



300627  
10  
24

**UNIVERSIDAD LA SALLE**

Escuela de Química  
Incorporada a la U.N.A.M.

**"REVISION BIBLIOGRAFICA DE LA OBTENCION  
MICROBIANA Y USOS EN LA INDUSTRIA  
ALIMENTICIA DE LA GOMA DE  
XANTANO Y DEL DEXTRAN"**

**TESIS PROFESIONAL**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACO BIOLOGO**

**P R E S E N T A :**

**ADRIANA DE LOURDES GUZMAN BECERRIL**

**México, D. F.**

**Noviembre 1986**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE.

	Página
1. Objetivo -----	1
2. Introducción -----	2
3. Generalidades -----	5
Tabla 3.1 Características generales del dextran y de la goma de xantano -----	12
4. Reología de Hidrocoloides -----	14
5. Estructura y propiedades de la goma de xantano -----	16
Fig.5.1 Estructura de la goma de xantano -----	17
6. Estructura y propiedades de dextranas -----	26
Fig.6.1 Estructura del dextran -----	27
7. Síntesis de la goma de xantano -----	31
Fig.7.1 Producción continua de xantana -----	41
8. Síntesis de dextranas -----	42
Fig.8.2 Obtención de dextran -----	48
8.1 Síntesis enzimática de dextran -----	55
Fig.8.5 Obtención enzimática de dextran clínico -----	62
9. Usos de gomas microbianas -----	65
Usos de dextranas -----	69
Usos de la goma de xantano -----	75
10. Resumen -----	85
11. Conclusiones -----	87
12. Bibliografía -----	89

**1.- OBJETIVO.**

## OBJETIVO.

Recopilar información tanto de antecedentes como informa  
ción reciente de estas dos gomas debido a su gran importancia  
en la industria de alimentos ya que por el desarrollo de nue  
vas tecnologías dentro de la misma, la aplicación de aditivos,  
incluyendo a las gomas, es cada día mayor.

## 2.- INTRODUCCION.

## INTRODUCCION.

El término gomas incluye a un vasto grupo de polisacáridos que tienen un uso significativo dentro de la industria -- alimentaria debido a sus propiedades espesantes y gelifican-- tes para controlar las propiedades reológicas de muchos pro-- ductos alimenticios modernos (1,79)

Actualmente se emplea mucho el término hidrocoloide para referirse a las gomas, ya que debido a su gran capacidad de - retener agua, forman películas coloidales altamente hidrata-- das ( 1)

Las gomas, tanto naturales como sintéticas, se utilizan-- ampliamente en la industria alimenticia para controlar las -- propiedades reológicas de muchos productos en concentraciones que varían desde 0.05% hasta 5.0%; no contribuyen al valor -- nutritivo del alimento y además no imparten olor o sabor a -- los productos finales ( 1)

Por muchos años las plantas han sido la única fuente de-- gomas industriales; más recientemente han sido producidos de-- rivados químicos de polisacáridos vegetales, particularmente-- éteres de la celulosa.

Las gomas a las que se refiere este trabajo: dextra~~g~~ y - goma de xantano, son polisacáridos extracelulares de origen - microbiano.

Los polisacáridos microbianos extracelulares (aquellos - que se encuentran formando parte de las cápsulas que envuel-- ven a algunas bacterias) pueden ser utilizados como alterna-- tiva de otros polímeros sintéticos o naturales solubles en --

agua o bien como polímeros nuevos en diversas aplicaciones -- como agentes espesantes, gelificantes, de suspensión, etc. (59,53)

Los polisacáridos microbianos son producidos frecuentemente a partir de materiales baratos y, son así, sustitutos útiles de gomas vegetales solubles; sus aplicaciones industriales son numerosas y variadas y se tratarán en el capítulo correspondiente (31)

El interés en la fuente microbiana de gomas o hidrocoloides proviene de varias consideraciones tales como:

- 1) desempeño exitoso de propiedades distintivas de varios productos
- 2) conveniencia general para su ingestión sin efectos -- adversos
- 3) su elaboración económica resultante de la existencia extracelular de estos biopolímeros y su producción con buenos rendimientos a partir de sustratos de bajo costo
- 4) la necesidad de sustituir las gomas vegetales naturales, y
- 5) la búsqueda de productos que sustituyan a los importados (31,60).

