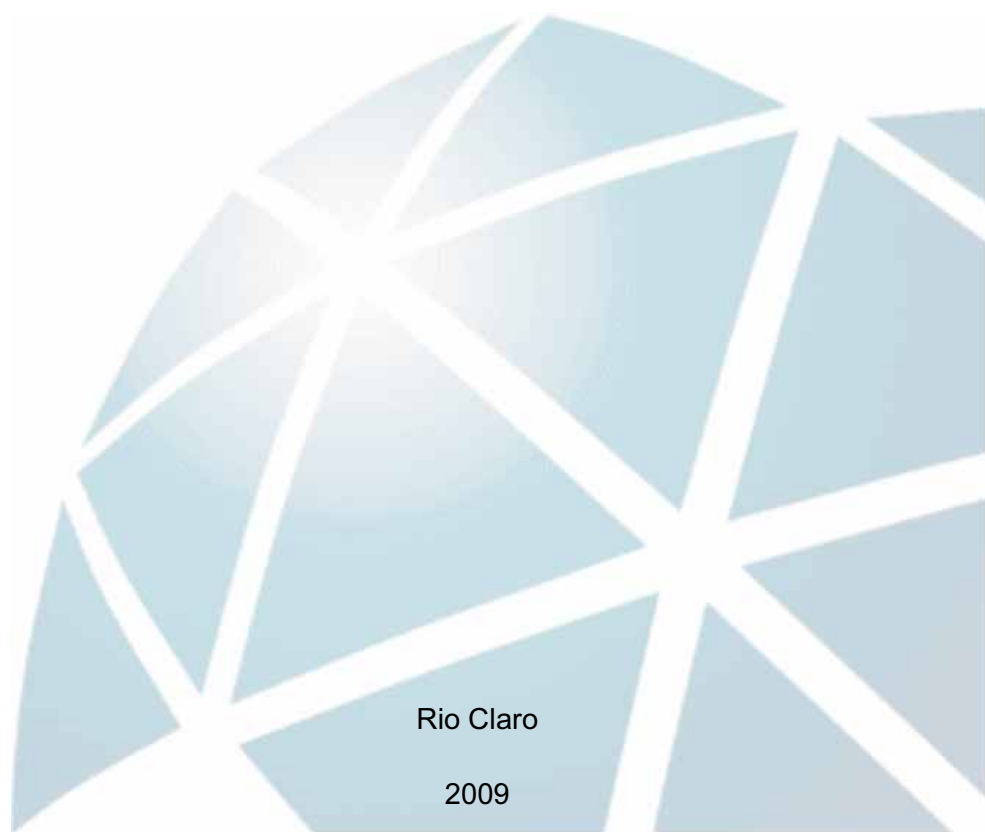

CIENCIAS BIOLÓGICAS

Rafaela Rodrigues

Dextrana: Produção e Aplicação Industrial



Rio Claro

2009

Rafaela Rodrigues

Dextrana: Produção e aplicação industrial

Orientador: Prof. Dr. Jonas Contiero

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Biociências da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, para
obtenção do grau de Bacharel e Licenciado em
Ciências Biológicas.

Rio Claro

2009

547.758 Rodrigues, Rafaela
R696d Dextrana : produção e aplicação industrial / Rafaela Rodrigues. - Rio
Claro - SP : [s.n.], 2009
50 f. : il., figs., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura e Bacharelado -
Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biociências de Rio Claro
Orientador: Jonas Contiero

1. Enzimas. 2. Biopolímeros. 3. Dextrana-sacarase. 4. Síntese
enzimática. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

Dedico a todas as pessoas que
fazem minha vida ter um sentido
especial e pelas quais vivo
intensamente!!

“O homem é do tamanho do seu sonho.”

Fernando Pessoa.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS.....	9
3. MATERIAIS E MÉTODOS	10
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
4.1 Biorefinarias.....	11
4.2. Biopolímeros.....	12
4.3 Dextrana	17
4.3.1 Definição e Propriedades	17
4.3.2 Estrutura.....	21
4.4 Dextrana-sacarase	22
4.4.1 Definição e propriedades	22
4.4.2 Variáveis que interferem na produção enzimática.....	23
4.4.3 Definição da atividade enzimática	26
4.4.4 Mecanismo de ação catalítica da dextrana-sacarase.....	26
4.4.4.1 Formação da cadeia principal	26
4.4.4.2 Formação das ramificações	28
4.5 Produção de Dextrana e Dextrana-sacarase.....	30
4.6 Aplicações	33
4.7 Patentes mundiais	40
5. CONCLUSÃO	44
6. RESUMO	46
7. REFERÊNCIAS	48

1. INTRODUÇÃO

A biotecnologia, atualmente, é uma das áreas de estudo com maior propensão ao crescimento, isso uma vez que, recentes pesquisas sobre bioprodutos realçam a importância econômica e comercial destes, o que fomenta estudos nesse ramo.

As enzimas merecem destaque nesse grupo de produtos, já que atuam como catalisadores com elevada especificidade e permitem a transformação química de compostos orgânicos simples em substâncias com estruturas complexas e importantes aplicações tecnológicas.

Uma enzima de elevada aplicabilidade é a dextranasacarase, a qual se vincula à formação de um polímero de origem microbiana. Ou seja, ela promove, sob determinadas condições de temperatura e pH, a conversão do substrato em um biopolímero designado dextrana (RODRIGUES, 2003).

O termo dextrana foi introduzido pela primeira vez em 1874, quando Scheiber descobriu que o espessamento apresentado pelos caldos de cana-de-açúcar e de beterraba era ocasionado devido à presença de um carboidrato de fórmula empírica $C_6H_{10}O_5$, com rotação ótica positiva, ao qual determinou o nome dextrana (ALSOP, 1983).

Já em 1861, Pauster demonstrara que a formação de películas em caldos ricos em sacarose era desencadeada por uma ação microbiana sem, no entanto, ter identificado o agente causador. (ALSOP, 1983).

Segundo KITCHEN (1988), as dextranas são polissacarídeos constituídos de moléculas de glicose unidas por ligações α -(1,6) na cadeia principal e ligações α -(1,4), α -(1,3), α -(1,2) nas ramificações (GIL, COLARTE et al, 2007). No entanto, o grau de ramificação e a massa molecular, características responsáveis pela ótima aplicabilidade da dextrana, são dependentes do microorganismo usado para a obtenção da enzima responsável pela produção do biopolímero, a dextranasacarase (Jeanes, Haynes et al, 1954).

Essa enzima é sintetizada por uma variedade de bactérias pertencentes à família *Lactobacillaceae*, e em particular pelos gêneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus*. Ela também pode ser sintetizada pelo gênero *Acetobacter*. Assim sendo, os principais microorganismos produtores da dextrana pertencem ao gênero *Leuconostoc*, sendo as espécies *Leuconostoc mesenteroides* e *Leuconostoc dextranicum*. Em 1948, a dextrana produzida pela linhagem *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F foi o primeiro biopolímero a ser produzido em escala industrial e obteve diversos usos na medicina, nas tecnologias de separações e na biotecnologia (MONCHOIS, WILLEMOT et. al, 1999).

2. OBJETIVOS

O objetivo deste Trabalho de Conclusão de Curso será o de elaborar uma monografia final, apresentando uma revisão sobre a produção do polímero dextrana, com principal enfoque na expansão da utilização deste produto em diversos setores industriais, de modo a ressaltar sua crescente importância econômica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Efetuar um levantamento bibliográfico nas bases de dados disponibilizados no Portal Periódicos (CAPES). Resumir as informações obtidas sobre a síntese do biopolímero dextrana, destacando os microorganismos produtores e novas aplicações deste polissacarídeo. Elaboração de um texto final sob a forma de um resumo bibliográfico a cerca do conteúdo analisado, apresentando o estado atual dos conhecimentos nesta área.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Biorefinarias

As biomassas não-renováveis correspondem a materiais energéticos naturais que também se exibem como importantes insumos para a produção de uma grande diversidade de produtos químicos. Tais produtos derivados podem variar desde gasolina e óleo diesel (Pinto, 2005), a insumos químicos e intermediários de produtos da química fina. Em termos energéticos, o carvão, o petróleo e o gás natural são responsáveis por aproximadamente 75% da energia total consumida no planeta (Galembeck, 2008). Porém, como esses são recursos naturais fósseis finitos, estabelece-se uma grande urgência de se desenvolver tecnologias para o aproveitamento das biomassas renováveis.

É nesse contexto que o século XXI se caracteriza pelo crescente interesse na utilização de matérias-primas de fontes renováveis para geração de energia e para obtenção de diversos produtos de interesse tecnológicos.

No entanto, a conversão industrial sustentável de biomassa em produtos com alto valor agregado é um processo que, atualmente, ainda exige uma reestruturação parcial ou mesmo completa de toda a economia, que precisará se sustentar sobre novas metodologias de pesquisa e desenvolvimento.

Uma dessas novidades corresponde à instalação de biorefinarias, as quais podem ser definidas como complexos industriais geradores de combustíveis

renováveis, energia elétrica e materiais basebio, a partir da conversão integrada da biomassa e outros equipamentos.

Recentes previsões demonstram que, por meados de 2025, mais de 30% das matérias-primas para a indústria química serão produzidas a partir de fontes renováveis (European..., 2009). Contudo, para se confirmarem tais projeções são indispensáveis o desenvolvimento de novas tecnologias para se viabilizar a utilização das plataformas de biorefinarias.

Por isso os estudos vinculados a esse tema focalizam, atualmente, o fomento de novas indústrias para a conversão da biomassa em uma variedade de produtos de maior valor agregado, inclusive aqueles que eventualmente possam substituir produtos de origem petroquímica. Duas das mais promissoras plataformas emergentes em biorefinaria são as plataformas de açúcar e a plataforma termoquímica. (National ..., 2009)

Isso sendo que as termoquímicas convertem biomassa em *syngas*, como precursor do biodiesel, enquanto que as biorefinarias de açúcar fazem a conversão da biomassa em diferentes açúcares através da fermentação ou outro processo biológico.

Um exemplo de subproduto, na plataforma de açúcar, que apresenta elevado valor agregado é um polissacarídeo de origem microbiana, denominado dextrana.

Sendo assim, as biorefinarias representam, uma nova fronteira, seja no aspecto econômico ou mesmo no tecnológico, visto que são organizadas de modo a promover um equilíbrio entre o desenvolvimento econômico e ecológico.

4.2. Biopolímeros

Os biopolímeros são polissacarídeos de origem microbiana, também conhecidos como gomas ou exopolissacarídeos, que são obtidos por processos fermentativos. Atualmente há um considerável interesse por esses polissacarídeos pois eles possuem capacidade de formar soluções viscosas e géis em meio aquoso,

mesmo quando aplicados em baixas concentrações. (MOREIRA et al. 2003). Por isso são amplamente utilizados em diversos setores industriais como espessantes, gelificantes, agentes de suspensão, colóides protetores, entre outras aplicações. Tais propriedades são determinadas por sua composição química, agrupamentos e ligações moleculares, sua massa molar média e sua distribuição. (PACE, 1991 apud MESOMO, 2007).

