

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

CURSO ENGENHARIA DE ALIMENTOS

CÂMPUS MEDIANEIRA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

KENNIDY DE BORTOLI

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE POLISSACARÍDEOS  
EXTRACELULARES POR *Lentinula edodes* e *Ganoderma lucidum*  
EM DIFERENTES NÉCTARES DE FRUTAS**

MEDIANEIRA

2015

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

CURSO ENGENHARIA DE ALIMENTOS

CÂMPUS MEDIANEIRA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO



KENNIDY DE BORTOLI

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE POLISSACARÍDEOS  
EXTRACELULARES POR *Lentinula edodes* e *Ganoderma lucidum*  
EM DIFERENTES NÉCTARES DE FRUTAS**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado a disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Medianeira, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. Orientadora: Dra. Daiane Cristina Lenhard

MEDIANEIRA

2015

## RESUMO

**BORTOLI KENNIDY. AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE POLISSACARÍDEOS EXTRACELULARES POR *Lentinula edodes* e *Ganoderma lucidum* EM DIFERENTES NÉCTARES DE FRUTAS.** TCC. Curso Engenharia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná-câmpus - Medianeira.

Cogumelos comestíveis são conhecidos por seu sabor característico, e principalmente por conterem e produzirem compostos com características funcionais comprovadas. Neste trabalho, *Ganoderma lucidum* e *Lentinula edodes* foram desenvolvidos em cultivo submerso, com a utilização de diferentes néctares de frutas como substrato de crescimento micelial e produção de exopolissacarídeos (EPSs). Cepas isoladas foram adicionadas aos néctares de frutas e submetidos a uma incubação de 14 dias a temperatura controlada (20°C). Após a incubação, os caldos de cultivo foram submetidos a metodologias de quantificação de formação de EPSs mediante a utilização de álcool etílico 1:1 v/v, também foi realizada uma quantificação da produção de biomassa. Foi observado a formação de um valor máximo de EPSs de  $0,3063 \pm 0,0444 \text{ g.L}^{-1}$  e  $0,2570 \pm 0,0447 \text{ g.L}^{-1}$  para *G. lucidum* e *L. edodes* respectivamente e também apresentaram um crescimento de biomassa de  $2,2912 \pm 0,4769 \text{ g.L}^{-1}$  e  $2,0415 \pm 0,5394 \text{ g.L}^{-1}$  para *G. lucidum* e *L. edodes*. Com os resultados obtidos nesse trabalho, observa-se uma possível aplicação industrial, e obtenção de um produto com características positivas frente à saúde.

**Palavras-chave:** *Lentinula edodes*; *Ganoderma lucidum*; Fermentação submersa; EPSs; Néctares de frutas.

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	5
2	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	8
3	<b>OBJETIVOS</b> .....	9
3.1	OBJETIVO GERAL .....	9
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	9
4	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	10
4.1	BASIDIOMICETOS .....	10
4.1.1	<i>Lentinula edodes</i> .....	11
4.1.2	<i>Ganoderma lucidium</i> .....	14
4.2	FERMENTAÇÃO SUBMERSA .....	15
5	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	17
5.1	MEIOS DE CULTURA E PREPARO DE INÓCULO. ....	17
5.2	ENSAIOS DE CRESCIMENTO DOS FUNGOS EM NÉCTARES DE FRUTAS	17
6	<b>RESULTADOS</b> .....	19
7	<b>DISCUSSÃO</b> .....	23
8	<b>CONCLUSÃO</b> .....	25
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	26

## 1 INTRODUÇÃO

Os cogumelos são alimentos muito apreciados desde a idade antiga, onde acreditava-se em seu elevado valor nutritivo e em seu potencial medicinal. São conhecidas aproximadamente 2000 espécies comestíveis e cerca de 25 delas são cultivadas comercialmente (URBEN *et al.*, 2001). Dentre essas, existem três espécies mais comumente cultivadas e consumidas no Brasil: *A. Bisporus* conhecido popularmente como champignon de Paris; *L. edodes*, como Shiitake; e *Pleurotus* sp. conhecido como shimeji (URBEN *et al.*, 2001). O consumo de cogumelos tem aumentado consideravelmente na cultura ocidental (MATTILA *et al.*, 2001). Os cogumelos champignon, shiitake e shimeji, por sua composição química, constituem um alimento com excelente valor nutritivo, pois apresentam alto teor de proteínas, fibras alimentares, baixo teor de lipídeos, além de uma considerável quantidade de fósforo (FURLANI, GODOY, 2007).

Esses cogumelos possuem a capacidade de produzir uma grande variedade de metabólitos secundários com alto valor terapêutico (DEMAIN, 1999), dentre essa gama de metabólitos, algumas apresentam propriedades benéficas á saúde, tais como antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas, redutoras de colesterol e com efeitos imunostimuladores (MIZUNO,1999).

Lucy Wills (1931) encontrou o ácido fólico em extrato de leveduras e demonstrou ser eficiente no tratamento da anemia macrocítica tropical em mulheres indianas no final da gestação. Pesquisas científicas sugerem que o ácido fólico desempenhe importante papel no processo reprodutivo, sendo sua deficiência associada à infertilidade masculina e feminina. Essa relação pode ser explicada por meio do importante papel do ácido fólico na síntese e metilação de DNA, na prevenção da hiperhomocisteinemia e na defesa contra os radicais livres (EBISCH *et al.*, 2007; FORGES *et al.*, 2007).

Estes compostos estão presentes tanto no corpo de frutificação quanto no micélio (FERREIRA *et al.*, 2007) .

Têm sido relatadas propriedades de eliminação de radicais livres do conteúdo fenólico dos extratos metanólicos, sugerindo possíveis papéis protetores destes compostos, devido à sua capacidade de capturar os metais, inibindo a lipoxigenase e varrendo os radicais livres (MAU *et al.*, 2004).

Ferreira *et al.* (2007) comprovaram a propriedade antioxidante de dois cogumelos, *Lactarius deliciosus* e *Tricholoma portentosum*. Além dessas propriedades, são encontradas atividades de inibição contra protozoários, tais como o parasita que causa a malária, *Plasmodium falciparum* (ISAKA *et al.*, 2001; LOVY *et al.*, 1999) dentre outros microorganismos.

O shiitake chinês (*Lentinula edodes*) também tem sido relatado por possuir propriedades tanto anticarcinogênicas como antimicrobianas (JONG, BIRMINGHAM, 1993). Suay *et al.* (2000) relataram que os extratos de mais de 75 % das espécies de cogumelos pesquisadas mostram alguma atividade antimicrobiana, dentre os cogumelos estudados, 45 % de 204 espécies estudadas inibem uma ampla variedade de microorganismos.

