

PRODUÇÃO DE BIOPOLÍMERO SINTETIZADO POR *Sphingomonas capsulata* A PARTIR DE MEIOS INDUSTRIAIS

Biopolymer production synthetized by *Sphingomonas capsulata*, using industrial media

Ana Luiza da Silva Berwanger¹, Adilma Regina Pippa Scamparini², Natalia Molossi Domingues³, Larissa Tonial Vanzo³, Helen Treichel⁴, Francine Ferreira Padilha⁵

RESUMO

Com este trabalho, avaliou-se a produção de biopolímero sintetizado por *Sphingomonas capsulata* ATCC 14666, utilizando-se os meios industriais melaço bruto e pré-tratado e resíduo de proteína texturizada de soja (PTS). Foram testadas diferentes concentrações de meios industriais (2,66, 4, 6 e 8%), cujas condições de fermentação utilizadas foram $28^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 208 rpm, 72 h. Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados foram avaliados estatisticamente mediante o teste de Tukey. As melhores produtividades foram obtidas para melaço pré-tratado 8% ($0,290 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$), seguida de extrato aquoso de resíduo de PTS 6% ($0,240 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$) e melaço bruto 8% ($0,190 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$). A qualidade reológica das gomas foi demonstrada através da leitura de viscosidade aparente de soluções aquosas e salinas a 25 e 60°C.

Termos para indexação: Biopolímeros, gênero *Sphingomonas*, meios industriais.

ABSTRACT

This work studied the biopolymer production by *Sphingomonas capsulata* ATCC 14666 using industrial raw material and pretreated molasses and aqueous extract of textured soy protein (TSP). Different concentrations of industrial media (2.66, 4, 6 and 8 w/t%) were evaluated at $28^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 208rpm, 72h, were the fermentation conditions utilized. Triplicate assays were conducted and Tukey's test was used. The highest productivity were obtained for 8% of pretreated molasses ($0,290 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$), 6% of aqueous extract of TSP ($0,240 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$) and 8% raw molasses ($0,190 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$), respectively. The rheological behavior of aqueous and saline (NaCl and CaCl_2 3% wt/v) solutions of biopolymers were investigated by apparent viscosity analysis at 25 and 60°C.

Index terms: Biopolymers, *Sphingomonas* genus, industrial media.

(Recebido para publicação em 8 de setembro de 2005 e aprovado em 14 de agosto de 2006)

INTRODUÇÃO

Atualmente, observa-se um crescente interesse na produção de polissacarídeos obtidos por processos fermentativos, utilizando-se microrganismos capazes de converter determinados substratos em gomas que formam géis e soluções viscosas em meio aquoso.

A produção de biopolímeros microbianos apresenta-se como uma alternativa às gomas de origem vegetal, por possuírem propriedades físico-químicas de elevado interesse industrial e que são essenciais para definir sua aplicação final (PACE, 1991).

Diversos biopolímeros têm sido produzidos e utilizados comercialmente, enquanto outros tantos vêm sendo estudados, porém dextrana, xantana e gelana são praticamente ainda os únicos polissacarídeos microbianos comercializados em larga escala, tendo elevada importância no mercado de gomas (MAUGERI, 2001).

Esses biopolímeros microbianos podem ser produzidos em meio líquido, pelo cultivo do microrganismo em meio contendo fonte de carbono e sais minerais ou por via enzimática, utilizando enzimas purificadas, sem adição do microrganismo (MOREIRA et al., 2003).

Bactérias do gênero *Sphingomonas* produzem biopolímeros como gelana, welana, ramsana e diutana que têm características gelificantes, alta viscosidade e melhor estabilidade térmica do que outras gomas, despertando interesse das indústrias de alimentos, farmacêutica e petroquímica (MAUGERI, 2001; MORRIS et al., 1996; NAVARRETE & SHAH, 2001).

A utilização, em processos fermentativos, de substratos alternativos de baixo custo, tais como: resíduos agro-industriais, permite a redução dos custos de produção, minimizando problemas ambientais, pois auxilia na destinação desses resíduos (WOICIECHOWSKI, 2001). Glicose e sacarose são usadas como fontes de carbono

¹ Mestre em Engenharia de Alimentos – URI Campus de Erechim, docente da Universidade do Contestado/UNC – Campus Concórdia.

² Doutora em Ciência de Alimentos – UNICAMP, docente da Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP – Campinas, SP

³ Graduandas em Engenharia de Alimentos da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões/URI – Campus de Erechim.