Os polissacarídeos microbianos são macromoléculas formadas por monossacarídeos e derivados ácidos, sendo que podem ser sintetizados por bactérias, fungos e leveduras (SUTHERLAND, 1982 apud MESOMO, 2007).

Muitos microorganismos produzem grandes quantidades de polissacarídeos sob as mais variadas condições, isso uma vez que esses polissacarídeos desempenham papéis específicos como compostos de armazenamento (glicogênio), compostos estruturais (quitina) e mediadores das interações do microorganismo com o meio ambiente (polissacarídeos extracelulares) (PACE, 1980).

Esses sintetizados por bactérias dividem-se em três grupos: intracelulares, integrantes da parede celular e extracelulares, segundo sua localização morfológica.

A pesquisa visando aplicação industrial, de modo geral, está concentrada nos polissacarídeos extracelulares, pois estes apresentam um processo de extração e purificação mais simples que os demais, além de possibilitarem uma produtividade mais elevada.

As bactérias Gram-negativas também são consideradas como as de melhor aptidão para o processo, obviamente que para biopolímeros de uso alimentar, a bactéria não deve ser patogênica (SILVA et al., 2001).

A biossíntese de exopolissacarídeos está diretamente relacionada à capacidade de sobrevivência do microorganismo em condições adversas de meio ambiente (WILKINSON, 1958 apud MOREIRA, 2002). Eles possuem a função de proteger a célula bacteriana contra dessecação e ataque de fagos, bem como de antibióticos, compostos tóxicos e protozoários. Outra possível função do exopolissacarídeo inclui sequestrar cátions essenciais e envolvimento na aderência

em superfícies sólidas e formação de biofilmes (DE VUYST et al., 1999; LOOIJESTEIJN et al., 2001 apud SOUZA, 2004).

Os biopolímeros emergiram rapidamente como uma nova e importante fonte industrial de material polimérico e começaram gradualmente a competir, sob o ponto de vista econômico, com gomas naturais de algas marinhas e plantas (LOPES et al., 1991; LOPES et al., 1995).

As gomas provenientes de plantas terrestres podem ser estruturais, exudatos ou oriundas das sementes, como a celulose e o amido; a goma arábica; a goma luar e locusta, respectivamente. Quanto às oriundas de plantas aquáticas há o ágar e a carragena (MESOMO, 2007).

O monoesterato glicerol e a carboximetilcelulose são também emulsificantes amplamente utilizados na indústria de alimentos com capacidade muito efetivos nas suas funções, mas que, atualmente perdem seu campo devido a maior conscientização dos consumidores em reduzir o uso de aditivos artificiais ou quimicamente sintetizados em alimentos. A produção de emulsificantes através de cultivo microbiano soluciona esse problema, uma vez que os polímeros sintetizados são de natureza biodegradável, além de serem eficientes a uma ampla margem de temperatura, pH e força iônica, e ainda possui capacidade de síntese em condições desfavoráveis, como baixas temperaturas e pressão (SHEPHERD et al., 1995).

Em relação aos polissacarídeos de origem vegetal e animal, os biopolímeros apresentam também diversas vantagens tais quais: reprodutibilidade e estabilidade das propriedades físico-químicas e custo e suprimento estáveis. (PACE, 1980).

Por obséquio a síntese de gomas microbianas, independe das condições climáticas, de problemas ambientais, assim como da poluição marinha, ou de perdas na colheita. Além disso, outras grandes vantagens desse tipo de goma é a alta taxa de crescimento dos microorganismos produtores, que acarreta numa maior liberação de exopolissacarídeo, a possibilidade de utilização de matérias-primas regionais e a necessidade de espaço relativamente pequeno.

Nas últimas décadas observaram-se progressos significativos em relação à identificação, caracterização e utilização de polissacarídeos sintetizados por

microorganismos (PADILHA, 1997). Inúmeros biopolímeros têm sido produzidos e utilizados comercialmente, entre eles: dextrana (*Leuconostoc*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*), xantana (*Xanthomonas*), curculana (*Alcaligenes faecalis* var. *mixogenes* e *Agrobacterium radiobacter*), alginato bacteriano (*Azotobacter*, principalmente *Azotobacter vinelandii*, e *Pseudomonas*), zanflo (*Erwinia tahitica*), gelana (*Sphingomonas paucimobilis*, anteriormente classificada como *Pseudomonas elodea*), welana (*Alcaligenes*), escleroglucana (*Sclerotium*), pululana (*Aureobasidium pullulans*), celulose bacteriana (*Acetobacter xilinum*) (MOREIRA et al, 2003).

No processo de produção de polissacarídeos deve-se considerar desde o microrganismo em estudo até a determinação dos parâmetros de fermentação, onde se destaca o meio de produção e sua influência na síntese, no rendimento e na composição dos exopolissacarídeos (FARIA, 2002 apud SOUZA, 2004). Os parâmetros que mais influenciam o processo de biossíntese de exopolissacarídeos são a bactéria, a composição do meio de cultivo, o pH e a temperatura de incubação (NAMPOOTHIRI et al., 2003 apud MESOMO, 2007). Nestes têm sido pesquisadas as limitações das fontes de nitrogênio, fosfato ou enxofre em presença de excesso de carboidrato e foi observado que podem conduzir a um aumento na síntese de polissacarídeo, embora a quantidade seja também afetada pelo teor de oxigênio, pH e temperatura.

Cada cepa bacteriana difere em sua resposta ao efeito das mudanças ambientais e à fonte de carbono utilizada. Além disso, as condições ideais para o crescimento bacteriano e a produção de polissacarídeo em culturas descontínuas também são afetadas pela proporção entre o volume de ar e o de meio, a presença ou ausência de agitação, o tamanho do inoculo, a quantidade e a composição de micronutrientes (FARIA, 2002 apud SOUZA, 2004). Portanto, a utilização do meio de fermentação mais adequado para a produção de exopolissacarídeos irá refletir nas propriedades funcionais de cada polissacarídeo obtido (MARGARITIS et al., 1985 apud SOUZA, 2004).

Durante a fermentação, a fonte de carbono é convertida pela célula microbiana em biopolímero sob certos parâmetros fixos, sendo que, geralmente, concentrações limitantes de alguns nutrientes e excesso de carboidrato favorecem a produção de polissacarídeos (SUTHERLAND, 1979 apud MESOMO, 2007).

Segundo PACE (1985) apud SOUZA (2004) pode se dizer que houve um alto rendimento quando ocorre a conversão de 70-80% da fonte de carbono utilizada em biopolímero.

Os biopolímeros microbianos podem ser produzidos pelo processo convencional cultivando o microrganismo em meio líquido com substrato, em condições ideais de temperatura e rotação, ou em meio líquido pela via enzimática, ou seja, utilizando-se enzimas purificadas, sem a ação da bactéria. As enzimas são primeiramente produzidas e purificadas e depois utilizadas para síntese do polímero em meio contendo substrato.

O processo via enzimática é utilizado na produção de dextrana. Esse processo apresenta vantagens como a diminuição dos riscos de contaminação, a redução dos custos industriais do processo e ainda a possibilidade de obtenção de produtos com melhores características, como melhor comportamento reológico (MOREIRA et al. 2003).

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. Glicose e sacarose são usadas como fontes de carbono preferenciais para a produção de biopolímeros, porém, algumas fontes alternativas têm sido sugeridas, tais como melaço, resíduo da indústria de soja, soro de leite entre outros (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 et al., 2004).

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 apud BERWANGER, 2007). 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 apud BERWANGER, 2007). Entretanto, segundo Treichel (2004) apud BERWANGER (2007), contaminantes com metais pesados e inibidores específicos são removidos parcialmente com pré-tratamentos, sendo que estes pré-tratamentos clarificam o meio sem provocar prejuízos na fermentação, além de garantirem a maior facilidade na extração e purificação de bioprodutos.

4.3 Dextrana

4.3.1 Definição e Propriedades

O termo dextrana coletivamente descreve uma classe de homopolissacarídeos bacterianos extracelulares (ASPINALL, 1983), de elevada massa molecular (10^7 a 10^8 Da), formados por unidades D-glucopiranosil (ROBTY, 1995).

Mais especificamente, esse exopolissacarídeo é constituído de unidades de

α -D-glucopiranosil polimerizadas, sendo um polímero de moléculas de glicose unidas por ligações α -(1-6) na cadeia principal e ligações α -(1-4), α -(1-3) e α -(1-2) nas ramificações (GIL, COLARTE et al. 2007).

As figuras 1 e 2 ilustram exemplos de cadeia de dextrana, sendo a primeira uma cadeia de dextrana linear e a segunda uma ramificada na posição α -(1,3).

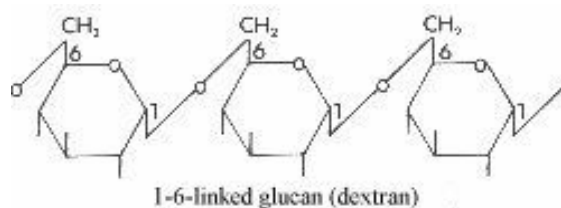


FIGURA 1 – CADEIA DE DEXTRANA LINEAR

(AQUINO, 2006)

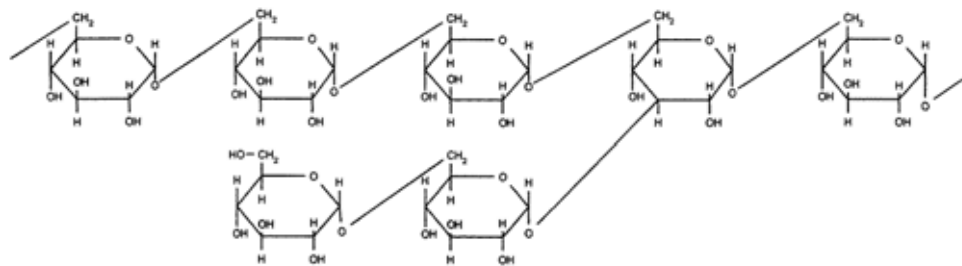
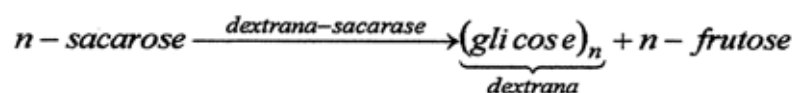


FIGURA 2 – CADEIA DE DEXTRANA COM RAMIFICAÇÃO NA POSIÇÃO α -(1,3)

(AQUINO, 2006)

Já que é um exopolissacarídeo sua síntese ocorre extracelularmente, sendo o substrato transformado em polímero sem penetrar no interior da célula do microorganismo. Essa síntese é realizada por uma enzima denominada dextranasacarase, ou α -(1,6)-D-glucana-D-frutose-2-D-glucosiltransferase (E.C.2.4.1.5) (FLORIDO, 2001).

