

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE E
DERIVADOS

Marissa Justi Cancelli

Caracterização de goma xantana obtida
a partir de coprodutos lácteos

Juiz de Fora
2019

Marissa Justi Cancell

**Caracterização de goma xantana obtida
a partir de coprodutos lácteos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

Orientadora: Profa. Dra. Mirian Pereira Rodarte

Coorientador: Prof. Dr. Humberto Moreira Húngaro

Juiz de Fora

2019

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Cancelli, Marissa Justi.

Caracterização de goma xantana obtida a partir de coprodutos lácteos / Marissa Justi Cancelli. -- 2019.
57 f.

Orientadora: Mirian Pereira Rodarte

Coorientador: Humberto Moreira Húngaro

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, 2019.

1. Xanthomonas campestris. 2. Permeado do leite. 3. Soro de leite desproteínizado. 4. Goma xantana. I. Rodarte, Mirian Pereira, orient. II. Húngaro, Humberto Moreira, coorient. III. Título.

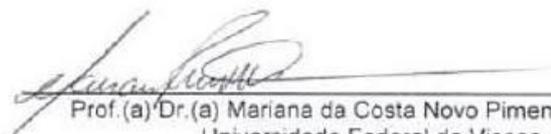
**Caracterização de goma xantana obtida a partir de coprodutos
lácteos**

Marissa Justi Cancelli

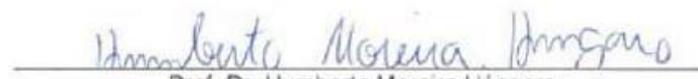
ORIENTADOR (A): Mirian Pereira Rodarte

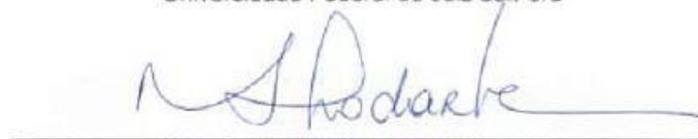
Dissertação de Mestrado submetida ao Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

Aprovada em 03 de maio de 2019.


Prof.(a) Dr.(a) Mariana da Costa Novo Pimenta Brandão
Universidade Federal de Viçosa


Prof.(a) Dr.(a) Maria Silvana Alves
Universidade Federal de Juiz de Fora


Prof. Dr. Humberto Moreira Húngaro
Universidade Federal de Juiz de Fora


Prof.(a) Dr.(a) Mirian Pereira Rodarte
Universidade Federal de Juiz de Fora

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À minha família, pelo apoio e compreensão, meu marido Eduardo e minha filha Lia por me acompanharem neste desafio, aos meus pais Marisa e Fausto e meu irmão Michel que sempre me auxiliaram em todos os momentos.

À Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, pela oportunidade de realização do curso.

À minha orientadora prof.^a Dra. Mirian Pereira Rodarte e ao meu coorientador prof. Dr. Humberto Moreira Húngaro, pela amizade e incentivo desde os tempos de graduação.

À equipe do Laboratório de Análise de Alimentos e Águas da Faculdade de Farmácia da UFJF, pela disponibilidade e auxílio no decorrer dos ensaios microbiológicos.

Ao Laboratório de Espectroscopia de Materiais do Departamento de Física da UFJF, pela orientação e auxílio na realização das análises físicas, em especial ao prof. Dr. Virgílio Carvalho dos Anjos, Dr. Jonathan de Magalhães Andrade e Dra. Cristina Guimarães Pereira.

Ao Centro de Pesquisa, Ensino e Inovação em Materiais do Departamento de Física da UFJF, especialmente prof.^a Dra. Zélia Maria Da Costa Ludwig e ao aluno Victor Hugo de Oliveira no auxílio e realização das análises térmicas.

À equipe do Laboratório Multiusuário do Departamento de Farmácia UFJF Campus Governador Valadares, ao professor Dr. Ângelo Márcio Leite Denadai e ao técnico Juliano Rocha Pereira.

Ao prof. Júnio César Jacinto de Paula (EPAMIG-ILCT) e ao Laticínios Coalhada's.

Aos meus colegas do mestrado pela amizade pela troca de conhecimento e momentos compartilhados.

Às minhas amigas Martha Eunice de Bessa, Louise Cristine Cândido da Silva e Ana Flávia Werneck que me incentivaram neste processo.

A todos os colegas que contribuíram para o sucesso dessa jornada, meu muito obrigada!

RESUMO

O processamento de leite gera grandes volumes de coprodutos, dentre esses destacam-se o soro de leite e os permeados lácteos. Esses coprodutos, devido aos seus constituintes químicos, apresentam potencial para a utilização como substratos em processos fermentativos para a produção de biopolímeros. A goma xantana é um biopolímero de origem microbiana produzida pela *Xanthomonas campestris*, amplamente empregada nas indústrias de alimentos e farmacêutica. O objetivo deste trabalho foi produzir e caracterizar gomas xantanas a partir de permeado de leite (PL) e soro de leite desproteínizado (SD), comparando-as às gomas xantanas comerciais. As gomas xantanas produzidas foram caracterizadas e comparadas às comerciais quanto à reologia, espectroscopia no infravermelho por transformada de *Fourier* com módulo reflectância total atenuada (FTIR-ATR), termogravimetria e colorimetria. A goma xantana produzida com o PL obteve melhor resultado na análise de viscosidade, em relação à goma produzida com o SD. No espectro FTIR-ATR todas as gomas xantanas apresentaram diferenças na região de 800 a 500 cm^{-1} . Na análise de componentes principais observou-se semelhanças entre as gomas comerciais GXC1 e GXC2, entre as gomas produzidas GXPL e GXSD, e a goma comercial GXC3 foi diferente das demais. As gomas xantanas produzidas apresentaram, na análise termogravimétrica, três estágios de decomposição térmica e as comerciais dois estágios. A goma xantana produzida empregando PL apresentou parâmetros semelhantes às gomas xantanas comerciais para a luminosidade e o índice de brancura. Este estudo demonstrou o potencial do PL como substrato para a produção de goma xantana, comparado ao SD. A goma xantana obtida a partir do PL apresentou melhores características tecnológicas e o baixo teor de proteínas presente neste substrato foi promissor para o processo fermentativo, permitindo que as proteínas lácteas possam ser destinadas a outras aplicações tecnológicas.

Palavras-chave: *Xanthomonas campestris*. Permeado do leite. Soro de leite desproteínizado. Goma xantana.

ABSTRACT

Milk processing generates large volumes of co-products among them are whey and dairy permeates. These co-products possess chemical constituents with potential to be used as substrates in fermentation processes for the production of biopolymers. Xanthan gum is a biopolymer of microbial origin produced by *Xanthomonas campestris* widely used in food and pharmaceutical industries. The objective of this work was to produce and characterize xanthan gums from milk permeate (MP) and deproteinized whey (DW) and to compare them with commercial xanthan gums. The xanthan gums produced were characterized and compared to the commercial by rheology, Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Attenuated Total Reflectance (FTIR-ATR), thermogravimetry and colorimetry. The xanthan gum produced with the MP obtained a better result in the viscosity analysis than the gum produced with the DW. All xanthan gums presented differences in the region of 800 to 500 cm^{-1} in the FTIR-ATR spectroscopy. The principal component analysis showed similarity between GXC1 and GXC2 commercial gums, between GXPL and GXSD produced gums, and GXC3 commercial gum was different from the others. The xanthan gums produced showed three stages of thermal decomposition analysis and the commercial two stages in the thermogravimetric analysis. The xanthan gum produced using MP showed parameters similar to commercial xanthan gums for luminosity and whiteness index. This study demonstrated the potential of MP as a substrate for the production of xanthan gum, compared to DW. The xanthan gum obtained from MP showed better technological characteristics and the low protein content present in the substrate was promising for the fermentation process, allowing milk proteins to be used for others technological applications.

Keywords: *Xanthomonas campestris*. Milk permeate. Deproteinized whey. Xanthan gum.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema ilustrativo da aplicabilidade industrial do soro de leite....	15
Figura 2 - Esquema ilustrativo do sistema de separação de componentes por membranas.....	17
Figura 3 - Etapas básicas da fabricação de queijos, produção de caseína, concentrado proteico de soro de leite e permeado de soro de leite.....	18
Figura 4 - Estrutura química da goma xantana	23
Figura 5 - Viscosidade aparente (η) em função da taxa de cisalhamento (ϕ) para gomas xantanas produzidas e comerciais	37
Figura 6 - Espectro das amostras de gomas xantanas no infravermelho (FTIR-ATR).....	39
Figura 7 - Análise de componentes principais PC1 e PC2 dos espectros das gomas xantanas no infravermelho.....	41
Figura 8 - Curvas termogravimétricas (a) e termogravimetria derivada (b) das gomas xantanas produzidas e comerciais.	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do soro de leite doce e soro de leite ácido.....	13
Tabela 2 - Composição do permeado de soro e permeado do leite	19
Tabela 3 - Caracterização do permeado do leite e soro desproteínizado.....	35
Tabela 4 - Valores dos parâmetros colorimétricos das amostras de goma xantana .	45

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1	COPRODUTOS DA INDÚSTRIA LÁCTEA	12
2.1.1	Soro de leite	13
2.1.2	Permeados de origem láctea	16
2.2	SUBSTRATOS ALTERNATIVOS EMPREGADOS EM BIOPROCESSOS ..	20
2.3	POLISSACARÍDEOS MICROBIANOS	21
2.3.1	Goma xantana	22
2.4	CARACTERIZAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS	24
2.4.1	Reologia	24
2.4.2	Espectroscopia no infravermelho por reflexão total atenuada	25
2.4.3	Termogravimetria	26
2.4.4	Colorimetria	27
3	OBJETIVOS	28
3.1	GERAL	28
3.2	ESPECÍFICOS	28
4	MATERIAL E METÓDOS	29
4.1	MICROORGANISMO	29
4.2	COPRODUTOS LÁCTEOS	29
4.2.1	Permeado do leite	29
4.2.2	Soro de leite desproteínizado	29
4.3	ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DOS COPRODUTOS LÁCTEOS	30
4.3.1	Lactose	30
4.3.2	Proteínas	30
4.3.3	Gordura	31
4.3.4	Cinzas	31
4.3.5	pH	31
4.4	MEIO DE CULTIVO PARA CRESCIMENTO DO INÓCULO	31
4.5	PREPARO DO INÓCULO	32
4.6	PROCESSO FERMENTATIVO	32
4.7	PRECIPITAÇÃO E RECUPERAÇÃO DA GOMA XANTANA	32
4.8	CARACTERIZAÇÃO DAS GOMAS XANTANAS	33

4.8.1	Reologia	33
4.8.2	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier	33
4.8.3	Análise termogravimétrica	33
4.8.4	Análise colorimétrica	34
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO PERMEADO DO LEITE E SORO DE LEITE DESPROTEINIZADO	35
5.2	PRODUÇÃO DA GOMA XANTANA	36
5.3	CARACTERIZAÇÃO DA GOMA XANTANA OBTIDA NO PROCESSO FERMENTATIVO	37
5.3.1	Análise reológica	37
5.3.2	Análise espectroscópica (FTIR-ATR)	38
5.3.3	Análise termogravimétrica (TG/dTG)	42
5.3.4	Análise de cor	45
6	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

O processamento do leite em indústrias e laticínios origina diversos coprodutos lácteos, que devido à importância de seus componentes têm se destacado no setor industrial, principalmente na área alimentícia (AUDIC; CHAUFER; DAUFIN, 2003). Dentre esses coprodutos, destacam-se o soro de leite, obtido por meio da coagulação do leite, oriundo da fabricação de queijos, e os permeados, obtidos por ultrafiltração do leite ou do soro de leite (FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2017).

A valorização do soro de leite está relacionada principalmente à concentração e recuperação das proteínas, devido ao seu valor nutricional e interesse comercial. As proteínas presentes no soro de leite podem ser destinadas a vários segmentos da indústria de alimentos, como por exemplo quando adicionadas em produtos aumentando o seu valor nutricional (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012; MOLLEA; MARMO; BOSCO, 2013). O soro de leite é constituído por componentes do leite incluindo lactose e proteínas, estima-se que apenas 50% da produção mundial de soro de leite seja processada e o restante tratado como efluentes (BALDASSO; BARROS; TESSARO, 2011; LIEVORE *et al.*, 2015).

O permeado do leite é um coproduto obtido da concentração do leite, processo que retém as proteínas pelo método de separação por membranas, e é constituído basicamente de lactose e sais (TALABARDON; SCHWITZGUÉBEL; PÉRINGER, 2000; ALVES *et al.*, 2014). O permeado do leite, assim como o soro de leite, também apresenta custo alto para tratamento como efluente devido ao teor de componentes orgânicos, contendo cerca de 78% a 88 % de lactose (BURRINGTON, 2015).

Esses coprodutos lácteos podem ser utilizados para o desenvolvimento de novos produtos e as frações sólidas podem ser destinadas para outros usos, como a recuperação e aproveitamento da proteína, lactose e dos sais para ingredientes de alimentos (STOLIAR, 2009). Além disso, há a possibilidade de uso dessas matrizes como substratos para processos fermentativos, uma vez que a lactose presente é um carboidrato natural e uma fonte alternativa de carbono, contribuindo assim para o aproveitamento desses coprodutos e a redução de efluentes industriais. O emprego de coprodutos lácteos em processos fermentativos também diminui impactos ambientais, que ocorrem devido ao descarte inadequado dos mesmos no meio ambiente (NERY *et al.*, 2008).

Dentre os bioprodutos obtidos por fermentação, os biopolímeros microbianos têm ampla aplicabilidade industrial, por possuírem aplicações como espessante, estabilizante de emulsões, agente suspensor, agente gelificante e a compatibilidade com ingredientes alimentares (DA SILVA *et al.*, 2017).

A goma xantana é um biopolímero de grande destaque, produzida por bactérias do gênero *Xanthomonas* spp., fabricada em escala industrial por meio de processo fermentativo. Possui propriedades físico-químicas que superam outros polissacarídeos, sendo utilizada em várias indústrias como química, farmacêutica, têxtil e principalmente como aditivo em uma grande variedade de alimentos (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000; NERY *et al.*, 2008; LUVIELMO; SCAMPARINI, 2009).

O processo e otimização das variáveis fermentativas na produção de goma xantana, utilizando substrato alternativo a partir do soro de leite já é descrito na literatura, porém os resultados para caracterização do biopolímero produzido com essa matriz ainda não são muito explorados (HABIBI; KHOSRAVI-DARANI, 2017). A crescente demanda da indústria do leite e a necessidade de destinar e reutilizar coprodutos não mais interessantes economicamente, como o permeado de leite, abre caminhos para novos ensaios e avaliação do potencial dessa matriz como substratos fermentativos.

