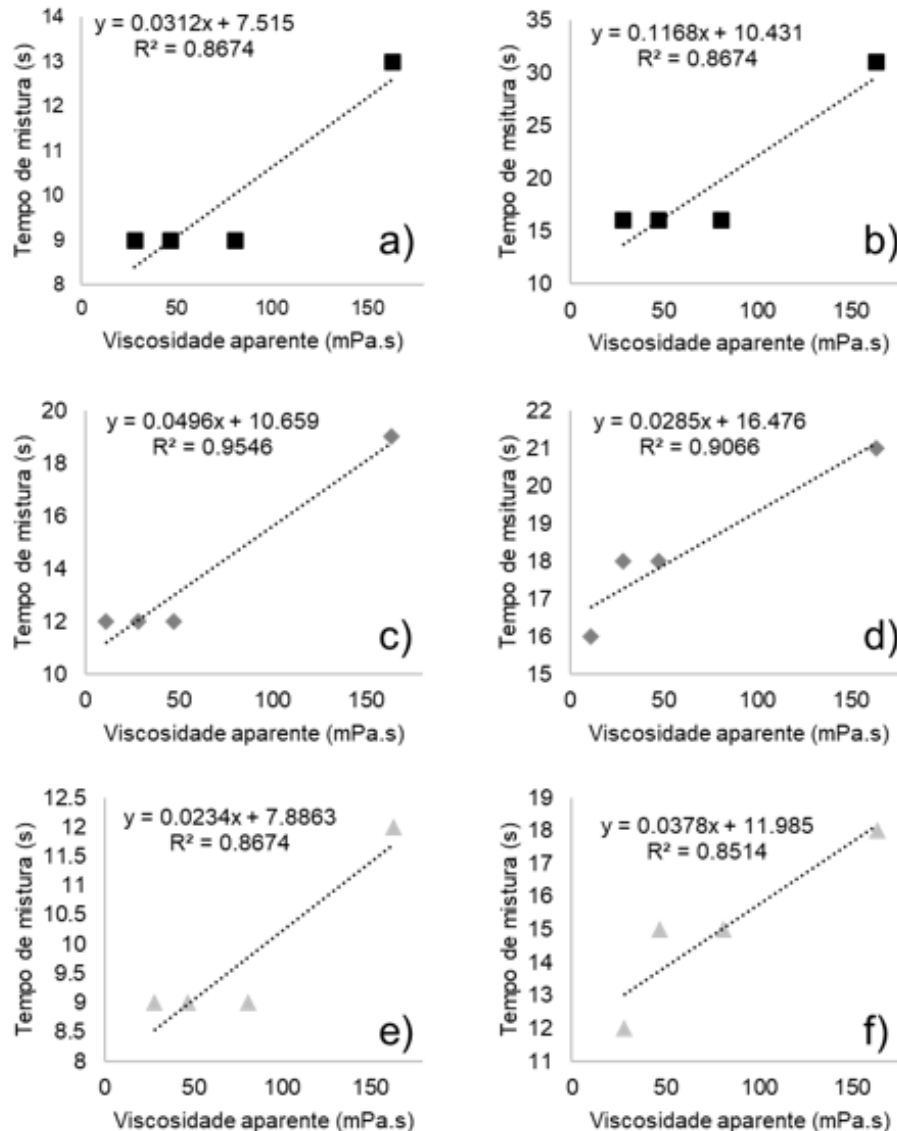
Legenda: Para viscosidade aparente foi utilizado com tensão de cisalhamento 168 s^{-1} e para o k_{La} 600 rpm.

Fonte: Autoria própria (2023)

Além disso, a correlação entre a viscosidade e o tempo de mistura também foi determinada e é ilustrada pela Figura 19. Assim como para o k_{La} , a viscosidade aparente também tem uma forte correlação com o tempo de mistura, de modo que quanto maior a viscosidade aparente, maior será o tempo para a completa homogeneização do sistema (DORAN, 2012; ZHANG *et al.*, 2014; NAJAFPOUR, 2015). Wang *et al.* (2022) realizaram a simulação do tempo de mistura utilizando um

fluido não newtoniano em diferentes proporções com um agitador do tipo hélice, como resultado eles perceberam que altas concentrações o fluido gerava viscosidades elevadas e a rotação utilizada não era suficiente para garantir a homogeneização do sistema.