Abaixo está representada a reação de síntese da dextrana, catalisada pela enzima dextranasacarase.



Muitos microrganismos sintetizam dextrana a partir da sacarose, e por isso os tipos de ligações presentes nesse polímero diferem entre si, dependendo do

microrganismo produtor. Além dos tipos de ligação, a massa molecular é outra propriedade que pode variar de acordo com o microrganismo produtor. No entanto, a massa molecular também é dependente de outros fatores de condições de síntese, tais como temperatura, pH, concentração de sacarose e presença de outros açúcares (ROBYT, 1974).

Segundo Sabatie et al., (1986) apud Vieira (2003) a variação da temperatura de síntese da dextrana difere a sua estrutura e o seu comportamento reológico.

Entretanto, a dextrana produzida pelo método convencional pode atingir de 9.10^6 a 50.10^8 Daltons (ROBYT, 1974).

Várias bactérias pertencentes à família *Lactobacillaceae*, em particular dos gêneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus* são responsáveis pela síntese extracelular da dextrana, sendo que *Leuconostoc mesenteroides* é comercialmente utilizado para a produção desse exopolissacarídeo.

Esse último microrganismo é uma bactéria gram positiva, cocos (Figura 3), considerada micro aerófila, sendo que alguns autores consideram que o oxigênio possivelmente afeta o crescimento da cepa (BARKER et al., 1993 apud Cortezi, 2004).

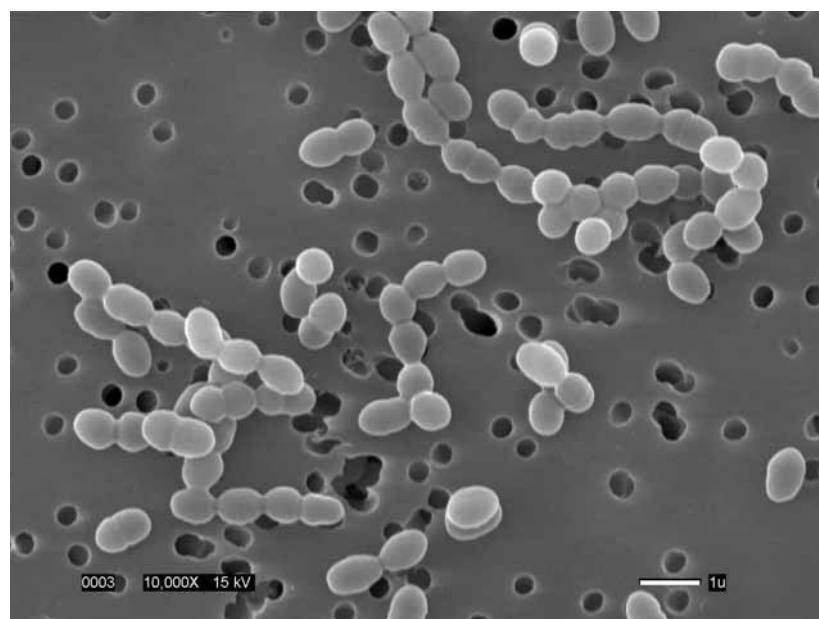


FIGURA 3 – *Leuconostoc mesenteroides*

A produção industrial é, usualmente, feita a partir de uma única linhagem, de *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512(F), que origina dextrana com 95% de ligações α -(1,6) e 5% de α -(1,3) (RODRIGUES, 2003).

Uma vez que poucas propriedades podem ser aplicadas a todas as dextranas, devido a variedade de microorganismos produtores, tem-se que, sob uma visão geral das características desse biopolímero, elas podem ser definidas como brancas insípidas quando sólidas e suficientemente purificadas, com elevada viscosidade, sendo essa tão variável de forma a alcançar valores altos iguais as de substâncias amiláceas de plantas, quanto valores inferiores semelhantes aos de amilopectinas. Além disso, a análise desse polímero sob radiação infravermelho realmente exhibe bandas características de unidades de α -D-glicopiranosose, unidas por ligações α -(1,6), e além disso elas demonstram um padrão distinto de comportamento sorológico (JEANES, 1966).

Elas são normalmente solúveis em água e insolúveis em álcool (KITCHEN, 1988), no entanto, o grau de ramificação afeta a solubilidade em água e outras propriedades reológicas, portanto as dextranas que contêm maior proporção de ligações α -(1,6) são mais solúveis em água e apresentam elevada estabilidade sob condições ácidas e alcalinas (JEANES, 1966).

Elas também são altamente dextro-rotatórias, sendo que em soluções aquosas apresentam rotações óticas específicas de $+200^{\circ}$ ou mais e usualmente estabelecem uma solução clara, a qual é bastante estável à esterilização por calor, congelamento e descongelamento (JEANES, 1974). Outro tipo de coloração possível para soluções de algumas dextranas é referente a tonalidade amarela esverdeada, sob luz comum (JEANES, 1966).

Ainda referente às soluções de dextrana, Sabatie et al., (1986) apud Vieira (2003), afirmou que o comportamento da viscosidade dessas é bastante característico devido a grande flexibilidade da estrutura desta classe, sendo que uma solução de dextrana com concentração de até 5% apresenta comportamento newtoniano.

Outra fundamental propriedade da dextrana é referente a sua capacidade de complexar íons metálicos. Essa por sua vez, está aparentemente relacionada com os grupos 3- hidroxil das ramificações α -(1,3). Em soluções alcalinas, a dextrana forma complexos com composição definida, com muitos íons metálicos, tais como antimônio, cálcio, cobalto, cobre, ferro e urânio (JEANES, 1966).

4.3.2 Estrutura

As ligações existentes entre as unidades -D-glicopiranosil que constituem a dextrana são, predominantemente, do tipo α -(1,6). A grande diversidade de moléculas observada dentro da classe dextrana depende da existência de ligações distintas das ligações α -(1,6), o que, portanto, conduz a ramificação da cadeia principal do polímero. Como já citado anteriormente, as ramificações ocorrem principalmente nas ligações α -(1,3), α -(1,4) e α -(1,2). O tipo, a quantidade, o comprimento e a disposição das ramificações são responsáveis por definir diferentes estruturas de dextrana, assim como influenciar na solubilidade destas em água e em outras propriedades (KARTHIKEYAN, 1999).

Segundo Sloan et al., (1954) apud Aquino (2006), pode se utilizar o procedimento degradativo, o qual trabalha com uma técnica de peroxidação, para determinar o tipo e proporção das diferentes ligações dos resíduos D-glicopiranosil em dextranas. Esses parâmetros podem ser medidos pelo consumo de um oxidante e produção de ácidos quando as dextranas estão sujeitas a uma oxidação com periodato.

No entanto, informações mais precisas da estrutura da dextrana podem ser obtidas pela análise dos fragmentos característicos derivados da dextrana oxidada pelo periodato. Estes fragmentos podem ser isolados pela degradação de Smith, sendo que esta é realizada pela seguinte seqüência de métodos: oxidação com periodato, redução e hidrólise com ácido diluído. A aplicação desse método para as dextranas implica que D-gliceraldeído, D-glicose e eritritol tornam-se, respectivamente, os fragmentos característicos das ligações α -(1,2), α -(1,3) e α -

(1,4), enquanto que o glicerol e o glicaldeído pode ser usado para identificar os terminais não reduzidos e as ligações α -(1,6) (AQUINO, 2006).

Sidebotham (1974), examinou a estrutura de algumas dextranas de *Leuconostoc* e *Streptococcus* pela perioxidação, e obteve resultados que indicam a incidência de resíduos de D-glicopiranosil não oxidado em todas as dextranas. Isso, pela análise de acetólises indica que estes resíduos são as ligações α -(1,3). Isso condiz com o estudo de Rodrigues (2003), já que segundo esse autor o microorganismo *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512F produz dextrana com 95 % de ligações α -(1,6) e 5 % de ligações 1,3- α -D-glucanopirosídicas.

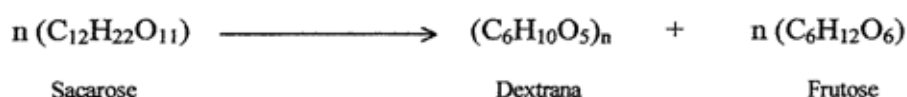
Jeanes et al (1954) trabalhou com 96 diferentes linhagens de bactérias produtoras de gomas, e pela técnica de perioxidação separou esses microorganismos de acordo com as porcentagens dos tipos de ligações contidas na cadeia polimérica.

Além disso eles mediram a rotação específica, a viscosidade e absorção no infravermelho, e observaram a solubilidade e a aparência física após a precipitação com álcool.

4.4 Dextrana-sacarase

4.4.1 Definição e propriedades

A dextrana-sacarase (1,6- α -D-glucan-6- α -glucanosil transferase, EC.2.4.1.5) é uma glicosiltransferase extracelular responsável pela conversão da sacarose em dextrana (AQUINO, 2006), conforme a seguinte equação:



A ação da dextrana-sacarase se dá pela transferência do grupo glicosil do doador, a sacarose, para o aceptor, que no caso é a cadeia de dextrana em

formação. Essa enzima é indutiva, sendo que a sacarose é o único substrato capaz de induzir a produção da enzima dextrana-sacarase (NEELY, 1962). A utilização de outros açúcares no meio de cultura, como por exemplo a glicose, frutose, manose e lactose, irá promover o crescimento vegetativo normal das células, porém sem a produção da enzima. (LOPES, 1979 apud FLORIDO, 2001). No entanto, essas afirmações são válidas somente para a produção da enzima a partir de microorganismos com expressão da enzima indutiva, como por exemplo *Leuconostoc mesenteroides* B512 F. Isso pois em estudos recentes já se conseguiu utilizar outras fontes de carbono, diferentes da sacarose. Rodrigues (2003) trabalhou com um microorganismo mutante, o *Leuconostoc mesenteroides* B512FMC e conseguiu obter a enzima a partir de um meio contendo somente glicose, sendo que isso foi possível porque essa é uma espécie com expressão da enzima constitutiva. Além disso, seus resultados relatam que obtiveram uma produtividade de enzima bastante superior à obtida normalmente com o *L. mesenteroides* NRRL B512F, sendo a produtividade superior à 100 vezes a obtida com a espécie nativa (KITAOKA, ROBTY, 1998).

A dextrana-sacarase se caracteriza por ser uma das poucas enzimas que não requer a presença de cofatores ou intermediários fosforilados de alta energia, isso uma vez que, para a síntese da dextrana, a energia requerida na condensação das duas unidades glicosil é fornecida pela própria hidrólise da sacarose (ALSOP, 1983 e KARTHIKEYAN, 1999).