Diante deste contexto, este trabalho foi realizado utilizando coprodutos lácteos, com etapas prévias de retirada de proteínas, como meios de cultivo alternativos no processo de fermentação para produzir goma xantana, além de caracterizar os polímeros obtidos e compará-los aos comerciais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta seção são abordadas a importância dos coprodutos lácteos na cadeia láctea e a produção de goma xantana com esses substratos.

2.1 COPRODUTOS DA INDÚSTRIA LÁCTEA

O Brasil produziu mais de 33 bilhões de litros de leite em 2017 e ocupa posição de destaque entre os maiores produtores de leite do mundo (EMBRAPA, 2019). O leite é definido como uma secreção das glândulas mamárias de animais mamíferos e tem como principais constituintes a água, gordura, proteínas, dentre elas caseínas e soroproteínas, lactose e minerais (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 2006). Após o processamento do leite na indústria são gerados coprodutos lácteos, esses podem ser direcionados para outras aplicações, como o aproveitamento em bioprocessos, sendo uma forma de agregar valor a essas matrizes (BARILE *et al.*, 2009; TEIXEIRA, 2013).

Dentre os coprodutos da indústria láctea, destacam-se o soro de leite (obtido na coagulação do leite para a fabricação de queijos e caseínas); o leitelho (obtido na produção de manteiga); o creme de soro (obtido do desnate do soro de leite doce); o leitelho de soro de leite (obtido do creme de soro); o permeado de leite (obtido da concentração do leite para fabricação de queijos); e o permeado de soro de leite (obtido da concentração de proteínas do soro) (COSTA, 2008; ZACARCHENCO *et al.* 2012; TEIXEIRA, 2013; VIEIRA, 2014; BRASIL, 2017).

Alguns tratamentos podem ser aplicados a esses coprodutos lácteos para seu aproveitamento ou descarte. Para o reaproveitamento temos o tratamento por meio da concentração/separação por membranas, que recupera as frações sólidas para outros usos; e também a destinação desses coprodutos para tratamentos biológicos ou bioprocessos a fim de convertê-los em outros produtos. Para o descarte podemos utilizar coagulação-floculação em estações de tratamento de efluentes, diminuindo a carga de sólidos (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012).

No entanto, existem alternativas que despertam maior interesse econômico, como os processos para recuperação de proteínas, o desenvolvimento de novos produtos e a utilização como meios de cultivo alternativos em processos fermentativos (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012).

2.1.1 Soro de leite

O soro de leite é um coproduto lácteo líquido proveniente da coagulação do leite, principalmente obtido por meio da fabricação de queijos, podendo ser definido como soro de leite doce, obtido por coagulação enzimática, ou soro de leite ácido, obtido por meio de coagulação por acidificação (BRASIL, 2013).

Na indústria de lácteos, o soro de leite apresenta-se como o coproduto mais importante devido ao grande volume produzido e por sua composição nutricional (BALDASSO; BARROS; TESSARO, 2011). De acordo com a projeção da *Organization for Economic Cooperation and Development e Food and Agriculture Organization (OECD/FAO)*, a produção de queijo no Brasil deve alcançar 946,96 mil toneladas entre o período de 2017 a 2025 (CONAB, 2017). Considerando que para a produção de um quilo de queijo são gerados em média nove litros de soro de leite (FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2017), pode-se estimar que nesse mesmo período serão produzidas mais de 8.500 mil toneladas de litros de soro de queijo.

A composição do soro de leite está diretamente relacionada ao tratamento térmico do leite, ao tipo de queijo fabricado, bem como aos métodos de precipitação da caseína (LIEVORE *et al.*, 2015). O soro de leite contém cerca de 85 a 95% do volume e 55% de nutrientes do leite, dentre os componentes estão água, lactose, proteínas e sais (Tabela 1) (LO; ARGIN-SOYSAL; HSU, 2007; OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012).

Tabela 1 - Composição do soro de leite doce e soro de leite ácido

Componente	Soro doce	Soro ácido
Água	93–94%	94–95%
Matéria seca	6–6,5%	5–6%
Lactose	4,5–5%	3,8–4,3%
Ácido láctico	Traços	>0,8%
Proteínas totais	0,8–1,0%	0,8–1,0%
Proteínas do soro	0,6–0,65%	0,6–0,65%
Ácido cítrico	0,1%	0,1%
Minerais	0,5–0,7%	0,5–0,7%
pH	6,4–6,2	5,0–4,6
Acidez titulável (°SH*)	aprox. 4	20–25

Fonte: Adaptado de LO; ARGIN-SOYSAL; HSU, 2007.

* graus Soxhlet-Henkel

As proteínas presentes no soro de leite correspondem a 20% do total de proteínas presentes no leite e possuem um elevado valor nutricional, devido ao conteúdo de aminoácidos essenciais. Correspondem às soroproteínas: beta-lactoglobulina, alfa-lactoalbumina, albumina do sorobovino (BSA), imunoglobulinas, lactoferrina, lactoperoxidase e glicomacropéptido (HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006; ZYDNEY, 1998).

O soro de leite foi inicialmente considerado como resíduo, destinado à alimentação animal ou descartado no ambiente, sem qualquer tratamento, no entanto possui alto teor poluente devido à quantidade de sólidos presentes, principalmente a lactose. A sua demanda bioquímica de oxigênio (DBO_5) varia de 30.000 mg a 60.000 mg O_2 por litro, isso corresponde aproximadamente cem vezes o potencial poluidor dos esgotos domésticos (FEAM, 2015). Devido a esse fato, se dá a importância de desenvolver novas metodologias e processos para reaproveitar e agregar valor a este material na indústria. Por conta do seu valor poluente o Conselho Estadual de Política Ambiental por meio da Deliberação Normativa nº 41 de 2000, proibiu o lançamento do soro de leite gerado da fabricação de produtos de laticínios em qualquer curso d'água (MINAS GERAIS, 2000).

Cerca de 95% do fornecimento do soro de leite mundial provém da produção de queijo. As principais empresas internacionais de produtos lácteos estão cada vez mais procurando otimizar o processamento de soro de leite, já que o mercado de ingredientes está em constante crescimento, impulsionado pela forte tendência de alimentos e bebidas com alto valor proteico (AFFERTSHOLT; PEDERSEN, 2017).

O soro de leite possui diversas aplicações na indústria de alimentos e apesar de toda a versatilidade desse coproduto, apenas metade do volume produzido mundialmente é processado (BALDASSO; BARROS; TESSARO, 2011). Comumente nos laticínios é utilizado para fabricação de ricota. De acordo com a legislação brasileira, o queijo ricota é obtido pela precipitação ácida a quente de proteínas do soro de leite mais a adição de leite em até 25% do volume (BRASIL, 2017).

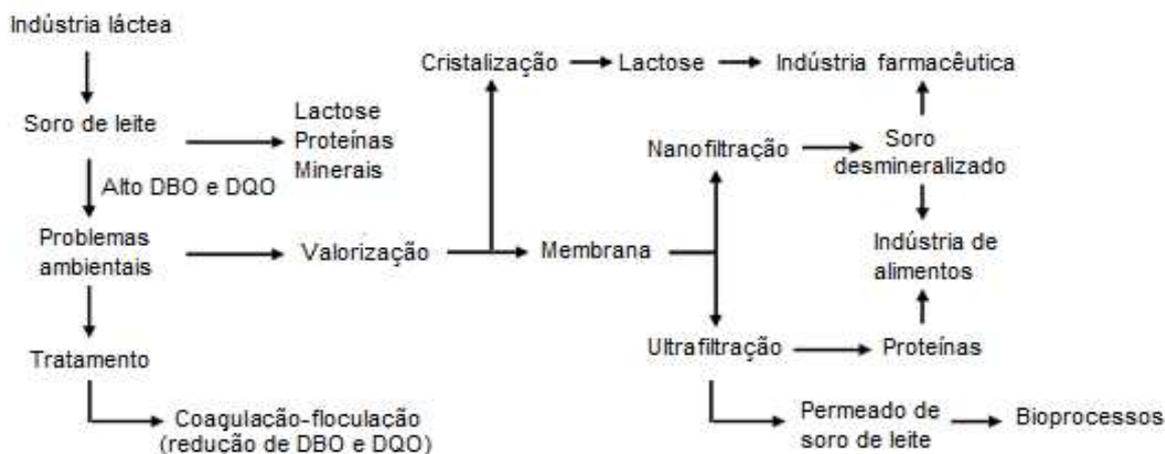
O soro de leite é empregado também na produção de bebidas, apresentando grande versatilidade, utilizado nas formas líquida, concentrada ou em pó. As bebidas lácteas são resultantes da mistura de leite e soro de leite, com a base láctea de soro de leite variando entre 51% (bebidas lácteas com adição) a 100% (bebidas lácteas sem adição) da massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005). Outras bebidas têm sido enriquecidas com a adição de soro de leite elevando

o teor de eletrólitos e o valor nutricional, resultado da presença dos sais minerais (potássio, zinco, fósforo e sódio) e da qualidade proteica respectivamente (PELEGRINE; CARRASQUEIRA, 2008; ZACARCHENCO *et al.*, 2012).

Outra aplicabilidade de grande importância na área de alimentos é a produção do concentrado proteico de soro (*whey protein concentrate* – WPC), contendo de 35% a 80% de soroproteínas e o isolado proteico de soro (*whey protein isolate* - WPI) contendo teores de 80% a 95% de soroproteínas, que são comercializados popularmente na forma de *whey protein* (WP). Na indústria de alimentos, o WPC é adicionado em vários produtos agregando valor nutricional e funcional, apresentam propriedades emulsionantes, espumantes e boa solubilidade, devido à natureza das soroproteínas serem de moléculas anfífilas, e em produtos de panificação ocorre o realce de sabor e um escurecimento desejável na coloração devido à reação de *Maillard* (BRANS, 2006; STOLIAR, 2009; ZACARCHENCO *et al.* 2012; CARRILHO, 2013).

Na Figura 1 são demonstradas as principais aplicabilidades do soro de leite.

Figura 1 - Esquema ilustrativo da aplicabilidade industrial do soro de leite



Fonte: Adaptado de FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2017.

DBO: Demanda bioquímica de oxigênio

DQO: Demanda química de oxigênio

Além da aplicabilidade na indústria láctea, vários trabalhos relatam sua utilização em bioprocessos, como substrato para fermentação, devido ao teor de lactose que pode ser utilizada como fonte de carbono pelos microrganismos. Dentre

os bioprodutos obtidos destacam-se: biogás, álcoois como etanol e butanol, ácido láctico, biopolímeros microbianos e galactooligossacarídeos (GOS) obtidos a partir de lactose por reação enzimática de transgalactosilação (LISBOA, 2008; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2017; HABIBI; KHOSRAVI-DARANI, 2017). O soro do leite é usado também como agente encapsulante para produção de probióticos e como biofilmes comestíveis (DOHERTY *et al.*, 2011; RIBEIRO-SANTOS *et al.*, 2015).

2.1.2 Permeados de origem láctea

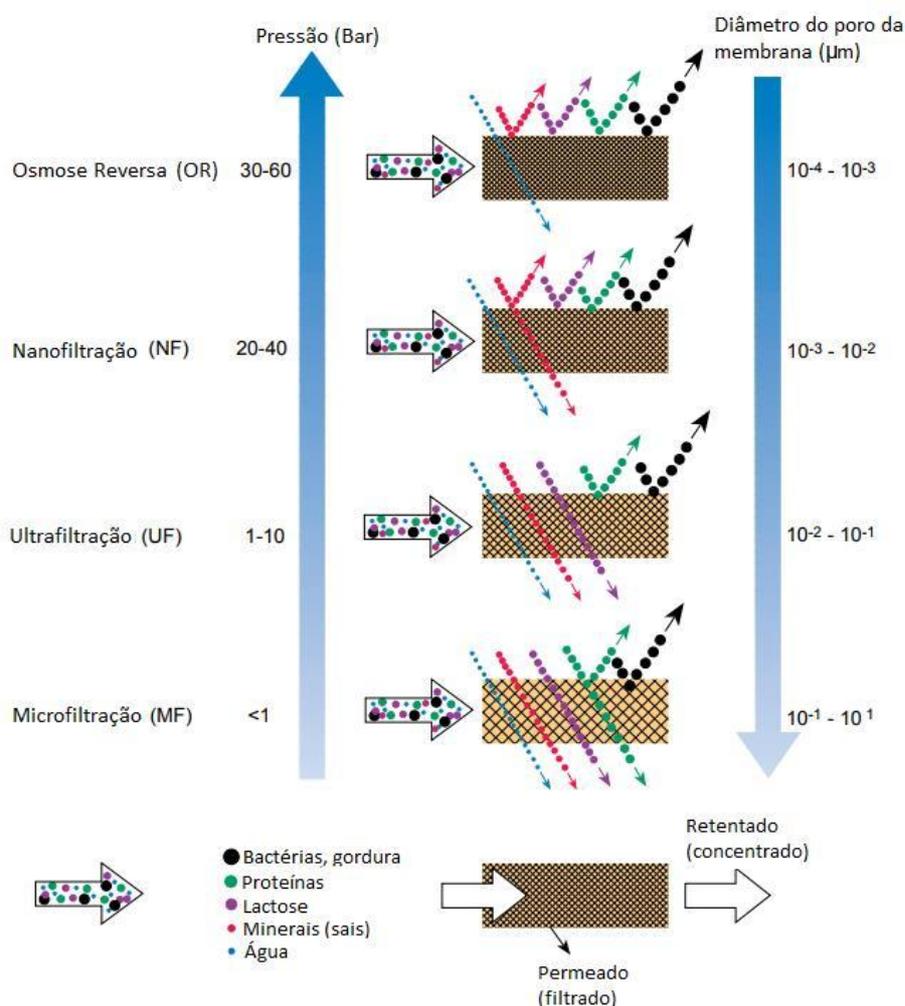
A tecnologia de separação de componentes por meio de membranas é muito utilizada na indústria de alimentos e apresenta vantagens tais como economia de energia, não utilização de calor, não ocorrência de mudança de fases, alta seletividade, além de simplicidade de operação (ALVES *et al.*, 2014).

A técnica de ultrafiltração é um método de separação de membrana usado para reter macromoléculas. Neste processo, a membrana é porosa e a separação ocorre por diferença de tamanho das partículas, sendo adequada ao fracionamento dos componentes do leite (HABERT, 2006; BALDASSO; BARROS; TESSARO, 2011; ALVES *et al.*, 2014).

A ultrafiltração na indústria láctea é empregada na recuperação e fracionamento dos componentes do leite, e tem sido utilizada em indústrias de laticínios para várias finalidades como pré-concentração de leite, destinada à fabricação de queijos e iogurtes, desidratação do leite, purificação de proteínas do soro de leite, fabricação do WPC (ZACARCHENCO *et al.*, 2012; BURRINGTON, 2015; CORBATÓN-BÁGUENA; ÁLVAREZ-BLANCO; VINCENT-VELA, 2015). Esse método possui grande importância também no cenário de valorização e reutilização do soro de leite (BALDASSO; BARROS; TESSARO, 2011).