Várias espécies de cogumelos têm sido apontadas como fontes de compostos antioxidantes (FERREIRA, BARROS, ABREU, 2009). O *L. edodes* tem recebido grande atenção devido aos efeitos positivos para a saúde, incluindo anticarcinogênico e também por sua atividade hipocolesterolêmica (KITZBERGER, PEDROSA, FERREIRA, 2007), que estão relacionadas com a presença de  $\beta$ -glucanas (MINATO *et al.*, 1999).  $\beta$ -glucanas são as principais constituintes estruturais das paredes celulares de fungos e leveduras, também podem ser encontrados em plantas e algumas bactérias. São polissacarídeos lineares, não ramificados, compostos por unidades de glicose ( $\beta$ -D-glicopiranosil) unidos por ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4 e  $\beta$ -1,3. A estrutura resultante é um polissacarídeo composto principalmente de unidades  $\beta$ -1,3 (BROWN, GORDON, 2002; WOOD, WEISZ, BLACKWELL, 1994).

Os exopolissacarídeos (EPSs) são definidos como polissacarídeos extracelulares, produzidos por alguns fungos e bactérias. São encontrados tanto ligados à superfície das células como excretados para o meio extracelular (SUTHERLAND, 1998). Nos fungos, os EPSs constituem uma importante percentagem da biomassa, participando com mais de 75% dos polissacarídeos constituintes da parede da hifa (GUTIÉRREZ, PIETRO, MARTÍNEZ, 1996). O aumento no interesse nessas substâncias nos últimos tempos, concentra-se no seu potencial de possíveis aplicações industriais (KIRK *et al.*, 2002).

## 2 JUSTIFICATIVA

Com o aumento da preocupação com a saúde, e a busca cada vez maior por produtos naturais que são capazes de provocar efeitos positivos sobre a saúde, e como as propriedades dos polissacarídeos extracelulares já são reconhecidas, este trabalho tem a intenção de verificar se as cepas de *Lentinula edodes* e *Ganoderma lucidium* são capazes de produzir EPSs no néctar de fruta.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a produção de polissacarídeos extracelulares por *Lentinula edodes* (shiitake) e *Ganoderma lucidum*, utilizando como substrato néctar de frutas.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar e quantificar a produção de polissacarídeos extracelulares pelas cepas de fungo *L. edodes* e *G. lucidum* ao se utilizar néctares de frutas como substrato para o crescimento deste.

- Avaliar e comparar o crescimento de biomassa fúngica de *Lentinula edodes* e *Ganoderma lucidum* em diferentes néctares de frutas.

## 4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 BASIDIOMICETOS

A diversidade apresentada pelo Reino Fungi é surpreendente, sendo o mesmo constituído pelo segundo mais variado grupo de organismos eucariontes em ambientes terrestres (MÜLLER, BILL 2004).

Este reino também está envolvido em diferentes atividades econômicas, pois fungos de diversas procedências são produtores de antibióticos, inibidores enzimático, inseticidas, anti-tumorais imunossupressora, além de produzirem enzimas capazes de degradarem poluentes (BONONI, GRANDI 1998).

Os cogumelos são pertencentes ao Reino Fungi, o qual inclui uma série organismos, sendo que os mais desenvolvidos estão enquadrados no filo Basidiomycota. Os fungos pertencentes a este filo são comumente denominados de basidiomicetos, constituindo um grupo bastante diverso, sendo os cogumelos e orelhas-de-pau as formas mais conhecidas. Estes apresentam em sua maioria uma frutificação macroscópica, constituída por hifas modificadas que formam pseudotecidos, os quais se diferenciam em píleo, estipe, lamelas, anel e volva (PUTZKE, PUTZKE, 1998).

O filo Basidiomycota é caracterizado por espécies capazes de formar estruturas denominadas basídios, nas quais ocorre cariogamia e meiose espórica, originando basidiósporos. Acredita-se que exista mais de 200.000 espécies de basidiomicetos ligninolíticos, a maioria dos quais estariam nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (BONONI, 1997).

Alguns autores ressaltam a importância dos basidiomicetos lignocelulolíticos na natureza, afirmando que sem sua atuação na degradação da lignina, não seria possível a vida no planeta, o qual não passaria de um imenso depósito de troncos e resíduos, que permaneceriam por séculos (BONONI, 1997).

Os basidiomicetos em geral possuem um papel fundamental na ciclagem de nutrientes e na manutenção dos ecossistemas terrestres, principalmente no ciclo do

carbono, devido a excelentes habilidades degradantes de lignina. Desenvolvem-se sobre madeira em decomposição podem-se destacar os causadores da podridão branca, que utilizam fontes complexas de carbono sendo responsável não somente pela degradação da lignina, mas também da celulose e hemicelulose (MATHEUS, OKINO, 1998).

Os basidiomicetos são apreciados mundialmente como alimento e consumidos por apresentarem elevados valores nutricionais e baixos teores calóricos. Utilizados amplamente na medicina oriental, pelas propriedades terapêuticas que apresentam, são extensivamente estudados devido ao interesse medicinal atribuído à presença de componentes que atuam como modificadores de resposta biológica. Parte destas propriedades é atribuída aos polissacarídeos. Deste modo, os estudos atuais dos polissacarídeos presentes nestes organismos buscam elucidar suas propriedades biológicas. Existem estudos acerca das propriedades imunomoduladora, antitumoral, anti-inflamatória, anticoagulante, hipoglicemiante, dentre outras reportadas para estes polímeros. Sabe-se que estas propriedades têm ligação com as estruturas das biomoléculas e composição dos polissacarídeos (ALQUINI, 2010).

A extração de polissacarídeos de fungos basidiomicetos vem sendo estudada de longa data. Essas e outras substâncias são utilizadas no tratamento de doenças em humanos, principalmente o câncer, sua eficiência é demonstrada nas respostas do sistema imunológico em tratamentos de tumores malignos (SILVA; COELHO, 2006).