Cada día son desarrollados alimentos más exóticos y sofisticados y esto se logra, en gran parte, por el uso de ingredientes y aditivos nuevos incluyendo a las gomas.

En general los aditivos proveen un gran número de funciones como son: extendedores; mejoramiento de sabor, color, textura, apariencia y nutrición; retención de humedad y grasa para prevenir pérdidas o contracciones; hacer algunos alimentos más suaves y cremosos o más frescos o quebradizos; dar mejor estabilidad y sensación al paladar; simplificar opera--



ciones de producción y brindar productos de manejo más fácil en líneas de empaclado (93).

La industria de los hidrocoloides puede enfrentarse a -- varios problemas en la década de los 80's, pero a la vez, -- tendrá nuevas oportunidades debido al desarrollo de nuevas -- tecnologías y necesidades de los consumidores. Algunos de los problemas a los que puede enfrentarse comprenden restriccio-- nes regulatorias y de costos, incremento en los costos de pro-- ducción, adquisiciones y un cambio acelerado en el panorama -- industrial. Los estudios de mercado, sin embargo, muestran un crecimiento proyectado para todos los aditivos alimenticios -- dentro de los que se encuentran los hidrocoloides (93,23).

\*Nota.- se puede emplear el término dextran, dextrano o dextrana dependiendo de la fuente bibliográfica consultada.

### 3.- GENERALIDADES.

## GENERALIDADES.

Los polisacáridos son compuestos formados por unidades - de monosacáridos unidos por enlaces glucosídicos y pueden ser de dos tipos dependiendo de su contenido de monosacáridos:

1) homopolisacáridos, formados por el mismo tipo de monosacárido producidos generalmente por una enzima simple y 2) heteropolisacáridos formados por varios monosacáridos diferentes y cuya síntesis microbiana requiere normalmente de diversas enzimas (1).

Los polisacáridos tienen un gran número de puentes y enlaces químicos que les permite una cierta rotación y flexibilidad de sus moléculas con un cambio muy pequeño de energía interna. El tipo de enlace glucosídico, así como los monosacáridos que los constituyen, determinan fundamentalmente su conformación y estructura; intervienen además en sus características, la presencia de grupos reactivos dentro de su molécula y su peso molecular (1).

Los polisacáridos se clasifican funcionalmente como polisacáridos de reserva (como almidón y glucógeno) y polisacáridos estructurales (como la celulosa); a su vez, los polisacáridos microbianos se dividen en intra y extracelulares dependiendo de su ubicación después de su producción; los polisacáridos extracelulares proporcionan al medio una consistencia viscosa o mucilaginosa (45).

Los polisacáridos se pueden agrupar en tres categorías generales dependiendo de su contenido de azúcares en: ácidos, neutros y aminos (70).

La producción de exopolisacáridos tiene ventajas para el microorganismo, ya que algunos de estos polímeros son capaces de retener agua protegiéndolo así de la desecación; las cápsulas de polisacáridos pueden proteger al organismo de la fagocitosis en un animal huésped o de la depredación por protozoarios ya sea en un medio acuoso o en el suelo, pudiendo ser -- además, una reserva útil de carbono y energía fuera de la -- célula para evitar problemas osmóticos (60).

Los factores que intervienen en las características de las dispersiones de las gomas son en general:

- 1) la concentración del polímero
- 2) su peso molecular promedio ( $\bar{M}$ )
- 3) las interacciones que tenga con otros constituyentes del alimento, y
- 4) el esfuerzo cortante al que se sometan (1).

En términos generales, las propiedades funcionales de los polisacáridos en solución son: agentes espesantes, estabilizantes, gelificantes y en algunas ocasiones emulsificantes. Su inclusión permite la manufactura de un vasto número de productos que no solamente son estables a las condiciones de -- transporte y almacenamiento, sino que también tienen las cualidades deseadas por el consumidor. A continuación se definen algunos de estos conceptos:

- espesamiento.- en la tecnología de alimentos implica los términos "cuerpo", "sensación en la boca", "textura", -- y se refiere a la viscosidad que es la resistencia a fluir de un líquido.