A Figura 2 ilustra os sistemas de separação por membranas e o tamanho das moléculas retidas.

Figura 2 - Esquema ilustrativo do sistema de separação de componentes por membranas



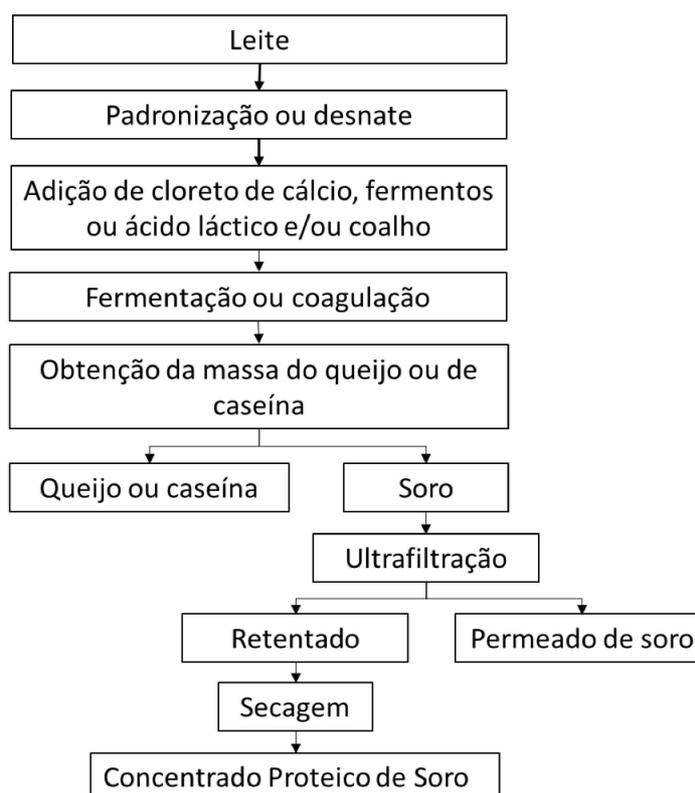
Fonte: Adaptado de BYLUND, 1996.

O permeado do leite é obtido da concentração de leite por ultrafiltração, esse processo tem como principal característica o uso direto do retentado (concentrado) para a fabricação de queijos, como a produção de queijo Minas Frescal. Essa técnica é uma alternativa atrativa para a produção de queijos, dispensa a etapa de dessagem, possui maior rendimento e um maior valor nutricional, pois o retentado apresenta maior concentração de proteínas do leite (ALVES *et al.*, 2014; BURRINGTON, 2015).

Para obtenção do permeado de soro, o soro de leite obtido da coagulação do leite, é passado através da membrana de ultrafiltração, as soroproteínas ficam retidas, formando o concentrado proteico de soro, e moléculas menores como lactose e sais

passam pela membrana, formando assim o permeado (BARILE et al., 2009), o processo está demonstrado na Figura 3.

Figura 3 - Etapas básicas da fabricação de queijos, produção de caseína, concentrado proteico de soro de leite e permeado de soro de leite



Fonte: ZACARCHENCO *et al.*, 2012.

O permeado do leite apresenta um menor número de etapas para a sua produção, pois o mesmo é obtido direto da ultrafiltração do leite, enquanto o permeado do soro de leite é produzido da ultrafiltração do soro de leite que por sua vez é coproduto da coagulação do leite. Tanto permeado de soro de leite, quanto permeado do leite, são coprodutos com baixo teor de proteínas e alto valor de lactose (ZACARCHENCO *et al.*, 2012; BURRINGTON, 2015).

Na Tabela 2 é possível observar a composição padrão dos permeados lácteos segundo Instituto Americano de Produtos Lácteos.

Tabela 2 - Composição do permeado de soro e permeado do leite

Componentes	Permeado de Soro	Permeado do Leite
Proteína ^{*a}	2-7%	3-5%
Gordura ^a	0 -1%	0-1%
Lactose ^a	76-85%	78-88%
Cinzas ^a	8-11%	8-11%
Umidade ^a	3-4,5%	3-4,5%
Sódio ^b	0,70-0,89%	0,38-0,66%
Cálcio ^b	0,36-0,62%	0,36-0,46%
Magnésio ^b	0,10-0,13%	0,10-0,12%
Potássio ^b	2,18-5,36%	1,91-2,58%

Fonte: Adaptado de BURRINGTON, 2015.

^a Permeado padrão do Instituto Americano de Produtos Lácteos

^b Especificação comercial * Nitrogênio não proteico

Assim como o soro de leite, o permeado de leite e o permeado de soro apresentam diversas aplicabilidades na indústria de alimentos, como a fabricação de bebidas e produtos lácteos, produtos para a panificação, misturas secas, sopas e molhos, recuperação de compostos bioativos (oligossacarídeos) e recuperação de lactose (ZACARCHENCO *et al.*, 2012; BURRINGTON, 2015).

A lactose presente nos permeados é capaz de desenvolver sabores caramelizados, superfícies ou casca com coloração marrom atrativas no setor de panificação, os sais minerais fosfato de cálcio, magnésio, sódio e potássio, funcionam como sal e são capazes de reduzir o teor de sódio nas formulações, além de contribuir para melhorar o sabor, o corpo e textura de produtos como sopas e molhos, os sais também são importantes na formulação de bebidas eletrolíticas e lácteas, agregando valor nutricional sem interferir nas características sensoriais (GEILMAN *et al.*, 1992; BURRINGTON, 2015; SMITH; METZGER; DRAKE, 2016).

Tanto o permeado do leite quanto o permeado de soro de leite podem ser aplicados em bioprocessos para a produção de diversos produtos, utilizando a lactose presente nessas matrizes como substrato para fermentação (TALABARDON; SCHWITZGUÉBEL; PÉRINGER, 2000; SAVVIDES *et al.*, 2012).

2.2 SUBSTRATOS ALTERNATIVOS EMPREGADOS EM BIOPROCESSOS

O bioprocesso é um processo biológico no qual organismos vivos ou substâncias por eles produzidas são utilizados em processos industriais. Pode ter como objetivo a obtenção de biomassa microbiana, produtos microbianos ou a conversão de um substrato em outro (MALAJOVICH, 2016). A produção de metabólitos microbianos de interesse industrial ocorre em várias etapas: escolha do agente biológico adequado, conversão do meio fermentativo e posterior separação e purificação do produto final (MONTEIRO; SILVA, 2009; SILVA, 2017).

Os substratos convencionais utilizados para processos fermentativos possuem como fonte de carbono a glicose, a sacarose e o amido. Estes podem corresponder até 70% do custo do produto final, e por isso, algumas fontes alternativas de substratos têm sido estudadas visando o aproveitamento de resíduos agroindustriais. A utilização de resíduos como substratos alternativos representam a diminuição do custo no processo fermentativo, além de contribuir para a redução do impacto ambiental, ocasionado pelo descarte inadequado (NERY *et al.*, 2008; MENEZES *et al.*, 2012; SILVA, 2017).

Quando destinados aos bioprocessos, a utilização ou o aproveitamento de resíduos como matéria-prima se torna importante ferramenta como solução ambiental, pois são considerados excelentes substratos para o crescimento de microrganismos. Resíduos agroindustriais como farelos, cascas, palha, bagaços, resíduos de frutas e sementes podem ser usados para a fermentação. Exemplos de resíduos agroindustriais são: casca e bagaço da mandioca, resíduo da indústria sucroalcooleira como melaço e bagaço de cana, resíduos de polpa cítrica, entre eles bagaço de maçã, bagaço de uva, resíduos de abacaxi, banana, os resíduos do processamento de trigo, arroz, soja, café, e etc. A partir dessas matrizes são obtidos, via processo fermentativo, vários produtos de importância econômica como etanol, ácidos orgânicos, aromas, pigmentos, enzimas, que são utilizados em indústria de alimentos, química, farmacêutica, têxtil, papel e celulose, tais como espessantes, conservantes, antimicrobianos, peptídeos bioativos, antitumorais, antioxidantes (WOICIECHOWSKI *et al.*, 2013).

Considerando a grande produção de leite e o seu processamento, os coprodutos lácteos são opções de meios alternativos para utilização em bioprocessos. A lactose presente nestas matrizes lácteas, e outros nutrientes como proteínas e sais são metabolizadas pelos microrganismos para obtenção de produtos como álcoois, ácido láctico, hidrogênio (H₂) ou biogás e na produção de biopolímeros microbianos (FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ et al., 2017).

2.3 POLISSACARÍDEOS MICROBIANOS

Os polímeros de carboidratos são chamados polissacarídeos, possuem sua constituição composta de monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas, são obtidos de fontes vegetais, como plantas, sementes e algas, de origem microbiana como bactérias e fungos, e de animais. Apresentam grande importância na indústria de alimentos por suas características espessantes, geleificantes, estabilizantes e encapsuladores (IZYDORCZYK; CUI; WANG, 2005; CUNHA; PAULA; FEITOSA, 2009).

Dentre as fontes de polissacarídeos, as de origem microbiana destacam-se por apresentarem vantagens na produção, como não dependência de condições climáticas, possibilidade de utilização de matérias-primas regionais como substrato, maior rapidez na obtenção do produto acabado e necessidade de espaço relativamente pequeno (DIAZ; VENDRUSCOLO; VENDRUSCOLO, 2004; SOUZA; GARCIA-CRUZ, 2004).

Os biopolímeros sintetizados por microrganismos são classificados de acordo com a sua localização celular. Existem os polissacarídeos extracelulares (EPS), secretados no meio e encontrados tanto em cápsulas ou biofilmes envolvendo a célula microbiana, polissacarídeos estruturais (LPS), que compõem parte da parede da célula, ou polissacarídeos citosólicos ou de armazenamento intracelular, que fornecem energia para a célula (DONOT *et al.*, 2012).

Os principais exopolissacarídeos com aplicações industriais são: xantana, gelana, dextrana, alginato, ácido hialurônico e pululana (CUNHA; PAULA; FEITOSA, 2009). Os biopolímeros microbianos aprovadas pelo *Food and Drug Administration* (FDA) como aditivo alimentar, destacam-se a goma gelana, produzida por *Sphingomonas paucimobilis* e a goma xantana, produzida por *Xanthomonas*

campestris, sendo essa o principal polissacarídeo bacteriano utilizado pela indústria de alimentos (GIAVASIS; HARVEY; MCNEIL, 2000; MORRIS, 2006).

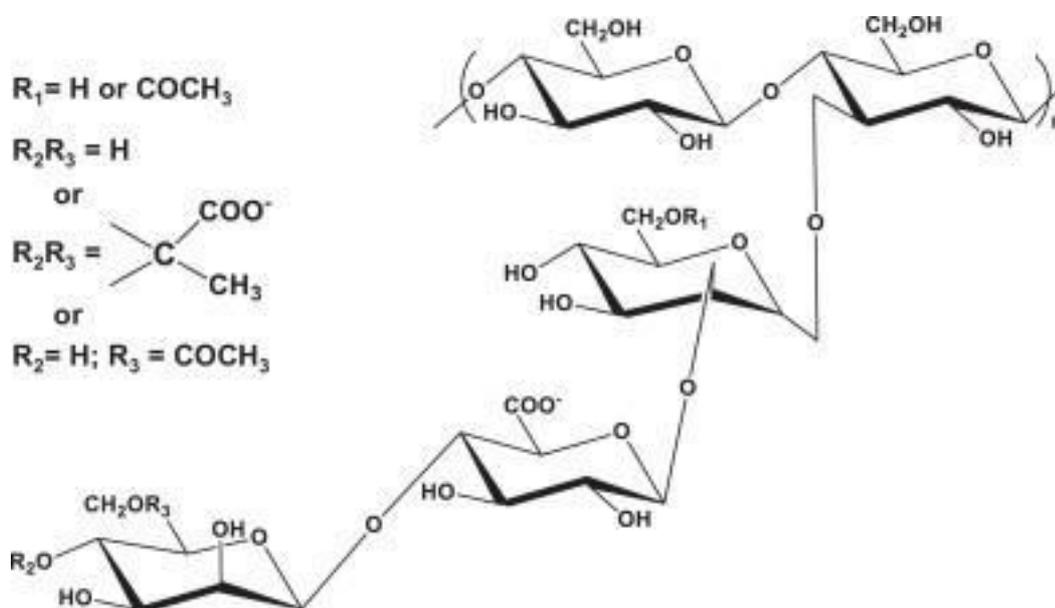
2.3.1 Goma xantana

A goma xantana é uma goma de elevado peso molecular, produzida por bioprocessos (DOSSIÊ, 2015), descoberta em 1950 por pesquisadores do *Northern Regional Research Laboratory* (NRRL), do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (DINIZ; DRUZIAN; AUDIBERT, 2012), aprovada e liberada pelo FDA em 1969 como aditivo alimentar (LUVIELMO; SCAMPARINI, 2009; FARIA *et al.*, 2011).

É um heteroexopolissacarídeo bacteriano (EPS), produzido por fermentação de carboidratos com estirpes de *X. campestris*, como um metabólito secundário na fase estacionária do crescimento celular, recuperada e purificada por extração com etanol, isopropanol ou acetona (BRANDÃO *et al.*, 2008; GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000). O gênero *Xanthomonas* compreende bactérias em formato de bacilos curtos Gram-negativos, aeróbios, com temperatura ótima de crescimento entre 20°C e 30°C e pH entre 6,5 a 7,5, capaz de usar vários carboidratos como fonte de carbono, preferencialmente a glicose (DA SILVA *et al.*, 2017).

A goma xantana é constituída por d-glicose, d-manose, ácido d-glicorônico, bem como algumas ramificações de grupos acetil e piruvato (BORN; LANGENDORFF; BOULENGUER, 2002; FARIA *et al.*, 2011), demonstrado na Figura 4. A composição química pode variar de acordo com as condições operacionais da produção e a estirpe do microrganismo produtor, as modificações nas condições de produção evidenciam a mudança das características estruturais dos polímeros produzidos (BORGES; VENDRUSCOLO, 2008).

Figura 4 - Estrutura química da goma xantana



Fonte: KOOL *et al.*, 2014.

As condições seguras do uso da goma xantana como aditivo alimentar, fizeram esse polímero ser amplamente estudado, sendo utilizada em uma grande variedade de alimentos por apresentar características reológicas singulares, conferindo principalmente viscosidade e estabilidade aos produtos. Também é compatível com ingredientes alimentares como solução com metais, ácidos, sais, agentes redutores, outros texturizantes, solventes, enzimas, surfactantes e conservantes (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000; CANALES; DE LA FUENTE; FENTANES, 2004).

