

## Biopolímeros sintetizados por linhagem selvagem de *Escherichia coli*

Rafaela Marise Hall<sup>1</sup>; Camila Patrícia Favaro<sup>2</sup>; Monalisa Ayumi Ohara<sup>3</sup>; Carolina Castilho Garcia<sup>4</sup>

**Resumo:** Os biopolímeros são polissacarídeos que apresentam grande diversidade de aplicações, podendo ser utilizados na produção de embalagens e filmes flexíveis, possuem ampla utilização na área de alimentos, especialmente como espessantes e gelificantes, com uso potencial na área de cosméticos e na exploração do petróleo. Atualmente, muitos estudos estão relacionados ao fato dos biopolímeros apresentarem propriedades reológicas de interesse, representando um alto potencial de aplicação industrial. O presente trabalho teve como objetivo estudar a viabilidade da produção de biopolímeros através de processo fermentativo utilizando linhagem selvagem de *Escherichia coli* isolada do ambiente, a partir dos substratos glicose, sacarose e melaço. Os ensaios foram realizados em triplicata, sob condições controladas de temperatura e agitação, e a extração do biopolímero foi realizada em acetona e álcool isopropílico. Foram avaliados a produtividade do processo fermentativo e o rendimento da extração com os dois solventes. Verificou-se que a maior produtividade da fermentação foi obtida no meio convencional de sacarose e que a acetona apresentou maior rendimento de extração do biopolímero quando o processo fermentativo foi conduzido utilizando os meios de sacarose e melaço.

**Palavras chave:** Processo fermentativo; produtividade.

## Biopolymers synthesized by wild strain of *Escherichia coli*

**Abstract:** Biopolymers are polysaccharides with a great lack of application, being used to produce packages and flexible films, widely used in food industry as thickener or jellying agents, presenting potential to be used in cosmetic and oil industries. Recently many studies were related to the rheological properties of biopolymers, showing its high potential of use by industries. The present work aimed to study the viability of producing biopolymers through the fermentation of glucose, sucrose and molasses medium by a wild strain of *Escherichia coli* isolated from the environment. The assays were conducted in triplicate under controlled temperature and agitation and the extraction of the biopolymer was made using acetone and isopropyl alcohol. The productivity of the fermentation process and the yield of extraction with both solvents were evaluated. The highest productivity was verified when the fermentation was conducted in sucrose media and acetone resulted in the highest yield of extraction when the process was done in sucrose and molasses medium.

**Keywords:** Fermentation process, productivity.

---

<sup>1</sup> Engenheira de Alimentos. Mestranda em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) - SC. [rafaella\\_hall@hotmail.com](mailto:rafaella_hall@hotmail.com)

<sup>2</sup> Engenheira de Alimentos. Mestranda em Engenharia Química na Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR) – SP. [camilapfavaro@gmail.com](mailto:camilapfavaro@gmail.com)

<sup>3</sup> Graduada em Engenharia de Alimentos na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) – PR. [monalisaohara@gmail.com](mailto:monalisaohara@gmail.com)

<sup>4</sup> Engenheira de Alimentos. Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos (UNESP). Professora Adjunta da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – PR. [carolinacgarcia@utfpr.edu.br](mailto:carolinacgarcia@utfpr.edu.br)

### Introdução

Biopolímeros são polissacarídeos de origem microbiana, também conhecidos como gomas ou exopolissacarídeos, que têm a capacidade de formar géis e soluções viscosas em meio aquoso (BERWANGER, 2005).

Os biopolímeros microbianos vêm sendo estudados com profundo interesse devido ao seu alto potencial de aplicação industrial resultado de suas propriedades reológicas, que, em muitos casos, superam as características funcionais dos polissacarídeos de origem vegetal. Seu alto potencial de aplicação em vários segmentos industriais se deve fundamentalmente às características que suas soluções têm de manter a viscosidade em ampla faixa de pH e temperatura. Este fato, explica porque alguns são amplamente utilizados como espessantes, geleificantes, estabilizantes e, em alguns casos, como emulsificantes e como colóides protetores (BASTOS et al., 2005).

Além disso, destaca-se o papel fundamental dos bioprocessos no âmbito ambiental, já que substituem processos tradicionais de produção cujas emissões de carbono e impactos ambientais são consideráveis (CHEN et al., 2013).