- viscosidad.- se define como la relación entre la fuerza al corte y la velocidad de corte, donde la primera es la fuerza aplicada y la segunda es la velocidad a la cual es deformado el líquido. Los fluidos Newtonianos son aquellos en que la fuerza al corte es proporcional a la velocidad de corte comprendiendo únicamente un pequeño número de sistemas -- líquidos (la mayoría de las soluciones de polisacáridos exhiben fluidos no Newtonianos como se verá más adelante)

- estabilización.- esta se logra con la aplicación de polisacáridos a dispersiones acuosas en donde la fase continua es agua y la fase dispersa puede ser sólida, líquida o gaseosa. Las suspensiones son dispersiones sólidas, las emulsiones son dispersiones líquidas y las espumas lo son gaseosas. En todos estos sistemas existe una tendencia de la fase dispersa de separarse; la adición de la goma adecuada para dar viscosidad a la fase acuosa, disminuye esta tendencia.

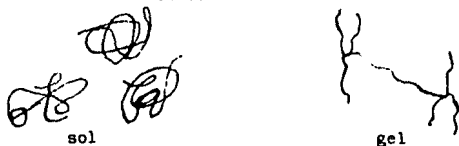
- emulsificación.- la función de un emulsificante es la de reducir la tensión superficial interfacial de tal forma que puedan ser formadas gotas extremadamente finas del líquido disperso; en la mayoría de los casos los polisacáridos no funcionan como emulsificantes pero son usados para dar estabilidad a la emulsión.

- formación de geles.- a pesar de que todos los polisacáridos solubles proveen viscosidad en mayor o menor grado, sólo unos cuantos tienen la capacidad de formar geles. La gelación resulta de asociaciones intermoleculares que dan origen a una red macroscópica tridimensional con la que se en --

cuentra ligado el sistema acuoso. Los geles pueden ser considerados como un intermediario entre sólidos y líquidos poseyendo propiedades de ambos. Los polisacáridos gelificantes -- más importantes en alimentos son: almidones, pectinas, alginatos y carrageninas.

El gel es el estado más típico para la mayoría de los -- polisacáridos, tanto en sistemas biológicos como artificiales. Las cadenas del polímero usualmente forman una red interconectada que da lugar a sus propiedades características; en cierto modo, las cadenas se encuentran libres y solvatadas. Algunas secciones de cadenas están asociadas para formar los enlaces cruzados, tal vez combinados en un enrejado cristalino. La -- naturaleza de los geles puede ser explicada, por lo tanto, -- por la teoría de que la solución (sol) que existe antes de la gelación es una solución típica de moléculas del polímero, pero la formación del gel involucra la asociación de segmentos de cadenas resultando así un armazón tridimensional que contiene al solvente en los intersticios como lo indica la figura siguiente:

Fig. 3.1 Estado sol y estado gel de una solución coloidal.



La habilidad de un polisacárido para funciones como agente espesante, estabilizante, emulsificante o gelificante, es-

tá gobernada por sus propiedades funcionales en solución; estas dependen, en gran parte, como ya se mencionó anteriormente de su forma y peso molecular (44,66).

En la producción de polisacáridos microbianos se deben de tomar en cuenta los siguiente factores:

a) selección del microorganismo.- la caracterización nutricional y fisiológica del microorganismo buscado dicta el uso de principios de enriquecimiento selectivo o de inhibición. Existen protocolos en la literatura para el aislamiento de tipos nutricionales específicos. La búsqueda en las colecciones de cultivos ya existentes es frecuentemente más rápida, económica y fácil que el aislamiento de la Naturaleza

b) mantenimiento del genotipo.- la productividad microbiana se basa en información genética; debe de reconocerse que los microorganismos son inherentemente inestables y que aún no ha sido ideado un método para la completa preservación de genotipos. Se deben conocer las causas de una posible mutación así, la protección es más efectiva disminuyendo la exposición del cultivo a las condiciones que conducen a ella.