A produção da goma de xantana é realizada principalmente em um sistema de fermentação submersa (HABIBI; KHOSRAVI-DARANI, 2017). Muitas variáveis podem ser monitoradas e alteradas influenciando este processo, por exemplo a estirpe de *Xanthomonas*, a constituição no substrato das fontes de carbono, nitrogênio e sais, o pH, a temperatura, a quantidade de inóculo, aeração, agitação e tempo de fermentação (KENNEDY *et al.*, 1982; CANILHA *et al.*, 2006).

A utilização de coprodutos lácteos como meios de cultivo alternativos para a produção de goma xantana é descrita na literatura científica, dentre os estudos realizados destaca-se a utilização do soro de leite (NERY *et al.*, 2008; MESOMO *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2009; SAVVIDES *et al.*, 2012; NIKNEZHAD *et al.*, 2015). Nesses estudos são avaliadas diferentes estirpes, condições operacionais do

processo fermentativo, tratamento e suplementação do meio de cultivo. No entanto, poucos trabalhos dão ênfase à caracterização da goma obtida a partir de coprodutos lácteos, bem como a utilização de meios de cultivo com tratamento prévio para a retirada de proteínas (SAVVIDES *et al.*, 2012; SILVA, 2017).

2.4 CARACTERIZAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS

As condições operacionais de fermentação como estirpe, composição do meio de crescimento, temperatura, pH e aeração, influenciam no rendimento do biopolímero, em suas características moleculares e propriedades reológicas (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000). Para a sua caracterização podem ser realizadas diversas técnicas, permitindo a identificação da composição química, das propriedades físicas e atributos sensoriais. A etapa de caracterização da goma xantana permite o conhecimento da estrutura, estabilidade e comportamento reológico do biopolímero, permitindo sugerir aplicações em processos industriais, modificar as formas de sua produção para obter características específicas e utilização em análises para o controle de qualidade (DA SILVA *et al.*, 2017).

As análises reológicas são empregadas para a caracterização de biopolímeros, avaliando o comportamento do fluido e viscosidade variando as concentrações das soluções e a adição de sais como cloreto de potássio, cloreto de sódio e cloreto de cálcio (MESOMO *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2009; LUVIELMO *et al.*, 2016). Também podem ser empregadas para a avaliação do polímero produzido, a espectroscopia no infravermelho, termogravimetria e a colorimetria (FARIA *et al.*, 2011; MISRA *et al.*, 2018).

2.4.1 Reologia

O estudo do comportamento reológico é fundamental para as gomas ou hidrocolóides que são adicionadas como ingredientes para modificar textura e viscosidade. As propriedades reológicas são frequentemente utilizadas como indicador de qualidade e para o planejamento de processos envolvendo o fluxo do fluido (MARCOTTE; TAHERIAN HOSHAHILI; RAMASWAMY, 2001; CEVOLI *et al.*, 2013). O método consiste em analisar a deformação de um material por meio da aplicação de uma força de cisalhamento (SILVA, 2017).

Materiais que possuem proporcionalidade direta entre a tensão ou estresse de cisalhamento e taxa de cisalhamento são chamados de materiais newtonianos e possuem viscosidade constante, já aqueles materiais que não seguem essa métrica são chamados não newtonianos e a sua viscosidade varia de acordo com a tensão de cisalhamento. A razão entre tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento em tais materiais não é um valor constante, então esse valor é designado como viscosidade aparente (DEMAN, 1999).

Os fluidos não newtonianos podem ser descritos pelo modelo de Ostwald-de-Waele descrito pela equação $\tau = \kappa \dot{\gamma}^n$ ou Herschel-Bulkley descrito por $\tau = \tau_0 + \kappa \dot{\gamma}^n$, onde τ é a tensão de cisalhamento, τ_0 é a tensão inicial de escoamento, κ é Índice de consistência do fluido, $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação e n é o índice de comportamento. O valor de n é igual a 1 para líquidos newtonianos, maior que 1 para materiais dilatantes e menor que 1 para materiais pseudoplásticos (DEMAN, 1999; MARCOTTE; TAHERIAN HOSHAHILI; RAMASWAMY, 2001).

As características reológicas das soluções de goma xantana são descritas como fluido não newtoniano e pseudoplástico, ou seja a viscosidade aparente decresce com taxa de deformação. Além disso, são relatados a alta viscosidade mesmo em baixas concentrações, estabilidade e compatibilidade com a maioria dos sais metálicos, excelente solubilidade e estabilidade soluções ácidas e alcalinas e resistência à degradação a níveis elevados temperaturas e vários níveis de pH (MESOMO *et al.*, 2009; FARIA *et al.*, 2011; SILVA, 2017; TRINDADE; MUNHOZ; BURKERT, 2018).

2.4.2 Espectroscopia no infravermelho por reflexão total atenuada

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é uma metodologia capaz de detectar semelhanças ou diferenças entre os componentes a partir de sua composição química (MISRA *et al.*, 2018). Esse método apresenta vantagens em relação a métodos químicos, pois é de rápida execução, não destrutivo e requer pouco ou nenhum preparo de amostra (SILVA, 2017; WIERCIGROCH *et al.*, 2017). O princípio da análise baseia-se no fato de que os diferentes grupos funcionais que fazem parte da estrutura da molécula, absorvem a energia na região do infravermelho e apresentam vibrações em determinadas regiões do espectro,

formando bandas facilmente detectáveis pela espectroscopia. O uso do acessório para refletância total atenuada (ATR) tem auxiliado o processo de análise de amostras sólidas a fim de reduzir o tempo de preparo, já que a amostra é colocada diretamente sobre o cristal opticamente denso com alto índice de refração (AZARIAS, 2017).

O FTIR na faixa do infravermelho médio $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ permite analisar estruturalmente e investigar as variações químicas para a identificação de biomoléculas em células e tecidos de animais e vegetais. Para os carboidratos, a investigação analítica pode ser complexa por conta das cadeias poliméricas possuírem unidades com propriedades físicas e químicas semelhantes. Os polissacarídeos são interpretados comparando as vibrações no espectro através da constituição dos seus monômeros ou por ligações glicosídicas bem como determinados grupos funcionais (HORI; SUGIYAMA, 2003; FARIA *et al.*, 2009; WIERCIGROCH *et al.*, 2017).

2.4.3 Termogravimetria

A análise termogravimétrica (TG) é utilizada para caracterização, determinação de pureza e avaliação de estabilidade de compostos como fármacos, alimentos e polímeros. O aquecimento da amostra leva a mudanças químicas e físicas em sua estrutura, que ocorrem pela relação entre o calor térmico e a energia das ligações (OLIVEIRA; YOSHIDA; GOMES, 2011; DENARI; CAVALHEIRO, 2012).

As curvas de TG correspondem às variações de massa da amostra, em função da temperatura, e permitem obter dados sobre a estabilidade térmica e sobre a sua composição (IONASHIRO, 2004).

A análise termogravimétrica é uma técnica simples para estudar a estabilidade térmica e modelo de decomposição de polímeros. O aquecimento da amostra permite conhecer suas alterações como desidratação, oxidação, combustão e sua decomposição, pois a temperatura aplicada determina o comportamento termodinâmico do polímero (DENARI; CAVALHEIRO, 2012). Devido à extensa utilização comercial de gomas como aditivos para alimentos, a caracterização físico-química desses polissacarídeos, como exemplo goma arábica, goma xantana, quitosana e carboximetilcelulose, são imprescindíveis a fim de definir suas aplicações

e estabelecer a temperatura ideal de trabalho (ZOHURIAAN; SHOKROLAHI, 2004; MOUSSOUT *et al.*, 2016).

2.4.4 Colorimetria

Colorimetria é um conjunto de técnicas que busca determinar e quantificar com o auxílio de modelos matemáticos a percepção da cor pelos seres humanos. A cor é uma questão de percepção humana o que a torna subjetiva da interpretação e por isso metodologias e equipamentos de medição, como colorímetros e espectrofotômetros são utilizados para representar numericamente as cores que podem ser percebidas por meio da visão (RIBEIRO, 2006).

A CIE (*Commission International de l'Eclairage* ou Comissão Internacional de Iluminação) definiu três espaços de cor, CIE XYZ, CIE L*C*h e CIE L*a*b* - para a comunicação e expressão das cores. Esse sistema é baseado na luminosidade ou claridade, na tonalidade ou matiz e na saturação ou cromaticidade. Atualmente, o espaço de cor L*a*b*, também conhecido como espaço de cor CIELAB é o mais utilizado para avaliar as cores, os parâmetros são a luminosidade (L*), direções da coordenada verde-vermelho (a*) e a coordenada azul-amarela (b*) (FERREIRA; SPRICIGO, 2017; MANOJLOVIC *et al.*, 2015).

A análise de cor é um parâmetro importante para avaliar a qualidade de produtos. Este atributo é levado em consideração no caso de ingredientes e aditivos em formulações, em que é desejável que o mesmo não interfira nas características do produto final. O impacto visual que a cor pode causar muitas vezes sobrepõe outros atributos sensoriais, uma vez que é o primeiro percebido pelo observador (SILVA, 2017).

3 OBJETIVOS

Nesta seção são apresentados a seguir o objetivo geral e os objetivos específicos.

3.1 GERAL

Caracterizar as gomas xantanas produzidas a partir de permeado de leite e de soro de leite desproteínizado e compará-las com gomas xantanas comerciais

3.2 ESPECÍFICOS

- Caracterizar a composição química dos substratos lácteos do processo fermentativo;
- Produzir goma xantana a partir dos substratos lácteos utilizando a bactéria *X. campestris pv. manihotis*;
- Caracterizar as gomas xantanas produzidas quanto às suas propriedades reológicas, espectro no infravermelho (FTIR-ATR), perfil termogravimétrico e colorimétrico;
- Comparar as características das gomas xantanas produzidas com as gomas xantanas comerciais.

4 MATERIAL E METÓDOS

Os materiais e metodologias utilizadas para o presente trabalho foram descritos a seguir.

4.1 MICRORGANISMO

A estirpe *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* n° 1182 adquirida da Coleção de Cultura de Fitobactérias do Instituto Biológico de Campinas/SP foi utilizada no processo fermentativo.

O microrganismo foi reativado em ágar nutriente e incubado a 30°C/48h. Após o crescimento, as colônias foram repicadas em ágar nutriente inclinado e incubado a 30°C/48h (SILVA, 2017). Após o período de incubação, foram armazenados em geladeira a 4 °C, com repiques, visando a garantia da viabilidade celular.

4.2 COPRODUTOS LÁCTEOS

4.2.1 Permeado do leite

O permeado do leite (PL) foi obtido e coletado a partir do leite submetido ao processo de concentração, utilizando-se membranas de ultrafiltração da KOCH MEMBRANE SYSTEMS modelo KMS HFK™-131 FOOD E DAIRY UF ELEMENTS de 4" 3838-k131-VYT, características e propriedade semipermeável polietersulfona com alcance de separação de 10.000 Daltons, no Instituto de Laticínios Candido Tostes localizado em Juiz de Fora, MG. O PL foi distribuído em frascos âmbar previamente identificados, esterilizados e armazenado congelados em freezer a -17 °C.

4.2.2 Soro de leite desproteínizado

O soro de leite desproteínizado (SD) foi obtido a partir do tratamento do soro de leite *in natura* proveniente da fabricação de queijo Minas Padrão, cedido pelo Laticínios Coalhada's, localizado em Juiz de Fora, MG. Realizou-se a redução do pH até 4,3 com adição de ácido clorídrico 2N, a seguir a mistura foi aquecida até a formação de coágulos, resfriado, e filtrado em algodão (Húngaro *et al.*, 2011). Após esse processo, o soro de leite desproteínizado foi distribuído em frascos âmbar

previamente identificados, esterilizados. As amostras foram armazenadas em freezer a -17°C .

4.3 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DOS COPRODUTOS LÁCTEOS

As análises da composição foram realizadas em triplicatas para as amostras dos coprodutos lácteos PL e SD.

4.3.1 Lactose

Foi utilizado o método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) para determinar os açúcares redutores e a concentração de lactose conforme descrito por Miller (1959). A curva padrão de lactose com concentrações de 0, 50, 100, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800 e 2000 mg/L foi utilizada como referência. A preparação das amostras foi realizada como descrito em Silva (2017) e realizada a leitura espectrofotométrica em 540 nm (Espectrofotômetro LibraS12 Biochrom). Neste método, o DNS reduz o açúcar redutor em meio alcalino resultando em alteração de cor. Essa solução é medida a 540nm e a leitura está relacionada com concentração de açúcares presentes na solução (MILLER, 1959).

4.3.2 Proteínas

Foi realizada a determinação de nitrogênio total segundo metodologia de Micro-Kjedahl do Laboratório Nacional Agropecuário (MAPA, 2013). Este método consiste em três etapas: 1) Digestão da amostra, onde o nitrogênio da proteína é reduzido e transformado em sulfato de amônio; 2) Destilação, que transforma o nitrogênio presente na solução na forma de sulfato de amônio para NH_3 gasoso. Esse gás reage com uma solução de ácido bórico, formando borato de amônio; 3) Titulação, em que o borato de amônio é titulado com uma solução de ácido sulfúrico padronizada, onde quanto maior o volume de ácido sulfúrico gasto na titulação maior a quantidade de nitrogênio presente na amostra.

A proteína total ou proteína bruta expressa a proteína do leite sob o ponto de vista analítico, correspondendo ao teor percentual de nitrogênio total multiplicado pelo fator de conversão 6,38. O resultado da análise é expresso em proteínas utilizando um fator de conversão da relação nitrogênio/proteína.

$$\% \text{ proteínas} = \% \text{ nitrogênio total} \times 6,38$$

4.3.3 Gordura

Para a análise de gordura foi utilizado a determinação de lipídios em leite e derivados lácteos pelo método de Roese-Gottlieb do Laboratório Nacional Agropecuário (MAPA, 2013). Essa análise é utilizada para amostras que apresentam percentual de gordura baixo como o soro de leite. O método utiliza frasco de Mojonnier e consiste em hidrolisar a ligação proteína-gordura. Após a quebra dessa ligação, há a extração com éter de petróleo e éter etílico, e a gordura extraída é determinada gravimetricamente. O resultado foi expresso pela fórmula:

$$\% \text{ gordura} = \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{m_0}$$

Onde:

m_0 = massa da amostra;

m_1 = massa do béquer com gordura (massa constante);

m_2 = massa inicial do béquer

4.3.4 Cinzas

As cinzas foram determinadas por incineração segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005). Após a incineração na mufla a 550°C, o teor de cinzas foi calculado pela fórmula:

$$\text{Resíduo incinerado (cinzas) \%m/v} = \frac{100 \times \text{peso do resíduo}}{\text{volume de amostra}}$$

4.3.5 pH

A leitura do pH foi determinada em pHmetro digital (Digimed) calibrado em pH 4,00 e pH 7,00 e com compensador de temperatura para 25 °C.

