

# EFEITO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DO INÓCULO NO CRESCIMENTO CELULAR E QUALIDADE DE BIOPOLÍMEROS DE *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* PV. *PRUNI* CEPA 06

PAN, Adriana<sup>1</sup>, MOREIRA, Angelita S.<sup>1</sup>, VENDRUSCOLO, Claire T.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Biotecnologia, <sup>2</sup>Departamento de Ciências de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Cx. Postal 354, CEP 96010-900, Pelotas, RS  
(Recebido para publicação em 10/08/2000)

## RESUMO

Estudou-se a influência da concentração inicial de inóculo sobre a curva parcial de crescimento celular, produção e qualidade do biopolímero de *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* cepa 06. Utilizou-se diferentes volumes de pré-inóculo, contendo  $2,6 \cdot 10^{10}$  UFC.mL<sup>-1</sup>, que foram diluídas com YM líquido, qsp 10mL, resultando em concentrações finais de  $2,6 \cdot 10^8$  UFC/ mL<sup>-1</sup> (A),  $1,3 \cdot 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup> (B),  $2,6 \cdot 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup> (C),  $7,8 \cdot 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup> (D),  $1,3 \cdot 10^{10}$  UFC.mL<sup>-1</sup> (E) e  $2,6 \cdot 10^{10}$  UFC.mL<sup>-1</sup> (F). Para a determinação da curva de crescimento celular foram utilizados os tratamentos A, C e F, sendo feitas avaliações nos intervalos de zero, 24 e 96h (término da fermentação). Para obtenção da goma xantana foi utilizado o meio para a produção de células (YM líquido) e, após, o meio para produção de biopolímero MP11, nas condições de 28°C e 200rpm por 72h. Nas primeiras 24h ocorreu um decréscimo na concentração celular inicial para todos os tratamentos. Entre 24 e 96h, para todos os tratamentos, e entre zero e 96h, para A e C, o número de células aumentou. A produção e viscosidade aparente dos biopolímeros foram influenciadas pela concentração inicial de inóculo. O tratamento A e B, produziram 3,4 e 3,8g.L<sup>-1</sup>, com viscosidade aparente 3100 e 3600cP, respectivamente. Para os demais tratamentos (D, E e F) a produção e viscosidade aparente permaneceram constante, com 4,2g.L<sup>-1</sup> e aproximadamente 4000cP. Com a modificação do número de células, a composição química do biopolímero não sofreu alteração detectável por CCDC.

Palavras-chave: *Xanthomonas campestris* pv *pruni*, inóculo, xantana, produção, viscosidade.

## ABSTRACT

EFFECT OF THE INITIAL CONCENTRATION OF THE INOCULUM ON CELLULAR GROWTH, PRODUCTION AND QUALITY OF THE BIOPOLYMER OF *X.C. PRUNI* STRAIN 06. The influence of the initial concentration of the inoculum on the partial curve of cellular growth, production and quality of the biopolymer of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* strain 06 was determined. Was used different of 110 mL of pre-inoculum containing  $2.6 \times 10^{10}$  UFC.mL<sup>-1</sup> that were diluted with YM liquid medium for a final volume of 10 mL, resulting in final concentrations of  $2.6 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> (A),  $1.3 \times 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup> (B),  $2.6 \times 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup> (C),  $7.8 \times 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup> (D),  $1.3 \times 10^{10}$  UFC.mL<sup>-1</sup> (E) and  $2.6 \times 10^{10}$  UFC.mL<sup>-1</sup> (F). To determine the cellular growth curve, the experiments A, C and F were used, in which readings were taken at time zero, 24 and 96h (end of fermentation). To obtain the biopolymer, the medium for cell production (liquid YM) was initially used, then the medium for biopolymer production (MP11) was used under conditions of 28°C and 200rpm for 72h. In the first 24h a decrease in the initial cellular concentration was observed in all experiments. Between 24 and 96h, for all experiments, and between zero and 96h for A and C, the cell number increased. The production and the apparent viscosity of the biopolymers were influenced by the inoculum concentration. The A and B experiments produced 3.4 and 3.8g.L<sup>-1</sup>, with apparent viscosity of 3100 and 3600cP, respectively. For the other experiments (D, E and F) the production and apparent viscosity remained constant with 4.2g.L<sup>-1</sup> and approximately 4000cP. With the modification on the cell number, the chemical composition of the biopolymer did not show detectable alteration by CCDC.