⁴ Doutora em Engenharia de Alimentos – UNICAMP, docente da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões/URI – Campus de Erechim.

⁵ Doutora em Ciência de Alimentos – UNICAMP, pesquisadora do Instituto de Tecnologia e Pesquisa/ITP e docente da Universidade Tiradentes/UNIT – Av. Murilo Dantas, 300 – Prédio do ITP – Farolândia – 49.032-490 – Aracaju, SE – fpadilha@yahoo.com.br

preferenciais para a produção de biopolímeros (SUTHERLAND, 2002), porém, algumas fontes alternativas têm sido sugeridas, tais como melaço, resíduo da indústria de soja, soro de leite entre outros (BAE & SHODA, 2004; JIN et al., 2003; KALOGIANNIS et al., 2003; NITSCHKE et al., 2001).

O melaço é um subproduto do processo de produção de açúcar, tanto o açúcar de beterraba quanto açúcar de cana, sendo definido como um xarope que escoa do estágio final da cristalização do açúcar. É uma das fontes de carbono mais econômica na indústria microbiana, sendo usado como substrato em fermentações (BAE & SHODA, 2004; KALOGIANNIS et al., 2003).

O subproduto do processamento da soja, é uma rica fonte de proteínas, vendido como resíduo, de baixo valor econômico. Dependendo do processo de obtenção, possui também valores significativos de carboidratos; por exemplo, o resíduo do processo de proteína texturizada de soja possui em torno de 28-32% de carboidratos e 50-54% de proteínas (MARSUL PROTEÍNAS LTDA, 2004; SOY PROTEIN COUNCIL, 1987).

O soro de leite, resultante da fabricação de queijos vem sendo estudado como uma fonte alternativa para a produção de goma xantana. A produção diária de soro de leite atinge quantidades muito elevadas e seu descarte representa um sério problema ambiental. Entretanto, possui alto teor de lactose além de proteínas e sais minerais, constituindo um meio de cultura rico e de fácil obtenção (NITSCHKE et al., 2001).

Porém, os meios industriais utilizados para a produção de polissacarídeos são bastante complexos e alguns de seus componentes podem ser responsáveis pela inibição da produção destes, ou ainda, dificultar sua posterior recuperação e purificação (TREICHEL, 2004). Altas concentrações de metais pesados no meio causam problemas críticos durante a fermentação, tais como inibição do crescimento microbiano, influenciam o pH do substrato e estão envolvidos na inativação das enzimas associadas com a biossíntese do produto (ROUKAS, 1998). Entretanto, contaminantes como metais pesados e inibidores específicos são removidos parcialmente com pré-tratamentos (KALOGIANNIS et al.,

2003). Estes pré-tratamentos clarificam o meio sem provocar prejuízos na fermentação, garantindo maior facilidade na extração e purificação de bioprodutos (TREICHEL, 2004).

Assim, esse trabalho teve como objetivo a produção de biopolímero por *Sphingomonas capsulata* ATCC 14666, utilizando-se os meios industriais melaço bruto, melaço pré-tratado e resíduo de proteína texturizada de soja.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismo

Foi utilizado o microrganismo *Sphingomonas capsulata* ATCC 14666, mantido em refrigeração, em meio YM (Yeast Malt) contendo (gL⁻¹): extrato de levedura 3,0; extrato de malte 3,0; peptona 5,0; glucose 10,0; ágar 20,0.

Produção de células

A produção de células foi realizada em meio YM líquido, em *erlenmeyers* de 300 mL com volume útil de 50 mL, em duas etapas. Primeiramente preparou-se um pré-inóculo, a partir de uma alçada de cultura crescida em ágar YM que foi inoculada em 50 mL de meio YM líquido e incubada em agitador orbital, com agitação de 120 rpm, a 28°C ± 2°C, 17 a 19 h. Após, preparou-se o inóculo, transferindo assépticamente 1 mL de pré-inóculo para *erlenmeyer* de 300 mL contendo 50 mL de meio YM líquido. Esse foi incubado em agitador orbital, com agitação de 120 rpm, a 28°C ± 2°C, 21 a 23h, quando atingiu uma concentração celular em torno de 10⁸ UFC/mL.

Produção e recuperação de biopolímero

A produção de polímero foi realizada utilizando melaço bruto, melaço pré-tratado e extrato aquoso de resíduo de proteína texturizada de soja (PTS) em três diferentes concentrações definidas em ensaios preliminares, de acordo com a Tabela 1. O meio de produção foi adicionado ao meio contendo as células e incubado em agitador orbital, com agitação de 208 rpm, a 28°C ± 2°C, 72h. O volume útil passou a ser de 150 mL.