Ernandes & Garcia-Cruz (2005) fizeram uma revisão sobre a produção de biopolímeros, sua classificação, características e aplicações industriais. Nesse trabalho, os autores afirmam que exopolissacarídeos, como a xantana, vêm sendo utilizados há muitos anos pela indústria de alimentos devido às suas propriedades espessantes e estabilizantes; a dextrana é utilizada na indústria farmacêutica como fonte de glicose; e outros biopolímeros, como a gelana, são gelificantes, ou como a celulose bacteriana que é usada para produção de biofilmes (pele sintética) ou como o ácido hialurônico em cosméticos.

A levana é um exemplo de biopolímero de grande potencial de utilização na indústria de alimentos, podendo ser empregada, segundo Ernandes & Garcia-Cruz (2005), como fixador de cores e sabores, espessante e estabilizante em géis para sobremesas, em temperos prontos para salada, em pudins, sorvetes e derivados do leite, em bebidas, coberturas para produtos de confeitaria e, ainda, como invólucro de embutidos. Ainda, segundo os autores, a levana seria um eficiente aditivo para influenciar de maneira benéfica o funcionamento do trato intestinal, constituindo-se como um produto probiótico.

Os biopolímeros podem ser obtidos a partir de uma variedade de substratos como, por exemplo, açúcares, amido, celulose, metano, óleo mineral e subprodutos da agroindústria como melão, soro de queijo, entre outros (LUVIZETTO, 2007; BERWANGER et al., 2007), sendo a glicose e a sacarose as fontes de carbono preferenciais para a produção de biopolímeros (BERWANGER et al., 2007).

A principal característica dos biopolímeros é a sua capacidade de mudar a reologia de soluções, além de serem, em sua maioria, multifuncionais, ainda exibem uma combinação de propriedades que são essenciais para definir sua aplicação final. Tais propriedades são determinadas por sua composição química, agrupamentos e ligações moleculares, seu peso molecular médio e a sua distribuição (PACE, 1991).

A produção de biopolímeros por micro-organismos pode ser realizada em meio líquido contendo fonte de carbono e sais minerais, processo utilizado na produção de dextrana e xantana, por exemplo; ou por via enzimática, utilizando enzimas purificadas, sem a adição de micro-organismos (PADILHA, 1997).

O rendimento e a qualidade do biopolímero dependem da composição do meio, da linhagem e das condições de fermentação utilizadas (BERWANGER, 2005).

Para muitos micro-organismos, a cinética e a eficiência de produção de polímeros, o peso molecular e sua estrutura podem ser afetados por variações nas condições de crescimento. As relações cinéticas entre o crescimento e a formação de produtos são importantes para determinar o modo de operação mais econômico. A velocidade e eficiência de formação de polímero são influenciadas pela natureza dos fatores limitantes de crescimento, assim como por outras variáveis ambientais como oxigênio dissolvido, pH e temperatura. Variações nos grupos substituintes podem afetar drasticamente as propriedades reológicas do polímero e, portanto, sua aplicação (PACE, 1991).

Comparando-se os polissacarídeos de origem microbiana e aqueles de origem vegetal ou marinha, verifica-se que os primeiros apresentam algumas vantagens para sua obtenção em relação às outras gomas. Dentre elas, a não dependência das condições climáticas, contaminação marinha ou falha na colheita e a maior rapidez na obtenção do produto acabado, além disso, as gomas de origem microbiana apresentam maior uniformidade em suas propriedades físico-químicas, devido à especificidade do micro-organismo utilizado e à possibilidade de um rígido controle dos parâmetros de processo (SANTOS et al., 2012; BERWANGER et al., 2007; ERNANDES & GARCIA-CRUZ, 2005).

A *Escherichia coli* é uma bactéria com formato de bacilo, gram negativa, anaeróbia facultativa, comumente presente no intestino de animais endotérmicos, como o homem. Esse micro-organismo apresenta uma série de características que o torna interessante para a produção em escala industrial de metabólitos e de certos bioprodutos de interesse, tais como rápida taxa de crescimento, facilidade de fermentação, baixo custo de produção, conhecimento detalhado de seu metabolismo e disponibilidade de ferramentas genéticas para o melhoramento das linhagens (CHEN et al., 2013).