#### 4.1.1 Lentinula edodes

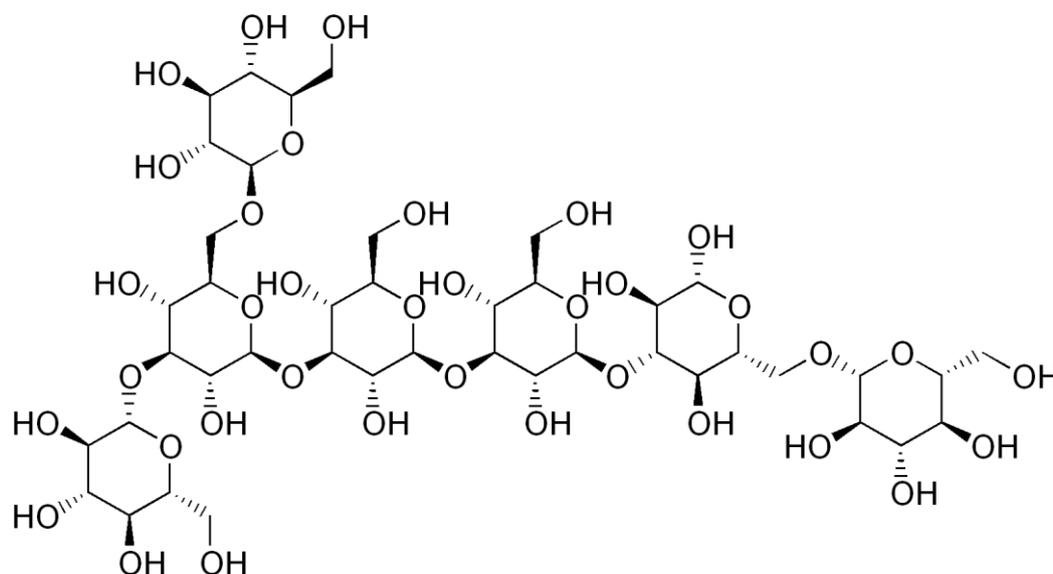
Cogumelo shiitake (*L. edodes*), pertence à classe Basidiomicetos da família Polyporaceae e é responsável pelo segundo maior cultivado dessa classe, chegando a alcançar uma produção de 7,5 milhões de toneladas em 2000 (ROYSE, 2005). O interesse comercial do cogumelo shiitake tem aumentado nos últimos anos, principalmente por causa de seu alto valor no mercado internacional. Recentemente, verificou-se um aumento na importação de cogumelos por parte de alguns países, isso se

deve, não só pelo seu excelente aroma, sabor e perfil nutricional, mas principalmente pela suas propriedades medicinais (KURTZMAN, 2005). *L. edodes* apresenta diversas propriedades funcionais, tais como ações antimicrobianas e antioxidantes, que têm sido intensamente investigadas (HATVANI 2001; MANZI, PIZZOFRATTO 2000; MAU *et al.*, 2001, SHIMADA *et al.*, 2003 e YANG *et al.* de 2002).

De acordo com Hirasawa *et al.* (1999), o extrato de clorofórmio do shiitake têm atividade bactericida contra *Streptococcus mutans* (causa da cárie dentária) e *Prevotella intermedia* (agente da doença periodontal). Vários compostos importantes, incluindo polissacarídeos bioativos (lentinan), fibras dietéticas, ergosterol, vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C, folatos, niacina e minerais têm sido isolados a partir do corpo de frutificação, micélio e meio de cultura deste cogumelo. Além disso, esse cogumelo contém vários compostos polifenólicos reconhecidos como excelentes antioxidantes (ISHIKAWA *et al.*, 1984).

O shiitake tem recebido grande atenção devido aos efeitos positivos para a saúde. Numerosos estudos têm mostrado seus atributos medicinais, incluindo a função de melhoria de fígado, colesterol, antitumoral e atividade hipocolesterolêmico (KITZBERGER *et al.*, 2000; FUKUSHOMA *et al.*, 2001 ; MIZUNO *et al.*, 1995), relacionada com a presença de  $\beta$ -glucanas ( MINATO *et al.*, 1999 ).  $\beta$ -Glucanas são componentes principais da parede celular estrutural de fungos, também estão presentes nos metabolismos extracelulares dos mesmos, são classificadas como EPSs (MURPHY *et al.*, 2010; TANAKA *et al.*, 2011). Estes polissacarídeos são bem conhecidos por serem modificadores da resposta biológica (BRMs), que estimulam o sistema imunológico através da ativação de várias células responsáveis pela defesa do nosso organismo, incluindo macrófagos, células dendríticas, neutrófilos e linfócitos. (SAKAMOTO *et al.*, 2002).

Lentinana (figura 1) é um EPS extraído do cogumelo *Lentinula edodes*, e é utilizada como um imunomoduladora, na prática clínica (TAGUCHI, 1987; NAKANO *et al.*, 1999).



**Figura 1:** Estrutura molecular da lentinana.

**Fonte:** <http://en.academic.ru/dic.nsf/enwiki/7335130>

A lentinana é conhecida pelo seu forte efeito anticancerígeno, primeiramente descrito por Chihara *et al.* (1970). Algumas modificações químicas na lentinana podem ser feitas para que haja um melhoramento nas atividades anticancerígena e antiviral dos polissacarídeos desse cogumelo (GUO *et al.* de 2008). Quando uma sulfonação na lentinana é realizada, a mesma exibe uma atividade anti-HIV potente, que conduz à inibição da replicação viral (YOSHIDA *et al.*, 1988). Estudos clínicos reportam o aumento do número de diferentes tipos de células imunitárias humanas pós sulfonação. (LI *et al.* de 2008 ; VETVICKA *et al.* , 2007 ). A lentinana já vem sendo utilizada como alternativa de aumentar a eficiência de tratamentos contra o câncer, na quimioterapia e radioterapia (HAMURO *et al.*, 1994).

#### 4.1.2 Ganoderma lucidum

*Ganoderma lucidum* é o cogumelo medicinal mais vendido no mundo, movimentando bilhões de dólares ao ano (URBEN, 2004). É utilizado pelos chineses há milênios devido às inúmeras propriedades terapêuticas atribuídas a esse fungo, sem nenhum efeito colateral constatado, o que despertou o interesse pelos ocidentais nas últimas décadas (RUBEL, 2006). O grande uso popular incentivou pesquisas principalmente em relação às atividades antitumorais e imunomoduladoras de *G. lucidum*. Destacam-se também sua ação antialérgica comprovada cientificamente, hipotensiva, hipoglicêmica, antibacteriana e antioxidante, também utilizado para enfermidades como hepatite, hipertensão, diabetes, úlceras e câncer gástrico (URBEN, 2004; KIM et al., 2002). Entre os diversos metabólitos de *G. lucidum*, os polissacarídeos e triterpenos são importantes princípios ativos responsáveis por suas atividades farmacológicas (RUBEL, 2006).

Os polissacarídeos e outros princípios ativos de *G. lucidum* podem ser encontrados e isolados a partir do basidioma e do micélio (corpo vegetativo do fungo), mas extrair essas substâncias é mais difícil, podendo conter toxinas ou metais pesados, levando em consideração também que a produção é anual podendo levar de três a seis meses, isso vale tanto para o cultivo *in natura* quanto para o cultivo em fermentação de estado sólido (RUBEL, 2006).