Key words: *Xanthomonas campestris* pv. *Pruni*, inoculum, xanthan, production, viscosity.

## INTRODUÇÃO

O polissacarídeo xantana é produzido por *Xanthomonas campestris*, bactéria essencialmente fitopatogênica cujos diversos patovares classificados infectam inúmeros gêneros de plantas. A *Xanthomonas campestris* pv *pruni* é o agente causador da mancha bacteriana em espécies do gênero Prunus, "Prunus Bacterial Spot" (PBS) (CIVEROLO, 1993).

O polímero Xantana é utilizado como agente espessante, estabilizante, suspensivo e auxiliar de emulsificação e geleificação, possibilitando a criação de novos produtos de diferentes texturas (SUTHERLAND, 1993; NITSCHKE, 1997; QUINN, 1999). Esse biopolímero é amplamente utilizado em diversos segmentos industriais, devido as suas propriedades, que incluem a formação, em meio aquoso, de soluções viscosas estáveis numa ampla faixa de pH e temperatura, mesmo em baixas concentrações (SZCZESNIAK, 1985).

Devido a grande aplicabilidade industrial da goma xantana, pesquisas vêm sendo desenvolvidas para otimizar as condições de crescimento celular, de produção, de recuperação, e de purificação deste exopolissacarídeo (KENNEDY *et al.*, 1982; FUNAHASHI *et al.*, 1987; AHLGREN, 1993).

Na maioria das fermentações, a obtenção do produto desejado está diretamente relacionada a diversos parâmetros. Um dos mais pesquisados é o número de células, portanto o estudo da concentração do inóculo é fundamental. O crescimento de culturas bacterianas compreende uma seqüência de fases caracterizadas por variações nas taxas de crescimento celular (BORZANI 1975, SHU, 1990).

O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito da concentração inicial de inóculo sobre a curva de crescimento celular, produção e qualidade do biopolímero de *Xanthomonas campestris* pv *pruni*, cepa 06.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material biológico

Bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* cepa 06, fornecida pela coleção de bactérias da EMBRAPA-CPACT, mantida a 4°C e repicada a cada 30 dias em ágar YM (Hayes, 1955).

### Meios e condições de incubação

A) Manutenção das culturas: ágar YM (Jeanes, 1974), com a seguinte composição em g.L<sup>-1</sup>: 3g extrato de levedura, 3g de extrato de malte, 5g de peptona, 10g de glicose e 25g de ágar - ágar.

B) Meio para produção de células: YM líquido (JEANES, 1974), contendo em g.L<sup>-1</sup>: 3g de extrato de levedura, 3g de extrato de malte, 5g de peptona e 10g de glicose.

C) Meio para produção de biopolímeros: MPIO (CADMUS *et al.*, 1978, modificado por Souza e Vendruscolo, 2000) contendo em g.L<sup>-1</sup>: 1,5g NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2,5g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 6,0g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O e sacarose 50g. O meio foi ajustado para pH 7,0 e a sacarose esterilizada em separado e adicionada assepticamente ao meio.

**Inóculo**

No preparo do pré-inóculo (suspensão bacteriana) foram utilizadas colônias cultivadas por 48h, em meio YM sólido, diluídas em YM líquido (JEANES 1974), até a concentração de 2,6.10<sup>10</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. Este foi utilizado para os tratamentos denominados A (0,1 mL), B (0,5mL), C (1,0mL), D (3,0mL), E (5,0mL), e F (10,0mL), completando-se o volume com quantidade suficiente para 10mL com YM líquido, em frascos *erlenmeyer* de 125mL. Assim, foram obtidas concentrações de 2,6.10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> (A), 1,3.10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> (B), 2,6.10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> (C), 7,8.10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> (D), 1,3.10<sup>10</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> (E) e 2,6.10<sup>10</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> (F)

Seguiu-se incubação em incubador agitador marca New Brunswick Scientific, modelo Innova 4230, a 28°C e 180rpm, por 24h.