El almacenamiento de células liofilizadas o congeladas son los principales métodos utilizados para una larga preservación. Los métodos para un almacenamiento corto (unos pocos meses) deben proveer una alta recuperación de células viables con una fase de adaptación mínima; el método de agar inclinado es el más frecuentemente utilizado para este propósito; sin embargo, ha sido desarrollado un método de secado de-

los cultivos en papel para Xanthomonas campestris .

c) mejoramiento del genotipo.- mediante la alteración del genotipo pueden ser realizados rasgos deseables del microorganismo, o bien, pueden ser eliminados aquellos que sean indeseables. Algunos métodos para la alteración del genotipo comprenden: 1) mutación inducida, 2) mutación espontánea y 3) -- transferencia de genes siendo este último el método más -- atractivo ya que ofrece las ventajas de especificidad, estabilidad y libertad relativa de cambios indeseables en otros genes. La transferencia genética en bacterias puede realizarse por transducción, por transfección y por transformación -- (70).

La goma de xantano es el polisacárido extracelular producido por el microorganismo Xanthomonas campestris; industrialmente se utiliza la cepa NRRL B-1459. Este microorganismo es patógeno para ciertas variedades de plantas y la goma parece ser esencial para esta patogenicidad (21,31,48).

La goma de xantano es un polisacárido aniónico reportado primeramente en 1961 por Rogovin y col. (77) como un producto de la fermentación de un cultivo de esta bacteria; posteriormente fue determinada su estructura primaria (Jansson y col., 1975) que se verá en el siguiente capítulo (77).

Este heteropolisacárido extracelular es producido industrialmente tanto en Estados Unidos (Kelco Co. 1972) como en Europa (Godet 1973) y tiene numerosas aplicaciones en diversas industrias incluyendo la alimenticia. Es una goma soluble



con un peso molecular promedio entre 5 a 10 millones y tiene propiedades únicas a las que debe su próspero desarrollo (77).

Las dextranas son homopolisacáridos ramificados formados exclusivamente por unidades de D-glucosa (es un poliglucano) con un tamaño molecular, una viscosidad y una solubilidad variados. Su fórmula molecular es  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Su naturaleza polisacárida era ya conocida desde finales de 1800 debido a la producción importunada de secreción viscosa en las industrias del vino y del azúcar. El interés en expansores de plasma sanguíneo durante la Segunda Guerra Mundial hizo que varios investigadores las estudiaran más a fondo (48,52,59).

El dextran es un polisacárido neutro extracelular producido por varias bacterias que crecen en un sustrato de sacarosa siendo el principal microorganismo productor el Leuconostoc mesenteroides cepa NRRL B-512-F por ser el de mayor interés comercial. Existen además otras dextranas producidas por el Streptococcus mutans que parecen ser las promotoras de caries dental debido a que brindan la facilidad a las bacterias cariogénicas de colonizar la superficie de los dientes (5,31).

Un factor importante que determina las propiedades del polisacárido obtenido es la cepa de la bacteria utilizada. El tamaño, forma, continuidad, grado y fuerza de unión y el grado de solvatación de las estructuras formadas determinan las propiedades eventuales del material obtenido (52)

Muchos microorganismos pueden sintetizar polisacáridos extracelulares: en un cultivo líquido, el medio se torna más viscoso; en un medio de agar, el polisacárido extracelular --

producido por las colonias puede ser reconocido por su naturaleza viscosa y ser fácilmente seleccionado. La siguiente tabla muestra las características generales de las dos gomas -- seleccionadas(60).

Tabla 3.1. Características generales del dextran y de la goma de xantano.

Nombre trivial	Unidad repetitiva del polisacárido	Organismo (s)	Propiedades especiales en solución y usos potenciales
Dextran	-Glu 1 $\rightarrow$ 6 Glu- algunos enlaces 1-2, 1-3, 1-4	Acetobacter sp. Leuconostoc -- mesenteroides.	Fluido plástico. Como fuente de derivados de dextrán para usos farmacéuticos.
Xantana	-Glu 1 $\rightarrow$ 4 Glu $\begin{array}{c} 3 \\   \\ 2 \\   \\ 1 \\   \\ \text{Man } 6 \rightarrow \text{OAc} \\   \\ 2 \\   \\ 1 \\   \\ \text{Glu } 4 \\   \\ 3 \\   \\ 2 \\   \\ 1 \\   \\ \text{Man } 4, 6 \end{array}$ O Piruvato	Xanthomonas campestris.	Altamente viscoso y pseudoplástico, gelifica con galactomananos; resistente a ácidos, álcalis y biodegradación. En alimentos.