A composição química de *G. lucidum* varia em função da linhagem, das condições de cultivo e de fatores ambientais. Entre os diversos metabólitos de *G. lucidum*, os polissacarídeos e os triterpenos merecem lugar de destaque devido às importantes atividades farmacológicas que apresentam. Mais de 100 tipos de polissacarídeos e mais de 100 tipos de triterpenos já foram isolados de *G. lucidum*. Porém, existem várias outras substâncias de baixo peso molecular presentes no corpo de frutificação e no micélio, como proteínas, monossacarídeos livres, oligossacarídeos, aminoácidos, ácidos orgânicos, esteróides, lipídeos, cumarina e substâncias tânicas (MIZUNO, 2004; SILVA, COELHO, 2006).

FANG *et al.*(2002) chegou a conclusão de que o cultivo submerso de *Ganoderma lucidum* está sujeito a uma variedade de condições físico-químicas, como temperatura, densidade e morfologia do inóculo, pH, pressão osmótica, taxa de agitação e de aeração. A composição do meio de cultura e as concentrações iniciais dos açúcares também atuam de forma decisiva sobre o processo fermentativo. As condições ótimas de fermentação podem ser estabelecidas em função do produto final desejado, quer seja biomassa ou EPS (FANG; TANG; ZHONG, 2002).

#### 4.2 FERMENTAÇÃO SUBMERSA

Devido ao grande tempo e espaço necessário para o desenvolvimento do basidiomiceto, há um recente interesse na produção de micélio em fermentação submersa, que ocupa espaços reduzidos, menos custos e diminuição das chances de contaminação, o que possibilita uma total recuperação de várias substâncias como os endopolissacarídeos, isolados do micélio, e dos exopolissacarídeos (EPSs), isolados do caldo de cultivo, que são biomoléculas de grande interesse farmacológico (RUBEL, 2006). Solução aquosa de melado de cana na concentração de 30,0 g.L<sup>-1</sup> é capaz de manter o crescimento micelial vigoroso de *L. edodes* e *G. lucidum* a glucose e a frutose são importantes fontes de energia para a atividade metabólica dos cogumelos (RUBEL, 2006; ROSSI *et al.*, 2001).

A fermentação submersa traz grandes vantagens para a produção micelial, gerando uma grande quantidade de biomassa em um espaço compacto e em menor tempo em comparação com outros tipos de fermentação (Friel & McLoughlin, 2000)

O cultivo por fermentação submersa apresenta altas taxas de produção de glucanas extracelulares que são os homopolissacarídeos mais comuns em basidiomicetos, podendo ser lineares ou ramificadas, e apresentarem diferentes configurações e massas molares. Além disso, podem ser solúveis ou insolúveis em água,

dependendo da conformação, ligações químicas e massas molares (ZHANG et al., 2007).

A produção de EPSs é um processo mais simples em relação à endopolissacarídeo, já que sua recuperação é mais fácil e não requer múltiplas etapas de extração, sendo mais atrativa para a produção em escala industrial (RUBEL, 2006).

Este procedimento também tem sido bastante utilizado para a produção de EPSs, pelo baixo custo e elevada taxa de produtividade, permitindo ainda uma produção maciça utilizando um pequeno espaço (JOO *et al.*, 2004). Sua extração é feita a partir do caldo fermentado, assim como para os antimicrobianos, que é mais eficiente do que a extração realizada quando se tem o cultivo do corpo de frutificação, além dos vários meses que são necessários para obtenção dessa fase do basidiomiceto (KAWAGOE *et al.* 2004).

Outra vantagem desse tipo de cultivo é possibilitar o aproveitamento de resíduos agroindustriais como melão de soja, melão de cana, vinhaça de soja entre outros, permitindo o desenvolvimento de um processo ecologicamente correto e atrativo do ponto de vista do custo-benefício (RUBEL, 2006).

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 MEIOS DE CULTURA E PREPARO DE INÓCULO.

Colônias isoladas de *Lentinula edodes* e *Ganoderma lucidium* foram cedidas pelo Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá.

Para o preparo do inóculo sólido, o isolado foi cultivado em placas de Petri por meio de repicagem simples em meio de cultura agar dextrose batata (DBA), e posteriormente incubado por 7-10 dias a 20 °C

Após o período de incubação, foram selecionadas três placas contendo os inóculos dos fungos que apresentavam colonização mais uniforme em toda a placa. A partir dessas placas, foram retiradas circunferências do fungo de 1 cm de diâmetro para inoculação em meio líquido.

O meio de cultura líquido consistiu em 2,0 g.L<sup>-1</sup> de extrato de malte, 0,1 g.L<sup>-1</sup> de peptona e 2,0 g.L<sup>-1</sup> de glicose. Foram preparados tubos e ensaio com 10 mL deste meio de cultura aos quais foram adicionados duas circunferências de inóculo sólido dos fungos. Após a inoculação, as amostras foram incubadas por 14 dias à 20°C para crescimento do micélio fúngico.

Após o período de incubação, antes de serem utilizados como inóculo para o crescimento nos néctares de frutas, os tubos de ensaio foram agitados para homogeneização do micélio no meio líquido.

### 5.2 ENSAIOS DE CRESCIMENTO DOS FUNGOS EM NÉCTARES DE FRUTAS

Como substrato líquido para desenvolvimento do fungo, foram utilizados cinco tipos diferentes de néctar de fruta (laranja, maracujá, uva, pêsego e abacaxi), da marca

“SU FRESH<sup>®</sup>”. Para os ensaios, 50 mL de cada néctar foram colocados em frascos e autoclavados.

Ao néctar autoclavado foi adicionado o inóculo de fungo preparado em meio líquido, na proporção de 10 mL (conteúdo de um tubo de ensaio) para 50 mL de néctar. Após a inoculação os frascos foram incubados por 14 dias a 20°C. Todos os ensaios foram realizados em quintuplicata.