**Curva parcial de crescimento**

A determinação da curva de crescimento celular foi realizada monitorando os tratamentos A, C e F. Fez-se esta escolha para observar o crescimento celular no inóculo de menor concentração, no utilizado como padrão e no de maior concentração inicial de células. Amostras dos tratamentos foram submetidas a diluições decimais em série, transferido-se 0,1µl de inóculo para *empendorf* contendo 0,9µl de YM líquido estéril, sucessivamente, até as diluições desejadas. Foram realizadas determinações as zero, 24 e 96h (término da fermentação). A primeira e segunda amostra foram obtidas em meio contendo YM líquido e a última após a adição do meio para produção de biopolímeros. Para fins comparativos, as contagens em 96h foram calculadas utilizando um fator de conversão igual ao fator de diluição (5), pois o meio neste ponto de fermentação encontrava-se 5 vezes mais diluído.

**Produção de Xantana (fermentação)**

Após o período de multiplicação de células, transferiu-se o inóculo para *erlenmeyer* de 250mL, contendo 40mL de meio

MPIO. As condições de fermentações foram: 28°C, 200rpm, por 72h.

**Recuperação dos biopolímeros**

O caldo fermentado foi centrifugado a 16.200g em centrifuga marca Sorvall Instruments, modelo RC-5C, a 10°C por 30 minutos para remoção da biomassa (VENDRUSCOLO, 1995). Ao sobrenadante adicionou-se, na proporção de 4:1 (v/v), etanol a 96°GL para insolubilização dos biopolímeros, os quais foram recolhidos sobre placas, secos em estufa a 40°C até peso constante e triturado.

**Viscosidade aparente**

Amostras dos biopolímeros produzidos foram preparadas em solução aquosa a 1% (m/v) e medidas em viscosímetro Brookfiel rotacional, modelo LV, a 25°C, em 6, 12, 30 e 60rpm.

**Composição Química**

As Amostras foram hidrolisadas e analisadas por cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), segundo a metodologia de MOREIRA *et al.* (1998). Para identificação dos monossacarídeos foram utilizadas amostras autênticas de glicose, manose, ácido glicurônico e ramnose.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

**Curva de crescimento celular**

A bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* cepa 06 apresentou oscilações no crescimento celular durante a fermentação de 96h, caracterizando, possivelmente, a existência de mais de um ciclo celular.

Entre zero e 24h de incubação, ocorreu uma diminuição no número de células viáveis para os tratamentos monitorados, A, C e F. A diminuição foi mais expressiva, 84 e 73%, para os tratamentos com baixas concentrações iniciais de células, A e C, respectivamente. Essa redução no número de bactérias é característica da fase de declínio celular. Entre 24 e 96h de incubação ocorreram elevações de 200.000, 14.000 e 55%, na concentração de células dos tratamentos A, C e F, respectivamente. Comparando-se os valores iniciais aos obtidos no término da fermentação (96h), os tratamentos inoculados com menor número de células, A e C, tiveram um acréscimo na concentração final de 3000 e 800%. Já o tratamento F, o inóculo mais concentrado, apresentou, em 96h, concentração celular idêntica a inicial. Os resultados encontram-se na Tabela 1.

TABELA. 1. Avaliação da curva de crescimento celular e sua variação durante a fermentação por *Xanthomonas campestris* pv. *pruni*, cepa 06.