TABELA 1 – Meios industriais e concentrações utilizadas.

Meio industrial	Concentrações utilizadas (%)
Melaço bruto	4, 6 e 8
Melaço pré-tratado	4, 6 e 8
Extrato aquoso de resíduo de PTS	2,66, 4 e 6

Após a fermentação o caldo foi centrifugado a 4700 rpm, 40 minutos, 4°C, para a sedimentação das células. O polissacarídeo foi recuperado do sobrenadante com a adição de álcool isopropílico P.A. (1:3), sendo deixado em refrigeração por 12 h. Transcorrido o tempo de refrigeração, as amostras foram centrifugadas a 4700 x rpm, 20 minutos, 4°C, para a recuperação do polímero precipitado que foi seco em estufa (50°C ± 5°C / 24h), pesado a peso constante, dialisado por 48 horas contra água ultrapurificada estéril, liofilizado e armazenado em frasco vedado para análises posteriores.

Os ensaios foram realizados em triplicata e a resposta avaliada foi produtividade. Os resultados foram avaliados estatisticamente através de teste de Tukey.

Pré-tratamento dos meios

O pré-tratamento do melaço e a obtenção do extrato aquoso de resíduo de PTS são mostrados nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

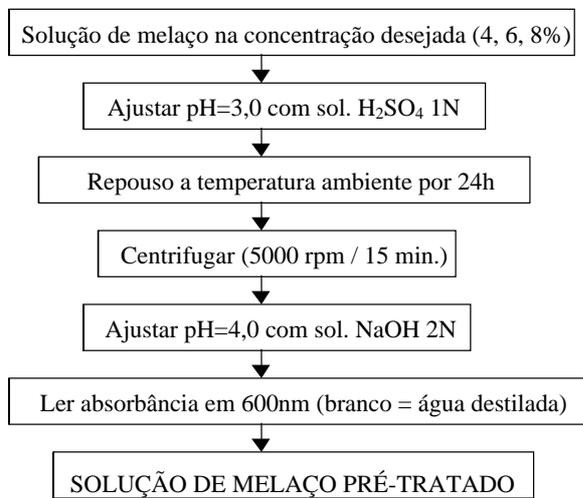


FIGURA 1 – Pré-tratamento do melaço.

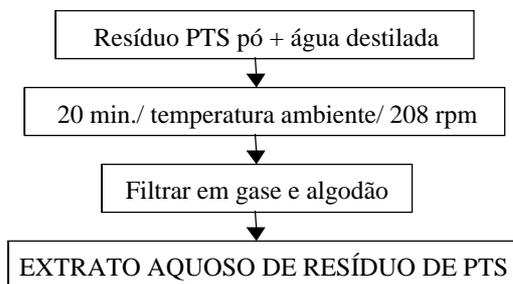


FIGURA 2 – Obtenção do extrato aquoso de resíduo de PTS.

Análises reológicas

A qualidade das gomas produzidas foi determinada através do comportamento reológico das soluções, em um reômetro digital marca Brookfield, modelo LVDV III+, acoplado a um banho-maria, marca Brookfield, modelo TC-502P; utilizando-se o adaptador para pequenas amostras, *spindle* 18. As leituras foram realizadas a intervalos de 10 s, variando-se a taxa de cisalhamento (0-264-0 s⁻¹), conforme a característica de cada uma das amostras.

As análises de viscosidade aparente foram realizadas em triplicata, para soluções aquosas e salinas (solução de NaCl 3% e solução de CaCl₂ 3%) das gomas produzidas a partir de melaço pré-tratado 8% e extrato aquoso de resíduo de PTS 6%, na concentração de 3% de goma (NAVARRETE & SHAH, 2001). Para as leituras de viscosidade das soluções aquosas foram utilizadas temperaturas de 25 e 60°C e para as soluções salinas, de 25°C.

Para confirmação do comportamento pseudoplástico das soluções de gomas, foi realizado o ajuste do modelo de Ostwald – de Waele ($s = K g^n$) aos dados experimentais, a partir de regressão linear, usando o *software Excel 2000*. Plotou-se $\log g \times \log s$, obtendo-se os valores de K (índice de consistência) e n (índice de fluxo) e as equações das retas (ida, quando aumenta-se a taxa de cisalhamento e volta, quando diminui-se a taxa de cisalhamento), podendo-se então, demonstrar o ajuste do modelo aos dados experimentais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Produtividade

As Tabelas 2, 3 e 4 apresentam a produtividade média e o desvio padrão das fermentações que utilizaram como meio de produção extrato aquoso de resíduo de PTS, melaço bruto e melaço pré-tratado, respectivamente.