Nos últimos 50 anos a *Escherichia coli* foi amplamente estudada, tornando-se o micro-organismo hospedeiro predominante de uso industrial. Ainda, com o avanço da engenharia genética, novas linhagens de maior produção e variedade de bioprodutos vêm sendo desenvolvidas (CHEN *et al.*, 2013). Chen e colaboradores (2013) escreveram uma revisão completa sobre o assunto, tendo compilado uma série de estudos que utilizam linhagens de *E. coli* na produção de etanol, butanol, propanol, ácido lático, ácido succínico e aminoácidos.

Este trabalho teve como objetivo estudar a viabilidade da produção de biopolímero por processo fermentativo utilizando linhagem selvagem de *Escherichia coli*, isolada do meio ambiente, a partir dos substratos glicose, sacarose e melão.

## **Material e Métodos**

### *Micro-organismo e características morfológicas da colônia*

Foi utilizada linhagem selvagem de *Escherichia coli*, a qual foi isolada do meio ambiente em ágar nutriente. Uma alçada de colônias características de *E. coli* foi transferida para ágar EMB e mantida sob refrigeração no Laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira.

A fim de verificar as características morfológicas das colônias de *E. coli*, foram realizados ensaios de coloração de Gram e plaqueamento da cultura mantida sob refrigeração em ágar EMB, que foi mantida em estufa a 28 °C por 48 h.

### *Produção de células*

Inicialmente, foi preparado o pré-inóculo, tomando-se uma alçada da cultura de *E. coli* crescida em ágar EMB e inoculando em 50 mL de caldo nutriente estéril contido em um erlenmeyer de 300 mL. Este recipiente foi incubado em agitador orbital a 35 °C por 24 horas sob agitação de 120 rpm.

Transcorrido esse período, preparou-se o inóculo, através da transferência asséptica de 1 mL do pré-inóculo para nove erlenmeyers de 300 mL, contendo 50 mL de caldo nutriente estéril, os quais foram incubados em agitador orbital a 35 °C por 24 horas sob agitação de 120 rpm, com o objetivo de atingir uma maior concentração celular.

### *Produção de biopolímeros*

A produção do biopolímero foi realizada em erlenmeyers de 500 mL sob agitação e temperatura controlada, utilizando 300 mL dos seguintes meios: sacarose, glicose e melão. Os meios utilizados no preparo do biopolímero continham: 1 g/L de KNO<sub>3</sub>; 0,2 g/L

MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,5 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>; 0,1 g/L CaSO<sub>4</sub>; 0,05 g/L NaMoO<sub>4</sub>; 100 g/L de sacarose no meio de sacarose; 100 g/L de glicose no meio de glicose e 100 g/L de melaço no meio de melaço. Esse meio de produção foi adicionado ao meio contendo as células e incubado em agitador orbital, com agitação de 180 rpm, a 35 °C por 120 horas. Transcorrido o tempo de incubação os meios foram esterilizados em autoclave por 15 minutos a 121 °C, para a destruição dos micro-organismos.

#### *Recuperação do biopolímero*

Após a esterilização dos meios, procedeu-se à sua centrifugação à 2400 rpm por 40 minutos a 4 °C para que ocorresse a sedimentação das células. Ao sobrenadante foram adicionados diferentes solventes, com o intuito de formação de precipitado para a recuperação do biopolímero. O recipiente contendo a mistura (sobrenadante e solvente) foi armazenado sob refrigeração por 12 horas. Após a refrigeração, o polímero foi recuperado por centrifugação (2400 rpm, 40 minutos, 4 °C), seco em estufa a 50 °C por 24 horas e pesado.

Os solventes de extração do biopolímero utilizados foram acetona P.A. (1:2) e álcool isopropílico P.A. (1:3), cuja escolha baseou-se em estudos realizados por Berwanger (2005).

Os ensaios foram realizados em triplicata e a resposta avaliada foi a produtividade de biopolímero, considerando seu peso úmido após a fermentação.