Tratamento	UFC. mL <sup>-1</sup>			% Variação		
	0h	24h	96h	0-24h	24-96h	0-96h
A	2,6.10 <sup>9</sup>	4,0.10 <sup>7</sup>	8,0.10 <sup>10</sup>	(-) 84	(+)200.000	(+)3000
C	2,6.10 <sup>9</sup>	7,0.10 <sup>8</sup>	2,1.10 <sup>10</sup>	(-) 73	(+)14.000	(+)800
F	2,6.10 <sup>10</sup>	1,4.10 <sup>10</sup>	2,6.10 <sup>10</sup>	(-) 46	(+) 54	0,0

Observou-se que nos tratamentos onde foram utilizados inóculos menos concentrados ocorreram as maiores oscilações no número de células durante a fermentação. Por outro lado, o tratamento inoculado com maior número de células mostrou-se mais estável.

Tradicionalmente, em fermentações de bactérias *Xanthomonas* para produção de xantana, têm-se utilizado 24h para multiplicação de células, em meio YM líquido (ROGOVIN, 1961, BAIOTTO, 1997, ANTUNES, 2000). Segundo BAIOTTO, 1997, a bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* linhagem n<sup>o</sup> 280, cultivada em YM líquido a 30°C e

200rpm, teve uma fase lag curta, passando rapidamente para a fase de crescimento exponencial, com seu ápice em 24h de cultivo. A fase estacionária ocorreu entre 24 a 48h de incubação, seguindo-se a fase de declínio ou morte celular. A determinação do crescimento celular foi baseada na massa celular seca. Entretanto, esse parâmetro pode não estar refletindo a realidade, visto que as células não viáveis (mortas) também são incluídas. No presente trabalho, a bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* cepa 06 apresentou ciclo de crescimento celular mais rápido. Em torno de 24h, observou-se o declínio no número de células, demonstrando que esse tempo não foi adequado para a produção de inóculo com a cepa em questão.

CADMUS, 1978, utilizando fermentador de 20L, em condições de 28°C e 200rpm por 22h, para produção de goma xantana por *Xanthomonas campestris* NRRL B1459-IX, monitorada pela viscosidade do caldo, verificou que a bactéria apresentava uma longa fase lag. Ao elevar a concentração de 5 para 10% (v/v) de inóculo, a longa fase lag foi eliminada. Determinou, ainda, como valor mínimo satisfatório para produção em fermentador de 20L, um inóculo de 7% (v/v).

Não só o fator número inicial de células parece influenciar na multiplicação celular. BAIOTTO, 1997, analisando a influência da concentração de açúcar sobre o crescimento celular e produção de xantana, verificou que o aumento da concentração de 1 para 6% favoreceu o crescimento celular e a produção de goma. Portanto, o crescimento celular foi favorecido pela maior relação açúcar x número de células. No presente trabalho, ao diminuir o número de células, e, conseqüentemente, aumentar a relação açúcar x número de células, o crescimento celular também foi favorecido.

#### Produção de Xantana

A produção de biopolímeros por *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* cepa 06 foi influenciada pela concentração inicial de inóculo, o que pode ser visto na Figura 1. Analisados estatisticamente, pelo teste de Tukey, os tratamentos A e B diferiram significativamente dos demais em nível de significância de 5%. Os tratamentos C, D, E e F não diferiram entre si quanto à produção de biopolímeros.