4.4 MEIO DE CULTIVO PARA CRESCIMENTO DO INÓCULO

Foi preparado um meio de cultivo constituído de 1,5% de lactose; 0,5% de fosfato dibásico de potássio (K_2HPO_4); 0,2% de cloreto de amônia (NH_4Cl); 0,1% de

cloreto de sódio (NaCl); 0,01% de sulfato de magnésio (MgSO₄); 0,1% de extrato de levedura (NITSCHKE; RODRIGUES; SCHINATTO, 2001), esterilizado a 121 °C/15 min, armazenado em geladeira a 4 °C até o momento do uso.

4.5 PREPARO DO INÓCULO

Foram distribuídos, de forma asséptica, 100 mL de meio de cultivo esterilizado em erlenmeyers de 250 mL estéreis. Posteriormente, cada erlenmeyer foi inoculado com 3 alçadas bacteriológicas calibradas (10 µL/alçada) do microrganismo previamente cultivado em ágar nutriente por 30 °C/24h.

O inóculo foi incubado em *shaker* orbital a 28 °C a 180 rpm por 24 h. Após término da incubação foi padronizado a absorvância para a densidade ótica (DO) de 0,300 a 600 nm (Espectrofotômetro LibraS12 Biochrom), correspondendo a concentração de 1×10^8 UFC/mL (SILVA, 2017).

4.6 PROCESSO FERMENTATIVO

O permeado do leite (PL) e soro de leite desproteínizado (SD) foram retirados do freezer e descongelados, distribuídos em alíquotas de 90 mL em erlenmeyers de 250mL, esterilizados por vapor úmido a 121 °C por 15 minutos.

Após esterilização, de forma asséptica, foi utilizada uma solução estéril de NaOH 2N para a correção do pH dos meios para valor 7,0. Após correção de pH, os substratos foram inoculados com 10 mL de inóculo já padronizado para DO 0,300 (600 nm) e incubados em *shaker* a 28 °C, 180 rpm por 96 horas (SILVA *et al.*, 2009). Amostras com os meios de cultivo, PL e SD, sem inóculo foram incubadas nas mesmas condições experimentais para controle do processo fermentativo.

4.7 PRECIPITAÇÃO E RECUPERAÇÃO DA GOMA XANTANA

O meio de cultivo fermentado foi centrifugado a $20.000 \times g$ a 4 °C por 30 minutos para retirada das células, após centrifugação foi adicionado ao sobrenadante álcool etílico absoluto na proporção de uma parte do meio de cultivo para três partes de álcool etílico. A goma precipitada foi recolhida com bastão e secas em estufa a 50 °C por 48 horas (NIKNEZHAD *et al.*, 2015). Após secagem as gomas xantanas foram

trituras em almofariz de vidro e padronizadas em tamiz de 500 μm com malha de 35 mesh (SILVA, 2017).

4.8 CARACTERIZAÇÃO DAS GOMAS XANTANAS

As gomas xantanas produzidas a partir do permeado de leite (GXPL) e soro de leite desproteínizado (GXSD), foram caracterizadas e analisadas conjuntamente com três gomas xantanas comerciais, de alto grau de pureza (GXC1), médio grau de pureza (GXC2) e de uso culinário (GXC3). Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

4.8.1 Reologia

O comportamento reológico das gomas xantanas foi investigado por meio de reometria de fluxo constante em uma taxa de cisalhamento controlada de 500 s^{-1} usando um reômetro híbrido DHR-1 da *T.A Instruments*® a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. A concentração das soluções de goma xantana foi determinada gravimetricamente por secagem de um volume conhecido (em triplicata). Após a determinação do teor de sólidos (em mg/mL), a concentração das soluções foi ajustada para o valor desejado de $0,15\text{ mg/mL}$. Os dados foram coletados e tratados utilizando o software RHESY®, para análise posterior foi utilizado o TRIOS Software v4.4.0.

4.8.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

As gomas xantanas produzidas e comerciais foram analisadas em triplicata, sem preparo de amostras, no espectrômetro FTIR-MIR (Modelo VERTEX 70) da Bruker, com módulo ATR e leitura em absorvância. O intervalo utilizado foi entre 400 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e varredura de 64 leituras (scans). Os dados obtidos pelo software OPUS 6.5 foram extraídos e analisados no software OriginPro 8.0 (AZARIAS, 2017).

4.8.3 Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica acoplada ao FTIR (TG/FTIR) foi realizada utilizando equipamento Analisador Térmico simultâneo acoplado ao FTIR Tensor 27

da marca Bruker e uma termobalança STA 449 F3 Jupiter da marca NETZSCH. As amostras das gomas xantanas foram submetidas a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto sob atmosfera de gás nitrogênio até atingir a temperatura de 550 °C (FARIA et al., 2011). A termogravimetria derivada (dTG) foi obtida da derivada primeira da TG pelo software OriginPro 8.0.

4.8.4 Análise colorimétrica

Foi utilizado o colorímetro da marca Chroma Meter, modelo CR-400, obtendo assim a leitura direta da reflectância das coordenadas de luminosidade (L^*); coordenada a^* (a^*), coordenada b^* (b^*) empregando a escala CIEL*a*b* (SILVA, 2017). O índice de brancura (Wh) foi calculado através das leituras de L^* , a^* e b^* , utilizando a fórmula abaixo (MISRA et al., 2018):

$$Wh = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos para a composição centesimal dos coprodutos lácteos, os parâmetros de cor e reologia foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelos testes *t-Student*, a 5% de significância. Os perfis espectrais obtidos pela espectroscopia de infravermelho FTIR-ATR foram submetidos à análise de componentes principais (PCA) utilizando o software OriginPro 8.0, os dados da análise reológica pelo TRIOS Software v4.4.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção são apresentados os resultados e discussão da produção e caracterização de goma xantana obtida a partir de coprodutos lácteos.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO PERMEADO DO LEITE E SORO DE LEITE DESPROTEINIZADO

Os resultados da caracterização do permeado do leite e soro de leite desproteínizado, estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Caracterização do permeado do leite e soro desproteínizado

Substrato Lácteo	Lactose (g/L)	Proteína (%)	Gordura (%)	Cinzas (%m/v)	pH
Permeado do leite	36,97 ± 1,79 ^b	0,12 ± 0,01 ^b	*	0,438 ± 0,01 ^b	6,47 ^a
Soro desproteínizado	41,71 ± 2,71 ^a	0,41 ± 0,01 ^a	*	0,596 ± 0,01 ^a	5,26 ^b

Fonte: A AUTORA, 2019.

* não detectado

Valores seguidos por letras minúsculas idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo teste *t-Student* ao nível de significância de 5%.

Os resultados da composição centesimal do PL e do SD para todos os parâmetros medidos, exceto gordura, foram diferentes estatisticamente ($p < 0,05$). Ambos substratos lácteos apresentam baixos teores de proteínas, enfatizando a retirada dessa fração para outras aplicações, devido ao valor comercial das mesmas. O valor encontrado neste trabalho foi de 0,12% de proteínas para o PL. Menchik *et al.* (2019) descreveram para o permeado do leite o teor de proteínas entre 0,32% e 0,45%. A composição da membrana utilizada para a filtração interfere na habilidade de retenção das proteínas, o que pode justificar a variação dos valores encontrados (ERDEM; ÇİFTÇIOĞLU; HARSA, 2006). O conteúdo de proteínas no soro de leite *in natura* é em torno de 0,6% a 0,7% (FITZSIMONS; MULVIHILL; MORRIS, 2007; LO; ARGIN-SOYSAL; HSU, 2007; SILVA, 2017). Neste estudo, a porcentagem de proteínas encontrada foi de 0,41% no SD, portanto menor do que o valor reportado na

literatura, confirmando que o processo de desproteínização no soro de leite *in natura* favoreceu a retirada de proteínas.

O pH encontrado para o PL foi de 6,47, próximo ao valor descrito por Menchik *et al.* (2019) que foi de 6,37 para essa mesma matriz. A leitura de pH para o SD de 5,26 (BRASIL, 2013; LO; ARGIN-SOYSAL; HSU, 2007). O pH mais ácido no SD é resultado do processo de desproteínização, onde foi adicionado HCl para precipitação das proteínas, e foi mantido no intuito de minimizar a reação de *Maillard* durante a esterilização do meio de cultura. Em temperaturas mais elevadas, quanto maior for o pH, maior a velocidade de reação de *Maillard* (NASCIMENTO, 2015).

Os resultados para lactose e cinzas apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) para os dois substratos lácteos testados, sendo maior para o SD e menor para o PL. As variações nos valores da composição do soro de leite dependem diretamente da sua origem bem como do tipo de queijo fabricado e do leite utilizado, que varia de acordo com animal, raça, alimentação, saúde e estágio de lactação (DE WIT, 2001). Neste trabalho foram encontrados 36,97 e 41,71 g/L de lactose para o PL e SD, respectivamente. Trabalhos na literatura utilizando o soro de leite como fonte alternativa para produção de goma xantana, apresentam variadas concentrações de lactose (OLIVEIRA, 2005; MESOMO *et al.*, 2009; SAVVIDES *et al.* 2012). As cinzas representam as substâncias inorgânicas presentes na amostra, no permeado e no soro de leite o resíduo mineral contém principalmente cálcio e fósforo, os resultados obtidos no presente estudo são próximos aos relatados na literatura, em Teixeira e Fonseca (2008) o teor de cinzas encontrado foi de 0,47 g/100g soro de queijo muçarela e 0,49 g/100g soro de queijo Minas padrão.

5.2 PRODUÇÃO DA GOMA XANTANA

Após a esterilização os meios de cultivo, PL e SD, apresentaram turvação e formação de precipitado, em comparação aos seus estados *in natura*. Nery *et al.* (2008) utilizaram o soro de leite como meio alternativo para fermentação e observaram que após a etapa de autoclavação esse substrato apresentou aspecto turvo com coloração marrom. Houve maior formação de precipitado em SD, tendendo a coloração alaranjada possivelmente pela diferença no teor de proteínas e lactose, que podem favorecer a reação de *Maillard*, reação de escurecimento não enzimático, que ocorre entre um grupo carbonila e o grupo amino. O aumento da temperatura favorece

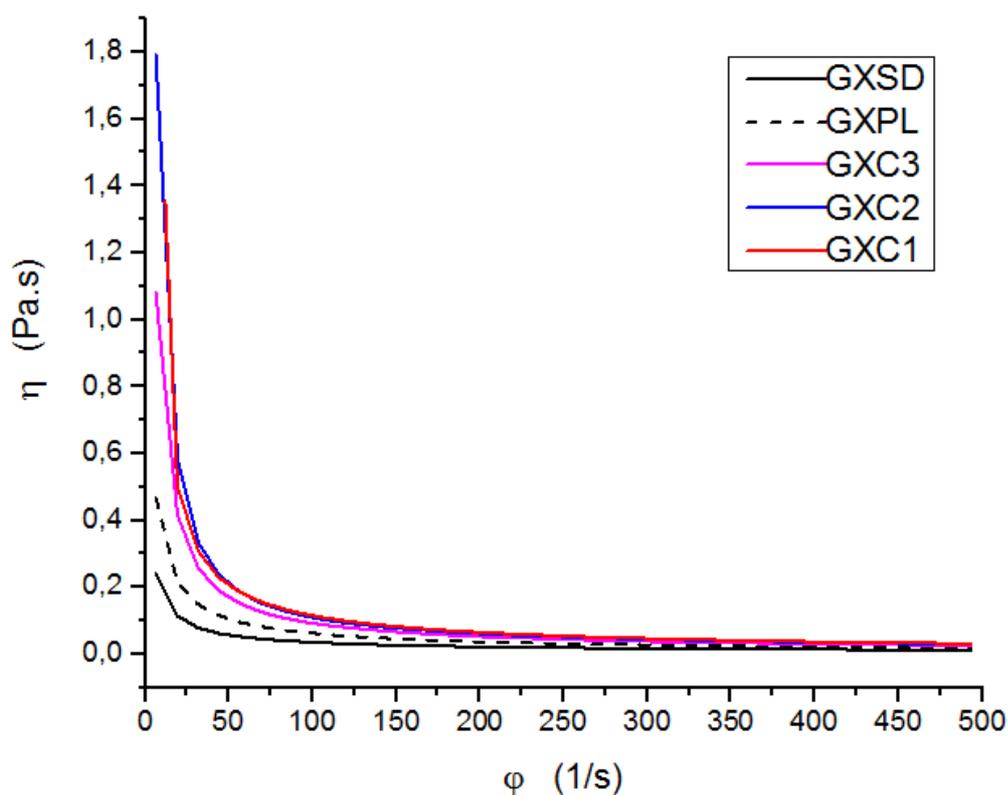
o escurecimento decorrente da reação de *Maillard* (NASCIMENTO *et al.*, 2015). Após a etapa de precipitação e secagem, foi possível perceber que as gomas xantanas apresentavam diferenças nas suas colorações de acordo com o substrato em que foi produzida.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DA GOMA XANTANA OBTIDA NO PROCESSO FERMENTATIVO

5.3.1 Análise reológica

Os dados obtidos para viscosidade das gomas xantanas, são representados na Figura 5.

Figura 5 - Viscosidade aparente (η) em função da taxa de cisalhamento (φ) para gomas xantanas produzidas e comerciais



Fonte: A AUTORA, 2019.

Legenda: Gomas xantanas produzidas a partir do permeado de leite (GXPL), soro de leite desproteínizado (GXSD) e gomas xantanas comerciais (GXC1, GXC2 e GXC3).