Kobayashi e Matsuda (1977) apud Aquino (2006) obtiveram a massa molecular da dextrana-sacarase purificada com 17% de carboidratos e encontraram o valor de obtido de 65.000 daltons. Miller et al. (1986), em trabalhos posteriores avaliaram a massa molecular em 180.000 daltons, em uma enzima purificada contendo menos de 1% de carboidratos.

4.4.2 Variáveis que interferem na produção enzimática

Diversos fatores podem implicar em alterações na produção da enzima, sendo alguns deles a temperatura, pH, concentração de sacarose, atividade e estabilidade da enzima.

Assim, segundo Alsop 1983, para se estabelecer as condições ótimas para produção da dextrana-sacarase é necessário conhecer a dependência do pH e da temperatura de produção, atividade e estabilidade da enzima. O pH ótimo para produção da enzima está na faixa de 6,7 – 7,0, já o pH ótimo para atividade enzimática é 5,0 – 5,2, sendo que a enzima é mais estável neste mesmo pH e relativamente instável em pH 6,7. No entanto, esses valores são referências de pH ótimo se a temperatura for mantida a 23°C, pois em temperaturas mais elevadas esses valores de pH podem ocasionar uma inativação extremamente rápida da enzima, o que implicará na obtenção de baixos rendimentos.

Já Kobayashi e Matsuda 1980, apud Rodrigues 2003, publicaram um estudo segundo o qual obtiveram o pH 6,00 como ótimo para a atividade enzimática, isso porque trabalharam com temperatura a 30⁰ C. Eles concluíram que a oscilação da temperatura e do pH provocam variações não lineares para a atividade enzimática.

Durante o processo de síntese da enzima a correção de pH é realizada por meio da solução de NaOH, afim de não haver quedas na produção (RODRIGUES, 2003).

A agitação e a aeração também podem alterar a atividade enzimática, sendo que, segundo Alsop (1983), a agitação deve ser suficiente para evitar o processo de sedimentação das células, enquanto que a aeração deve ser feita sob muita cautela. Isso já que a bactéria *Leuconostoc mesenteroides* é aeróbica facultativa, e pode portanto se desenvolver bem em ambientes sem oxigênio. No entanto, se não houver aeração a produção enzimática é muito baixa, e ao mesmo tempo, uma injeção de oxigênio puro ou de dióxido de carbono inibe o crescimento. Logo, devem ser realizadas injeções com pequenas quantidades de ar com o propósito de estimular a síntese de dextrana.

Diversas pesquisas foram realizadas a fim de obter melhores resultados para a estabilidade enzimática e foi verificado que a presença de dextrana, cálcio (Ca⁺²),

polietileno-glicol, metilcelulose e detergentes neutros aumentam significativamente a estabilidade da dextrana-sacarase (MILLER e ROBYT, 1986; KABOLI et al, 1980).

Kobayashi e Matsuda (1977) mostraram que a enzima perde atividade na presença de EDTA. No entanto, sua atividade pode ser restaurada pela adição de íons cálcio (Ca^{+2}), sugerindo que a dextrana-sacarase é um metalo-enzima (ROBYT, WALSEH, 1979). Já Lawford et al (1979) observaram desnaturação irreversível quando a enzima é incubada por tempo prolongado na presença de EDTA e ausência de Ca^{+2} .

No entanto, um estudo do efeito dos íons cálcio na ação da enzima sugeriu que esse não é um ativador essencial e que, dependendo de sua concentração, pode agir como inibidor ou ativador dos sítios catalíticos (MILER e ROBYT, 1986).

O fosfato também pode interferir na produtividade enzimática, isso uma vez que ele é um componente essencial para as atividades metabólicas e para o crescimento celular. Assim, Rodrigues et al.(2003) apud Aquino (2006) propuseram o aumento da concentração fosfato de 0,1M para 0,3M no meio de fermentação da linhagem *Leuconostoc mesenteroides* B512F. A concentração proposta foi capaz de manter o pH em valores em torno do valor de máxima estabilidade da enzima, bem como foi capaz de estimular o crescimento celular, o que acarretou uma maior produtividade enzimática.

Pirollo e Contiero (2001) apud Cortezi (2004) estudaram a relação carbono/nitrogênio na produção da enzima dextranasacarase produzida por *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B 512 (F). Eles trabalharam com temperatura de 26°C, agitação 132 rpm, aeração 0,5 vvm e pH 6.7. e puderam observar que a relação carbono/nitrogênio igual a 50/20 foi a que promoveu maior produção de biomassa e melhor atividade enzimática, em 7 horas de fermentação.

Lopretti et al. (1999) apud Cortezi (2004) também estudaram o efeito da taxa nitrogênio/ carbono, além de açúcares complementares na produção de dextranasacarase por *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B 512. Puderam constatar que a taxa de produção da enzima decrescia juntamente com a diminuição da concentração nitrogênio/carbono. Logo, eles notaram que a adição de pulsos de

nitrogênio, quando a relação nitrogênio/carbono decrescia, permitiu uma produção constante da enzima, além de reduzir o período de fermentação.

4.4.3 Definição da atividade enzimática

Diversas unidades já foram propostas para a medição da atividade enzimática da dextrana-sacarase.

Uma unidade de dextrana-sacarase (UDS) é definida como sendo a quantidade de enzima que converte 1mg de sacarose em dextrana em 1 hora, com a liberação de 0,52mg de frutose, a 30°C em tampão pH 5,2 (HEHRE, 1955 apud VIEIRA, 2003).

Robty e Walseth (1979) utilizaram a medida internacional (UI), sendo que uma UI é a quantidade de enzima que incorpora 1 μ mol de D-glicose no polissacarídeo em 1 minuto a pH 5,0 e 25°C. Logo, 1 UI = 20,27 UDS. Para uso industrial a unidade UDS é a mais convincente (ALSOP, 1983).

4.4.4 Mecanismo de ação catalítica da dextrana-sacarase

Segundo Cortezi, 2004, a atividade catalítica da dextrana-sacarase é uma combinação de reações que envolvem os sítios ativos da enzima, o substrato e o aceptor. Sendo assim, duas atividades distintas podem ser consideradas na síntese de dextrana a partir da sacarose: a atividade hidrolítica e a glicosiltransferase. A primeira é responsável pela quebra da ligação entre a frutose e a glicose da sacarose, formando o grupo D – glicosil e a segunda, pela transferência do grupo glicosil para a cadeia do polímero em formação.

4.4.4.1 Formação da cadeia principal

Rodrigues (2003) cita que a enzima dextrana-sacarase apresenta dois grupos ativos, um doador e outro receptor, sendo que duas moléculas de sacarose se ligam uma a cada um dos grupos citados. O grupo glicosil da sacarose, uma vez ligado ao sítio doador, será transferido para o grupo receptor, liberando uma molécula de frutose. Dessa forma, ocorrem transferências sucessivas de grupos D-glico-piranosil da sacarose para o final da cadeia ligada ao sítio receptor. Esta transferência origina as ligações α -1,6), que dão origem a cadeia principal do polímero.

Segundo Alsop (1983) apud Rodrigues (2003) há teorias quanto à utilização de iniciadores, que suportam o complexo enzima-sacarose como tal, embora haja evidências de que os mesmos não sejam necessários.

Quanto à direção de crescimento da cadeia vários estudos foram realizados a fim de se encontrar o modo de síntese. No entanto, somente o estudo de Robyt et al. (1974) conseguiu elucidar o sentido de formação da dextrana. Ele trabalhou com técnicas de marcadores radioativos (C^{14}) e técnicas cromatográficas de análise e verificou que a dextrana se mantinha ligada à enzima, provavelmente por ligações covalentes e que a dextrana era sintetizada pela extremidade redutora da cadeia. A partir desses fatos eles propuseram que a dextrana-sacarase possuía dois sítios ativos X1 e X2, os quais estavam exibidos na Figura 4 abaixo. Num primeiro momento os sítios ativos fazem um ataque nucleofílico as moléculas de sacarose, de modo a formar dois grupos glicosil que permanecem ligados ao carbono 1 por meio de ligações covalentes. Na próxima etapa, a hidroxila do carbono 6 ($C_6 - OH$), de uma das unidades glicosídicas, faz um ataque nucleofílico ao glicosil ligado ao outro sítio catalítico, formando uma ligação α -(1,6) e liberando um sítio que ataca outra molécula de sacarose, formando um novo grupo glicosil. Posteriormente, a hidroxila do carbono 6 do novo grupo glicosil formado faz um ataque ao carbono 1 do isomaltosil formado no processo anterior. Na presença de sacarose o mecanismo pode se repetir continuamente com dois grupos catalíticos dos sítios X1 e X2, formando alternadamente complexos covalentes com a glicose e a cadeia de dextrana em formação. A finalização da cadeia ocorre pelo deslocamento da dextrana, através da ação de aceptores como glicose ou frutose, quando estes atingem uma concentração suficiente para atuar no sítio ativo, de tal forma que uma das hidroxilas faz um ataque nucleofílico ao carbono 1 da dextrana (AQUINO, 2006),

havendo a dissociação ou inativação do complexo enzima-dextranosil (RODRIGUES, 2003).

Segundo AQUINO (2006) esse mesmo mecanismo de inserção ainda pode ser utilizado para explicar a formação de oligossacarídeos e dextrana de baixa massa molecular. Isso quando a síntese se dá na presença de aceptores como maltose e isomaltose, que mesmo em concentrações baixas são capazes de deslocar a molécula de dextrana em crescimento.

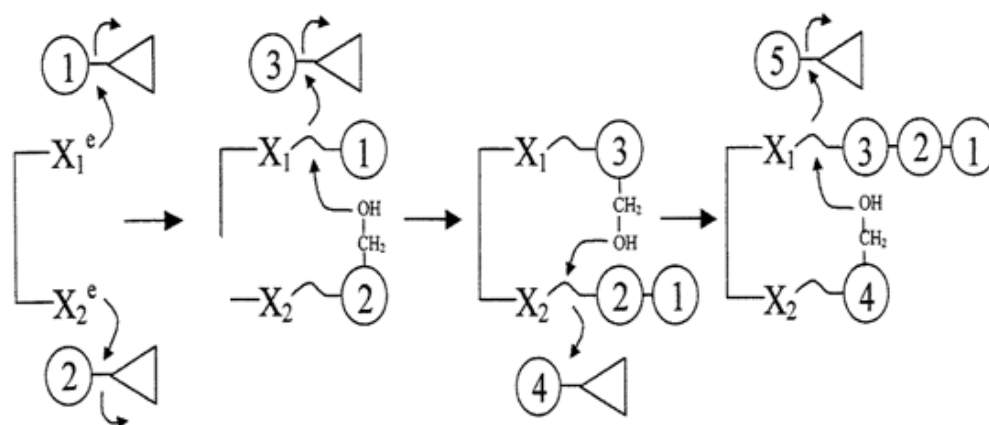


FIGURA 4 - MECANISMOS DE AÇÃO CATALÍTICA DA ENZIMA DEXTRANA SACARASE

X_1 e X_2 grupos nucleofílicos no sítio ativo, ○ Glicose, ◁ Frutose, ◯◁ Sacarose e
 ○—○ Unidades de glicose ligadas por ligações glicosídicas

4.4.4.2 Formação das ramificações

As ramificações da cadeia de dextrana são constituídas de ligações α -(1,3), as quais foram por muitos estudadas a fim de se compreender o mecanismo de biossíntese. Diversos mecanismos foram propostos ao longo das últimas décadas para elucidar esse processo.