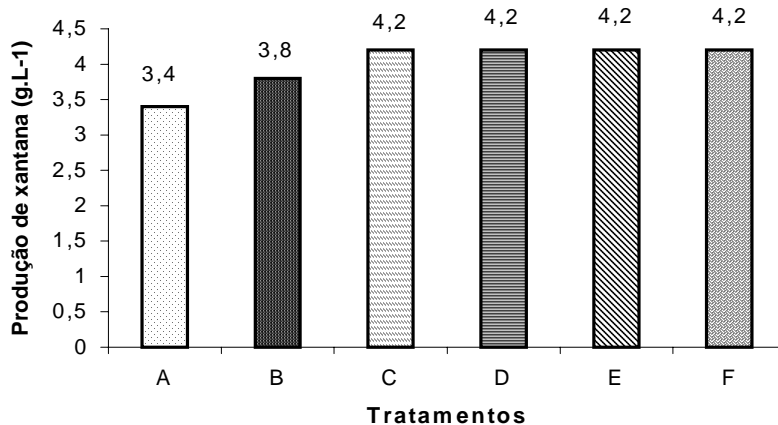


Figura 1. Influência da variação da concentração de inóculo (UFC.mL<sup>-1</sup>) na produção de biopolímeros por *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* cepa 06. Tratamento A 2,6.10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, B 1,3.10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, C 2,6.10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, D 7,8.10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, E 1,3.10<sup>10</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> e F 2,6.10<sup>10</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>.

BAIOTTO, 1997, analisando a influência da concentração do inóculo de 1 e 5% na produção de goma xantana por *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* n° 280, verificou que enquanto a produção de massa celular seca decresceu de 0,96 para 0,68g.L<sup>-1</sup>, a produção de xantana elevou-se de 10,49 para 11,8g.L<sup>-1</sup>. Apesar do aumento na produção de xantana não ter sido significativo estatisticamente é importante sob o ponto de vista de produção comercial. Em nosso trabalho verificou-se o mesmo comportamento observado por BAIOTTO, 1997: ao partir-se de um menor número de células, verificou-se uma maior multiplicação celular e menor produção de xantana. O inóculo mais concentrado ocasionou menor crescimento e maior produção de xantana. Por isso, o tratamento C (1,0mL) com produção máxima e concentração média (2,6.10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>), foi escolhido como padrão para estudos posteriores.

ANTUNES, 2000, em pesquisas com a cepa 58 de *Xanthomonas campestris* pv. *pruni*, produziu 18,8g.L<sup>-1</sup>, a partir de uma concentração de 10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, em condições de 28°C

e 200rpm por 96h. SOUZA, 2000, utilizou a mesma bactéria, porém com uma concentração de 10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, produziu 10,2g.L<sup>-1</sup>, nas mesmas condições descritas anteriormente.

Segundo estudo realizado por CLEBSCH *et al.*, 1995, em *Zymomonas mobilis* é vantajoso o emprego de concentrações celulares iniciais elevadas (0,23g.L<sup>-1</sup>) em relação à produção de glicose-frutose oxidorreductase.

#### Viscosidade aparente

Biopolímeros obtidos em todos os tratamentos apresentaram comportamento pseudoplástico, característico da xantana, Figura 2. O mesmo comportamento observado na produção foi similar para viscosidade. Nas concentrações mais baixas de inóculo, 2,6.10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> (A) e 1,3.10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> (B), a viscosidade aparente dos biopolímeros foi menor, 3100 e 3600cP a 6rpm. A viscosidade foi maior a partir de 2,6.10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> (C), mantendo-se constante para os demais biopolímeros obtidos nos tratamentos D, E, F que tiveram inóculo com 10<sup>10</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>.