A produtividade de biopolímero foi calculada segundo a Equação 1 (SANTOS et al., 2012):

$$P = \frac{m_f}{V \cdot t_f} \quad (1)$$

Em que:  $P$  é a produtividade, em g/L·h;  $m_f$  é a massa de biopolímero precipitado no tempo final de cultivo, em g;  $V$  é o volume de amostra, em L;  $t_f$  é o tempo final de fermentação, em h. Neste trabalho o tempo de fermentação foi de 120 h para todos os meios utilizados.

#### *Avaliação visual do biopolímero*

Após a secagem dos biopolímeros, avaliou-se visualmente o aspecto dos biopolímeros produzidos.

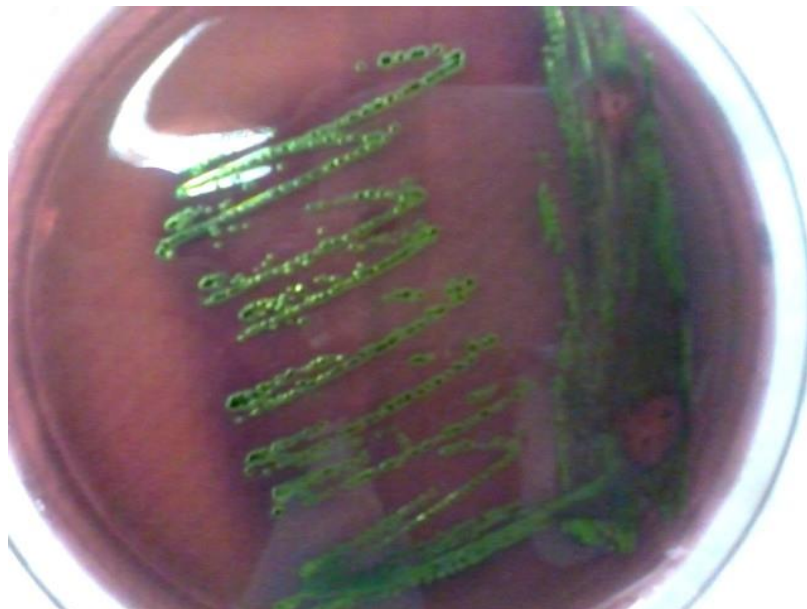
### **Resultados e Discussão**

#### *Características morfológicas da colônia*

As colônias da linhagem selvagem de *E. coli* apresentaram formato de bacilos, resposta negativa ao reagente de Gram e coloração verde brilhante. A Figura 1 apresenta uma

fotografia das colônias de *Escherichia coli* utilizadas nos experimentos e mantidas no Laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Medianeira (UTFPR-MD).

**Figura 1** – Aspecto das colônias de *Escherichia coli* utilizadas nos experimentos.



Fonte: autores.

#### *Produção do biopolímero*

A Tabela 1 apresenta as massas de biopolímeros produzidos após 120 h de fermentação (35 °C por 120 h sob agitação de 180 rpm) utilizando *Escherichia coli* e as produtividades médias do biopolímero nos diferentes meios (glicose, melação e sacarose) e solventes de extração utilizados.

**Tabela 1** – Massas de biopolímeros produzidos pela fermentação de diferentes meios por *E. coli* e produtividades obtidas (g/L·h) nos diferentes meios fermentativos e solventes de extração

<b>Solvente</b>	<b>Meio fermentativo</b>	<b>Massa úmida (g)</b>	<b>Massa seca (g)</b>	<b>Produtividade (g/L·h)</b>
Acetona	Glicose	0,4254 + 0,0001*	0,1569 + 0,0001*	0,01
	Melaço	1,0017 + 0,0001*	0,536 + 0,0001*	0,03
	Sacarose	1,8676 + 0,0001*	0,7642 + 0,0001*	0,05
Álcool isopropílico	Glicose	0,8069 + 0,0001*	0,3293 + 0,0001*	0,02
	Melaço	0,7717 + 0,0001*	0,4692 + 0,0001*	0,02
	Sacarose	1,3059 + 0,0001*	0,908 + 0,0001*	0,03

\*valores estimados a partir do erro do instrumento de medição – balança analítica.

A partir da Tabela 1, verificou-se que a maior produtividade do biopolímero ocorreu no meio fermentativo convencional, utilizando sacarose como fonte de carbono. O meio que utilizou a glicose como fonte de carbono apresentou o menor rendimento quanto à produção. No meio fermentativo contendo melaço a produtividade foi intermediária.