Figura 19 - Correlação entre a viscosidade aparente e o tempo de mistura para os conjuntos a) e b) Rushton-Rushton (RT-RT), c) e d) Rushton-Inclinada (RT-I) e) e f) Rushton-Elefante (RT-E)



Legenda: Para viscosidade aparente foi utilizado com tensão de cisalhamento $168.s^{-1}$ e para o $k_L a$ 600 rpm. a), c) e e) correspondem aos perfis nos quais foi utilizado ácido para alterar o pH enquanto em b), d) e f) fora utilizado base para a modificação do pH e assim resposta no tempo de mistura.

Fonte: Autoria própria (2023)

De forma análoga a Wang *et al.* (2022) que concluíram que a rotação utilizada não era suficiente para elevadas viscosidades, neste trabalho percebeu-se que a rotação de 600 rpm adotada durante a simulação do processo fermentativo não foi suficiente para garantir durante todo o processo uma boa transferência de massa e

homogeneização ao sistema, tendo em vista que para produtividades superiores a $8,5 \text{ g.L}^{-1}$ faltaria oxigênio dissolvido e não haveria uma boa homogeneização. Neste sentido, para a fermentação adotou-se durante as primeiras 24 horas velocidade de agitação de 300 rpm e aeração de 1 volume de ar por volume de meio (vvm), pois de acordo com García-Ochoa *et al.* (2000) esse é o período de adaptação da bactéria para entrar na fase log; enquanto nas próximas 48 horas utilizou-se 750 rpm e 1,2 vvm a fim de favorecer a transferência de massa, calor e homogeneidade ao sistema.

Além disso, com base nos resultados obtidos em relação ao k_{La} e tempo de mistura, o conjunto de impelidores com melhor desenvoltura foi o Rushton-Elefante e por isso ele foi adotado para fermentação.

5.2 Fermentação de *Xanthomonas campestris* em biorreator SRT e purificação

Após as conclusões obtidas pelos testes prévios, conduziu-se a fermentação da bactéria *Xanthomonas campestris* para obtenção de goma xantana utilizando como conjunto as impelidores Rushton-Elefante com aeração nas primeiras 24 horas em 1 volume de ar por volume de meio (vvm) e velocidade de 300 rpm; posteriormente (após as 24 horas e pelas próximas 48 horas) aumentou-se para 1,2 vvm e 750 rpm. Obteve-se após a extração, purificação e secagem com produtividade de $0,26 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de goma xantana e número de células igual a $7,03 \text{ g.L}^{-1}$.

Assis *et al.* (2014) realizou planejamento experimental a fim de definir quais seriam as melhores condições de aeração e velocidade de agitação, variando essas características entre 0,5 a 1,5 vvm e 300 a 700 rpm respectivamente, obtendo como melhor resposta o cultivo a 28°C , pH 7, velocidade de agitação igual a 497,96 rpm e 0,97 vvm, com produtividade de $0,047 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de goma xantana (Tabela 1). Os autores relataram que quanto maior era a agitação, menor foi a produção de goma xantana, provavelmente devido ao estresse hidrodinâmico às células e em consequência, morte celular (ASSIS *et al.*, 2014).

Wang *et al.* (2017) realizou cultivo utilizando 0,5 vvm e 200 rpm nas primeiras 40 horas e posteriormente aumentou aeração e velocidade para 1,0 vvm e 400 rpm respectivamente, mantendo-se constante a temperatura a 30°C e pH a 7. Os autores obtiveram melhor resultado após 60 horas de cultivo com $0,57 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de goma xantana (Tabela 1). Vale ressaltar que a bactéria utilizada para o pelo artigo reportado era mutante, logo possuía capacidade superior às bactérias convencionais em relação a produção de goma xantana.

Outrossim, Borges e Vendruscolo (2008) relatam desenvolver experimento testando duas combinações de aeração e velocidade, sendo a primeira 3 vvm e 300 rpm; e a segunda 2 vvm e 200 rpm, sob temperatura de 28°C e pH 7, obtendo como melhor resultado sob condições de 3 vvm e 300 rpm, com produtividade de 0,12 g.L⁻¹.h⁻¹ (Tabela 1). Já Gumus *et al.* (2010) testou para cinco diferentes espécies de *Xanthomonas sp.* condições de aeração igual a 1,00 vvm e agitação de 200 rpm, utilizando temperatura de 30°C e pH igual a 7, obtendo como melhor produtividade 0,11 g.L⁻¹.h⁻¹ de goma xantana (Tabela 1).