Fuente: Adv. Biochem. Engineering. Vol.15. 1980. Pp 43,44.

El medio de crecimiento del microorganismo es importante para la máxima producción de un exopolisacárido; casi todos son aeróbicos o anaeróbicos facultativos. La producción normalmente es mejor cuando el oxígeno no es una limitante. Un medio de cultivo requiere siempre de: 1) una fuente de carbono, usualmente un carbohidrato; 2) una fuente de nitrógeno que normalmente es añadida como sales inorgánicas o bien como productos naturales complejos como hidrolizados de levadura, caseína o soya (estos complejos contienen además otros factores de crecimiento como vitaminas y aminoácidos); 3) algunos ca--

tiones como hierro, magnesio, manganeso, potasio y sodio --- que pueden ser agregados por separado. También se requiere de fósforo que generalmente es añadido como fosfato de sodio o de potasio y que también pueden añadirse en una solución --- amortiguadora. El uso de un medio definido permite en lo posible la determinación del efecto de un ingrediente específico en la producción de un polisacárido (70).

Las condiciones óptimas de pH, temperatura, proporción de aire, presencia o ausencia de agitación, el tamaño del -- inóculo, pueden afectar también el crecimiento para la síntesis del producto por lo que deben de ser estudiadas a pequeña escala en el laboratorio. El método de fermentación utilizado (continuo o en lote) es también un factor importante -- dependiendo del producto que se desee obtener así como del -- costo de operación. El método para el aislamiento del exopolisacárido depende de las características del organismo productor, del tipo de producto y del grado de pureza deseado (70).

#### 4.- REOLOGIA DE HIDROCOLOIDES.

## REOLOGIA DE HIDROCOLOIDES.

La reología se define como la ciencia de la deformación y comportamiento de los fluidos.

Los hidrocoloides, como ya se ha visto, son polisacáridos complejos que modifican significativamente el comportamiento de fluido de las soluciones acuosas. Algunas de las propiedades físicas de un hidrocoloide que son responsables de modificar la reología de una solución son: el peso molecular, la distribución del peso molecular, el grado de hidratación, el grado de interacción intra e intermolecular y la capacidad para estabilizar emulsiones, espumas y suspensiones. La reología de una solución también es afectada por las condiciones de medición incluyendo la temperatura y la concentración.

Las soluciones acuosas de materiales de bajo peso molecular (aceites y jarabes) siguen la Ley de Newton en que sus viscosidades no varían con el cambio en la velocidad de corte:

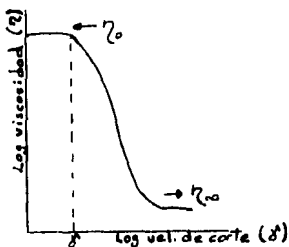
$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad \dots 1$$

$\eta$  = viscosidad  
 $\tau$  = fuerza al corte  
 $\dot{\gamma}$  = velocidad de corte

En contraste, las viscosidades de soluciones de hidrocoloides usualmente cambian con la variación en la velocidad de corte. La mayoría de las gomas exhiben propiedades pseudo-plásticas de flujo, esto es, que la viscosidad de la solución decrece al incrementarse la velocidad de corte; el material -

se comporta como un fluido Newtoniano a muy bajas o a muy altas velocidades de corte y como fluido no Newtoniano (la velocidad decrece con el incremento de corte) en el rango intermedio como lo muestra la figura 4.1

Fig. 4.1 . Curva típica de un fluido pseudoplástico.