### 5.3 ANÁLISES REALIZADAS

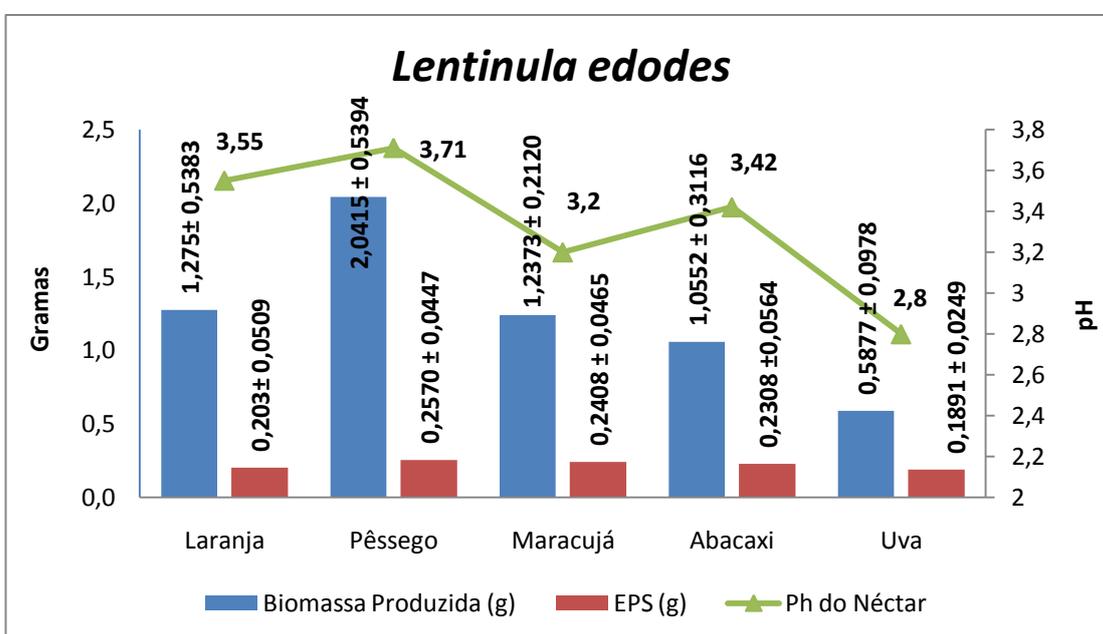
Para a determinação do crescimento da biomassa, foi realizada uma análise gravimétrica, consistindo de filtração simples, seguida de secagem e pesagem da biomassa.

A determinação de presença e quantificação de EPS foi realizada por precipitação com utilização de álcool etílico 99%, utilizando a proporção 1:1 v/v, seguida de filtração, secagem e pesagem do precipitado, de acordo com a metodologia utilizada por ZHANG *et al.* (2006).

Para cada ensaio foi determinado o pH do néctar, utilizando um pHmetro digital de bancada, da marca Hanna<sup>®</sup>.

## 6 RESULTADOS

Os resultados obtidos nos ensaios estão apresentados nas figuras 2 e 3. Na figura 2 estão os resultados de pH, produção de biomassa e produção de EPSs nos diferentes néctares utilizando a linhagem de *L. edodes*. Na figura 3 estão os resultados utilizando a linhagem de *G. lucidum*.



**Figura 2: Relação entre o pH e a produção de biomassa e EPSs em diferentes substratos pelo Basidiomiceto *Lentinus edodes* em substratos líquidos.**

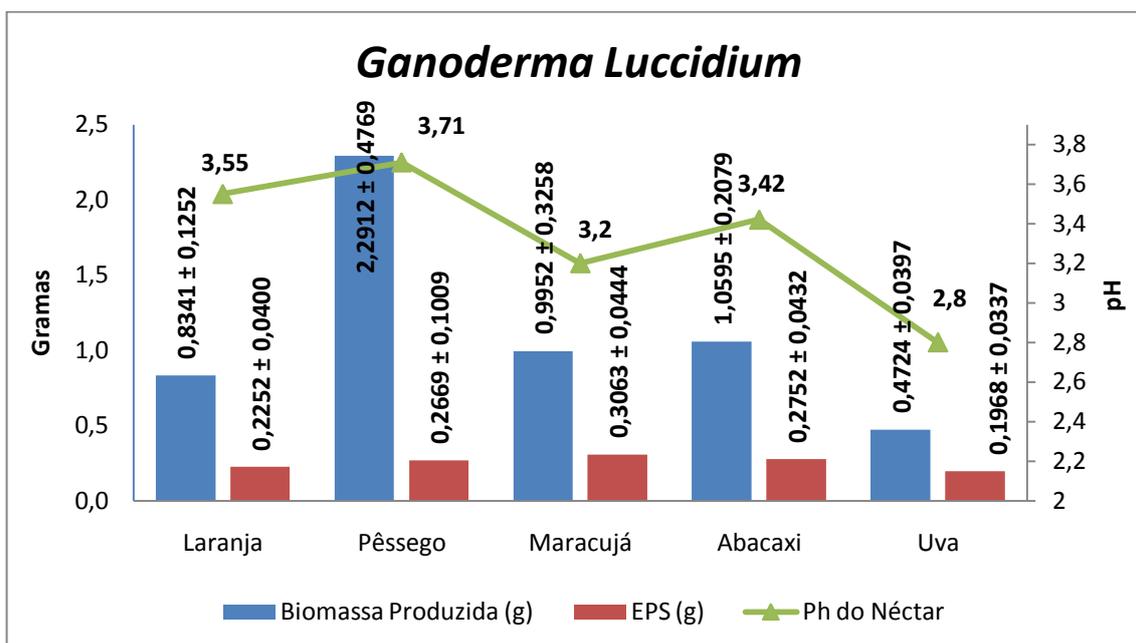
**Tabela 1: Comparativo das médias utilizando teste de Tukey para o crescimento de biomassa e desenvolvimento de EPS na cepa de *Lentinula edodes*.**

Amostras	Médias(*)	
	Biomassa	EPS
Maracujá	1,24 <sup>b</sup>	0,24 <sup>a</sup>
Pessego	2,04 <sup>a</sup>	0,26 <sup>a</sup>
Uva	0,59 <sup>c</sup>	0,19 <sup>b</sup>
Abacaxi	1,06 <sup>b</sup>	0,23 <sup>a, b</sup>
Laranja	1,28 <sup>b</sup>	0,20 <sup>a, b</sup>

(\*) As médias seguidas contendo a mesma letra não diferem entre si ao nível de 95% de confiabilidade.

De acordo com a figura 2 e a tabela 1, é possível observar a relação entre os diferentes tipos de substratos utilizados e a produção de biomassa para *Lentinula edodes*, facilmente nota-se que a maior produção foi encontrada para o substrato de néctar de pêsego, cujo valor chegou a  $2,0415 \pm 0,5394$  gramas, o qual difere estatisticamente, quando utilizando o grau de confiabilidade de  $p < 0,05$ , do substrato de néctar de uva cujo valor foi de apenas  $0,5877 \pm 0,0978$  gramas de desenvolvimento, sendo os dois valores de pH o maior e o menor, respectivamente.

Para do cultivo de *L. edodes*, a maior produção de EPSs ocorreu para o substrato de pêsego, chegando a valores de  $0,2570 \pm 0,0509$  gramas, o qual difere estatisticamente ( $p < 0,05$ ) do substrato contendo néctar de uva, cujo valor chegou a  $0,1891 \pm 0,0249$  gramas.