Psomas, Liakopoulou-Kyriakides e Kyriakidis (2007) realizaram planejamento experimental variando a temperatura, agitação e tempo entre 25 à 35°C, 100 à 600 rpm e 24-72 horas, respectivamente, com aeração igual a 1 vvm e pH controlado a 7, obtendo como melhor resultado sob condições de 30°C, 600 rpm produtividade igual 0,097 g.L⁻¹.h⁻¹ (Tabela 1).

Neste sentido, percebe-se que o resultado obtido durante a fermentação conduzida em biorreator padrão do tipo STR teve produtividade de 0,26 g.L⁻¹.h⁻¹ valor duas vezes superior à literatura em condições de suplementação e pH similares a obtida no presente trabalho, o que indica que os parâmetros para as condições de cultivo e combinação de impelidores pode favorecer esse tipo de fermentação. Sugere-se que sejam realizadas mais fermentações com o mesmo conjunto a fim de validar essa hipótese.

Além disso, obteve-se durante o processo fermentativo a taxa de consumo de oxigênio por volume de meio (Q_o) que corresponde ao coeficiente angular do gráfico plotado durante o momento de interrupção do oxigênio em um cultivo, conforme descrito anteriormente no referencial teórico (item 3.2.1), bem como a taxa de consumo específico de oxigênio microbiano para a *Xanthomonas campestris*, de forma que esses valores corresponderam à 60 mmol.L⁻¹.h⁻¹ e 8,65 mmol.g⁻¹.h⁻¹ respectivamente. Esses valores estão próximos ao relatado por (PINCHES; PALLENT, 1986; DORAN, 2012) utilizando glicose como fonte de carbono para o cultivo de *Xanthomonas campestris*, onde os autores relatam ter obtido Q_o de 11 mmol.L⁻¹.h⁻¹ e q_o de 4,5 mmol.g⁻¹.h⁻¹. Embora os valores do presente trabalho estejam superiores aos relatos pelos autores, são necessários mais estudos para afirmar as razões, uma vez que a fonte de carbono utilizada foi diferente daquela usada no presente estudo e isso pode impactar também nesses valores.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os modelos de impelidores possuem um impacto expressivo na fermentação de *Xanthomonas campestris* para a obtenção de goma xantana, tendo em vista suas características de transferência de oxigênio e mistura. Estas características podem afetar diretamente a concentração do biopolímero almejado. Neste trabalho percebeu-se que para a produção de goma xantana se faz necessário usar impelidores que favoreçam a transferência massa, mas que também favoreçam a mistura para o meio e provavelmente por essa razão o conjunto que teve melhor eficiência foi o conjunto Rushton-Elefante.

Durante a fermentação, utilizando o conjunto mencionado, obteve-se produtividade de $0,26 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, valor duas vezes superior aos rendimentos reportados na literatura com condições de suplementação e parâmetros fermentativos similares aos usados neste trabalho, o que sugere que o modelo de impelidores escolhido possa ter afetado esses resultados positivamente. O mais indicado para esse tipo de fluido. Sugere-se que estudos futuros sejam conduzidos para validar a hipótese de que este conjunto de impelidores é o mais adequado para produção de goma xantana.

Além disso, durante o desenvolvimento deste trabalho obteve-se informações cruciais para o escalonamento de um biorreator para produção de goma xantana em escala piloto a industrial. Neste sentido, sugere-se que em trabalhos futuros os dados obtidos, como perfil de impelidores, parâmetros fermentativos otimizados, k_{LA} e Q_{O_2} , sejam utilizados para auxiliar a ampliação de escala.