Alsop (1983) apud Rodrigues (2003) relata o estudo de Bovey (1959) e Bailey (1957), que atribuem as ramificações encontradas na dextrana a uma enzima secundária denominada alternansacarase, a qual é termicamente mais estável que dextrana-sacarase, entretanto só é obtida na presença de íons magnésio. Até pouco tempo atrás, não era possível separar a dextrana ramificada da não ramificada. Segundo Jeanes (1966) apud Rodrigues (2003) em estudo realizado com *Leuconostoc mesenteroides* B1355, mostrou ser possível a obtenção de dextranas separáveis com características físicas diferentes denominadas 'L' e 'S', sendo a dextrana 'L' um produto típico com 95 % das ligações α -(1,6) e a dextrana 'S' um produto com ligações alternadas α -(1,6) e α -(1,3). O mecanismo proposto para a formação de ramificações é análogo ao mecanismo de reação do aceptor, proposto por Robyt e Walseth (1978). Neste caso, a dextrana livre em solução se liga à cadeia em crescimento através do ataque nucleofílico de seu C3 ao C1 na extremidade redutora da cadeia, liberando a dextrana do complexo. Este mecanismo foi confirmado por experimentos laboratoriais, entretanto não foram realizados testes em escala industrial.

Por sua vez, Aquino (2006) cita os estudos de Robyt e Taniguchi, que em 1976, apresentaram um trabalho comprovando um mecanismo anteriormente proposto por Ebert e Brosche. O trabalho desses últimos sugeria que a molécula de dextrana livre age como aceptor para liberar a dextrana de um complexo dextrana - dextrana-sacarase formando as ramificações.

Assim, Robyt e Taniguchi trabalharam com espécies que estavam envolvidas na síntese da dextrana e as marcaram radioativamente. Este estudo, por sua vez, descartou a possibilidade da existência de uma enzima específica para formação das ramificações. No entanto, o modelo proposto para o mecanismo de biossíntese das ramificações foi praticamente o mesmo. Resumidamente, eles também propuseram que um grupo hidroxil do C3 de uma cadeia livre de dextrana faz um ataque nucleofílico no C1 de uma unidade glicosil ou dextranosil do complexo enzima – radical para formar uma ligação α -(1,3) liberando outra glicose ou dextrana da enzima. Tal mecanismo está representado na figura 5 abaixo.

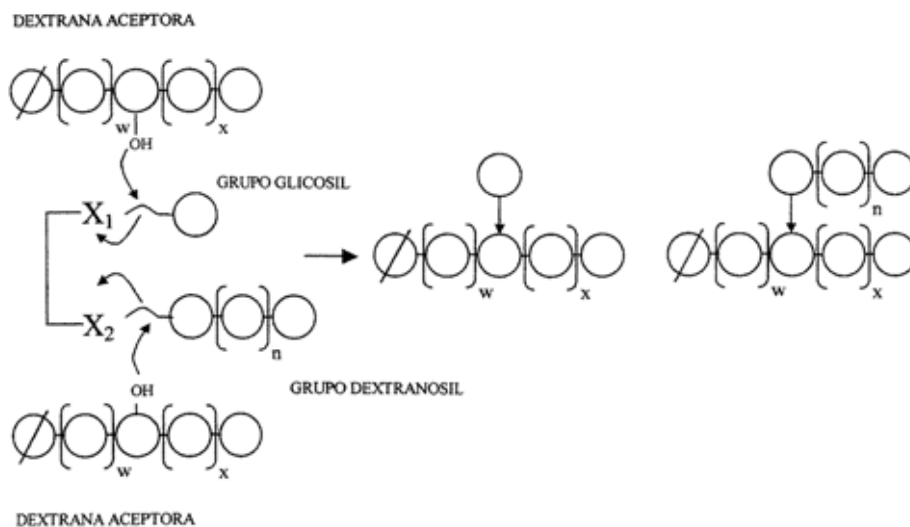


FIGURA 5 – MECANISMO PROPOSTO PARA A FORMAÇÃO DAS RAMIFICAÇÕES NA DEXTRANA

4.5 Produção de Dextrana e Dextrana-sacarase

As dextranas são produzidas pela fermentação bacteriana em meio rico em sacarose, desse modo o primeiro produto da fermentação na presença de sacarose como substrato não é a dextrana, mas sim a enzima extracelular dextrana-sacarase (AQUINO, 2006).

Tradicionalmente a produção da dextrana é realizada diretamente na cultura celular. Esse processo é designado convencional e caracteriza-se por apresentar métodos simples, onde três etapas ocorrem simultaneamente: crescimento celular, produção da enzima e produção de dextrana (ALSOP, 1983).

Uma outra maneira de se produzir essa goma é pelo processo enzimático, que é dividido em duas etapas: a produção da enzima e a produção da dextrana *in vitro* com o caldo enzimático bruto ou purificado após a separação das células (MIBIELLI, 2001, apud AQUINO, 2006). Esse outro modo de produção foi uma proposta de melhoramento do processo convencional, tendo sido elaborado com o

propósito de priorizar a síntese desse polímero em larga escala. Assim, seu produto visaria atender as crescentes demandas industriais. Segundo Aquino (2006), nesse último cada etapa poder ser otimizada separadamente, pois

as condições de processo são distintas, o que representa uma vantagem para esse método.

Assim, segundo Rodrigues (2003) a produção enzimática de polissacarídeos é de grande interesse comercial, não somente devido à obtenção de um produto final mais puro e homogêneo, mas também devido a um melhor controle do processo para obtenção do produto desejado, além de não depender de condições climáticas e outros fatores ambientais que interferem na síntese natural destes produtos. Apesar das diversas vantagens da síntese enzimática sobre a fermentação, o alto custo da enzima faz com que produção industrial de dextrana seja tradicionalmente realizada via processo fermentativo. A produção *in vitro* pode se tornar uma alternativa economicamente viável se houver a recuperação da enzima durante o procedimento. Assim, nesses processos o tipo de dextrana obtida dependerá do microorganismo empregado, dentre outros fatores.

Aquino (2006) completa relatando que as propriedades da enzima e da dextrana produzida são específicas da linhagem de bactéria que a produz e não pela espécie ou gênero ao qual o microrganismo pertence.

Na maioria dos países desenvolvidos, a dextrana é produzida prioritariamente para servir de matéria-prima de produtos clínicos, sendo que a maior parte dos produtores utiliza a linhagem *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-521 ou B-512F e emprega o processo convencional em batelada na presença de sacarose. Isso ainda que uma alimentação contínua de sacarose, que corresponderia ao processo de batelada alimentada, favoreça o aumento da produção da enzima (DE BELDER, 1993).

A dextrana de interesse comercial pode ser nativa (alta massa molar) ou clínica (baixa massa molar). Desse modo, a dextrana nativa corresponde à oriunda da fermentação bacteriana e possui massa molar na faixa de $5 \cdot 10^7$ a $5 \cdot 10^9$ Da . Geralmente a dextrana nativa é separada das células e precipitada com álcool, sendo que pode ser submetida a hidrólise ácida para obter a massa molecular

desejada, para o possível uso em aplicações específicas. (KARTHIKEYAN, 1999). Ou seja, já dextrana clínica é geralmente obtida a partir da hidrólise ácida da dextrana nativa com uso de HCl, H²SO⁴ ou dextranases, dentre outras técnicas tais como ultra-som (CURRALERO,1993).Industrialmente o método mais utilizado para o fracionamento da massa da dextrana nativa é a hidrólise ácida, visto que essa apresenta maior facilidade de controle e não requer o uso de equipamentos sofisticados (Cortezi, 2004). No entanto, independentemente da técnica de hidrólise empregada, a obtenção desse tipo de dextrana é um processo de elevado custo.

Após o processo de redução do grau de polimerização, segundo Wolf et al. (1956) apud Cortezi (2004), é necessário à precipitação seletiva das frações de interesse com adição de diferentes concentrações de solventes orgânicos. Essa etapa pode ser desenvolvida pela exploração das diferentes massas molares.

Bazán (1993) estudou o efeito de diferentes variáveis sobre o rendimento de síntese da dextrana e pode verificar que a concentração de sacarose é a variável que mais influencia o processo, sendo que, sua concentração pode, inclusive, interferir na proporção de dextrana de baixo ou alto peso molar formada.

A Tabela 1 representada abaixo relaciona a concentração de sacarose do substrato e a proporção e tipo de dextrana formada.

Tabela 1 - Rendimentos das frações de carboidratos obtidos na síntese enzimática de dextrana variando-se a concentração de sacarose (g/100 g de sacarose)-(Alsop,1983).

Sacarose (% W/ V)	Monossacarídeos	Dissacarídeos	Dextrana Total	Dextrana alto PM (%)	Dextrana baixo PM (%)
2	52,2	1,9	45,9	45,9	0,0
4	50,0	4,4	45,6	45,6	0,0
5	51,3	4,3	44,4	44,4	0,0
10	51,2	6,8	42,0	39,0	3,0
15	55,5	9,4	35,3	25,3	10,0
20	56,9	11,2	31,9	17,9	14,0

A análise dessa tabela permite a conclusão de que quanto maior a concentração de sacarose, maior a quantidade de dextrana de baixa massa molar obtida. Isso sendo que o maior rendimento obtido para dextrana de baixo peso molecular equivale a concentração de 20 % de sacarose. Já se o interesse de obtenção desse biopolímero for independente de sua massa molar, indica-se a utilização de baixa concentração de sacarose. (ALSOP, 1983).

A tabela remete a mesma conclusão de Bazán (1993), já que este, em seus experimentos, também observou que altas concentrações de sacarose favorecem a produção da dextrana clínica.

Além da sacarose, é necessário a complementação do substrato com alguns nutrientes, isso sendo que eles também são insumos essenciais para o desenvolvimento do microorganismo. Por consequência são usualmente adicionados ao meio o nitrogênio, que se apresenta na forma de xarope de milho ou extrato de levedura, o fosfato, e alguns íons metálicos como magnésio, sódio e manganês (RODRIGUES, 2003).

4.6 Aplicações

Atualmente, segundo Gil 2007, são publicados mais de mil artigos relacionados a novas possibilidades de uso da dextrana a cada ano.