**Figura 3: Produção da Biomassa e de EPS por *Ganoderma lucidum*, nos diferentes tipos de substrato líquidos, utilizando fermentação submersa.**

**Tabela 2: Comparativo das médias utilizando teste de Tukey para o crescimento de biomassa e desenvolvimento de EPS na cepa de *Ganoderma lucidum*.**

Amostras	Médias(*)	
	Biomassa	EPS
Maracujá	2,29 <sup>a</sup>	0,22 <sup>a, b, c</sup>
Pessegue	0,99 <sup>b</sup>	0,31 <sup>a</sup>
Laranja	0,83 <sup>b</sup>	0,20 <sup>c</sup>
Abacaxi	1,06 <sup>b</sup>	0,27 <sup>a</sup>
Uva	0,47 <sup>c</sup>	0,28 <sup>a, b</sup>

(\*) As médias seguidas contendo a mesma letra não diferem entre si ao nível de 95% de confiabilidade.

Para o cultivo de *Ganoderma lucidum*, foram utilizados os mesmos cinco tipos de néctar como substratos onde, o maior valor de crescimento de biomassa também foi observado no substrato de néctar de pêssego, chegando a valores de  $2,2912 \pm 0,4769$  gramas onde o pH tem valores mais altos, e diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) com o

néctar de uva, o qual alcançou valores de crescimento biomássico de apenas  $0,4724 \pm 0,040$  gramas.

Sobre a produção de EPSs, a maior concentração foi obtida ao se utilizar o néctar de maracujá, no qual foi possível obter um valor de  $0,3063 \pm 0,0444$  gramas de EPSs e em contrapartida, obtivemos o menor valor de precipitado para o substrato de uva, chegando a um valor de  $0,1968 \pm 0,0337$  gramas de EPSs precipitado, diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

## 7 DISCUSSÃO

Mediante os resultados obtidos neste trabalho, é possível observar que, as maiores produções de biomassa foram obtidas nas amostras que apresentaram o maior pH (3,71), representado pelo néctar de pêsego, observando-se um valor máximo de  $2,0415 \pm 0,5394$  g de biomassa para o substrato contendo a cepa de *L. edodes* e  $2,2912 \pm 0,4769$  g de biomassa para a cepa de *G. lucidium*. Esse resultado corrobora o trabalho de Lee *et al.* (1999), em que os autores verificaram que o pH definitivamente afeta o crescimento micelial no cultivo submerso de *G. lucidium*, onde o pH próximo a 3 favorece o desenvolvimento de biomassa.

Com relação à produção de EPSs por *L. edodes*, foi possível observar o maior valor no maior pH ( $3,71 \pm 0,01$ ), porém com a cepa de *G. lucidium*, o mesmo não é verdadeiro, sendo o maior valor de produção de EPSs encontrado no substrato contendo maracujá, com o pH de  $3,2 \pm 0,01$ . Lee *et al.* (1999) verificaram que o pH influencia muito a produção de EPSs no cultivo submerso de *G. lucidium*. Eles definiram uma técnica onde é mantido na fase inicial do cultivo um pH=3 e foi aumentado exponencialmente até 6,0 no final do cultivo, o que aumentou a produção de EPS de  $2,1 \text{ g.L}^{-1}$  para  $4,1 \text{ g.L}^{-1}$  além de promover baixa viscosidade e elasticidade do meio de cultura. Isso se deve porque o pH próximo a 6,0 promove a produção de EPSs.

RUBEL (2006) relatou que altas concentrações iniciais de glicose e também de sacarose em meio de cultura submerso, aumentam a produção de EPSs de *G. lucidium*, mas diminuíram drasticamente a produção de biomassa. Segundo os autores, a alta osmolaridade do meio é um fator de estresse para as células, levando à inibição do crescimento celular e a aumento na produção de polissacarídeo, como forma de defesa. Esse fato, juntamente com o pH, pode explicar a maior produção de EPSs no néctar de maracujá, o qual apresentava uma quantidade maior de sacarose, presente nas formulações estudadas para a linhagem de *G. lucidium*.

SOUZA (2009) realizou uma fermentação submersa de *L. edodes*, utilizando um meio de cultura a base de melaço de cana de açúcar, a fermentação ocorreu durante 21 dias, e encontrou uma quantidade total de precipitado de polissacarídeos de  $64 \text{ g.L}^{-1}$ . O que chega próximo dos resultados encontrados aqui nesse trabalho, se levarmos em consideração que a fermentação realizada durou apenas 14 dias e foi obtido uma média final de  $34 \text{ g.L}^{-1}$  para o substrato de pêssego.

## 8 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho podem ser considerados positivos para os objetivos apresentados, no que diz respeito ao desenvolvimento da biomassa e a produção de EPSs, utilizando néctares de frutas como meio de cultivo para as cepas de *L. edodes* e *G. lucidum*.

Para que em futuros trabalhos melhores resultados possam ser encontrados, sugere-se um estudo mais aprofundado nas características dos meios de cultura e condições ótimas de desenvolvimento das cepas. Também podem ser avaliadas maneiras de indução de produção de EPSs pelos basidiomicetos utilizados, como por exemplo, pH ótimo para crescimento micelial ou para produção de EPSs, velocidade de agitação e aeração do substrato, quantidade de carboidratos e suas respectivas fontes utilizadas no meio de cultura, dentre outras variáveis importantes de processo para o cultivo submerso. Visando, desta forma, melhores condições para o objetivo traçado no projeto, seja ele crescimento micelial ou produção de polissacarídeos extracelulares.

## REFERÊNCIAS

- ALQUINI, G. **Caracterização estrutural de polissacarídeos obtidos do corpo de frutificação e cultivo submerso de agaricus bisporus**, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências (Bioquímica)) - Universidade Federal do Paraná. 2010.
- BONONI, V. L. R. Biodegradação de organoclorados no solo por basidiomicetos lignocelulolíticos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (ed.). **Microbiologia Ambiental**, Jaguariúna: Embrapa - CNPMA, p. 243 –267, 1997.
- BROWN G, GORDON S. Immune recognition of fungal b-glucans. **Cell Microbiol.** 2005
- CHIHARA G. et al. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumour activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing, an edible mushroom. **Cancer Research**, v.30, p. 2776–2781, 1970.
- CUI, J., GOH, K. K. T., ARCHER, R. E SINGH, H. Characterisation and bioactivity of protein-bound polysaccharides from submerged-culture fermentation of *Coriolus versicolor* Wr-74 and ATCC-20545 strains. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**. v.34(5) p. 393-402, 2007.
- EBISCH I.M.W., THOMAS C.M.G, PETERS W.H.M, BRAAT D.D.M., STEEGERS-THEUNISSE R. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. **Hum Reprod Update**. v.13(2) p.163-74. doi:10.1093/humupd/dml054, 2007.
- EL-ZALAKI, M. E.; HAMZA, M. A. Edible mushrooms as producers of amylases. **Food Chemistry**, v. 4, n. 3, p. 203-211, 1979.
- FERREIRA C.F.R., BARROS L., ABREU R.M.V. **Antioxidants** in wild mushrooms Current. **Medicinal Chemistry**, v.16, p. 1543–1560, 2009.