Sugere-se ainda que em trabalhos futuros seja avaliado a atividade da goma xantana em pH ácido e validar a hipótese de que esta possui ação tampão em ácido. Se esta hipótese for validada, sugere-se estudos sequentes em sua atividade para o espessar sérums e peelings ácidos.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, N. H.; MUSTAFA, S.; MAN, Y. B. C. Microbial polysaccharides and their modification approaches: A review. **International Journal of Food Properties**, v. 18, n. 2, p. 332-347, 2015.
- AHMED, M. I.; LIANFU, Z.; MAHDI, A. Preparation and Applications of A Dextrans : **Dextrans Review**, v. 3, n. 5, p. 259-265, 2016.
- AMANULLAH, A.; *et al.* The influence of impeller type in pilot scale xanthan fermentations. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 57, n. 1, p. 95-108, 1998.
- AMEUR, H.; SAHEL, D.; KAMLA, Y. Energy efficiency of a deep hollow bladed impeller for mixing viscoplastic fluids in a cylindrical vessel. **Advances in Mechanical Engineering**, v. 9, n. 5, p. 1-7, 2017.
- ASSIS, D. D. J.; *et al.* A study of the effects of aeration and agitation on the properties and production of xanthan gum from crude glycerin derived from biodiesel using the response surface methodology. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, n. 5, p. 2769-2785, 2014.
- 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, 2008.
- BUSTAMANTE, M. C. C. **Transferência de oxigênio e condições de cisalhamento em biorreator convencional com impelidores orelha de elefante**. 2013. 228 f. Tese (Doutorado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2013.
- CADMUS, M. C.; *et al.* Synthetic media for production of quality xanthan gum in 20 liter fermentors. **Biotechnology & Bioengineering**, v. 20, n. 7, p. 1003-1014, 1978.
- CLEMENTI, F.; *et al.* Optimal conditions for alginate production by *Azotobacter vinelandii*. **Enzyme And Microbial Technology**, v. 17, n. 95, p. 983-988, 1995.
- COIMBRA, C. G. O. **Produção de celulose bacteriana por *Gluconacetobacter xylinus* e elaboração de filmes comestíveis**. 2016. Tese (Doutorado em Biotecnologia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.
- COSTA, A. F. S.; *et al.* Production of bacterial cellulose by gluconacetobacter Hansen II using corn steep liquor as nutrient sources. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. October, p. 1-12, 2017.
- CUNHA, F. M.; *et al.* Efeito do tipo de impelidor na produção de (hemi)celulases em biorreator convencional utilizando bagaço de cana-de-açúcar. *In*: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 20., 2015, Salvador. **Anais [...]**, set. 2015.

DEMIRCI, A. S.; *et al.* Yield and rheological properties of exopolysaccharide from a local isolate : *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 30, p. 18-23, nov. 2017.

DORAN, P. M. **Engineering principles**. 2. ed. Waltham: Academic Press, 2012.

DREW, M. C. F. S. W. **Encyclopedia of bioprocess technology**: fermentation, biocatalysis and bioseparation. Canada: John Wiley & Sons, 1999.

ENSHASY, E.; HOMOSANY, A. Enhanced xanthan production process in shake flasks and pilot scale bioreactors using industrial semi- defined medium. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 6, p. 1029-1038, 2011.

FIUME, M. M.; *et al.* Safety assessment of microbial polysaccharide gums as used in cosmetics. **International Journal of Toxicology**, v. 35, n. suppl. 1, p. 5S-49S, 2016.

FREITAS, F.; ALVES, V. D.; REIS, M. A. M. Bacterial polysaccharides: production and applications in cosmetic industry. **Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology**, p. 2018-2039, 2015.

GARCÍA-OCHOA, F.; *et al.* Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 7, p. 549-579, 2000.

GOWTHAMAN, M. K.; PRASAD, M. S.; KARANTH, N. G. Fermentation (industrial): production of xanthan gum. **Encyclopedia of Food Microbiology**. India: [s.n.]. p. 699-705, 1999.

GUMUS, T.; *et al.* Xanthan gum production of *xanthomonas* spp . isolated from different plants. **Food Science and Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 201-206, 2010.

HUSSAIN, F.; *et al.* Microalgae an ecofriendly and sustainable wastewater treatment option: Biomass application in biofuel and bio-fertilizer production. a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 137, n. August 2019, p. 110603, 2021.

HUSSIAN, A. E. M. The role of microalgae in renewable energy production: challenges and opportunities. **Marine ecology**: biotic and abiotic interactions, ago. 2018.

IRGENS, F. **Rheology and non-newtonian fluids**. 1. ed. New York: Springer International Publishing, 2014.

JAGANI, H.; *et al.* An overview of fermenter and the design considerations to enhance its productivity. **Pharmacologyonline**, v. 301, p. 261-301, 2010.

JINDAL, N.; SINGH, M.; KHATTAR, J. Microbial polysaccharides in food industry. **Biopolymers for Food Design**. India: Elsevier, 2018. p. 95-123.

JORGE, Y.; *et al.* Factorial Design to Optimize Dextran Production by the Native Strain *Leuconostoc mesenteroides* SF3. **ACS Omega**, v. 6, n. 1, p. 31203-31210, 2021.

JUNGBUNZLAUER. **Xanthan Gum**. Switzerland: [s.n.], 2017.

