

PRODUÇÃO DE EXOPOLISSACARÍDEOS UTILIZANDO FUNGOS FILAMENTOSOS

Jackeline Pereira Andrade¹; Phellippe Arthur Santos Marbach³; Janice Izabel Druzian²; Milton Ricardo de Abreu Roque¹

¹Instituto Ciência da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil (jackelineandrade@hotmail.com)

²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, UFBA, Salvador, BA, Brasil

³Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, UFRB, Cruz das Almas, BA, Brasil

Rec.: 06.07.2014. Ace.: 02.06.2015

RESUMO

Os exopolissacarídeos (EPS) são metabólitos secundários produzidos por micro-organismos quando estão em condições desfavoráveis. Eles possuem aplicações nas indústrias de alimentos, farmacêutica e de cosméticos. O objetivo desse trabalho foi analisar as patentes relacionadas à produção de EPS utilizando fungos filamentosos. As buscas foram realizadas no *Espacenet*, com as palavras chave exopolysaccharide* e fung* e o código C12P19/04. O maior número de depósitos ocorreu nos anos de 2008 a 2013 com uma média de 10 patentes por ano. Apenas quatro instituições tiveram o maior número de depósito e os códigos da CPC apareceram em menor número que os da IPC. Foi observado que a área médica é a que mais tem aplicação dos EPS produzidos por fungos. Como os fungos apresentam potencial de aplicação, seria interessante mais pesquisas nessa área e em outras.

Palavras chave: Prospecção. Medicina. Fungos.

ABSTRACT

The exopolysaccharides (EPS) are secondary metabolites produced when microorganisms are in unfavorable conditions. They have applications in the food, pharmaceutical and cosmetic industries. The aim of this study was to analyze the patents related to EPS production using filamentous fungi. Searches were conducted at Espacenet, with the keywords exopolysaccharide* and fung* and C12P19/04 code. The largest number of deposits occurred in the years 2008-2013 with a mean of 10 patents per year. Only four institutions had the highest number of deposits and codes of CPC appeared fewer in number than those of the IPC. It was observed that the medical field is the one that have most application of the EPS produced by fungi. As fungi have potential application, it would be interesting to further research in this area and others.

Keywords: Prospecting. Medicine. Fungi.

Área tecnológica: Biotecnologia, Produção de Exopolissacarídeo

INTRODUÇÃO

Dentre as inúmeras moléculas produzidas por micro-organismos com aplicações biotecnológicas os exopolissacarídeos (EPS) são particularmente interessantes por apresentarem uma variedade de aplicações nas indústrias farmacêuticas, alimentícias e de cosméticos (MAHAPATRA; BANERJEE, 2013).

Os EPS são macromoléculas constituídas por cadeias longas e ramificadas de unidades repetidas de açúcares ou derivados de açúcares e outros constituintes como acetato, piruvato, succinato, fosfato, componentes lipídicos, nitrogênio ou íons inorgânicos. São produzidos quando o micro-organismo está em condições ambientais desfavoráveis, representando uma estratégia metabólica para sua sobrevivência e crescimento (SUTHERLAND, 1996).

A maior parte dos trabalhos relacionados com a produção de EPS é realizada com bactérias. Contudo, o interesse pelos EPS produzidos por fungos filamentosos é crescente nos últimos anos, pois os EPS produzidos por estes micro-organismos possuem comprovada aplicação nas mais variadas indústrias (MAHAPATRA; BANERJEE, 2013).

Por exemplo, a escleroglucana produzida pelo fungo filamentoso *Sclerotium rolfsii* ATCC201126 é utilizada em diversos produtos de cuidados da pele, cremes e loções de proteção (FARIÑA et al, 1998). Na indústria farmacêutica os EPS produzidos pelos fungos filamentosos *Botryosphaeria rhodina* RCYU 30101 (WENG et al., 2011), *Fusarium solani* SD5 (MAHAPATRA; BANERJEE, 2012), *Ganoderma resinaceum* (KIM et al., 2006) e *Aspergillus* sp. Y16 (CHEN et al., 2011) apresentaram atividade anti-inflamatória, anti-alérgica, anti-oxidante, anti-virais e anti-tumoral.