A análise estatística dos resultados, através de teste de Tukey, foi realizada individualmente para cada meio, considerando as diferentes concentrações utilizadas e, posteriormente, foi realizado um teste de Tukey comparando as melhores concentrações dos três diferentes meios, ou seja, aquelas concentrações que forneceram as maiores produtividades. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Pela Tabela 2, mostra-se que todas as concentrações são significativamente diferentes e que a produtividade de goma aumenta com o aumento da concentração de extrato aquoso de resíduo de PTS no meio. Portanto, a maior

produtividade foi obtida para a concentração de 6% de meio. Na Tabela 3, observa-se que a concentração intermediária, 6%, não difere das demais ($p>0,05$), em relação à produtividade, porém quando utiliza-se a concentração de 8% houve um aumento significativo ($p<0,05$) na produtividade quando comparado a concentração de 4%.

Na Tabela 4, observa-se que as concentrações de 4 e 6% não diferem entre si ($p>0,05$), mas que a concentração de 8% é significativamente diferente das demais ($p<0,05$),

sendo que a maior produtividade foi obtida com a concentração de melão pré-tratado de 8%.

Analisando conjuntamente as concentrações que geraram maiores produtividades para os diferentes meios, observou-se que extrato aquoso de resíduo de PTS 6%, melão bruto 8% e melão pré-tratado 8% são iguais ($p<0,05$), mas melão bruto 8% e melão pré-tratado 8% são diferentes, sendo que as fermentações que utilizaram o melão pré-tratado 8% apresentaram as maiores produtividades (Tabela 5).

TABELA 2 – Produtividades médias obtidas usando diferentes concentrações de extrato aquoso de resíduo de PTS.

Condição	Produtividade média e desvio padrão*
Extrato aquoso de resíduo de PTS 2,66%	0,0795 ± 0,0029 ^a
Extrato aquoso de resíduo de PTS 4%	0,1348 ± 0,0052 ^b
Extrato aquoso de resíduo de PTS 6%	0,2437 ± 0,0158 ^c

*Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p<0,05$) pelo Teste de Tukey.

TABELA 3 – Produtividades médias obtidas usando diferentes concentrações de melão bruto.

Condição	Produtividade média e desvio padrão*
Melão bruto 4%	0,1051 ± 0,0168 ^b
Melão bruto 6%	0,1302 ± 0,0209 ^{ab}
Melão bruto 8%	0,1917 ± 0,0480 ^a

*Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p<0,05$) pelo Teste de Tukey.

TABELA 4 – Produtividades médias obtidas usando diferentes concentrações de melão pré-tratado.

Condição	Produtividade média e desvio padrão*
Melão pré-tratado 4%	0,1718 ± 0,0376 ^b
Melão pré-tratado 6%	0,1545 ± 0,0222 ^b
Melão pré-tratado 8%	0,2957 ± 0,0403 ^a

*Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p<0,05$) pelo Teste de Tukey.

TABELA 5 – Produtividades médias obtidas usando as melhores concentrações dos diferentes meios industriais.

Condição	Produtividade média e desvio padrão*
Extrato aquoso de resíduo de PTS 6%	0,2437 ± 0,0158 ^{a, b}
Melão bruto 8%	0,1917 ± 0,0480 ^b
Melão pré-tratado 8%	0,2957 ± 0,0403 ^a

*Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p<0,05$) pelo Teste de Tukey.

Os resultados obtidos nesse trabalho mostraram-se bastante satisfatórios quando comparados com a literatura. A produtividade de biopolímero média obtida quando utilizado como substrato o extrato aquoso de resíduo de PTS 6% foi de 0,24 g.L⁻¹.h⁻¹, sendo este utilizado como fonte de carbono e nitrogênio, sem suplementação adicional do meio com outros sais, enquanto, para a produção de goma gelana utilizando resíduo da indústria de molho de soja, Jin et al. (2003) conseguiram uma produção de 7,50 g.L⁻¹ de goma (que corresponde a uma produtividade de 0,10 g.L⁻¹.h⁻¹), em bioreator de 7 L, quando utilizaram um meio contendo 2% (p/v) de glicose e 2% (p/v) de resíduo de soja, sem nitrato de amônio.