Fuente:

La porción intermedia de la curva graficada en un papel-log-log dará en muchos casos una recta sobre una cierta relación, el grado en que es dependiente con la goma y las condiciones de medición. Este comportamiento se describe por las siguientes ecuaciones:

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \dots 2 \quad K = \text{Índice de consistencia}$$

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} = K \dot{\gamma}^{n-1} \dots 3 \quad n = \text{número adimensional - que indica la desviación de las propiedades del fluido del comportamiento Newtoniano.}$$

Para fluidos pseudoplásticos  $n < 1.0$ ; para fluidos dilatadores  $n > 1.0$  y la viscosidad se incrementará con el incremento en la velocidad de corte. Cuando  $n = 1.0$ ; el fluido es Newtoniano y la ecuación 3 se reduce a la ecuación 1 (41).

**5.- ESTRUCTURA Y PROPIEDADES DE LA GOMA  
DE XANTANO.**

## PROPIEDADES Y ESTRUCTURA DE LA GOMA DE XANTANO.

La goma de xantano es el polisacárido extracelular aniónico producido por el microorganismo Xanthomonas campestris cepa NRRL-B-1459 (77).

Consiste en un esqueleto de unidades D-glucosil con enlaces (1-4) al igual que la celulosa pero, en contraste con esta, la xantana tiene cadenas laterales unidas a cada segundo residuo de glucosa; estas cadenas laterales están compuestas por dos unidades de D-manosa y una unidad de ácido D-glucurónico. En adición, aproximadamente la mitad de las unidades de D-manosa terminales en las cadenas laterales tienen ácido pirúvico covalentemente unido a las posiciones 4 y 6 y las unidades de D-manosa más cercanas al esqueleto tienen un sustituyente acetil en la posición 6 (figura 5.1). La relación de los constituyentes de la goma, D-glucosa, D-manosa, ácido D-glucurónico, acetato y piruvato es de 2.8:3.0:2.0:1.7:0.6 respectivamente (21,28,48,77).

Se ha sugerido que en la conformación ordenada, las cadenas laterales se encuentran rodeando al esqueleto principal para dar una estructura análoga a una doble hélice. A los niveles de sal encontrados en casi todos los alimentos, esta forma ordenada es estable a temperaturas mayores de 100°C (debido a la reducción de repulsiones electrostáticas) (51).

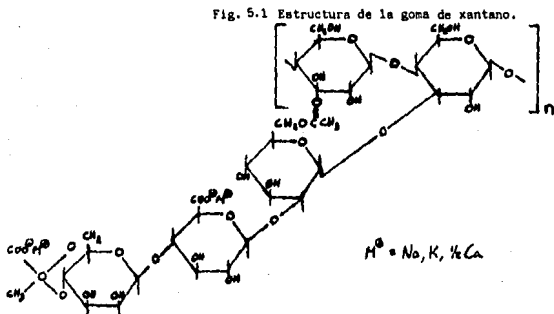
Como consecuencia de la estructura primaria o covalente de la goma de xantano, la molécula existe en solución como --



una varilla rígida estabilizada por interacciones no covalentes entre el esqueleto y las cadenas laterales (51,56).

La goma fue aislada y caracterizada primeramente por -- Jeanes y col en 1961 siendo estudiada su estructura primaria por Jansson y col (1975) ( 26).

Su introducción como aditivo en alimentos data desde --- 1969 y fue lanzada al mercado por compañías como Kelco y -- Merk (54).



Fuente: Food Tech. Vol 35.No.7. 1981.Pag 57.

Tabla 5.1. Composición de la goma de xantano.

Microorganismo	Cepa	Componentes aniónicos (moles)		Componentes neutros (moles)		O-acetil (moles)
		ac.glucurónico	ac.pirúvico	glucosa	manosa	
Xanthomonas campestris	NRRL-B-1459	2.0	0.6	3.0	3.0	1.7

Fuente: Food Tech. Vol.28.No.5.1974.Pag 36.

Es un hidrocoloide de alto peso molecular (1 a 10 millones) con propiedades únicas preparado normalmente como la sal de sodio, potasio o calcio. Se presenta como un polvo color crema soluble en agua fría o caliente; es tolerante a electrolitos (fuerza iónica), ácidos, calor, fuerza al corte y pH. Se dispersa fácilmente en agua por lo que la alta viscosidad se obtiene rápidamente tanto en sistemas fríos o calientes (15,66).