Nesse contexto, esta prospecção procurou conhecer a produção de exopolissacarídeos utilizando fungos filamentosos e a partir disso, realizar análises, quanto ao número de patentes, seus detentores, porcentagem de patentes referentes a produção de EPS por fungos e bactérias e número de códigos (IPC e CPC) mais frequentes.

METODOLOGIA E ESCOPO

Nesse estudo foram realizadas buscas por patentes no banco de dados europeu *Espacenet*, na base *Worldwide*, relacionadas a técnica de produção de EPS fúngico. Foram utilizadas combinações entre palavras-chaves e códigos (Tabela 1), cujos significados estão na Tabela 2. A busca dos códigos pertinentes ao estudo pertence à Seção C - Química; Metalúrgica (INPI) (Tabela 2). Foram identificadas 246 patentes utilizando os descritores exopolysaccharide* e fung* e o código C12P19/04.

Todas as patentes identificadas foram lidas e aquelas repetidas foram excluídas, restando apenas 100 documentos. Esses dados foram analisados utilizando os programas CSV Editor 2.2.3 e Microsoft Excel e em seguida os gráficos referentes ao número de patentes, seus detentores, porcentagem de patentes referentes a produção de EPS por fungos e bactérias e número de códigos (IPC e CPC) mais frequentes foram gerados. As buscas foram realizadas entre os dias 25 de abril a 9 de maio de 2014.

Tabela 1 - Escopo da estratégia da prospecção tecnológica em rosa e em cinza as buscas selecionadas para este estudo

exopolysaccharide*	fung*	C12P19/04	C12N1/14	C08B37/00	Nº de Patentes
x					265

Tabela 1 - Escopo da estratégia da prospecção tecnológica em rosa e em cinza as buscas selecionadas para este estudo

exopolysaccharide*	fungo*	C12P19/04	C12N1/14	C08B37/00	Nº de Patentes
	x				87,433
x	x				8
x		x			238
x			x		9
x				x	103
x	x	x			7
x	x		x		2
x	x			x	3
		x	x		348
		x		x	3,993
			x	x	56

Fonte: Autoria própria, 2014.

Tabela 2 - Significado dos códigos utilizados na busca - IPC

Códigos	Significado
C12P19/04	Polissacarídeos, ie., composto contendo mais de cinco radicais sacarídeos ligados uns aos outros por ligações glicosídicas
C12N1/14	Fungos (cultura de cogumelos A01G 1/04; como novas plantas A01H 15/00; Seus meios de cultura
C08B37/00	Preparação de polissacarídeos não abrangidos pelos grupos C08B 1/00-C08B 35/00; Seus derivados (celulose D21)

Fonte: Autoria própria, 2014.