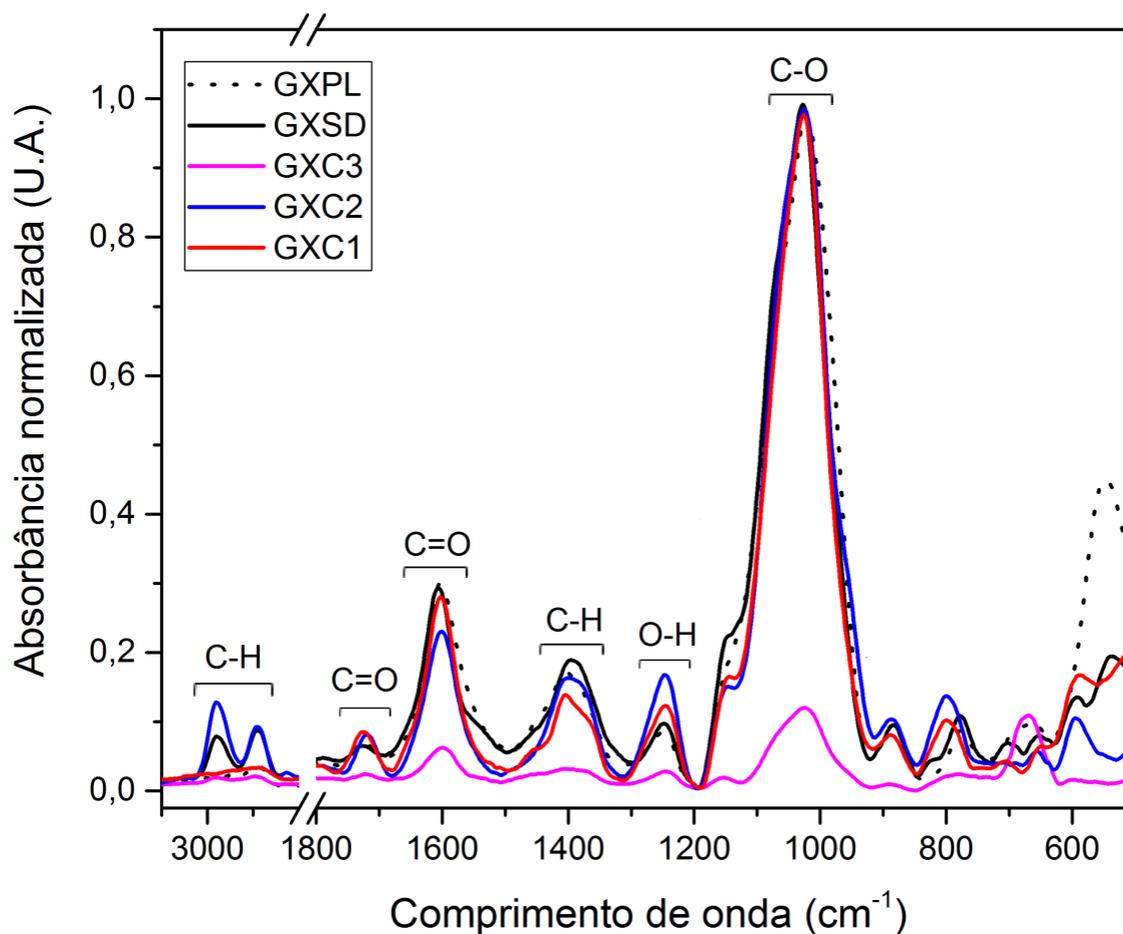
Conforme mostra a Figura, foi possível observar que o aumento na taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) sobre as soluções de goma xantana resultou na diminuição da viscosidade. Esse comportamento é característico de fluidos não newtonianos e pseudoplásticos. Os resultados encontrados estão de acordo com outros trabalhos na literatura (NITSCHKE; RODRIGUES; SCHINATTO, 2001; MESOMO *et al.*, 2009; SILVA *et al.* 2009; FARIA *et al.*, 2011). A viscosidade aparente (η) é a denominação da viscosidade dos fluidos não newtonianos e depende da tensão de cisalhamento, a pseudoplasticidade ocorre quando a viscosidade aparente diminui com o aumento da força de cisalhamento e pode ser atribuída à orientação de moléculas durante a rotação. Observando o gráfico, quando as taxas de cisalhamento são superiores a 200 s^{-1} , todas as xantanas assumem comportamento newtoniano e os valores de viscosidade se aproximam. É de se esperar que não haja diferença de comportamento entre elas, para aplicações acima dessas taxas como agitação, transporte e bombeamento. Os dados reológicos são necessários como indicadores de qualidade do produto para calcular qualquer processo que envolva o escoamento do fluido como extração, filtração, extrusão e análises das condições de escoamento para pasteurização, evaporação ou secagem (CEVOLI *et al.*, 2013).

Os resultados das viscosidades mostraram que as gomas comerciais apresentaram valores maiores que as gomas xantanas produzidas, sendo a GXC2 com maior valor de viscosidade aparente, seguido de GXC1, GXC3, GXPL e por último GXSD. A goma produzida com PL apresentou maior viscosidade aparente em relação a goma produzida com SD, demonstrando que a mudança na composição dos substratos utilizados pode alterar as características reológicas deste biopolímero. Esse resultado é interessante devido ao fato que o PL é um meio alternativo com menor teor proteico e foi capaz de produzir melhor resultado de viscosidade comparado ao meio de soro de leite. Diaz, Vendruscolo, Vendruscolo, (2004) ressaltaram que a viscosidade aparente obtida pelas soluções de xantanas sofre influência direta do meio de cultura utilizado na fermentação, do tempo de fermentação e dos constituintes químicos do biopolímero.

5.3.2 Análise espectroscópica (FTIR-ATR)

A Figura 6 demonstra o perfil espectral das gomas xantanas produzidas e das gomas comerciais entre os comprimentos de onda de 3100 a 500 cm^{-1} . As regiões de comprimento de onda entre 4000 a 3100 cm^{-1} e de 2500 a 1800 cm^{-1} não foram demonstradas por não apresentarem bandas.

Figura 6 - Espectro das amostras de gomas xantanas no infravermelho (FTIR-ATR)



Fonte: A AUTORA, 2019.

Legenda: Gomas xantanas produzidas a partir do permeado de leite (GXPL), soro de leite desproteínizado (GXSD) e gomas xantanas comerciais (GXC1, GXC2 e GXC3).

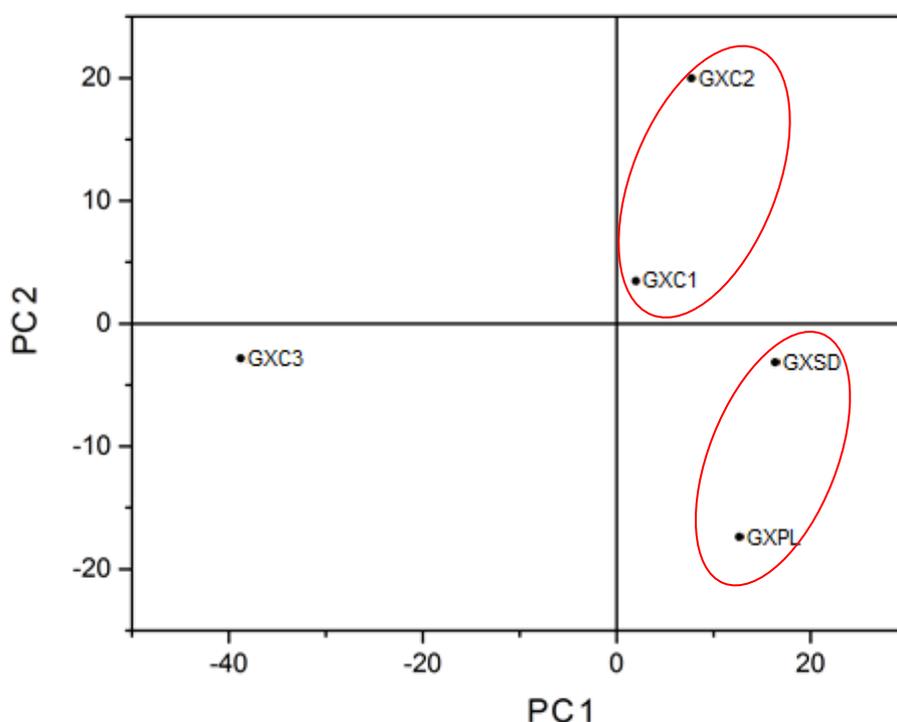
A partir da análise do espectro é possível visualizar bandas de absorção semelhantes nos comprimentos de onda de 1800 a 900 cm^{-1} , com intensidades diferentes, tanto para as gomas produzidas a partir dos coprodutos lácteos GXPL, GXSD, quanto para as gomas comerciais. Para cada área são descritos as ligações: região de 1725-1720 cm^{-1} está relacionada a deformação axial C=O de ésteres, ácido carboxílicos, aldeídos e cetonas, em 1600 cm^{-1} deformação axial de C=O de enóis, em

1400-1395 cm^{-1} ângulo de deflexão C-H, em 1250-1245 cm^{-1} deformação O-H, em 1150-1027 cm^{-1} deformação axila C-O, que estão de acordo com outros trabalhos realizados com gomas xantanas e outros polissacarídeos (MOOSAVI-NASAB, SHEKARIPOUR, ALIPOOR, 2009; NIKNEZHAD *et al.*, 2015; WIERCIGROCH *et al.*, 2017; MISRA *et al.*, 2018). As bandas de marcação no alongamento de vibrações C-O na faixa de 1200–1000 cm^{-1} , evidenciam semelhança estrutural entre os polissacarídeos (WIERCIGROCH *et al.*, 2017). Não foi observado bandas de N-H nos comprimentos de onda 1640 cm^{-1} e 1550 cm^{-1} como identificados em matrizes proteicas como queijos (ANDRADE *et al.*, 2018). Silva (2017) observou no espectro infravermelho próximo de gomas xantanas produzidas com soro de leite a presença de bandas de ligações N-H decorrente de resíduos do meio fermentativo.

As gomas GXSD e GXC2 apresentam bandas compreendidas em 2980–2890 cm^{-1} . Faria *et al.* (2011) descreveram essa região de comprimento de onda para goma xantana produzida a partir de caldo de cana e goma xantana comercial, sendo relacionada com a deformação axial C-H. Há divergências das bandas para todas as gomas xantanas analisadas na região a partir de 800 até 500 cm^{-1} . Wiercigroch *et al.* (2017) observaram que a diferenciação dos polissacarídeos pode ser realizada pelo modo vibracional da estrutura da molécula presente nas regiões abaixo de 500 cm^{-1} . Os polissacarídeos testados neste estudo apresentaram bandas divergentes nessa região podendo estar relacionado as diferenças estruturais de cada goma xantana influenciadas pelas variáveis de produção. Para trabalhos com outros polissacarídeos como amilopectina/amilose são descritas bandas nos comprimentos de ondas de 571 a 579 cm^{-1} , equivalentes a hidrogênio fora de plano ligados a grupos O-H (WIERCIGROCH *et al.*, 2017).

A Figura 7 representa o gráfico da análise de componentes principais (PCA) dos espectros no infravermelho, primeiro componente principal (PC1) e segundo componente principal (PC2) correspondem a 87,5% da variância total.

Figura 7 - Análise de componentes principais PC1 e PC2 dos espectros das gomas xantanas no infravermelho



Fonte: A AUTORA, 2019.

Legenda: Gomas xantanas produzidas a partir do permeado de leite (GXPL), soro de leite desproteínizado (GXSD) e gomas xantanas comerciais (GXC1, GXC2 e GXC3).

Analisando o PCA foi possível perceber uma diferenciação entre as gomas xantanas. A partir do eixo PC1 as gomas xantanas GXC1, GXC2, GXSD e GXPL se correlacionam no componente primário positivamente. A amostra GXC3 não se relaciona com as outras amostras, esta goma comercial no espectro infravermelho apresentou bandas com menor intensidade em relação as demais.

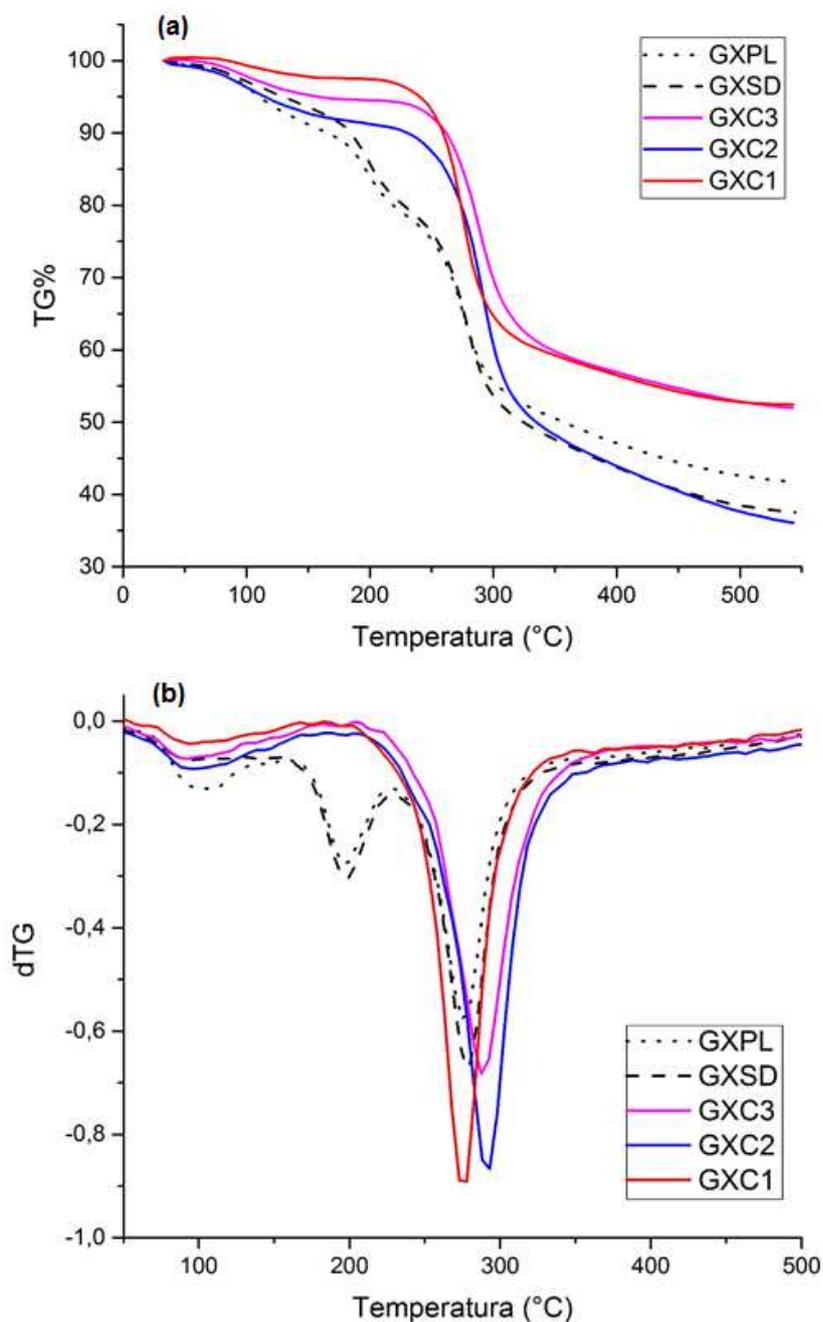
No eixo de PC2 as gomas xantanas GXSD e GXC3 se relacionam entre si, próximo a elas se encontra GXPL. As amostras GXC1 e GXC2 correlacionam entre si no componente secundário mas não se relacionam entre as outras amostras. Esse fato se deve a provável diferença entre as gomas devido às condições de produção (SILVA, 2017).

Pode-se concluir a partir do PCA que a GXC3 foi a goma xantana mais diferente e está bem afastada das demais, GXC1 e GXC2 possuem estruturas semelhantes, assim como GXPL e GXSD, como destacado no gráfico.