Segundo Berwanger (2005), a produção de biopolímero é maximizada a partir de meio convencional de sacarose concentrado a 4%, corroborando os resultados encontrados, onde a maior produtividade do biopolímero foi alcançada utilizando o meio fermentativo contendo sacarose.

Por outro lado, a produtividade de biopolímero encontrada no presente estudo foi inferior a valores encontrados na literatura, o que provavelmente está relacionado ao fato do processo fermentativo ter sido conduzido utilizando linhagens selvagens de micro-organismos e não linhagens modificadas, as quais são mais produtivas. Assim, o tempo final de cultivo foi bastante elevado (120 h) em relação a outros trabalhos encontrados na literatura.

Santos *et al.* (2012) avaliaram a produção do biopolímero obtido pela fermentação do meio contendo diferentes concentrações de glicose por uma linhagem mutante de *Pseudomonas*. A produtividade do biopolímero foi de 0,31 g/L·h quando a concentração inicial de glicose utilizada foi de 20 g/L. Ainda, os autores verificaram que o aumento da concentração de glicose no meio fermentativo de 20 g/L para 40 g/L e 80 g/L resultou na redução da produtividade do biopolímero, o que está provavelmente relacionado ao efeito osmótico de inibição do substrato no crescimento do micro-organismo.

A produtividade média de biopolímero obtido pela fermentação do melaço (na concentração de 4%) por linhagem modificada de *Sphingomonas* foi de 0,1051 g/L·h, enquanto que ao utilizar-se melaço pré tratado como meio fermentativo a produtividade foi aproximadamente 63% maior (BERWANGER *et al.*, 2007). O tratamento do melaço consistiu no ajuste da solução de melaço a diferentes pH com períodos de descanso, com o objetivo de clarificar o meio e remover parcialmente metais pesados e inibidores específicos, os quais resultam na inibição do crescimento microbiano.

No presente trabalho o melaço utilizado como meio fermentativo não sofreu nenhum tipo de pré tratamento, de maneira que é provável que o crescimento das bactérias tenha sido comprometido pela presença de metais pesados e inibidores específicos e, assim, a produtividade média do biopolímero foi de 0,02 g/L·h.

Nos estudos conduzidos por Berwanger (2005) e Berwanger *et al.* (2007) o melaço não tratado foi usado como fonte de carbono e nitrogênio, sem qualquer suplementação do

meio. No presente trabalho, o meio foi suplementado com nitrogênio, magnésio, fósforo, cálcio e molibdênio.

Há na literatura inúmeros estudos utilizando resíduos agroindustriais, como é o caso do melão, para a produção de biopolímeros, dentre os quais, a produção de xantana a partir de melão de açúcar de beterraba pré-tratado (KALAGIANNIS *et al.*, 2003), soro de leite (NITSCHKE *et al.*, 2001) e resíduos agroindustriais de café e de mandioca (WOICIECHOWSKI, 2001); a produção de gelatina a partir de resíduo da indústria de soja (JIN *et al.*, 2003); a produção de celulose bacteriana a partir de melão de cana-de-açúcar pré-tratado (BAE & SHODA, 2004) e a produção de pululana utilizando hidrolisado de torta de soja (BOZA *et al.*, 2004).

Portanto, é grande a quantidade de estudos relacionados ao aproveitamento de resíduos das indústrias como meio fermentativo para a produção de biopolímeros, já que a busca por menores custos de produção e redução dos problemas ambientais é uma realidade em qualquer indústria.

O rendimento de extração médio do biopolímero em acetona P.A. e em álcool isopropílico P.A. foi calculado em relação à massa seca de biopolímero obtido, considerando as densidades dos solventes a 20 °C. A Tabela 2 apresenta o rendimento médio obtido utilizando os diferentes solventes.