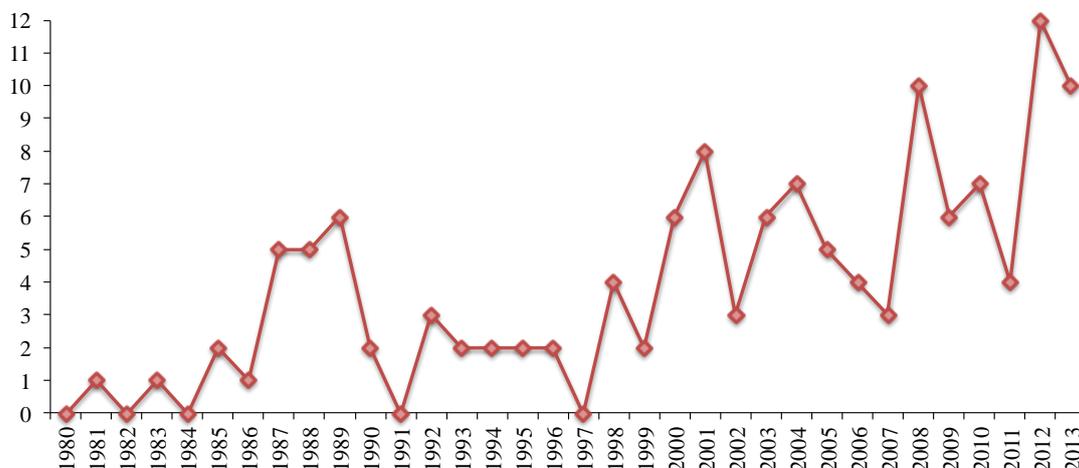
RESULTADOS E DISCUSSÃO

O depósito de patentes sobre produção de EPS iniciou em 1981 e até 1984 foi depositada apenas uma patente por ano. Do início ao fim dos anos 90 foram depositadas, em média, duas patentes por ano. Os maiores números de patentes depositadas foram em 2008, 2012 e 2013 com 10, 12 e 10 patentes respectivamente (Figura 1).

É possível observar ainda na Figura 1 que nos últimos 30 anos o depósito de patentes apresentou duas ondas tecnológicas. A primeira no final dos anos 80 e início dos anos 90 e a segunda no início do século XXI até os dias atuais.

Durante a primeira onda tecnológica foram utilizados nos processos de produção de EPS apenas substratos sintéticos como fonte de carbono nos meios de cultura, como glicose e lactose. Contudo, alguns processos descritos já utilizavam técnicas moleculares em bactérias para aumentar a produção de EPS. Nesse período, de 10 patentes analisadas, 8 foram produzidas por bactérias e 2 por fungos filamentosos.

Figura 1 - Número de depósitos de patentes por ano

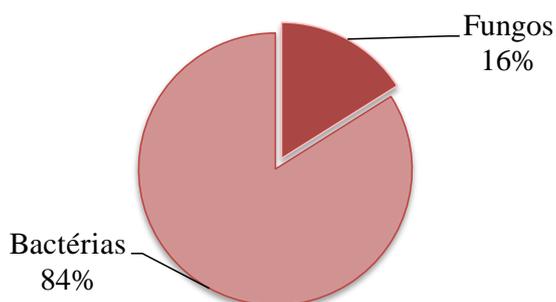


Fonte: Autoria própria, 2014.

No início do século XXI, que marca a segunda onda tecnológica, é observado um progressivo aumento do uso de meios de cultura contendo subprodutos e resíduos de processos industriais, o que permite agregar valor e transformá-los em coprodutos. Alguns desses subprodutos são: o farelo de arroz, farelo de aveia, o melaço de cana-de-açúcar, o farelo de trigo e a polpa de feijão.

As técnicas moleculares também se tornaram cada vez mais frequentes e os fungos passaram a ser mais utilizados, mas ainda assim, a sua utilização não superou o uso das bactérias, como mostra a Figura 2.

Figura 2 - Porcentagem de patentes da produção de exopolissacarídeos por fungos e bactérias

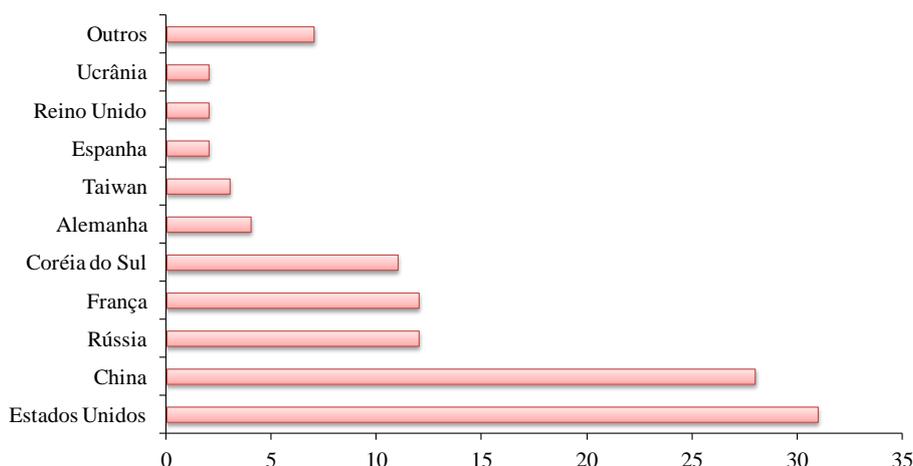


Fonte: Autoria própria, 2014.