KOSHKIN, V. M.; EVTUSHENKO, V. D.; MURAEVA, O. A. Relative viscosity and the solvation number in solutions. **Theoretical and Experimental Chemistry volume**, p. 600-603, 1985.

KUMAR, A.; RAO, K. M.; HAN, S. S. Application of xanthan gum as polysaccharide in tissue engineering : A review. **Carbohydrate Polymers**, 2017.

LEI, S.; EDMUND, T. F. Polysaccharides, Microbial. **Reference Module in Life Sciences**, p. 1-19, 2017.

LIANG, Y.; *et al.* Influence of Tween-80 on the production and structure of water-insoluble curdlan from *Agrobacterium* sp. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 80, p. 1-9, 2017.

LO, M. Y.; ARGIN-SOYSAL, S.; HSU, C.-H. Bioconversion of Whey Lactose into Microbial Exopolysaccharides. *In*: **Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources**, 2007. p. 559-583, chapter 22.

LOPES, B. M.; *et al.* Xanthan gum: properties, production conditions, quality and economic perspective. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 54, n. 3, p. 185-194, 2015.

MADIGAN, M.; MARTINKO, B.; BENDER, B. S. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Bookman, 201.

MARKET Research Future. **Xanthan Gum Market Size Worth USD 1.2 Billion by 2030 at 5.6% CAGR**. Report by Market Research Future (MRFR). Disponível em: <https://www.globenewswire.com/en/news-release/2022/09/23/2521841/0/en/Xanthan-Gum-Market-Size-Worth-USD-1-2-Billion-by-2030-at-5-6-CAGR-Report-by-Market-Research-Future-MRFR.html>.

MARTINEZ, C. O.; *et al.* Uso de ftir-atr na caracterização da curdulana e na avaliação da interação entre células de *agrobacterium* sp. ifo 13140 e a matriz de imobilização esponja vegetal. *In*: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 21., 2014, **Anais [...]**. v. 1, p. 629-630, 2014.

MAXWEL, A. C. **Brookfield Digital Rheometer Model DV-III**, 2016. Disponível em: <https://silo.tips/download/brookfield-digital-rheometer-manual-no-m-i297#>.

MAZEN, F.; MILAS, M.; RINAUDO, M. Conformational transition of native and modified gellan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 26, n. 2-3, p. 109-118, 1999.

MECCA, J. S. Obtenção de goma xantana em biorreator utilizando meio à base de soro de queijo: estudo da produção e modelagem matemática. **URI-Campus de Erechim**, p. 1-70, 2010.

MENDONÇA, A.; *et al.* A review on the importance of microbial biopolymers such as xanthan gum to improve soil properties. **Applied Sciences (Switzerland)**, 2021.

MIRANDA, A. L.; *et al.* 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. 1-11, 2020.

MORRIS, G.; HARDING, S. Polysaccharides, Microbial. **Encyclopedia of Microbiology**, p. 482-494, 2009.

MUDOI, P.; BHARALI, P.; KONWAR, B. K. Study on the Effect of pH, Temperature and Aeration on the Cellular Growth and Xanthan Production by *Xanthomonas campestris* Using Waste Residual Molasses. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, v. 3, n. 2, p. 1-6, 2013.

MUHAMAD, I. I.; *et al.* Extraction technologies and solvents of phytochemicals from plant materials : physicochemical characterization and identification of ingredients and bioactive compounds from plant extract using various instrumentations. In: Elsevier, 2017 (Ed.). **Ingredients Extraction by Physicochemical Methods in Food**. Malaysia: Elsevier Inc., 2017. p. 523-560.

MÜLLER, J. M.; SANTOS, R. L.; BRIGIDO, R. V. Produção de alginato por microrganismos. **Polimeros**, v. 21, n. 4, p. 305-310, 2011.

NAJAFPOUR, G. D. **Biochemical Engineering And Biotechnology**. 2nd. ed. Amsterdam: Elsevier B.V, 2015.

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

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 8th. ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2021.

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

PINCHES, A.; PALLENT, L. J. Rate and yield relationships in the production of xanthan gum by batch fermentations using complex and chemically defined growth media. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 10, p. 1484-96, 1986.

PRECEDENCE Research. **Single-use Bioreactors Market (By Product: Single-use Bioreactor Systems, Single-use Media Bags, Single-use Filtration Assemblies, Other Products; By Type: Stirred-tank SUBs, Bubble-column SUBs, Wave-induced SUBs, Other SUBs; By Type of Cell: Mammalian Ce.**

Disponível em: <https://www.precedenceresearch.com/single-use-bioreactors-market#:~:text=By type%2C stirred tank bioreactors,total revenue share in 2021.>

PSOMAS, S. K.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M.; KYRIAKIDIS, D. A. Optimization study of xanthan gum production using response surface methodology. **Biochemical Engineering Journal**, v. 35, n. 3, p. 273-280, aug. 2007.