**Tabela 2** – Rendimento de extração médio de biopolímeros (%) utilizando acetona e álcool propílico como solvente de extração

Solvente	Densidade a 20 °C (g/mL)	Meio fermentativo	Rendimento de extração médio (%)
Acetona P.A.	0,785	Glicose	0,03
		Melão	0,11
		Sacarose	0,16
Álcool Isopropílico P.A.	0,791	Glicose	0,05
		Melão	0,07
		Sacarose	0,13

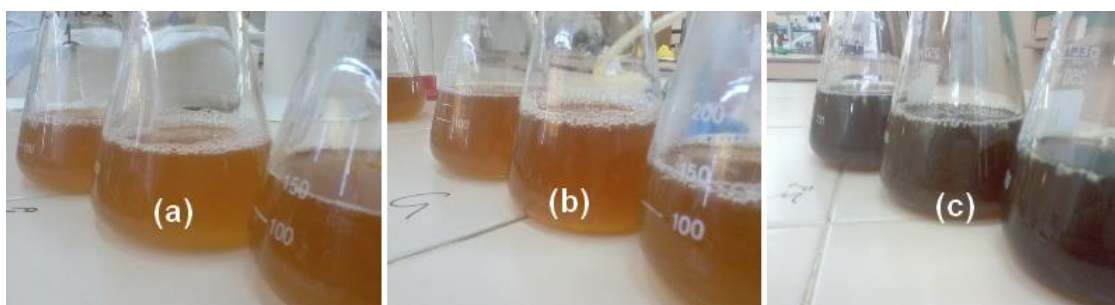
Com exceção das fermentações conduzidas em meio de glicose, a acetona foi o solvente que apresentou o maior rendimento de extração. O tipo de solvente utilizado para extrair o biopolímero influencia no rendimento de extração, porém como os valores encontrados no presente trabalho foram próximos, não é possível afirmar qual o solvente mais adequado para precipitar os biopolímeros produzidos. Berwanger (2005) afirma que uma vez



recuperados por centrifugação, os biopolímeros devem ser precipitados utilizando um solvente orgânico solúvel em água, como álcool isopropílico ou acetona.

A seguir são apresentadas algumas fotografias referentes às etapas da produção do biopolímero. A Figura 2 apresenta o aspecto inicial dos meios de sacarose, glicose e melaço utilizados nos experimentos. Conforme relatado anteriormente, o meio de melaço não sofreu nenhum tipo de purificação ou clarificação, apresentando coloração inicial mais escura que os demais meios estudados.

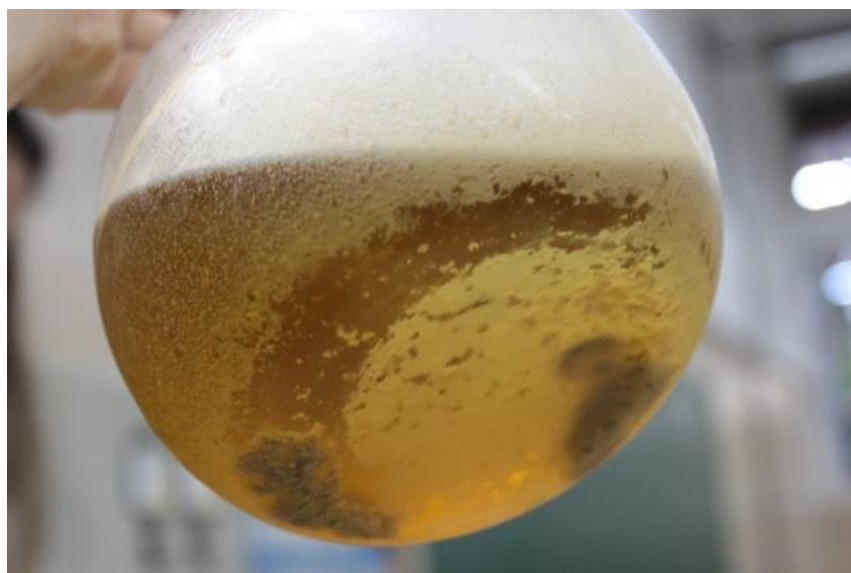
**Figura 2** – Aspecto inicial dos meios utilizados nos ensaios fermentativos. (a) sacarose, (b) glicose e (c) melaço.



Fonte: autores.

A Figura 3 apresenta o aspecto do meio de melaço após 120 h de fermentação por *E. coli*, na qual é possível verificar a ocorrência de turvação do meio após a produção do biopolímero.