FERREIRA, I.C.F.R.; BAPTISTA, P.; VILAS-BOAS, M.; BARROS, L.. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: individual cap and stipe activity. **Food Chem.**; v.100 p. 1511-1516, 2007.

FORGES T, MONNIER-BARBARINO P, ALBERTO JM, GUÉANT-RODRIGUEZ RM, DAVAL JL, GUÉANT JL. Impact of folate and homocysteine metabolism on human reproductive health. **Hum Reprod Update.**; v.13(3) p. 225-38. doi:10.1093/humupd/dml063, 2007.

FUKUSHOMA M., OHASHI T., FUJIWARA Y., SONOYAMA K., NAKANO M. Cholesterol-lowering effects of Maitake (*Grifola frondosa*) fiber, Shiitake (*Lentonus edodes*) fiber, Enokitake (*Flammulina velutipes*) fiber in rats Experimental. **Biology and Medicine**, v.226, p. 758–765, 2001.

FURLANI R.P., GODOY H.T. Contents of folates in edible mushrooms commercialised in the city of Campinas, São Paulo, Brazil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** [online]. v.27, n.2, p. 278-280. ISSN 1678-457X, 2007.

FURLANI R.P., GODOY H.T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** [online]. v.27, n.1, p. 154-157. ISSN 1678-457X, 2007.

GANTNER B.N., SIMMONS R.M., CANAVERA S.J., AKIRA S. Underhill Collaborative induction of inflammatory responses by dectin-1 and Toll-like receptor 2. **J Exp Med**, 197 (9), p. 1107–1117, 2003.

GUO Z., HU Y., WANG D., MA X., ZHAO X., ZHAO B. Sulfated modification can enhance the adjuvanticity of lentinan and improve the immune effect of ND vaccine. **Vaccine**. v.27, p. 660–665, 2008.

GUTIÉRREZ A.; PIETRO A.; MARTÍNEZ, A. T. Structural characterization of extracellular polysaccharides produced by fungi from the genus *Pleurotus*. **Carbohydrate Research**, Kidlington. v.281, p.143-154, 1996.

HAMURO J., TAKATSUKI F., SUGA T., KIKUCHI T., SUZUKI M. Synergistic antimetastatic effects of lentinan and interleukin 2 with pre- and post-operative treatments Japanese. **Journal of Cancer Research**. v.85, p. 1288–1297, 1994.

HATVANI N. Antibacterial effect of the culture fluid of *Lentinus edodes* mycelium grown in submerged liquid culture. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v.17, p. 71–74, 2001.

HIRASAWA M., SHOUJI N., NETA T., FUKUSHIMA K., TAKADA K. Three kinds of bacterial substances from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (shiitake, an edible mushroom). **International Journal of Antimicrobial Agents**. v. 11 (2), p. 151–157, 1999.

ISAKA M., TANTICHAREON M., KONGSAEREE P., THEBTARANONTH Y. Structures of Cordypyridones A-D, Antimalarial N-Hydroxy- and N-Methoxy-2-pyridones from the Insect Pathogenic Fungus *Cordyceps nipponica*. **J. Organic Chem.** v.66 p. 4803-4808, 2001.

ISHIKAWA Y., MORIMOTO K., HAMASAKI T. Falvoglaucin, a metabolite of *Eurotium chevalieri*, its antioxidation and synergism with tocopherol. **J. Am. Oil. Chem. Soc.** v.61, p. 1864–1868, 1984.

JONG, S.C., BIRMINGHAM, J.M. Medicinal and therapeutic value of the Shiitake mushroom. **Advan. Appl. Microbiol.** v.39, p. 153-184, 1993.

KALAC P. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. **Food Chemistry**, v.113, p. 9–16, 2009.

KEENAN J.M., GOULSON M., SHAMLIYAN T., KNUTSON N., KOLBERG L., CURRY L. The effects of concentrated barley  $\beta$ -glucan on blood lipids and other CVD risk factors in a population of hypercholesterolaemic men and women. **The British Journal of Nutrition**. v.97, p. 1162–1168, 2007

KITZBERGER C.S.G. JR., PEDROSA R.C., FERREIRA S.R.S. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic

solvents and supercritical fluids. **Journal of Food Engineering**, v.80, p. 631–638, 2007.

KURTZMAN, R.H. Mushrooms: sources for modern western medicine. **Micologia Aplicada International**. v.17, p. 21-33, 2005.

LEE, Kyu Min; LEE, Shin Young; LEE, Hyeon Yong. Bistage control of pH for improving exopolysaccharide production from mycelia of *Ganoderma lucidum* in an air-lift fermentor. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v. 88, p. 646-650, 1999.

LI S.G., WANG D.G., TIAN W., WANG X.X., ZHAO J.X., LIU Z. Characterization and anti-tumor activity of a polysaccharide from *Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz. **Carbohydrate Polymers**, v.73, p. 344–350, 2008.

LOVY, A.; KNOWLES, B.; LABBE, R.; NOLAN, L. Activity of Edible Mushrooms Against the Growth of Human T4 Leukemic Cancer Cells, HeLa Cervical Cancer Cells, and *Plasmodium falciparum*. **J. Herbs, Spices Medicinal Plants**. v.6, p. 49-57, 1999.

MANZI P., PIZZOFERATTO L. Beta-glucans in edible mushrooms. **Food Chemistry**, v.68, p. 315–318,2000.

MATHEUS, D. R.; OKINO, L. K. Utilização de Basidiomicetos em processos biotecnológicos. In: BONONI, V.L.R. (org.) *Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas*. São Paulo: **Instituto de Botânica**, p. 106 – 139, 1998.

MATHEUS, D. R.; OKINO, L. K. Utilização de Basidiomicetos em processos biotecnológicos. In: BONONI, V.L.R. (org.) *Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas*. São Paulo: **Instituto de Botânica**. p. 106 – 139, 1998.

MATTILA, P.; KONKO K.; EUROLA M.; PIHLAVA J. M.; ASTOLA J.; VAHTERISTO L.; HIETANIEMI V.; KUMPULAINEN J.; VALTONEN M.; PIIRONEN V. Contents of vitamins, mineral elements, and phenolic compounds in

cultivated mushrooms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 5, p. 2343-2348. 2001.

MAU J.L., CHAO G-R., WU K-T. Antioxidant properties of methanolic extracts from several ear mushrooms. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v.49, p. 5461–5467, 2001.

MAU J.L.; CHANG C.N.; HUANG S.J.; CHEN C.C. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia. **Food Chem.** v. 87 p. 111-118, 2004.