RAVELLA, S. R.; *et al.* Extracellular polysaccharide (EPS) production by a novel strain of yeast-like fungus *Aureobasidium pullulans*. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 3, p. 728-732, 2010.

RAVINDRA, P. **Advances in Bioprocess Technology**. 1st. ed. Switzerland: Springer International Publishing, 2015.

SAHA, D.; BHATTACHARYA, S. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. **Journal of Food Science and Technology**, 2010.

SAHA, G. A. B. S. S. **Bioreactors: animal cell culture control for bioprocess engineering**. 1 ed ed. New York: Taylor & Francis Group, 2016.

SALAH, R. B.; *et al.* Production of xanthan gum from *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 by fermentation of date juice. **Journal of Food Process Engineering**, v. 34, n. 1, p. 457-474, 2011.

SAUID, S. M.; *et al.* Enhancement of oxygen mass transfer and gas holdup using palm oil in stirred tank bioreactors with xanthan solutions as simulated viscous fermentation broths. **BioMed Research International**, v. 2013, n. 1, p. 1-9, 2013.

SCHMIDELL NETTO, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E. **Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.

SHARMA, A.; GAUTAM, S.; WADHAWAN, S. *Xanthomonas*. In: **Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)**. [s.l: s.n.], 2017. p. 811-817.

SÁNCHEZ, A.; *et al.* Power Consumption of three impeller combinations in mixing xanthan fermentation broths. **Materials Science**, v. 27, p. 351-365, 1992.

SPIER, M. R.; *et al.* Application of different types of bioreactors in bioprocesses. In: LIU, P. G. A. AND Z. (Ed.). **Bioreactors: design, properties and applications**. 1 ed ed. Curitiba: Nova Science Publishers, 2011. p. 53-87.

STANBURY, P. F.; WHITAKER, A.; HALL, S. J. **Principles of fermentation technology**. 3rd. ed. [s.l.] Elsevier, 2017.

SUTHERLAND, I. W. Biosynthesis of microbial exopolysaccharides. **Advances in Microbial Physiology**, v. 23, n. C, p. 79-150, 1982.

TABUCHI, S. C. T. **Estudo cinético da produção de exopolissacarídeo por Lasiodiplodia theobromae em biorreator agitado e aerado de baixo cisalhamento**. Lorena: Universidade de São Paulo, 2018.

VALDOVINOS-GARCÍA, E. M.; *et al.* Production of Microalgal Biomass in Photobioreactors as Feedstock for Bioenergy and Other Uses: A Techno-Economic Study of Harvesting Stage. **Applied Sciences**, v. 11, n. 4386, p. 1-24, 2021.

VERMA, M. L.; *et al.* **Microbial production of biopolymers with potential biotechnological applications**. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. v. 1.

WANG, S.; *et al.* Simulation analysis of power consumption and mixing time of pseudoplastic non-newtonian fluids with a propeller agitator. **Energies**, v. 15, n. 13, p. 4561, 2022.

WANG, X.; *et al.* Modeling for Gellan Gum Production by *Sphingomonas paucimobilis* ATCC 31461 in a Simplified Medium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 5, p. 3367-3374, 2006.

WANG, Z.; *et al.* 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.

XIE, M.; *et al.* Power consumption , local and average volumetric mass transfer coefficient in multiple-impeller stirred bioreactors for xanthan gum solutions. **Chemical Engineering Science**, v. 106, p. 144-156, 2014.

YOSHIDA, S. K. J. H. F. **Biochemical engineering**. 1. ed. Berlin (GER): Wiley-VCH, 2015.

ZHANG, A.; *et al.* Effects of pH probe lag on bioreactor mixing time estimation. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 6, p. 913-916, 2014.

ZHONG, L.; *et al.* Rheological behavior of xanthan gum solution related to shear thinning fluid delivery for subsurface remediation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 244-245, n. November 2017, p. 160-170, 2012.

ZHU, W.; ZHENG, X. Effective modified xanthan gum fluid loss agent for high-temperature water-based drilling fluid and the filtration control mechanism. **ACS Omega**, v. 6, p. 23788-23801, 2021.