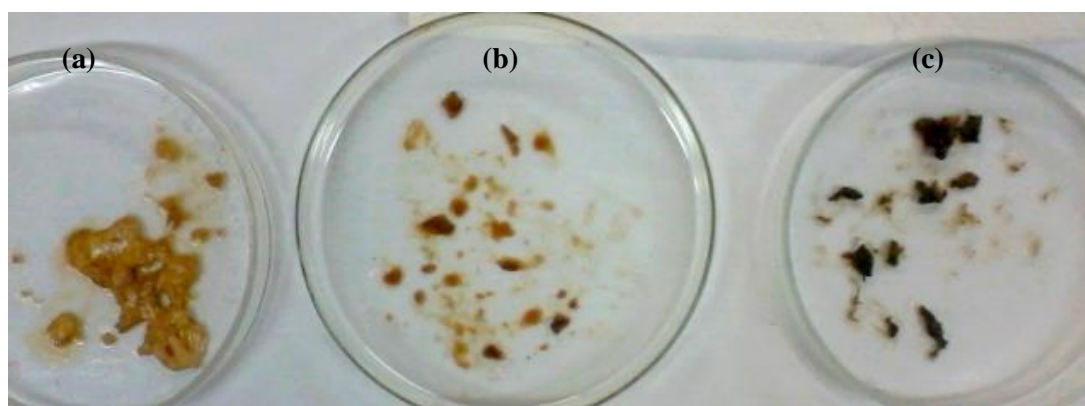
**Figura 3** – Solução turva após a produção do biopolímero no meio de melaço.



Fonte: autores.

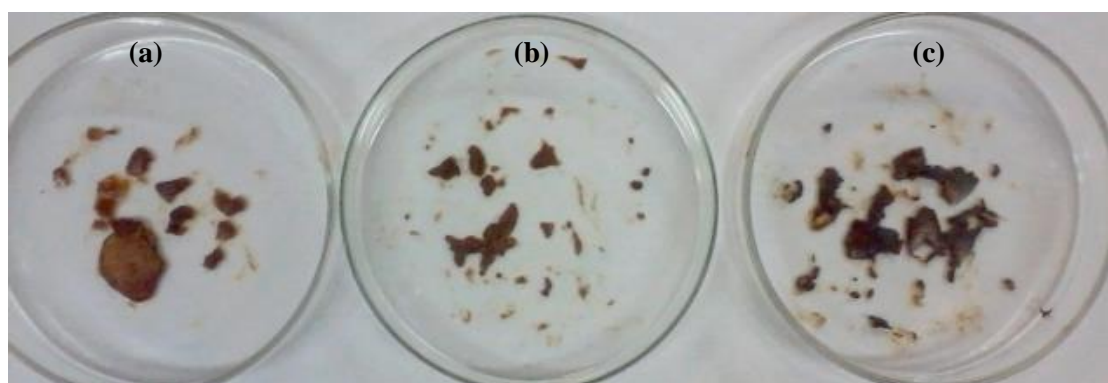
As Figuras 4 e 5 apresentam o aspecto dos biopolímeros produzidos pela fermentação (120 h) dos meios de sacarose, glicose e melaço por *E. coli* após a secagem em estufa a 50 °C (24 h). Na Figura 4, o solvente utilizado na precipitação dos biopolímeros foi a acetona e na Figura 5, o solvente foi o álcool isopropílico.

**Figura 4** – Aspecto dos biopolímeros produzidos por fermentação (120 h) dos meios de sacarose (a), glicose (b) e melaço (c) por linhagem selvagem de *E. coli* após secagem (24 h) em estufa a 50 °C. O solvente utilizado para a precipitação dos biopolímeros foi à acetona



Fonte: autores.

**Figura 5** – Aspecto dos biopolímeros produzidos por fermentação (120 h) dos meios de sacarose (a), glicose (b) e melaço (c) por linhagem selvagem de *E. coli* após secagem (24 h) em estufa a 50 °C. O solvente utilizado para a precipitação dos biopolímeros foi o álcool isopropílico.



Fonte: autores.

Verifica-se na Figura 4 que, quando precipitado em acetona, o biopolímero produzido no meio de sacarose (a) apresentou coloração creme (amarelada); enquanto que aquele produzido no meio de glicose (b) apresentou coloração cobre e o produzido no meio de melaço (c) apresentou coloração marrom escuro.