Os países que mais depositaram patentes foram os Estados Unidos com 31 documentos seguido da China com 28 (Figura 3). A China realizou os depósitos nos anos mais recentes 2003 a 2013. A Rússia e a França detêm depósitos de 12 patentes e a Coreia do Sul de 11.

A Alemanha tem 4 patentes, Taiwan 3 e Espanha, Reino Unido e Ucrânia 2 patentes cada um. Os demais países tem apenas 1 depósito de patentes.

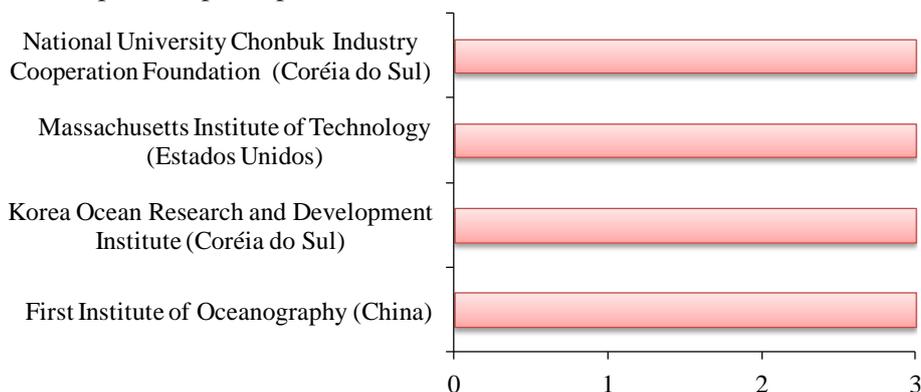
Figura 3 - Distribuição dos depósitos de patentes por país de origem



Fonte: Autoria própria, 2014.

As instituições de pesquisa que depositaram o maior número de patentes envolvendo o processo de obtenção de EPS estão representadas na Figura 4. As instituições que mais se destacaram foram First Institute of Oceanography (China), Korea Ocean Research and Development Institute e National University Chonbuk Industry Cooperation Foundation (Coreia do Sul) e Massachusetts Institute of Technology (Estados Unidos), cada uma com três patentes. Alguns depositantes possuem dois depósitos, mas a maioria tem apenas 1. Esses números são baixos, quando comparados com o total de patentes. Isso sugere a não centralização de produção de EPS de algumas instituições, já que os EPS apresentam aplicações nas mais diferentes áreas.

Figura 4 - Número de patentes por depositantes



Fonte: Autoria própria, 2014.

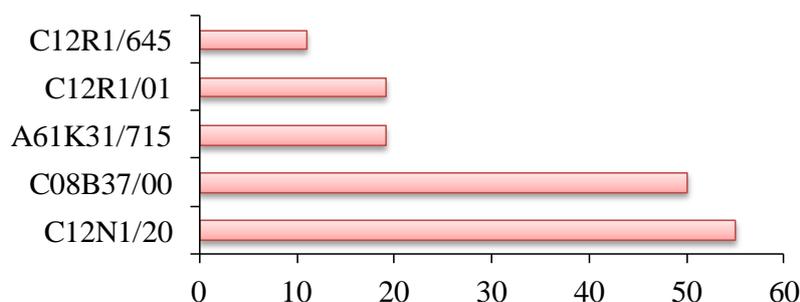
Tanto a Classificação Internacional de Patentes (International Patent Classification - IPC) como a Classificação Corporativa de Patentes (Cooperative Patent Classification - CPC) agrupa as patentes por áreas, o que possibilita analisar as diferentes tecnologias. A Figura 5 mostra os códigos da IPC que foram mais frequentes nas patentes relacionadas à produção de EPS. O código C12N1/20 estava em 55 patentes e está relacionado a bactérias e seus meios de cultura. O código C08B37/00 aparece logo em seguida em 50 patentes e refere-se à preparação de polissacarídeos não abrangidos pelos grupos C08B 1/00-C08B 35/00 e seus derivados (celulose D21). Os códigos A61K31/715 e C12R1/01 apareceram em 19 documentos, estando relacionados a polissacarídeos com mais de

cinco radicais sacarídeos ligados entre si por ligações glicosídicas e seus derivados, p. ex., éteres, ésteres e bactérias ou actinobactérias respectivamente. O código menos representativo dentre os que foram apresentados é o C12R1/645 que se refere a fungos, com 11 patentes (Figura 5).