Com o melaço bruto 8%, a produtividade de goma média foi de 0,19 g.L⁻¹.h⁻¹ e com melaço pré-tratado 8% esta aumentou para 0,29 g.L⁻¹.h⁻¹. Em ambos os casos o melaço foi usado como fonte de carbono e nitrogênio, sem qualquer suplementação do meio. Kalogiannis et al. (2003) obtiveram uma produtividade de polímero maior (2,21 g.L⁻¹.h⁻¹) porém, utilizaram praticamente o dobro da concentração de melaço (175 g.L⁻¹), além de suplementar o meio com sais.

Possivelmente, aumentando as concentrações de meios industriais, um aumento na produtividade de biopolímero também seria obtido, pois observou-se que a maior concentração de meio testado correspondia, em geral, a maior produtividade de biopolímero (Tabelas 2, 3 e 4).

Observou-se ainda que as produtividades obtidas com meios industriais foram bem superiores àquelas obtidas com o meio convencional, para a mesma condição de fermentação, ou seja, 28° ± 2°C, agitação de 208 rpm, e 72 h de fermentação (BERWANGER, 2005). Estes resultados indicam que é possível obter biopolímero a partir dos meios industriais avaliados, reduzindo os custos de produção, uma vez que os substratos utilizados são subprodutos da agroindústria, de baixo valor agregado.

A continuidade dos estudos com estes meios industriais, visando a otimização do meio de produção,

através do melhor ajuste da relação carbono/ nitrogênio (C:N), realizando-se a suplementação dos meios com outras fontes de nitrogênio, tais como a água de maceração de milho, bem como a utilização conjunta de melaço e resíduo de PTS poderá resultar em melhora da produtividade e da qualidade dos biopolímeros obtidos.

Comportamento reológico

As soluções (aquosas e salinas) das gomas apresentaram comportamento pseudoplástico, isto é, a viscosidade aparente decresceu com o aumento da taxa de cisalhamento. De acordo com a literatura, esse comportamento é esperado em soluções poliméricas de polissacarídeos microbianos (AMANULLAH et al., 1996; CACIK et al., 2001; PADILHA, 2003; RAO et al., 2003).

As soluções aquosas de gomas produzidas com os meios industriais apresentaram qualidade reológica inferior a goma produzida com meio convencional (Tabela 6), em ambas temperaturas, sendo que a produzida com melaço pré-tratado 8% foi superior a produzida com extrato aquoso de resíduo de PTS 6%, 9,1 cP e 5,3 cP, para 25 e 60°C, respectivamente, a uma taxa de cisalhamento de 13,2 s⁻¹.

A influência negativa da temperatura sobre a viscosidade aparente das soluções aquosas foi comprovada, uma vez que os valores de viscosidade foram menores, para as mesmas taxas de cisalhamento, quando a temperatura utilizada para a leitura aumentou de 25°C para 60°C, conforme mostrado na Tabela 6.

Ao contrário do esperado, a adição de sais não melhorou o comportamento reológico das soluções, uma vez que as soluções salinas apresentaram viscosidades aparentes menores do que as soluções aquosas.

O ajuste do modelo de Ostwald – de Waele aos dados experimentais demonstrou que todos os coeficientes de correlação foram superiores a 0,99, indicando uma boa representação dos valores experimentais pelo modelo.

TABELA 6 – Viscosidades aparentes a 25 e 60°C, 13,2 s⁻¹, para gomas sintetizadas a partir de meio convencional e melaço pré-tratado 8%.

T leitura (°C)	Goma sintetizada a partir de	Viscosidade (cP)
25	Meio convencional	167,16
	Melaço pré-tratado 8%	108,86
60	Meio convencional	57,63
	Melaço pré-tratado 8%	38,85

Aspecto do biopolímero

Observou-se diferença na coloração dos biopolímeros obtidos a partir dos diferentes meios de produção. Aquele produzido a partir de sacarose 4% (meio convencional) apresentou uma coloração creme clara, enquanto aquele produzido a partir de extrato aquoso de resíduo de PTS 6% mostrou uma coloração mais amarelada e os produzidos a partir de melaço tiveram coloração bastante escura, sendo o de melaço pré-tratado um pouco mais claro que o de melaço bruto.

Cabe ressaltar que a coloração do biopolímero obtido a partir dos diferentes meios poderá limitar sua aplicação para alguns produtos. Porém, considerando-se que o percentual de uso necessário para conferir ao produto final características espessantes é baixo ($\pm 3\%$), o problema da cor poderá ser insignificante.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem as seguintes conclusões:

É possível obter o biopolímero sintetizado por *Sphingomonas capsulata*, a partir dos meios industriais melaço bruto, melaço pré-tratado e extrato aquoso de resíduo de PTS, reduzindo os custos de produção e minimizando problemas ambientais.