Essa dado confirma a importância e expansão das aplicações da dextrana, de modo a valorizar esse biopolímero no cenário internacional e vincular-lo ainda mais ao setor industrial.

No entanto, as aplicações da dextrana são baseadas em certas características que diferenciam estes biopolímeros de outros polissacarídeos comerciais. Isso uma vez que as características dessa goma são fundamentalmente afetadas pela massa molar da molécula, sendo assim cada ramo industrial prioriza um determinado tipo de perfil do polímero, de acordo com suas necessidades

intrínsecas. Para a indústria farmacêutica, por exemplo, é requisito básico a utilização da dextrana clínica, que corresponde a dextrana de baixa massa molar.

Voltado para fins comerciais, são sintetizados três diferentes grupos de dextrana, em relação à massa molar. Logo, há a dextrana de elevada massa molar, a de média massa molar e a de pequena massa molar.

A dextrana de alta massa molar (superior a 25 milhões de daltons) pode ser utilizada na extração de petróleo com elevada viscosidade, constituindo parte da lama de perfuração e sendo também empregada na recuperação secundária de petróleo. Além disso ela pode ser usada como filme de proteção de sementes, em processos de galvanização de metais e em suturas cirúrgicas (ALSOP, 1983).

Já a dextrana de massa molar média (100.000 a 25.000.000 daltons) apresenta finalidades em diversas indústrias. Na alimentícia, por exemplo, é utilizada como inibidor da cristalização, agente geleificante, espessante e estabilizante de alimentos. Essas propriedades são utilizadas, respectivamente, para a produção de sorvetes, geléias e chicletes, doces e xaropes (CORTEZI, 2004 apud QUEIROZ, 1987).

Esse mesmo tipo de dextrana também encontra inúmeras aplicações na indústria química, sendo empregada como matéria-prima na obtenção de peneiras moleculares, as quais são utilizadas no empacotamento de colunas cromatográficas de permeação em gel, denominadas comercialmente de DEAE-SEPHADEX (AQUINO, 2006).

Essa substância Shepadex foi descoberta em 1959 pelos pesquisadores suecos Bjorn Ingelman, Pet Flodin e Jerker Porath e consiste de moléculas de dextrana que podem ser ligadas em cruz para criar uma rede tridimensional. Tal descoberta permitiu posteriores refinamentos na tecnologia de separação por eletroforese. Outra aplicação para essa substância foi criada em 1973, no denominado “Debrisan”, cujas propriedades higiênicas e absorventes permitem o tratamento de feridas (CORTEZI, 2004).

Além disso, essa dextrana também participa na produção de soda e de alumínio, sendo que atua como agente de sedimentação do metal.

No entanto, as mais importantes aplicações da dextrana se encontram na indústria farmacêutica, sendo que esse setor utiliza, prioritariamente, a dextrana de baixa massa molar, ou clínica (massa molar na faixa de 40.000 a 70.000 Da). Ela

serve de matéria prima para medicamentos, expensor de plasma sanguíneo, substituto do plasma sanguíneo, soluções oftálmicas e soluções para preservação de órgãos humanos em procedimentos cirúrgicos, como por exemplo, em cirurgias cardíacas. Seu uso clínico por mais de 50 anos comprova sua segurança e qualidade.

Comercialmente, encontram-se disponíveis no mercado dois tipos de dextrana clínica: a Dextrana 40 e a Dextrana 70, que correspondem as dextranas farmacêuticas. Essas, por sua vez, possuem suas massas molares rigorosamente controladas pelos órgãos de vigilância sanitária (RODRIGUES, 2003).

Estas dextranas podem ser utilizadas para fins clínicos, pois são completamente metabolizadas no organismo e não apresentam efeitos tóxicos e alérgicos. De um modo geral, suas principais características são a elevada resistência ao calor, inclusive à esterilização, e a armazenagem, independência do sangue do receptor para utilização, baixo índice de efeitos colaterais e transmissão de doenças, além da propriedade química de se complexar a íons metálicos, proteínas e até mesmo à hemoglobina.

A Dextrana 70 possui massa molecular média de 75.000 ± 25.000 Daltons, e é comercializada em solução salina a 6% p/v. Além disso ela apresenta propriedades osmóticas e coloidais semelhantes as da proteína do plasma, sendo por isso utilizada nos tratamentos de choques por queimaduras ou hemorragias, atuando como um excelente substituto do plasma e garantindo uma manutenção do volume sanguíneo e da pressão arterial. (DE BELDER, 1993; ALSOP, 1983). Segundo Cortezi (2004), uma infusão de dextrana com massa molar de 70.000Da irá reduzir o hematócrito e deprimir o fibrinogênio, além de aumentar a viscosidade e promover uma expansão volumétrica do plasma sanguíneo.

A Dextrana 40 (soluções de 10%), segundo Curralero (1993), possui um poder limitado de expansão do volume sanguíneo, mas promove uma melhora no fluxo, auxiliando a circulação nos vasos capilares. Ela pode ser administrada em indivíduos de qualquer tipo sanguíneo, minimizando riscos de choques associados a hemoderivados, assim como a possibilidade de contaminação por agentes patogênicos.

Devido a sua capacidade de se complexar a íons metálicos, propriedade essa relacionada com as ligações α -(1,3), a dextrana foi utilizada na formação de

compostos de extrema importância medicinal. Dentre eles pode-se citar o dextransulfato, que é um anticoagulante semelhante à heparina, e o ferro-dextrana, que é uma substância utilizada no tratamento de anemia em diversos animais, inclusive no homem (ALSOP, 1983). Segundo Cortezi, 2004, vários carboidratos já haviam sido testados para a produção de soluções de ferro estáveis, que pudessem ser injetadas em seres humanos. No entanto, somente o complexo formado de dextrana com íons Fe^{++} foi o que demonstrou estabilidade suficiente para ser utilizado.

Outra aplicação medicinal de grande relevância é a utilização desse biopolímero no tratamento contra AIDS, no qual ele constitui parte do coquetel antiviral (Busso e Resnick, 1990).

Atualmente várias pesquisas na área farmacêutica vêm sendo desenvolvidas, sendo que, dentre elas destaca-se o uso de dextrana em nanoestruturas (SANTOS et al, 2006; TANG et al., 2006) e em hidrogéis utilizados como veículo para fármacos (MAIA, et al., 2005).

Os hidrogéis de dextrana apresentam aplicações tanto nas indústrias farmacêuticas, quanto nas de cosméticos, sendo que receberam um grande destaque devido à expansão da variedade de suas utilizações na biotecnologia e na biomedicina.

Devido à ausência de toxicidade e à sua elevada degradabilidade enzimática em subprodutos requeridos, esses hidrogéis são frequentemente considerados como um sistema matriz potencial para o controle da liberação de bioagentes ativos. Segundo Cassano 2008, esses produtos são obtidos por ligações cruzadas da dextrana com outros 1,6 – hexanodiisocianato ou glutaraldeído. Outra possibilidade seria pela reação da dextrana com glicidil acrilato seguida pela polimerização de dextrana acrilato (EDMAN, 1980 apud CASSANO, 2008) ou também pela acilação de dextranas pela reação com anidrido metacrilato, com brometo de bromoacetil e acrilato de sódio, respectivamente (KIM, 2000 apud CASSANO, 2008).

Diversos estudos relatam os hidrogéis como carreadores de drogas, isso devido à sua ótima biocompatibilidade e sua capacidade de transportar drogas específicas. Atualmente eles se exibem como uma alternativa viável perante aos carreadores já existentes.

De acordo com Binstoc, (2004) e Moriyama (1999) apud Cassano et al. (2008), pesquisas recentes analisam uma gama de diferentes hidrogéis de dextrana como sistemas de transporte transdermal. Segundo esses autores tais hidrogéis permitem a penetração das drogas pela barreira de lipídios intracelular bicamada do estrato córneo. Isso garante que tais produtos alcancem um efeito farmacológico mais efetivo.

Baseado nessa capacidade Cassano et al., 2008 , testaram o hidrogel como um carreador da vitamina E, que é um antioxidante que reduz eritemas, edema e a hipersensibilidade da pele relacionada à exposição a radiação ultravioleta B (UVB). Traber (2007) apud Cassano et al. (2008), comenta que tal vitamina inibe a peroxidação lipídica pela prevenção de não formação de radicais livres e pela redução de malondialdeído, sendo essa vitamina já tradicionalmente incorporada em cosméticos.

Comprovou-se pelo estudo de Cassano et al. (2008), que a adição de grupos ferúlicos na matriz do polímero ajudam a prevenir o efeito da degradação oxidativa, o que preservaria a droga por um intervalo de tempo maior.

Logo, sua confirmou o potencial de uso desses hidrogéis de dextrana antioxidantes nas indústrias farmacêuticas e de cosméticos, sendo eles um sistema adequado para o controle da liberação da vitamina E na pele humana.

Um exemplo da utilização da dextrana para formação de nanoestruturas é o trabalho de Choi, et al. (2007).

A possibilidade da utilização desse biopolímero em tais sistemas é devido a esse ser inerte em sistemas biológicos e, portanto, e não afetar a viabilidade da célula. Sendo assim, as dextranas são passíveis de serem muito usadas como sistemas carreadores de drogas, incluindo anti-diabetes, antibióticos, anti-câncer, peptídeos e enzimas. (CHOI, et al., 2007) São amplamente utilizadas também para a segmentação de drogas passivas ou formação de nanopartículas (Ichnose et al., 2000 apud Choi, et al. 2007).

O trabalho de Choi et al. (2007) investigou o efeito da anfotericina B incorporada a micelas poliméricas de poly (D, L – lactide – co – glycolide) , denominadas de PLGA, enxertadas em dextranas. Isso uma vez que o copolímero de dextrana utilizado, denominado DexLG, é capaz de formar nanopartículas carreadoras de drogas (JEONG, et all., 2006 apud CHOI, 2007).

Tal sistema de transporte de drogas baseado em micelas poliméricas tem sido amplamente pesquisado devido ao seu potencial no direcionamento preciso dos locais de ação do fármaco (CHOI, et al. 2007).

A região composta pela dextrana no copolímero dexLG forma uma porção hidrofílica na parte exterior, enquanto a PLGA forma um núcleo interno, devido as suas propriedades hidrofóbicas(CHOI, et al., 2007). Assim, a anfotericina B fica encapsulada no núcleo da micela do copolímero.

Seus resultados comprovaram o efeito das nanopartículas, sendo que, segundo Choi, et al. (2007), a anfoterecina B encapsulada a micelas poliméricas de dexLG pode ser considerada como um potencial agente carreador de antibiótico.

Outro exemplo é aplicação da dextrana em extratos herbais a fim de reduzir o efeito higroscópico pela diluição.