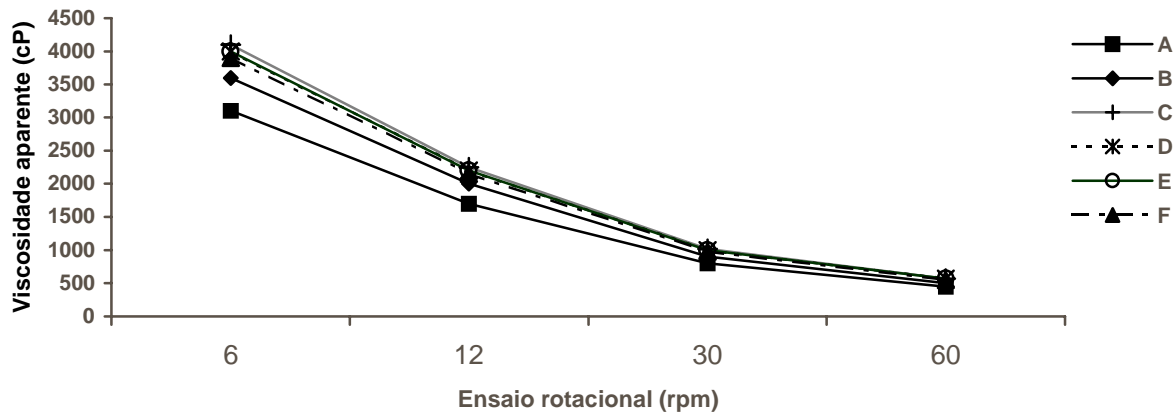


Figura 2: Viscosidade aparente a 25°C de soluções aquosas a 1% (m/v) dos biopolímeros obtidos com diferentes concentrações de inóculo: 2,6.10<sup>8</sup> (A), 1,3.10<sup>9</sup> (B), 2,6.10<sup>9</sup> (C), 7,8.10<sup>9</sup> (D), 1,3.10<sup>10</sup> (E) e 2,6.10<sup>10</sup> (F) UFC.mL<sup>-1</sup>.

ANTUNES, 2000, em estudos para obtenção de xantana com *Xanthomonas campestris* pv *pruni* cepa 06, no meio MP11, utilizou uma concentração celular inicial de 10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, e obteve, para soluções aquosas a 3%, uma viscosidade aparente de 28000cP a 25°C e 6rpm. Já MOREIRA *et al.* (no prelo), utilizou em suas pesquisas uma concentração inicial de 10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, e obtiveram uma viscosidade aparente de 27000cP, nas mesmas condições citadas anteriormente, concordando com os resultados deste trabalho.

CADMUS, 1978, estudando as melhores condições de produção e qualidade da goma xantana, analisou a influência do uso de diferentes concentrações de inóculo, 5, 7,5 e 10%, observando as mudanças no comportamento reológico do caldo de fermentação. Utilizando um inóculo de 5% em YM obteve 1264cP, com 10% ocorreu uma elevação para 4340cP. A viscosidade aparente do caldo é uma medida utilizada por vários pesquisadores para observar a produção e qualidade do polímero. Entretanto, as leituras obtidas de soluções aquosas de biopolímeros recuperados demonstram melhor seu comportamento reológico.

#### Composição química

Os biopolímeros obtidos partir de inóculos com diferentes concentrações iniciais de células, não apresentaram diferenças detectáveis por CCDC. Em geral, têm-se demonstrado que diferenças na viscosidade dos polímeros são resultantes de mudanças na estrutura ou composição (SUTHERLAND, 1993; ANTUNES, 2000). Entretanto, as pequenas diferenças verificadas na viscosidade dos polímeros podem ter sido resultantes de pequenas alterações em suas composições químicas, que não puderam ser detectadas pelo método utilizado.

#### CONCLUSÃO

O número de células iniciais tem influência sobre a produção e qualidade do biopolímero sintetizado por *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* cepa 06. Os tratamentos com menor concentração inicial de células apresentaram menor produção e viscosidade aparente (cP) para os biopolímeros, além de grandes flutuações na curva de crescimento celular no intervalo de 96 horas de fermentação.