A Figura 6 mostra os códigos da CPC que foram mais frequentes nas patentes analisadas. O código C08B37/06 refere-se à pectina e seus derivados e apareceu em 14 patentes. O código C12R1/01 (bactérias ou actinobactérias) novamente apareceu, mas agora apenas em 12 patentes. Os demais códigos que aparecem na figura como: C12N15/52 (genes que codificam enzimas ou proenzimas), A23L1/054 (de origem microbiana, p. ex., xantano, dextrano) e A23L1/314 (contendo aditivos) apareceram em 8, 6 e 5 patentes respectivamente.

Com esses dados, foi possível observar que os códigos da CPC apareceram em menor número de patentes quando comparados com os da IPC. A explicação para isso é que a busca realizada na CPC acontece de forma mais específica, enquanto pela IPC é mais generalizada. Além disso, essas informações mostram a diversidade de códigos referente às mais diversas tecnologias que estão sendo utilizadas para produção de EPS.

Figura 5 - Número de códigos da IPC mais frequentes nas patentes



Fonte: Autoria própria, 2014.

C12N1/20 - Bactérias; Seus meios de cultura;

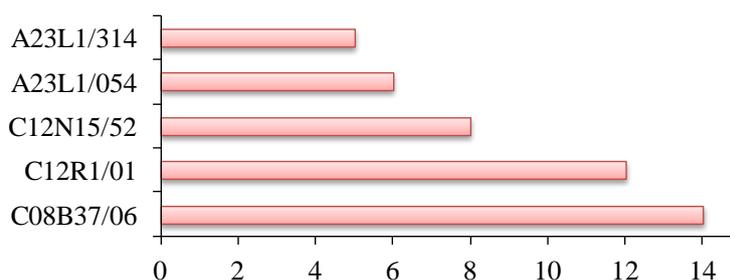
C08B37/00 - Preparação de polissacarídeos não abrangidos pelos grupos C08B 1/00-C08B 35/00 ; Seus derivados (celulose D21);

A61K31/715 - Polissacarídeos, i.e. tendo mais de cinco radicais sacarídeos ligados entre si por ligações glicosídicas; Seus derivados, p. ex., éteres, ésteres;

C12R1/01 - Bactérias ou actinobactérias;

C12R1/645 - Fungos.

Figura 6 - Número de códigos CPC mais frequentes nas patentes



Fonte: Autoria própria, 2014.

C08B37/06 - Pectina; Seus derivados;

C12R1/01 - Bactérias ou actinobactérias;

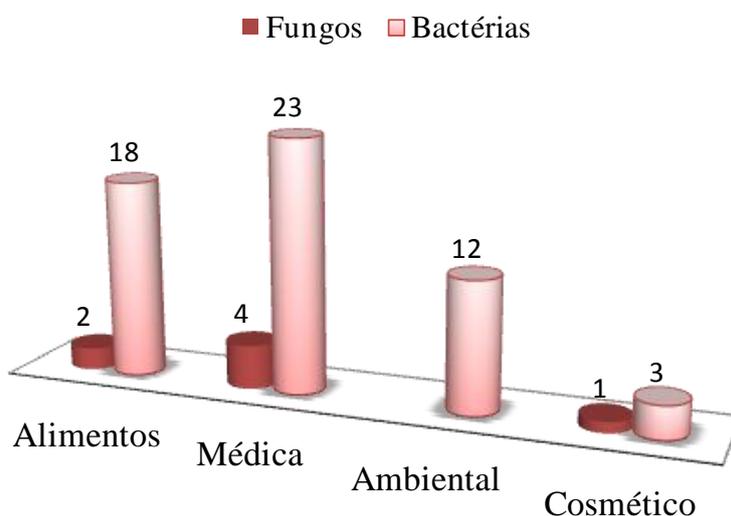
C12N15/52 - Genes que codificam enzimas ou proenzimas;

A23L1/054 - De origem microbiana, p. ex., xantano, dextrano;

A23L1/314 - Contendo aditivos.