Isso uma vez que extratos herbais secos são complexos, amorfos, e com viscosidade de materiais constando, em sua maioria, de carboidratos. Devido a sua afinidade pelo vapor d água circundante esses extratos tendem a ser higroscópicos, o que criou um desafio para a formulação e manufatura de drogas herbais e para as indústrias nutraceuticas, além de mencionar a qualidade do produto final, que também é afetada (TONG et al., 2008)

Segundo esse autor, a redução da higroscopicidade, nesses extratos, pela dextrana, se deve ao efeito de diluição, o qual é explicado pela habilidade das dextranas de restringir a mobilidade molecular de açúcares simples, que correspondem a maior parte dos constituintes desses produtos.

Ito et all., 2007 pesquisaram a duração da anestesia de lidocaína com 10% de dextrana e a comparou com a de lidocaína e epinefrina após injeção intra-óssea em coelhos. Isso porque as soluções de anestesia local, para tratamentos dentários,

contém substâncias vasoconstrictoras, como a epinefrina ou felipressina, para prolongar o efeito da anestesia. Devido a essas substâncias, mais especificamente à epinefrina, a concentração do plasma se eleva rapidamente e pode ocasionar uma taquicardia e aumento da pressão sanguínea em pacientes hipertensos.

Realmente é reportado que a taquicardia é uma complicação comum após ser ministrada a injeção intra-óssea com epinefrina, sendo que deve ser evitado o uso em pessoas com doenças circulatórias, como hipertensão ou isquemia (ITO, et al., 2007).

Já a injeção que contém dextrana, em substituição a epinefrina, implicou na redução da concentração do plasma. Assim a combinação da lidocaína com a dextrana seria uma alternativa viável, pois implicaria numa menor probabilidade de agravos na saúde do paciente, além de aumentar o tempo de duração da anestesia, comparado ao tempo da injeção de somente lidocaína (ITO et al., 2007).

O pesquisador concluiu que a dextrana reduz a absorção intravascular da lidocaína, e também da epinefrina, caso ministradas juntas, durante a infiltração da anestesia, o que provavelmente decorre da alta viscosidade da dextrana

Assim, segundo Ito et al. (2007), a utilização de 10% de dextrana nessas anestésias é comparável a 1:160000 de epinefrina.

Outro exemplo da aplicabilidade da dextrana pode ser verificado na pesquisa de Rumball et al. (2007).

Ele estudou um método simples, confiável, barato e não radioativo para se estimar os parâmetros do volume de sangue em ovelha grávida, sendo que para isso utilizou uma comercial dextrana ligada a grupos fluorescentes, de 250 kDa.

As técnicas usuais desse tipo de exame realmente são de elevado custo e complexidade, o que limita suas aplicações, enquanto que a descrita pelo autor apresenta um custo médio de materiais de U\$20,00 por estudo.

Essa técnica, segundo Rumball (2007), permite estudar as funções da placenta e a fisiologia fetal, e poderá ser utilizada para diversas outras pesquisas.

Devido às suas particularidades, em muitos casos, a dextrana não pode ser substituída por polissacarídeos semelhantes, garantindo assim sua aplicabilidade industrial.(RODRIGUES, 2003).

4.7 Patentes mundiais

A imensa quantidade de patentes encontradas de produtos relacionados ou derivados da dextrana quantifica a sua importância no cenário industrial internacional e ilustra sua vasta aplicabilidade.

Os principais produtores e também comerciantes desse biopolímero são: Pharmacosmos, Sigma- Aldrich, Pharmachem Corporation, Amersham Biosciences.

Somente a Sigma-Aldrich possui em seu catálogo 175 itens relacionados a dextrana. Destes 25 são dextranas obtidas a partir de *Leuconostoc mesenteroides* e 9 de *Leuconostoc* spp. Outros produtos que se destacam no catálogo são o Dextralip[®] 50, que é um agente precipitante do colesterol HDL, e a denominada Blue Dextran, que é utilizada como gel de filtração para separação por peso molecular. (SIGMA,...2009).

Já a Pharmacosmos comercializa quatro tipos de dextranas, sendo elas diferenciadas pela massa molar. Elas são designadas de Dextran 1, Dextran 40, Dextran 60, Dextran 70 (PHARMACOSMOS, ... 2009).]

Segundo Mostra de Tecnologia (2009) , em 2003 o Brasil importou 170 toneladas de dextrana, enquanto que em 2004 importou 180 toneladas, sendo que para esse último ano o preço foi de US\$2600/ton.

As figuras 6 e 7 abaixo representam dextranas comercializadas pela Pharmacomos.



**FIGURA 6 - DEXTRANA COMERCIALIZADA PELA PHARMACOSMOS
(PHARMACOSMOS, 2009)**



**FIGURA 7 - TIPOS DE DIFERENTES DEXTRANAS COMERCIALIZADAS PELA
PHARMACOSMOS (PHARMACOSMOS, 2009)**

A Tabela 2 abaixo representa alguns exemplos de produtos relacionados a dextrana e que já foram patenteados, sendo todos eles nos Estados Unidos da América.

TABELA 2- PRODUTOS PATENTEADOS QUE APRESENTAM RELAÇÃO COM A DEXTRANA (DEMCHIK, 2009).

Produto patentado	País da patente	Número da patente
Próteses vasculares impregnadas com dextrana reticulada	EUA	6.991.648
Processo de produção de um composto de ferro dextrana	EUA	6,991,648
Dextrana como superfície de revestimento – nanopartículas	EUA	6.974.707
Conjugado de um tecido não-específico e fosfatase alcalina dextrana, processo para sua produção e utilização deste	EUA	6.905.689
Radiografia de tumores com dextrana como transportadora de compostos de platina	EUA	6.694.171
Derivados de dextrana, preparação e aplicações medicinais	EUA	6.646.120
Processo de produção de dextrana com reduzido teor de boro	EUA	6.632.939
Co-mistura de sulfato de dextrana para o tratamento de vermelhidão da pele, edema	EUA	6.562.355
Uso de dextrana e outros polissacarídeos para melhorar a limpeza do muco	EUA	6.339.075
Compostos de ferro dextrana para uso em composição terapêutica para a profilaxia ou tratamento da anemia ferropriva	EUA	6.291.440
Recombinante com atividade enzimática dextrana-sacarase	EUA	6.156.553
Injetáveis bio-ativos de vidro em uma suspensão de dextrana	EUA	5.840.290

Rápido método de triagem para selecionar cepas de microorganismos que produzem uma alta proporção de dextrana	EUA	5.789.209
Processo de fabricação de ferro dextrano cristalina	EUA	5.756.715
Ésteres de dextrana, sua preparação e sua utilização para o revestimento ou incorporação de drogas	EUA	5.739.122
Dextranasacarase , método para sua produção e DNA que codifica a enzima	EUA	5.637.491
Leuconostoc Dextranicum NRRL-B-18242	EUA	5.223.431
Método de fabricação de suco de fruta em pó usando dextrana	EUA	5.118.517
Utilização de sulfato de dextrana para o tratamento do carcinoma da próstata humana	EUA	5.019.269
Processo para a separação e purificação de dextranasacarase	EUA	4.490.470
Solução de dextrana para a hidratação da córnea	EUA	4.271.144
Método de separação de dextrana	EUA	4.104.078
Composições farmacêuticas de cicatrização de feridas compreendendo um derivado de dextrana	EUA	7.101.863

5. CONCLUSÃO

A partir de tal conjunto de informações acerca do biopolímero dextrana fica evidenciada sua crescente valorização nos mercados internacionais.

Conclui-se também que, embora ainda desconhecido para a grande maioria da população, tal polímero se encontra profundamente presente em nosso cotidiano da humanidade, uma vez que é incorporado em produtos alimentícios como sorvetes, geléias, chicletes e diversos outros.

Além disso, seu uso em fármacos já completa mais de 50 anos, sendo comprovada sua total segurança. Logo, são inúmeros os medicamentos e cosméticos desenvolvidos com a dextrana. Destes, pode-se citar como grandes exemplos pode-se citar a Dextrana-Ferro, a Dextrana 70, a Dextrana 40 e Dextrana-Sulfato, que é utilizada, por exemplo, no coquetel antiviral da AIDS.

Há também uma gama de pesquisas sobre sua produção e aplicação, sendo que pode-se confirmar que tal produto esteja em fase de expansão, uma vez que apresenta uma diversidade de possibilidades de uso futuras.

Uma vez conhecido os modos de síntese desse biopolímero, bem como as variáveis que interferem no rendimento da reação e os principais microorganismos produtores, é cabível a realização da produção da dextrana em território nacional. Essa, por sua vez, com o propósito de comercialização e visando a incorporação ao mercado global desse produto.

No entanto, essas conclusões estimulam o questionamento sobre o porquê de um país tão desenvolvido no setor sucroalcooleiro, que é o caso do Brasil, não apresentar programas para o reaproveitamento desse subproduto da indústria da cana-de-açúcar.

Uma vez abordado o perfil desse biopolímero, e realçado sua infinita aplicabilidade espera-se ter demonstrado o valor agregado dessa substância, e que seja fomentado o interesse da produção nacional, além do estímulo a pesquisas e publicações para novas possibilidades de uso da dextrana.

6. RESUMO

Atualmente há considerável interesse em polissacarídeos obtidos pela ação de microrganismos. Estes polissacarídeos, conhecidos como biopolímeros, são obtidos por processos fermentativos. Possuem capacidade de formar soluções viscosas e géis em meio aquoso, mesmo quando aplicados em baixas concentrações (MOREIRA, *et al.*, 2003).

A dextrana se caracteriza por ser um dos biopolímeros mais comercializados em escala industrial, representando uma fatia significativa desse mercado de polissacarídeos microbianos.

A reação de síntese desse biopolímero é catalisada pela enzima dextran-sacarase, a qual converte a sacarose em frutose e dextrana.

Essa enzima, por sua vez, é produzida extracelularmente por diversas espécies do gênero *Leuconostoc*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*. (MONCHOIS, WILLEMOT *et. al*, 1999).

Os biopolímeros microbianos podem ser produzidos pelo processo convencional cultivando o microrganismo em meio líquido com substrato, em condições ideais de temperatura, rotação e pH. Outro tipo de produção em meio líquido é por via enzimática, ou seja, utilizando enzimas purificadas. As enzimas são primeiramente produzidas e purificadas e depois utilizadas para síntese do polímero em meio contendo substrato. O processo via enzimática é o utilizado na produção de dextrana, uma vez que este apresenta um rendimento ótimo e um potencial econômico enorme.(MOREIRA, et al. 2003).

Dentre os maiores ramos industriais nos quais há aplicações para esse polissacarídeo destacam-se as indústrias químicas, indústrias petrolíferas, farmacêuticas e de alimentos.

7. REFERÊNCIAS

AQUINO, D. *Produção de dextrana por novas linhagens de bactérias isoladas da cana-de-açúcar*. 2006, 91f. Tese (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

ALSOP, R. M. 1983. Industrial Production of Dextrans. *Progress in Industrial Microbiology*, New York, v. 18, p. 1-44, 1983.