De acordo com a Figura 5, verificou-se que os biopolímeros precipitados com álcool isopropílico apresentaram coloração diferenciada daqueles precipitados em acetona, com exceção do produzido no meio de melação. O biopolímero produzido em meio de sacarose (a) apresentou coloração alaranjada se precipitado em álcool isopropílico; enquanto que o produzido no meio de glicose (b) apresentou coloração marrom e o biopolímero produzido em meio de melação (c) apresentou coloração marrom escura.

Cabe ressaltar que a coloração dos biopolímeros obtidos nos diferentes meios poderá limitar sua aplicação para alguns produtos. Porém, considerando que o percentual de uso necessário para conferir ao produto final características espessantes é baixo, o problema da cor poderá desaparecer.

### Conclusões

Os estudos realizados permitiram verificar que objetivando a produção de biopolímeros, a utilização de linhagens selvagens de micro-organismos em processos fermentativos apresenta produtividades muito reduzidas quando comparadas com linhagens modificadas geneticamente.

Dos três meios utilizados na produção do biopolímero (glicose, melação e sacarose, na concentração de 100 g/L), a fermentação em meio tendo como fonte de carbono a sacarose apresentou a maior produtividade, independentemente do solvente utilizado para extração. No meio de glicose, por sua vez, verificaram-se as menores produtividades.

Com a utilização de acetona como solvente verificou-se maior rendimento na extração do biopolímero quando comparado com a utilização do álcool isopropílico.

### Referências

- BAE, S. & SHODA, M. Bacterial cellulose production by fed-batch fermentation in molasses medium. **Biotechnology Progress**, v.20, p.1366-1371, 2004.
- BASTOS, C. P. et al. Correlação entre produção, viscosidade e teor de acetyl no biopolímero de 5 cepas de *Xanthomonas*. Anais do 14º Congresso de Iniciação Científica, Pelotas, 2005.
- BERWANGER, A. L. S. **Produção e Caracterização de Biopolímero**. Dissertação de Mestrado. Erechim, 2005.
- BERWANGER, A. L. S.; SCAMPARINI, A. R. P.; DOMINGUES, N. M.; VANZO, L. T.; TREICHEL, H.; PADILHA, F. F. Produção de biopolímero sintetizado por *Sphingomonas capsulata* a partir de meios industriais. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.1, p.177-183, 2007.

BOZA, Y.; NETO, L. P.; COSTA, F. A. A.; SCAMPARINI, A. R. P. Exopolysaccharide production by encapsulated *Beijerinckia* cultures. **Process Biochemistry**, v.39, p.1201-1209, 2004.

CHEN X.; ZHOU, L.; TIAN, K.; Kumar, A.; SINGH, S.; PRIOR, B. A.; WANG, Z. Metabolic engineering of *Escherichia coli*: A sustainable industrial platform for bio-based chemical production, **Biotechnology Advances**, v.31, p.1200–1223, 2013.

ERNANDES, F. M. P. G.; GARCIA-CRUZ, C. H. Levana Bacteriana: aspectos tecnológicos, características e produção. **Semina: Ciências Agrárias**, v.26, n.1, p.71-82, 2005.

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**, 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**, v.39, p.249-256, 2003.

LUVIZETO, D. J. **Cultivo da bactéria *Bacillus megaterium* para a produção do biopolímero poli(3-hidroxibutirato) e modelagem matemática do bioprocesso**. Porto Alegre, 2007. 119f. Dissertação (Mestre em Engenharia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

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, 2001.

PACE, G. W. Polímeros Microbianos. In: BU'LOCK, J & KRISTIANSEN, B. **Biotecnologia Básica**. Zaragoza: Editorial Acribia S.A., 1991.

PADILHA, F. F. **Estudo da compartimentalização das enzimas para produção de biopolímeros por *Beijerinckia sp.* 7070**. Pelotas, 1997. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

SANTOS, R. L.; BIRGIDO, R.V.; PIRES, A. T. N.; MÜLLER, J. M. Caracterização do alginato produzido por *Pseudomonas mendocina*. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.30, n.2, p.169-176, 2012.

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