MINATO K., MIZUNO M., TERAJ H., TSUCHIDA H. Autolysis of lentinan, an antitumor polysaccharide, during storage of *Lentinus edodes*, shiitake mushroom. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p. 1530–1532, 1999.

MIZUNO T. The extraction and development of antitumor active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan- Review. **Inter. J. Medicinal mushrooms**. v. 1, p. 9-30, 1999.

MIZUNO T., SAKAI T., CHIHARA G.. Health foods and medicinal usages of mushrooms. **Food Review International**, v. 11, p. 69–81, 1995.

MURPHY E.A.; DAVIS J.M.; Carmichael, M.D. Immune modulating effects of B-glucan. **Curr. Opi.Clin. Nutr. Metab. Care**. v. 13, p. 656-661, 2010.

NAKANO H., NAMATAME K., NEMOTO H., MOTOHASHI H., NISHIYAMA K., KUMADA K. A multi-institutional prospective study of lentinan in advanced gastric cancer patients with unresectable and recurrent diseases: effect on prolongation of survival and improvement of quality of life. Kanagawa Lentinan Research. **Group Hepatogastroenterology**, v. 46, p. 2662–2668, 1999.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os Reinos dos Fungos**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 1998.

ROYSE, D. J. **Cultivation of shiitake on natural and synthetic logs.** (2005) <<http://pubs.cas.psu.edu/FreePubs/pdfs/ul203.pdf>> Acesso em fevereiro de 2014.

RUBEL, Rosália. **Produção de compostos bioativos de *Ganoderma lucidum* por fermentação em estado sólido: avaliação da ação antitumoral, imunomoduladora e hipolipidêmica,** 2006. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos). Setor de Tecnologia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

SAKAMOTO, J.; TERAMUKAI, S.; NAKAZATO, H.; SATO, Y.; UCHINO, J.; TAGUCHI, T. Efficacy of adjuvant immunochemotherapy with OK- 432 for patients with curatively resected gastric cancer : A metaanalysis of centrally randomized controlled clinical trials. **J. Immunother.** v.25, p. 405-412, 2002.

SEVIOUR, R. J. A. Production of pullulan and other exopolysaccharides by filamentous fungi. *Critical Reviews in Biotechnology*, **Boca Raton**, v.12, p.279-298, 1992.

SILVA, K. R. I.; DURRANT, L. R.; MENEZES, C. R. **Produção de enzimas lignocelulolíticas por fungos basidiomicetos de degradação branca cultivados em bagaço de cana-de-açúcar através de fermentação semisólida.** In: WORKSHOP INTERNACIONAL BRASIL-JAPÃO EM BIOCOMBUSTÍVEL, MEIO-AMBIENTE E NOVOS PRODUTOS DE BIOMASS, Campinas. Anais... Campinas: Unicamp. v. 1, 2007.

SILVA, R. R.; COELHO, G. D. Fungos principais grupos e aplicações biotecnológica. São Paulo: **Instituto de Botânica**, 2006.

SOUZA C. M. C. O. **Produção de metabólitos com atividade antimicrobiana e antioxidante de *lentinula edodes* em cultivo submerso,** 2009. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná. 2009.

SUAY, I.; ARENAL, F.; ASENIO, F.; BASILIO, A.; CABELLO, M.; DIEZ, M.T. Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.78, p.129-139, 2000.

TAGUCHI T. Clinical efficacy of lentinan on patients with stomach cancer: end point results of a four-year follow-up survey. **Cancer Detect Prev**, Suppl, v.1, p. 333–349, 1987.

TANAKA, K.; TANAKA, Y.; SUZUKI, T.; MIZUSHIMA, T. Protective effect of - (1,31,6)-D-glucan against irritant-induced gastric lesions. **Br. J. Nutr.**, v. 106, p. 475-485, 2011.

TAVARES, A. P. M.,AGAPITO, M. S. M.,COELHO, M. A. Z.,COELHO, M. A. Z.,SILVA, J. A. L.,BARROS-TIMMONS, A.,COUTINHO, J. A. P. E XAVIER, A. M. R. B. Selection and optimization of culture medium for exopolysaccharide production by *Coriolus (Trametes) versicolor*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. p. 1499-1507, 2005.

URBEN A. F., OLIVIERA H. C. B., VIEIRA W., CORREIA, M. J., URIARTT A. H. Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada. Brasília : **Embrapa**, p. 151, 2001.

URBEN, Arailde F. Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada. 2. ed. Brasília: **Embrapa recursos genéticos e biotecnologia**. 2004.

VETVICKA V., DVORAK B., VETVICKOVA J., RICHTER J., KRIZAN J., SIMA P. Orally administered marine (1 → 3)-β-d-glucan phycarine stimulates both humoral and cellular immunity. **International Journal of Biological Macromolecules**. v.40, p. 291–298, 2007.

WOOD P.J. Wood Cereal β-glucans in diet and health. **Journal of Cereal Science**. v. 46, p. 230–238, 2007.

WOOD, P.J.; WEISZ, J.; BLACKWELL, B.A. Structural Studies of (1® 3), (1® 4)-D-Glucans by <sup>13</sup>C-Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and by Rapid Analysis of Cellulose-like Regions using High-Performance Anion-Exchange Chromatography of oligosaccharides released by lichenase. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 71, n. 3, p. 301-307, 1994.

YANG J-H., LIN H-C., MAU J-L. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. **Food Chemistry**. v. 77, p. 229–235, 2002.

YOSHIDA O., NAKASHIMA H., YOSHIDA T., KANEKO Y., YAMAMOTO I., MATSUZAKI K. Sulfation of the immunomodulating polysaccharide lentinan: a novel strategy for antivirals to human immunodeficiency virus (HIV). **Biochemical Pharmacology**, v. 37 p. 2887–2891, 1988.

ZHANG M., CUI S. W., CHEUNG P. C. K., WANG, Q. Polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. **Trends in Food Science & Technology**, v.18 p.4-19, 2006.

ZHANG, G. L.; WANG, Y.H.; NI, W.; TENG, H.L.; LIN, Z.B. Hepatoprotective role of *Ganoderma lucidum* polysaccharide against BCG-induced immune liver injury in mice. **Acta Pharmacol. Sin.**, v. 23, n. 9, p. 787-791, 2002.

ZHANG, M.; CUI, S. W.; CHEUNG, P. C. K.; WANG, Q. Antitumor polysaccharide from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. **Food Sci. and Technol.**, v. 18, p. 4-19, 2007.

KIRK, O. BORCHET T. V.; FUGLSANG, C. C. **Industrial enzyme applications**. Current opinion biotechnology, v.13, p.345-351, 2002.

SUTHERLAND, J. W. Novel and established applications of microbial polysaccharides. **Trends in Biotechnology**, London, v.16, p.41-46, 1998