As melhores produtividades foram obtidas para melaço pré-tratado 8% ($0,296 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$), seguida de resíduo de PTS 6% ($0,244 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$) e melaço bruto 8% ($0,192 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$).

A continuidade dos estudos com estes meios industriais, visando a otimização do meio de produção poderá resultar em melhora da produtividade e da qualidade dos biopolímeros obtidos.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, FAPERGS e FAPESP, pelo apoio financeiro e à URI – Campus de Erechim, pela estrutura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMANULLAH, A.; SERRANO, L. C.; GALINDO, E.; NIENOW, A. W. Reproducibility of pilot scale xanthan fermentations. **Biotechnology Progress**, New York, v. 12, p. 466-473, 1996.

BAE, S.; SHODA, M. Bacterial cellulose production by fed-batch fermentation in molasses medium. **Biotechnology Progress**, New York, v. 20, p. 1366-1371, 2004.

BERWANGER, A. L. S. **Produção e caracterização de biopolímero sintetizado por *Sphingomonas capsulata***. 2005. 94 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2005.

CACIK, F.; DONDO, R. G.; MARQUES, D. Optimal control of a batch bioreactor for the production of xanthan gum. **Computers and Chemical Engineering**, [S.l.], v. 25, p. 409-418, 2001.

JIN, H.; LEE, N. K.; SHIN, M. K.; KIM, S. K.; KAPLAN, D. L.; LEE, J. W. Production of gellan gum by *Sphingomonas paucimobilis* NK2000 with soybean pomace. **Biochemical Engineering Journal**, [S.l.], v. 16, p. 357-360, 2003.

KALOGIANNIS, S.; IAKOVIDOU, G.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M.; KYRIAKIDIS, D. A.; SKARACIS, G. N. Optimization of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* grown in molasses. **Process Biochemistry**, New York, v. 39, p. 249-256, 2003.

MARSUL PROTEÍNAS LTDA. **Ficha técnica de proteína texturizada de soja**. [S.l.], 2004.

MAUGERI, F. Produção de polissacarídeos. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: E. Blucher, 2001. v. 3, p. 125-154.

MOREIRA, A. N.; PINO, F. A. B. del; VENDRUSCOLO, C. T. Estudo da produção de biopolímeros via enzimática através da inativação e lise celular e com células viáveis de *Beijerinckia* sp. 7070. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 300-305, maio/ago. 2003.

MORRIS, E. R.; GOTHARD, M. G. E.; HEMBER, M. W. N.; MANNING, C. E.; ROBINSON, G. Conformational and rheological transitions of welan, rhansan and acylated gellan. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 30, p. 165-175, 1996.

NAVARRETE, R. C.; SHAH, S. N. **New biopolymer for coiled tubing applications**. Richardson: Society of Petroleum Engineers, 2001.

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**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 82-85, jan./abr. 2001.

PACE, G. W. Polímeros microbianos. In: BU'LOCK, J.; KRISTIANSEN, B. **Biotecnología básica**. Zaragoza: Acribia, 1991. p. 449-462.

PADILHA, F. F. **Produção de biopolímeros sintetizados por microorganismos**. 2003. 99 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

RAO, Y. M.; SURESH, A. K.; SURAIISKUMAR, G. K. Free radical aspects of *Xanthomonas campestris* cultivation with liquid phase oxygen supply strategy. **Process Biochemistry**, New York, v. 38, p. 1301-1310, 2003.

ROUKAS, T. Pretreatment of beet molasses to increase pullulan production. **Process Biochemistry**, New York, v. 33, n. 8, p. 805-810, 1998.

SOY PROTEIN COUNCIL. **Soy protein products**: characteristics, nutritional aspects and utilization. [S.l.], 1997.

SUTHERLAND, I. A sticky business: microbial polysaccharides: current products and future trends. **Microbiology Today**, [S.l.], v. 29, p. 70-71, 2002.

TREICHEL, H. **Estudo da otimização da produção de inulinase por *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571 em meios industriais pré-tratados**. 2004. 111 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

WOICIECHOWSKI, A. L. **Desenvolvimento de bioprocesso para a produção de xantana a partir de resíduos agroindustriais de café e de mandioca**. 2001. 100 f. Tese (Doutorado em Processos biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.