5.3.3 Análise termogravimétrica (TG/dTG)

O gráfico termogravimétrico (TG) e termogravimetria derivada (dTG) das gomas xantanas demonstraram a decomposição térmica e estão representados abaixo na Figura 8.

Figura 8 - Curvas termogravimétricas (a) e termogravimetria derivada (b) das gomas xantanas produzidas e comerciais.



Fonte: A AUTORA, 2019.

Legenda: Gomas xantanas produzidas a partir do permeado de leite (GXPL), soro de leite desproteínizado (GXSD) e gomas xantanas comerciais (GXC1, GXC2 e GXC3).

Na análise termogravimétrica é possível perceber que as gomas xantanas apresentaram perfil de decomposição com pequena perda de massa no início do processo e uma perda acentuada de massa a partir de 200 °C. Analisando o gráfico

da termogravimetria derivada, as gomas xantanas comerciais apresentaram dois estágios de decomposição térmica em faixas de temperaturas semelhantes, entretanto as gomas xantanas produzidas apresentaram três estágios de decomposição térmica.

No primeiro estágio, a primeira perda de massa refere-se a perda de água estrutural, ocorreu entre 34 e 167 °C, correspondendo a 8% da massa total de GXPL, 7% da massa total de GXSD, enquanto para as gomas comerciais GXC1, GXC2, GXC3 as perdas foram 3%, 4%, 5% respectivamente. Segundo Faria *et al.* (2011) a absorção de água pela goma xantana ocorre devido à presença em sua estrutura de grupos polares especialmente –OH. No trabalho de Villetti *et al.* (2002) a análise de TG para goma xantana apresentou dois estágios de decomposição térmica, sendo o primeiro associado a perda de água e o segundo a degradação do polissacarídeo.

No segundo estágio há a decomposição térmica na faixa de temperatura de entre 230 - 303°C, perda de massa de 32% para GXC1, 42% para GXC2 e 32% para GXC3, demonstrando estabilidade térmica similar para todas estas gomas xantanas analisadas. Esses dois estágios de perda de massa e faixas de temperaturas estão de acordo com a literatura para goma xantana (VILLETTI *et al.*, 2002; ZOHURIAAN, M. J.; SHOKROLAHI, 2004; FARIA *et al.*, 2011; TRINDADE; MUNHOZ; BURKERT, 2018).

Para as gomas xantanas produzidas, a faixa de decomposição do segundo estágio foi de 170 – 215 °C e perda de 19% para GXPL e 18% para GXSD. No terceiro do estágio a faixa foi de 250 – 290°C e perda de 42% para GXPL e 43% para GXSD. Horn (2008) analisou a TG de uma goma xantana comercial encontrando três estágios de decomposição, o primeiro entre 25°- 150°C relacionado a perda de água, o segundo de 150°C – 400°C relacionado a degradação do polímero e o terceiro de 400° - 550°C resultando na carbonização da goma xantana.

A presença de três estágios de decomposição térmica para as gomas xantanas produzidas, diferente das gomas xantanas comerciais que apresentaram apenas dois estágios, pode ser explicado pela variação dos fatores operacionais de produção, como o próprio meio de produção oriundo dos derivados lácteos, já que as gomas xantanas comerciais são produzidas a partir de outras matrizes, sendo assim outros

estudos devem ser feitos para investigar esta relação de substrato, estrutura da molécula e sua estabilidade térmica.

5.3.4 Análise de cor

Os parâmetros da análise colorimétrica das amostras de gomas xantanas se encontram na Tabela 4, os dados são referentes a luminosidade (L^*), coordenada cromática a^* (a^*), coordenada cromática b^* (b^*) e índice de brancura (Wh).

Tabela 4 - Valores dos parâmetros colorimétricos das amostras de goma xantana

Gomas xantanas	L^*	a^*	b^*	Wh
GXC1	91,78 ± 0,80 ^a	-0,94 ± 0,10 ^a	10,71 ± 0,38 ^c	86,45 ± 0,21 ^a
GXC2	92,01 ± 0,03 ^a	-0,32 ± 0,01 ^b	11,96 ± 0,17 ^c	85,61 ± 0,15 ^a
GXC3	87,3 ± 0,44 ^b	-0,13 ± 0,08 ^c	18,69 ± 0,31 ^a	77,40 ± 0,49 ^b
GXPL	89,69 ± 3,48 ^{ab}	0,91 ± 0,09 ^d	9,66 ± 2,39 ^c	85,83 ± 4,92 ^a
GXSD	76,38 ± 1,76 ^c	3,48 ± 0,13 ^e	14,70 ± 1,39 ^b	71,90 ± 0,86 ^c

Fonte: A AUTORA, 2019.

Valores seguidos de letras minúsculas na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste *t-Student* ao nível de significância de 5%.

Legenda: L^* - luminosidade; a^* - coordenada cromática a^* (-verde/+vermelho); b^* - coordenada cromática b^* (-azul/+amarelo); Wh – índice de brancura; GXPL - goma xantana produzida do permeado de leite; GXSD - goma xantana produzida soro de leite desproteínizado; GXC1, GXC2 e GXC3 - gomas xantanas comerciais.

De acordo com os dados apresentados, as gomas xantanas produzidas GXPL e GXSD apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) para todos os parâmetros, L^* , a^* , b^* e Wh. Na coordenada cromática a^* , resultados negativos representam tendência à tonalidade vermelha e valores positivos tendência à tonalidade verde. Todas as gomas xantanas testadas foram estatisticamente diferentes, sendo que as gomas comerciais apresentaram leituras negativas e as gomas xantanas produzidas leituras positivas. Na coordenada cromática b^* , valores negativos representam tendência à tonalidade azul e valores positivos tendência à coloração amarela. Houve diferença significativa entre as gomas xantanas testadas, porém todas as leituras encontradas foram positivas.

Das gomas comerciais analisadas GXC1 e GXC2 não diferiram significativamente nos parâmetros L^* , b^* e Wh, já GXC3 diferiu significativamente de

GXC1 e GXC2 em todos os parâmetros. A goma xantana produzida pelo permeado de leite, GXPL, não apresentou diferença significativa às gomas comerciais para as coordenadas L* e Wh. Misra *et al.* (2018) destacaram que a cor da goma xantana é importante na perspectiva comercial onde o parâmetro brancura (Wh) é um atributo desejável, sendo aceitável industrialmente o valor superior a 76 para a maioria das aplicações em alimentos. Nas gomas testadas GXPL, GXC1, GXC2 e GXC3 observou-se leituras superiores a esse valor e apenas GXSD apresentou média inferior com o resultado de 71,90 neste parâmetro. A goma produzida GXSD apresentou resultados com diferença significativa das demais gomas comerciais e GXPL em todas as coordenadas avaliadas.

Apesar das gomas serem produzidas com diferentes substratos, a GXPL aproximou-se mais da coloração das gomas comerciais provavelmente associado a cor inicial do próprio meio de fermentação constituído do permeado de leite. A GXSD apresentou aspecto visível mais escuro e distanciou-se das demais gomas xantanas, esse fato pode ter influência da própria coloração do meio de cultura formado pelo SD que apresentava coloração mais alaranjada, possível relação com a formação de melanoidinas no meio devido ao maior percentual de proteínas maximizando a reação de *Maillard* (NASCIMENTO *et al.*, 2015). Resultados semelhantes foram descritos por Silva (2017) para análise de cor de meio constituído de soro de leite esterilizado e soro de leite desproteínizado e esterilizado, ressaltando o impacto do percentual de proteínas e a coloração final do biopolímero produzido. O fator cor pode impactar as formulações que contêm a goma xantana como aditivo, pois é desejável que a mesma não interfira na cor final do produto produzido.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, o PL apresentou menor teor de lactose, proteína e cinzas em relação ao SD, garantindo melhor aproveitamento dessas frações para outros usos e tornando este coproduto mais interessante economicamente para ser aproveitado como substrato fermentativo.

Ambos os coprodutos lácteos podem ser utilizados como substrato para a fermentação e produção de goma xantana utilizando a estirpe *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* n°1182, sendo uma ótima alternativa de reutilizar esses materiais, diminuindo o impacto ambiental e produzindo um biopolímero de grande valor agregado.

As propriedades reológicas das gomas xantanas produzidas e comerciais foram semelhantes, apresentando o mesmo comportamento. Na avaliação de viscosidade aparente considerando a gomas xantanas produzidas, a GXPL apresentou melhor resultado comparada à GXSD.

As gomas xantanas apresentaram na análise FTIR-ATR as mesmas bandas nos comprimentos de onda característicos desse polissacarídeo. Houve diferenciação representada na análise a divergência de picos na região inferior a 800cm^{-1} , demonstrando que o modo vibracional de cada molécula, representou suas estruturas diferentes. No PCA pode-se confirmar que houve maior diferenciação da GXC3 das demais gomas xantanas comerciais, semelhança entre a GXC1 e GXC2, e entre a GXPL e GXSD.

Os resultados termogravimétricos demonstraram diferença no comportamento termodinâmico das amostras. As gomas xantanas comerciais apresentaram dois estágios de perda de massa e as gomas xantanas produzidas três estágios, podendo ser atribuído a diferenças estruturais da goma. No entanto, os valores das faixas de temperaturas degradação térmica foram próximos.

Na análise de cor pode-se observar que a GXPL obteve resultados próximos as gomas xantanas comerciais, tornando satisfatória sua produção, considerando que o aspecto cor é um importante parâmetro a ser avaliado em caso de aditivos alimentares.

Este estudo demonstrou o potencial do PL como substrato para a produção de goma xantana, comparado ao SD. A goma xantana obtida a partir do PL apresentou melhores características tecnológicas e o baixo teor de proteínas presente neste substrato foi promissor para o processo fermentativo, permitindo que as proteínas lácteas possam ser destinadas a outras aplicações tecnológicas

REFERÊNCIAS

- AFFERTSHOLT T.; PEDERSEN, D.. In: The World of Food Ingredients **Whey & Lactose: Market Fueled by High Protein**, 2017. Disponível em: http://ewpa.euromilk.org/fileadmin/user_upload/Whey_and_Lactose_-_Market_Fueled_by_High_Protein.pdf. Acesso em: 31 jan. 2018.
- ALVES, M. P., MOREIRA, R. O., JÚNIOR, P. H. R., MARTINS, M. C. F., PERRONE, Í. T., DE CARVALHO, A. F.. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 3, p. 212-226, 2014.
- ANDRADE, J., PEREIRA, C. G., RANQUINE, T., AZARIAS, C. A., BELL, M. J. V., DOS ANJOS, V. C.. Long-Term Ripening Evaluation of Ewes' Cheeses by Fourier-Transformed Infrared Spectroscopy under Real Industrial Conditions. **Journal of Spectroscopy**, 2018.
- AUDIC, J.; CHAUFER, B.; DAUFIN, G.. Non-food applications of milk components and dairy co-products: A review. **Le Lait**, v. 83, n. 6, p. 417-438, 2003.
- AZARIAS, C. A. **Utilização da espectroscopia de infravermelho para determinação rápida do índice de maturação em queijos Pecorino, Maturado e Gouda fabricados com leite de ovelha**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados), Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2017.
- BALDASSO, C.; BARROS, T. C.; TESSARO, I. C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, v. 278, n. 1, p. 381-386, 2011.
- BARILE, D., TAO, N., LEBRILLA, C. B., COISSON, J. D., ARLORIO, M., & GERMAN, J. B.. Permeate from cheese whey ultrafiltration is a source of milk oligosaccharides. **International Dairy Journal**, v. 19, n. 9, p. 524-530, 2009.
- BRANDÃO, L.V.; NERY, T.B.R.; MACHADO, B.A. S.; ESPERIDIÃO, M.C.A.; DRUZIAN, J.I.. Produção de goma xantana obtida a partir do caldo de cana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 217-222, 2008.
- BRANS, G. Design of membrane systems for fractionation of particles suspensions. 2006. 146 p. Tese de Doutorado. Wageningen University, Netherlands, 2006.
- BRASIL. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 de março de 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea, **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 de agosto de 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 53, de 10 de abril de 2013. Projeto de Instrução Normativa e seu Anexo que estabelecem os

padrões de identidade e qualidade de soro de leite. **Diário Oficial da União**, 11 de abril de 2013.

BORGES, C.D.; VENDRUSCOLO, C.T.. Goma Xantana: características e condições operacionais de produção. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 29, n. 2, p. 171-188, 2008.

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

BURRINGTON, K.. In: U.S. DAIRY EXPORT COUNCIL. **U.S. Whey and Milk Permeate**, 2015. Disponível em: <http://www.thinkusadairy.org/assets/Documents/Customer%20Site/C1-Discover%20US%20Dairy/C1.3-Products/US%20Whey-Milk-Permeate-Overview.pdf>. Acesso em 26 jan. 2018.

BYLUND, G. Membrane filters. **Dairy Processing Handbook**. Ed. Tetra Park. cap 6, p.131-140, 1996.

CANALES, A.L.M.; DE LA FUENTE, E.B.; FENTANES, E.G.. Biopolímeros In: GARIBAY, M.G.; RAMÍREZ, R.Q.; CANALES, A.L.M.. **Biotecnología alimentaria**. Mexico, p. 431-439, 2004

CANILHA, L; SILVA D.D.V.; CARVALHO, W.; MANCILHA, I.M.. Aditivos alimentares produzidos por via fermentativa parte 3: polissacarídeos e enzimas. **Revista Analytica**, São Paulo, v. 20, p. 32-41, 2006.

CARRILHO, L. H.. Benefícios da utilização da proteína do soro de leite whey protein. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 7, n. 40, 2013.

CEVOLI, C.; BALESTRA, F.; RAGNI, L.; FABBRI, A.. Rheological characterisation of selected food hydrocolloids by traditional and simplified techniques. **Food hydrocolloids**, 33, p.142-150, 2013.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Conjuntura Mensal Especial Leite e Derivados**, Brasília, DF, Abril, 2017.

CORBATÓN-BÁGUENA, M. J.; ÁLVAREZ-BLANCO, S.; VINCENT-VELA, M. C.. Fouling mechanisms of ultrafiltration membranes fouled with whey model solutions. **Desalination**, v. 360, p. 87-96, 2015.

COSTA, M. R.. **Obtenção de ingrediente lácteo enriquecido em lipídeos polares a partir de leite de soro**. 2008. 92p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

CUNHA, P. L. R.; PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A.. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, 2009.

DA SILVA, L. C. C.; TARGINO, B. N., FURTADO, M. M., DE OLIVEIRA PINTO, M. A., RODARTE, M. P., HUNGARO, H. M.. **Xanthan: Biotechnological Production**

and Applications. In: Microbial Production of Food Ingredients and Additives, p. 385-422, 2017.