Os EPS produzidos por fungos e bactérias podem ser utilizados nas mais diversas áreas como: alimentícia, médica, ambiental e de cosméticos (Figura 7). O uso de bactérias na produção de EPS em todas essas áreas foi superior ao uso de fungos. Isso pode ser explicado pela maior facilidade em manipular bactérias. O que também pode ser observado é que a produção de EPS utilizando fungos foi maior na área médica do que na produção de alimentos.

Figura 7 - Número de patentes sobre produção de exopolissacarídeos por fungos e bactérias nas diferentes áreas



Fonte: Autoria própria, 2014.

CONCLUSÃO

Esse trabalho mostrou o quão versátil tem sido o uso dos EPS, com aplicações nas diferentes áreas, desde a área de cosméticos até alimentos. Por outro lado foi possível observar que os fungos filamentosos são pouco utilizados quando comparados às bactérias. Mesmo com o potencial de aplicação dos EPS produzidos pelos fungos, o número de patentes analisadas foi maior apenas na área médica.

PERSPECTIVAS

Como existe relativamente pouca tecnologia sobre a produção de EPS por fungos filamentosos, seria interessante maior investimento em pesquisa sobre esse tema nas áreas já citadas e no desenvolvimento de outras, como na área ambiental.

REFERÊNCIAS

CHEN, Y.; MAO, W.; TAO, H.; ZHU, W.; QI, X.; CHEN, Y. et al. Structural characterization and antioxidant properties of an exopolysaccharide produced by the mangrove endophytic fungus *Aspergillus* sp. Y16. **Bioresource Technol.**, v. 102, n. 17, p. 8179–84, 2011.

EPO. Espacenet. European Patent Office. Disponível em: <http://worldwide.espacenet.com/advancedSearch?locale=en_EP>. Acesso em: 25 abr. a 9 mai. 2014.

FARIÑA, J. I.; SIÑERIZ, F.; MOLINA, O. E; PEROTTI, N. I. High scleroglucan production by *Sclerotium rolfsii*: Influence of medium composition. **Biotechnol Lett.**, v. 20, n. 9, p. 825–31. 1998.

INPI. Instituto Nacional de Propriedade Industrial. Publicação Oficial Classificação Internacional de Patentes (IPC). Disponível em: <<http://inpi.org.br>>. Acesso em: 15 mai. 2014.

KIM, H. M.; PAIK S.; RA, K. S.; KOO, K. B.; YUN, J. W. Influence of agitation intensity and aeration rate on production of antioxidative exopolysaccharides from submerged mycelial culture of *Ganoderma resinaceum*. **J Microbiol Biotechn.**, v. 16, n. 8, p. 1240–7, 2006.

MAHAPATRA, S.; BANERJEE, D. Structural elucidation and bioactivity of a novel exopolysaccharide from endophytic *Fusarium solani* SD5. **Carbohydr Polym.**, v. 90, n. 1, p. 683–9, 2012.

MAHAPATRA, S; BANERJEE, D. Fungal Exopolysaccharide: Production, Composition and Applications. **Microbiology Insights**, v. 6, p. 1–16, 2013.

SUTHERLAND, I. W. Extracellular polysaccharides. In: Rhem HJ, Reed G, editors. **Biotechnology**, v. 6, p. 615–57, 1996.

WENG, B. B. C.; LIN, Y. C.; HU, C. W.; KAO, M. Y.; WANG, S.H.; LO, D. Y.; LAI, T. Y.; KAN, L. S.; CHIOU, R. Y. Y. Toxicological and immunomodulatory assessments of botryosphaeran (β -glucan) produced by *Botryosphaeria rhodina* RCYU 30101. **Food Chem Toxicol.**, v. 49, n. 4, p. 910–6, 2011.