Os tratamentos com concentrações iniciais elevadas apresentaram maior produção, viscosidade aparente e estabilidade celular durante a fermentação.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTUNES, A. E. C. **Produção, viscosidade e composição de xantana por *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* em meios convencionais e alternativos.** Pelotas, 2000. 63p. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de Produtos Agropecuários). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/Universidade Federal de Pelotas
- AHLGREN, J. A. Purification and properties of a xanthan depolymerase from a heat-stable salt-tolerant bacterial consortium. **Journal of Industrial Microbiology**, v.12, p. 87-92, 1993
- BAIOCCO, L. M. **Estudo de parâmetros para a produção de inóculos liofilizados de *Xanthomonas campestris* pv. *Manihotis*.** Campinas, 1997.148p. Dissertação (mestrado em Ciência de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos/ Universidade Estadual de Campinas
- BORZANI, W.; ALMEIDA, E.L.; AQUARONE, E. **Biotechnology:** Engenharia Bioquímica. São Paulo, Edgard Blücher, 1975. 300 p.
- CADMUS, M.C.; KNUTSON, C.A.; LAGODA, A.A.; PITTSLEY, J. E.; BURTON, K.A. Synthetic media for production of quality xantana gum in 20 liter fermentors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 20, p. 1003-1014, 1978
- CLEBESCH, D. P.; FURIGO, A.; SILVEIRA, M. M. Influência do teor de inóculo e da concentração de substrato na produção de glicose-frutose oxidoreductase por linhagem floculante de *Zymomonas mobilis*. **Anais do Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos**, 1995
- CIVEROLO, E. L.; HATTING, M. J. *Xanthomonas cmpestris* pv *pruni*: Cause of Prunus Bacterial Spot. In: SWINGS, J. G.; CIVEROLO, E. L. **Xanthomonas**. London, Chapman & Hall, 1993. 339p.
- FUNAHASHI, H.; YOSHIDA, T.; TAGUCHI, H. Effect of glucose concentration on xanthan gum production by *Xanthomonas campestris*. **Journal Fermentation Technology**, v. 65, p. 603-606, 1987
- HAYNES, W.C.; WICKERHAM, L.J.; HESSELTINE, C.W. Maintenance of cultures of industrially important microorganisms. **Applied Microbiology**, v.3,p. 361-368,1955.
- JEANES, A. Extracellular microbial polysaccharides- New hydrocolloids of interest to the food industry. **Food Technology**, v. 28, n 5, p. 34-40,1974

- KENNEDY, J. F.; JONES, P.; BARKER, S. A. Factors affecting microbial growth and polysaccharide production during the fermentartion of *Xanthomonas campestris* cultures. **Enzyme Microbiology and Technology**, v. 4, n1, p. 39-43, 1982
- MOREIRA, A.S.; SOUZA, A.S.; VENDRUSCOLO, C.T. Determinação da composição de biopolímero por cromatografia em camada delgada: metodologia. **Agrociência**, v.3, p. 222-224, set/dez. 1998
- NITSCHKE, M.; THOMAS, R.W.S.P.; KNAUSS, C. Xanthan production by *Xanthomonas campestris* in a whey-based medium. **Revista de Microbiologia**, v.28, p. 148-151, 1997
- QUINN, F. X. Xanthan Gum (Overview). In: SALAMONE, J.C. Ed. **Concise Polymeric Materials Encyclopedia**, Boca Raton, 1999, 1652-1653 p.
- SOUZA, A. S. **Produção e caracterização dos biopolímeros sintetizados por *Xanthomonas campestris* pv *pruni* cepas 24 e 58**. Pelotas, 1999, 36p. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial).Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/ Universidade federal de Pelotas
- ROGOVIN, S. P; ANDERSON, R. F.; CADMUS, M. C. Production of polisaccharide with *Xanthomonas campestris*. **Journal of Biochemistry and Microbiology Technology**, v. 3, p. 51-62, 1961
- SUTHERLAND, I. W. Xanthan. In: SWINGS, J.G.: CIVEROLO, E. L. Ed. **Xanthomonas**. London, Chapman & Hall, 1993, p. 363-388
- SHU, C.H.; YANG, S. T. Effects of temperature on cell growth and xanthana production in batch cultures of *Xanthomonas campestris*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 35, p. 454-468, 1990
- SZCZESNIAK, . A. S. Rheological basis for selecting hydrocolloids for specific applications. In: Phillips, G. O.; Wedlock, D.J.; Williams, P.A. **Gums and stabilisers for the food industry**. London, Elsevier, 1985. p. 311-323
- VENDRUSCOLO, C. T. **Produção e caracterização do biopolímero produzido por *Beijerinckia* sp isolada do solo cultivado com cana- de- açúcar da região de Ribeirão Preto – São Paulo – Brasil**. Campinas,1995, 143p. Tese (doutorado em Ciências dos Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos/ Universidade Estadual de Campinas