DEMAN, J. M. **Principles of Food Chemistry.** Third Edition. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland, 1999.

DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, E. T. G.. Princípios e aplicações de análise térmica. **Instituto de Química de São Carlos, São Carlos/SP, 2012.**

DE WIT, J. N. **Lecturer's handbook on whey and whey products.** European whey products association, Brussels, 2001.

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

DINIZ, D.M.; DRUZIAN, J.I.; AUDIBERT, S.. Produção de Goma Xantana por Cepas Nativas de *Xanthomonas campestris* a Partir de Casca de Cacau ou Soro de Leite. **Polímeros**, v. 22, n. 3, p. 278-281, 2012.

DOHERTY, S. B., GEE, V. L., ROSS, R. P., STANTON, C., FITZGERALD, G. F., BRODKORB, A.. Development and characterisation of whey protein micro-beads as potential matrices for probiotic protection. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 6, p. 1604-1617, 2011.

DONOT, F.; FONTANA, A.; BACCOU, J.C.; SCHORR-GALINDO, S. Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 951–962, 2012.

DOSSIÊ. Gomas. **Food Ingredients Brasil.** Editora Insumos Ltda. São Paulo, n. 32, p. 28-48, 2015. Disponível em: www.revista-fi.com/materias/441.pdf Acesso em: 20/01/2018.

EMBRAPA. **Indicadores: Leite e Derivados.** Embrapa Gado de Leite. Juiz de Fora, ano 10, n. 86, Janeiro, 2019.

ERDEM, İ.; ÇİFTÇİOĞLU, M.; HARSA, Ş.. Separation of whey components by using ceramic composite membranes. **Desalination**, 189.1-3: 87-9, 2006.

FARIA, S.. **Produção de Goma xantana empregando caldo de cana por *Xanthomonas campestris pv campestris* NRRL B-1459.** 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

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

FEAM. Fundação Estadual do Meio Ambiente. **Índice de avaliação da qualidade do monitoramento dos efluentes líquidos industriais de laticínios Relatório Final.** Belo Horizonte, p. 3-11, 2015.

FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, D.; VEILLETTE, M.; GIROIR-FENDLER, A.; RAMIREZ, A. A.; FAUCHEUX, N.; HEITZ, M.. Biovalorization of saccharides derived from industrial wastes such as whey: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v.16, n.1, p.147-174, 2017.

FERREIRA, M. D.; SPRICIGO, P. C. **Colorimetria - princípios e aplicações na agricultura**. In: FERREIRA, M. D. (Ed.técnico). Instrumentação pós-colheita em frutas e hortaliças, São Carlos: Embrapa Instrumentação, p. 209-220, 2017.

FITZSIMONS, S.M.; MULVIHILL, D. M.; MORRIS, E.R. Denaturation and aggregation processes in thermal gelation of whey proteins resolved by differential scanning calorimetry. **Food hydrocolloids**, v. 21, n. 4, p. 638-644, 2007.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 7, p. 549-579, 2000.

GEILMAN, W. G., SCHMIDT, D., HERFURTH-KENNEDY, C., PATH, J., CULLOR, J.. Production of an electrolyte beverage from milk permeate. **Journal of dairy science**, v. 75, n. 9, p. 2364-2369, 1992.

GIAVASIS, I.; HARVEY, L. M.; MCNEIL, B.. Gellan gum. **Critical reviews in biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 177-211, 2000.

HABERT, A. C. **Processos de separação por membranas**. E-papers, Rio de Janeiro, 180 p., 2006.

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

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Whey protein: composition, nutritional properties, applications in sports and benefits for human health. **Revista de nutrição**, v. 19, n. 4, p. 479-488, 2006.

HORI, R; SUGIYAMA, J.. A combined FT-IR microscopy and principal component analysis on softwood cell walls. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, n. 4, p. 449-453, 2003.

HORN, M. M. **Obtenção e caracterização de hidrogéis de quitosana, xantana e colágeno aniônico**. 2008. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 2008.

HÚNGARO H.M.; CALIL, N.O.; FERREIRA, A.S.; CHANDEL, A.N.; SILVA, S.S. Fermentative production of ribonucleotides from whey by *Kluyveromyces marxianus*: effect of temperature and pH. **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n.5, p. 958-964, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo, 4. ed., 2005.

IONASHIRO, M. **Princípios básicos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial**. Giz Editorial, Araraquara, 2004.

IZYDORCZYK, M.; CUI, S. W.; WANG, Q.. Polysaccharide gums: structures, functional properties, and applications. **Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications**, p. 263-307, 2005.

KENNEDY, J.F.; JONES, P.; BARKER, S.A.; BANKS, G.T.. Factors affecting microbial growth and polyssacharide production during the fermentation of *Xanthomonas campestris* cultures. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v.4, n.1, p.39-43, 1982.

KOOL, M. M., GRUPPEN, H., SWORN, G., SCHOLS, H. A.. The influence of the six constituent xanthan repeating units on the order–disorder transition of xanthan. **Carbohydrate polymers**, 104, 94-100, 2014.

LIEVORE, P.; SIMÕES, D.R.; SILVA, K.M.; DRUNKLER, N.L.; BARANA, A.C.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I.M.. Chemical characterisation and application of acid whey in fermented milk. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. (4), p. 2083–2092, 2015.

LISBOA, C. R. **Síntese Enzimática de Galacto-Oligossacarídeos a Partir de Lactose e Soro de Leite**. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2008.

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

LUVIELMO, M. M.; BORGES, C. D.; TOYAMA, D. D. O.; VENDRUSCOLO, C. T.; SCAMPARINI, A. R. P.. Structure of xanthan gum and cell ultrastructure at different times of alkali stress. **Brazilian Journal of Microbiology**, n. 47(1), p. 102-109, 2016.

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

MALAJOVICH, M. A.. **Biotecnología**. Segunda Edição, Rio de Janeiro: *Biotecnologia: ensino e divulgação*, 2016.

MANOJLOVIC, D.; LENHARDT, L.; MILIĆEVIĆ, B.; ANTONOV, M.; MILETIC, V.; DRAMIĆANIN, M. D.. Evaluation of staining-dependent colour changes in resin composites using principal component analysis. **Scientific reports**, 5, 14638, 2015.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Laboratório Nacional Agropecuário LANAGRO/RS. Laboratório de Produtos de Origem Animal. Método de Ensaio MET POA/23/01/01 Determinação de Lipídios em Leite e Derivados Lácteos pelo Método de Roesse-Gottlieb. Porto Alegre/RS, 2013. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/arquivos-metodos-da-area-poa-iqa/met-poa-23-01-lipidios-em-leite-desnatado.pdf> Acesso em: 20/08/2018.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Laboratório Nacional Agropecuário LANAGRO/RS. Laboratório de Produtos de Origem Animal. Método de Ensaio MET POA/11/02/01 Determinação de Nitrogênio Total em Leite e derivados Lácteos pelo método de Micro-Kjedahl. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Porto Alegre/RS, 2013. Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/arquivos-metodos-da-area-poa-iqa/met-poa-11-02-proteinas.pdf> Acesso em: 20/08/2018.

MARCOTTE, M.; TAHERIAN HOSHAHILI, R. A.; RAMASWAMY, S. H.. Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. **Food Research International**, 34, p.695 - 703, 2001.

MENCHIK, P.; ZUBER, T.; ZUBER, A.; MORARU, C. I.. Composition of coproduct streams from dairy processing: Acid whey and milk permeate. **Journal of dairy science**, 2019.

MENEZES, J.D. S.; DRUZIAN, J.I.; PADILHA, F.F; DE SOUZA, R.R.. Produção biotecnológica de goma xantana em alguns resíduos agroindustriais, caracterização e aplicações. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 8, n. 8, p. 1761-1776, 2012.

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

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959.

MINAS GERAIS. Deliberação Normativa COPAM nº 041, de 06 de janeiro de 2000 Altera a redação do item 26.40.00, relativo à atividade de preparação do leite e fabricação de produtos de laticínios, constante do Anexo Único da Deliberação Normativa COPAM nº 038, de 19 de novembro de 1999. Conselho Estadual de Política Ambiental – COPAM. **Diário do Executivo**, Minas Gerais, 12 de janeiro de 2000.

MISRA, N. N.; YONG, H. I.; PHALAK, R.; JO, C.. Atmospheric pressure cold plasma improves viscosifying and emulsion stabilizing properties of xanthan gum. **Food Hydrocolloids**, v. 82, p. 29-33, 2018.

MOLLEA, C.; MARMO, L.; BOSCO, F.. In: Food Industry InTech. **Valorisation of cheese whey, a by-product from the dairy industry**, 2013. c. 24, p. 549-580.

MONTEIRO, V.N., SILVA, R. D. N. Aplicações industriais da biotecnologia enzimática. **Revista processos químicos**, v. 3, n. 5; p. 9-23, 2009.

MOOSAVI-NASAB, M.; SHEKARIPOUR, F.; ALIPOOR, M. Use of date syrup as agricultural waste for xanthan production by *Xanthomonas campestris*. **Iran agricultural Research**, v. 27, n. 1-2, 2009.

MORRIS, V. J. Bacterial Polysaccharides. In: STEPHEN, A. M.; PHILLIPS, G.O.; WILLIAMS, P. A.. **Food Polysaccharides and Their Applications**. Boca Raton, 2006. c. 12. p. 413-454.

MOUSSOUT, H.; AHLAFI, H.; AAZZA, M.; BOURAKHOUDAR, M. Kinetics and mechanism of the thermal degradation of biopolymers chitin and chitosan using thermogravimetric analysis. **Polymer Degradation and Stability**, v. 130, p. 1-9, 2016.

NASCIMENTO, A. P. S.; PINTO, A. L.; FREITAS, J. M. S.; SOUSA, F. C.. Efeitos da relação tempo/temperatura e concentração/pH na reação de Maillard em diferentes açúcares. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 5(1), p. 01-08, 2015.

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

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

NITSCHKE, M.; RODRIGUES, V.; SCHINATTO, L. F. Formulação de meios de cultivo à base de soro de leite para a produção de goma xantana por *X. campestris* C7L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p.82-85, jan. 2001.

OLIVEIRA, D.F.; BRAVO, C. E. C.; TONIAL, I. B. Soro de leite: um subproduto valioso. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n.385, p. 64-71, 2012.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L.. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, 34(7), 1224-30. 2011.

OLIVEIRA, S. H.. **Produção de goma xantana a partir de soro de leite por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.

PELEGRINE, D. H. G. e CARRASQUEIRA, R. L.. Aproveitamento do soro do leite no enriquecimento nutricional de bebidas. **Brazilian Journal of Food Technology**, VII BMCFB, dez. 2008

PRAZERES, A. R.; CARVALHO, F.; RIVAS, J.. Cheese whey management: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 110, p. 48-68, 2012.

RIBEIRO, D. M. **Evolução das propriedades físicas, reológicas e químicas durante o amadurecimento da banana 'prata-anã'**. 2006. 126 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

RIBEIRO-SANTOS, R.; SOUZA, A. L. R.; TROMBETE, F. M.; MELO, N. R.. Proteína do soro de leite: Aproveitamento e aplicações na produção de embalagem

biodegradável. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.10, n.5, p. 51-58, 2015.

SAVVIDES, A. L., KATSIFAS, E. A., HATZINIKOLAOU, D. G., KARAGOUNI, A. D.. Xanthan production by *Xanthomonas campestris* using whey permeate medium. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28(8), p. 2759-2764, 2012.

SILVA, L. C. C.. **Utilização do soro de leite em bioprocesso para a produção de goma xantana**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados), Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2017.

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

SMITH, S. T.; METZGER, L.; DRAKE, M. A. Evaluation of whey, milk, and delactosed permeates as salt substitutes. **Journal of dairy science**, v. 99, n.11, p. 8687-8698, 2016.

SOUZA, D.M.; GARCIA-CRUZ, C.H.. Produção fermentativa de polissacarídeos extracelulares por bactérias. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 25, n. 4, p. 331-340, 2004.

STOLIAR, M.. In: US dairy export council. **US whey ingredients in bakery products. Applications monograph bakery**, USA, 2009. p. 1-8.

TALABARDON, M.; SCHWITZGUÉBEL, J.P.; PÉRINGER, P.. Anaerobic thermophilic fermentation for acetic acid production from milk permeate. **Journal of biotechnology**, 76.1, p. 83-92, 2000.

TEIXEIRA, L. V.; FONSECA, L. M. Physical-chemical profile of the whey of Minas-padrão and Mozzarella cheeses produced in some regions of Minas Gerais state. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 243-250, 2008.

TEIXEIRA, S. M. B. **Utilização de leiteiro no desenvolvimento de bebida láctea simbiótica**. 2013. 171p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

TRINDADE, R. A.; MUNHOZ, A. P.; BURKERT, C. A. V.. Impact of a carbon source and stress conditions on some properties of xanthan gum produced by *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.15, p. 167-172, 2018.

VIEIRA, A. H.. **Elaboração e estabilidade de queijo minas frescal de leite de búfala concentrado por ultrafiltração e com reduzido teor de sódio**. 2014 Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados), Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2014.

VILLETTI, M. A.; CRESPO, J. S.; SOLDI, M. S.; PIRES, A. T. N.; BORSALI, R.; SOLDI, V.. Thermal degradation of natural polymers. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, 67(2), 295-303, 2002.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M.; GEURTS, T.J.. **Dairy Science and Technology**. 2 ed. New York: CRC Press, 2006.

WIERCIGROCH, E.; SZAFRANIEC, E.; CZAMARA, K.; PACIA, M. Z.; MAJZNER, K.; KOCHAN, K.; KACZOR, A.; BARANSKA, M.; MALEK, K.. Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: a review. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 185, 317-335, 2017.

WOICIECHOWSKI, A. L.; DE CARVALHO, J. C., SPIER, M. R., HABU, S., YAMAGUISHI, C. T., GHIGGI, V., & SOCCOL, C. R.. In: Biotecnologia de alimentos. **Emprego de resíduos agroindustriais em bioprocessos alimentares**, São Paulo, Rio de Janeiro e Belo Horizonte, 2013. v. 12, cap.6, p. 143-172.

ZACARCHENCO, P. B.; VAN DENDER, A. G. F.; SPADOTI, L. M.; GALLINA, D. A.; TRENTO, F. K. H. S.; ALVES, A. T. S.. Permeado de soro: aplicações que agregam valor aos coprodutos do leite. **Anuário Leite e Derivados**, n. 131, p. 48-55, 2012.

ZYDNEY, A. L. Protein separations using membrane filtration: new opportunities for whey fractionation. **International Dairy Journal**, v8.3, p 243-250, 1998.

ZOHURIAAN, M. J.; SHOKROLAHI, F. Thermal studies on natural and modified gums. **Polymer Testing**, 23, 575-579, 2004.