ASPINALL, G. O. Isolation and Fractionation of Polysaccharides. In: _____. *The polysaccharides*. Nova York: Academic Press, 1983. Cap. 2, p. 1-9.

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. et al. Produção de biopolímero sintetizado por *Shigomonas capsulata* a partir de meios industriais. *Ciências Agrotécnicas*, Lavras, v. 31, n.1, p.177-183, fev. 2007.

BUSO, M. E. et al. Anti-human immunodeficiency virus effects of dextran sulfate are strain dependent and synergistic or antagonistic when dextran sulfate is given in combination with dideoxynucleosides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Miami Beach, v.34, n. 10, p.1991-1995, 1990.

CASSANO, R. et al. A novel dextran hydrogel linking trans-ferulic acid for the stabilization and transdermal delivery of vitamin E. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutic*, Cosenza, v. 10, p. 1-7, 2008.

CHOI, et al. Amphotericin B-incorporated polymeric micelles composed of poly(DL-lactide-co-glycolide)/dextran graft copolymer. *International Journal of Pharmaceutics*, Seoul, v. 335, p. 224-230, 2007.

COLÔNIA de *Leuconostoc mesenteroides*. Disponível em: <<http://www.the-scientist.com>>. Acesso em: 21 ago. 2009.

CORTEZI, M. *Estudo da produção de dextranasacarase por Leuconostoc mesenteroides* FT 045 B. 95 f. Tese (Mestrado em Microbiologia Aplicada) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2004.

CURRALERO, I. C. B., Estudo da produção de dextrana de baixo peso molecular por via enzimática, para obtenção da ferro-dextrana. 164 f. Tese (Mestrado)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1993.

DE BELDER, A. N. *Dextran*. In: WHISTLER, R. L. et al. *Industrial gums: polysaccharides and their derivatives*. 3. ed. San Diego: Academic Press, 1993, Cap. 14, p. 399-425.

DEMCHIK, P. H. United States Registered Patent Agent. Disponível em: <<http://www.professorpatents.com/index.htm>>. Acesso em: 27 set. 2009.

EUROPEAN Technology Platform for Sustainable Chemistry, Technology Platform launch document. Disponível em: <[http://www.suschem.org/content.php?document\[ID\]=2049&pagelid=3599](http://www.suschem.org/content.php?document[ID]=2049&pagelid=3599)> Acesso em: 15 jul. 2009.

FLORIDO, C. *Modelagem e desenvolvimento de estratégia para o reator de síntese de dextrana*. 2001. 133 f. Tese (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

GALEMBECK, F. *Em Brazilian Network on Green Chemistry: Awareness, Responsibility and Action*. Fortaleza: Editora da UFC, 2008, p. 217.

GIL, E., et al. A sugar cane native dextran as an innovative functional excipient for the development of pharmaceutical tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Havana, v. 68, p. 319–329, 2007.

ITO, E. et al. Anesthetic duration of lidocaine with 10% dextran is comparable to lidocaine with 1:160 000 epinephrine after intraosseous injection in the rabbit. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, Chiba, v. 104, n. 3, p. 26-31, 2007.

JEANES, A. Extracellular microbial polysaccharides: new hydrocolloids of interest to the food industry. *Food Technology*, Chicago, v.28, n.5, p.34-40, 1974.

JEANES, A. W. C. et al. Characterization and classification of dextrans from ninety six strains of bacteria. *Journal of the American chemical society*, v. 76, p. 5041–5052, 1954. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/BARRAJa01649a011?cookieset=1>>. Acesso em: 12 Ago. 2009.

JEANES, A. Dextran. In: BIKALES, N.M. *Encyclopedia of polymer Science and Technology*. Nova Iorque: John Wiley & Sons, 1966, v. 4, p. 805-824.

KABOLI, H. et al. Immobilization and properties of *Leuconostoc mesenteroides* dextransucrase. *Biotechnology and Bioengineering*, Ames, v. 22, n. 5, p. 1055-1069, 1980.

KARTHIKEYAN, S.; SWAMINATHAN, T.; BARADARAJAN, A. “Dextran, Microbial production methods”. In: FLICKINGER, M.C.; DREW, S. W. *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation*, John Wiley & Sons, 1999, p. 803-821.

KITAOKA, M.; ROBYT, F. Large-Scale Preparation of Highly Purified Dextransucrase from a High-Producing Constitutive Mutant of *Leuconostoc mesenteroides* B-512-FMC. *Enzyme and Microbial Technology*, Ames, v.23, p. 396-391, 1998.

KITCHEN, R.A. Polysaccharides of sugarcane and their effects on sugar manufacture. In:_____. Chemistry and processing of sugarbeet and sugarcane, Amsterdam: Elsevier, 1988. Cap. 14, p. 234-245.

KOBAYASHI, M; MATSUDA, K.; Characterization of the multiple forms and main component of dextransucrase from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F. *Biochimica et Biophysica Acta*, Sendai, v. 614, p. 46 – 62, 1980.

LAWFORD, G. R. Dextran biosynthesis and dextransucrase production by continuous culture of *Leuconostoc mesenteroides*, *Biotechnology and Bioengineering*, Ontário, v. 21, n.7, p. 1121-1131,1979.

LOPES, L., et al. Polímeros de origem microbiana: polissacarídeos bacterianos. *Revista de Química Industrial*, Rio de Janeiro, v.703, p.19-23, dez 1995.

LOPES, L.; et al. O valor das gomas para as indústrias. *Ciência Hoje*, São Paulo, v.12, n.71, p.65-67, mar.1991.

MAIA, J. et al. Synthesis and characterization of new injectable and degradable dextranbasedhydrogels. *Polymer, Coimbra*, v. 46, p. 9604 – 9614, 2005.

MESOMO, M. C. Produção de goma xantana em boirreator utilizando meio a base de soro de queijo. 2007. 90 f. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2007.

MILLER, A. W.; ROBYT, J. F. Activation and inhibition of dextransucrase by calcium. *Biochimica et Biophysica Acta*, Ames, v. 880, p. 32-39, 1986.

MONCHOIS, V.; WILLEMOT, R.; MONSAN, P. Glucansucrases: mechanism of action and structure-function relationships. *FEMS Microbiology Review.*, Toulouse, v. 23, p. 131-151, Apri. 1999

MOREIRA, A. N. 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*, Pelotas, v. 23, n. 2, p. 300-305, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612003000200034> Acesso em: 29 Jun 2009.

MOREIRA, A. S. Produção, caracterização e aplicação de biopolímero sintetizado por cepas de *Xanthomonas campestris* pv pruni. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Centro de Biotecnologia , Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2002.

MOSTRA de tecnologia, 1 Workshop Diversificação produtiva da cana-de-açúcar: novos processos, produtos e negócios, UFSCAR. Disponível em: <

<http://www.ufscar.br/~diversicana/palestras/DerivadosMel.ppt#294,17,DEXTRANA%20TÉCNICA> >. Acesso em: 18 set. 2009.

NATIONAL Renewable Energy Laboratory, Biomass Program. Disponível em: <<http://www.nrel.gov/biomass/biorefinery.html>>. Acesso em: 17 set. 2009.

NEELY, W. B.; NOTT, J. Dextranucrase, na induced enzyme form *Leuconostoc mesenteroides*. *Biochemistry*, Midland, v. 6, n. 1, p. 1136-1140, Nov. 1962.

NITSCHKE, M. et al. 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, 2001.

PACE, G. et al. Production of extracellular microbial polysaccharides. In: _____. *Advances in Biochemical Engineering*. Berks: Springer Berlin, 1980. Cap. 3, v. 15, p. 41-70.

PADILHA, F. F. Síntese e caracterização de biopolímeros por *Beijerinckia sp* 7070.1997. 92 f. Tese (Mestrado) – Faculdade de Agronomia de “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1997.

PHARMACOSMOS. Disponível em:<<http://www.dextran.net/dextran-clinical-dextran.html>>. Acesso em: 29 set. 2009.

PINTO, A. C. et al. Biodiesel: an overview. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, São Paulo, v. 16, n. 6b, p. 1313-1330, nov. 2005.

ROBYT, J. F. Mechanisms in the glucanucrase synthesis of polysaccharides and oligosaccharides from sucrose. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Ames, v. 51, p. 133–168, 1995.

ROBYT, J. F. et al. The mechanism of Dextranucrase Action: Direction of Dextran Biosynthesis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Ames, v. 165, p.634-641, 1974.

ROBYT, J. F.; WALSETH, T. F. Production, purification and properties of dextranucrase from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F. *Carbohydrate Research*, Ames, v. 68, p. 95-111, 1979.

RODRIGUES, S. *Estudo da síntese enzimática de dextrana na presença de maltose como aceptor*. 2003. 259 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

RUMBALL, et al. A Method for Assessment of Blood Volume Parameters in Pregnant Sheep using Fluorescein-labelled Dextran. *Placenta*, Nova Zelândia, v. 29, p. 15-19, 2008.

SANTOS, H. A. et al. Preparation of nanostructures composed of dextran sulfate/ruthenium nanoparticles and their interaction with phospholipid monolayers at a liquid-liquid interface. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, Espoo, v. 599, p. 1 – 9, 2006

SANTOS, V. M. *Estudo das condições de hidrólise ácida para a obtenção de dextrana clínica*. 108 f. Tese (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

SHEPHERD, R. et al. Novel bioemulsifiers from microorganisms for use in foods. *Journal of Biotechnology*, Leatherhead, v. 40, p. 207-217, 1995.

SIDEBOTHAM, R., WEIGEL, H. Studies on Dextrans and Dextranases: Part IX Dextrans Elaborated by Cariogenic organisms. *Carbohydrate Research*, London, v. 19, p. 151-159, 1971.

SIGMA Aldrich. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/Lookup.do?N5=All&N3=mode+matchpartialmax&N4=dextran&D7=0&D10=dextran&N1=S ID&ST=RS&N25=0&F=PR>. Acesso em: 26 set. 2009.

SILVA, F. R. et al. Fastidian gum: the *Xylella fastidiosa* exopolysaccharide possibly involved in bacterial pathogenicity. *FEMS Microbiology Letters*, Campinas, v. 203, p. 165-171, 2001.

SOUZA, D. et al. Produção fermentativa de polissacarídeos extracelulares por bactérias. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 25, n. 4, p. 331-340, 2004.

TANG, M.; DOU, H.; SUN, K. One-step synthesis of dextran-based stable nanoparticles assisted by self-assembly. *Polymer*, Shanghai, v. 47, p. 728-734, Jan. 2006

TONG, H. H. Y. Anti-hygroscopic effect of dextrans in herbal formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, Hong Kong, v. 363, p. 99-105, 2008.

VIEIRA, E. D. *Seleção de linhagens produtoras de goma isoladas da cana-de-açúcar*. 2003. 89 f. Tese (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.