Estudios de rotación óptica (Rees,1972) sugieren que el polímero posee una estructura secundaria ordenada (26).

Es la goma más ampliamente utilizada en la industria alimentaria. Se caracteriza, como ya se mencionó, por una alta viscosidad, un alto grado de pseudoplasticidad, excelente estabilidad frente al calor y pH y buena compatibilidad con una gran variedad de sales (66).

Todas las propiedades anteriores son debidas en gran parte a su conformación primaria rígida:

a) alta viscosidad al estar en reposo o sometida a una baja fuerza al corte como resultado de asociaciones intermoleculares débiles aún a concentraciones muy bajas de la goma.

b) alta pseudoplasticidad por el alineamiento progresivo de las moléculas rígidas bajo la fuerza al corte.

La alta viscosidad a bajo corte y la conservación de esta propiedad en un amplio rango, permite la formulación de suspensiones, emulsiones y espumas altamente estables. A concentraciones mayores de 0.5% la goma muestra un incremento en la viscosidad aumentando la fuerza iónica del medio (34,66).

A suficiente dilución y baja velocidad de corte, las soluciones de xantana muestran una región de comportamiento de viscosidad Newtoniana; la pseudoplasticidad se incrementa sistemáticamente con la concentración; las operaciones industriales de bombeo y llenado se facilitan grandemente debido a la habilidad de la xantana de que a bajas concentraciones modifica la fricción turbulenta debido a su comportamiento pseudo-plástico (90).

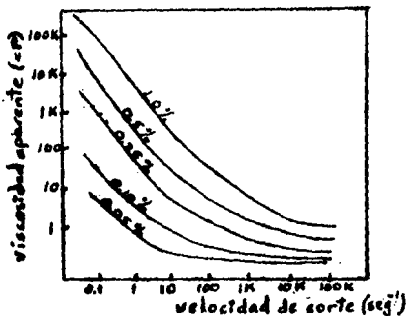
Tiene también buenas características de formación de películas cohesivas y flexibles al evaporar sus soluciones acuosas (31,34).

Las dispersiones de xantana tienen excelentes propiedades de fluido, sentido en la boca, liberación de sabor y habilidad de suspensión.

Debido a que imparte una alta viscosidad a bajas concentraciones, proporciona economía así como funcionalidad en un amplio rango de aplicaciones. Bajo condiciones nulas de corte o corte muy bajo, las interacciones débiles entre las moléculas rígidas proveen la alta viscosidad aún a bajas concentraciones. Estas interacciones son lo suficientemente fuertes para resistir fuerzas al corte bajas y la goma de xantano no fluirá si esta fuerza aplicada es menor que este valor propio de la goma; al incrementarse la fuerza al corte, las asociaciones intermoleculares son vencidas eventualmente y las moléculas de xantana se alinean progresivamente con esta fuerza reduciéndose así la resistencia de la solución a fluir; esto explica su alta pseudoplasticidad. La viscosidad decrece

marcadamente al incrementarse la fuerza al corte (68).

Fig. 5.2 .Relación entre la viscosidad aparente y la velocidad de corte.



Fuente: Progress in Food Nutr. Sci. Vol 6. Pag 79.

c) incremento de viscosidad en la presencia de sal, que además estabiliza la conformación de varilla rígida.

d) viscosidad estable a temperaturas elevadas y bajo un amplio rango de pH o presencia de sales.

La insensibilidad relativa de la xantana a la concentración de sal es debida a su conformación rígida ordenada en solución (51,66).

Las temperaturas extremas tienen sólo un pequeño efecto en la viscosidad de las soluciones de la goma por lo que la textura del producto final en la que es añadida se mantiene constante bajo un amplio rango de temperaturas encontradas durante la preparación y el uso del producto (34)

Su conformación particular da lugar a que la adición de sal proporciona un incremento de viscosidad cuando la concentración de goma de xantano es suficientemente alta (mientras-

que la adición de sal causa una reducción en la viscosidad de casi todas las soluciones de polielectrolitos). Cuando está presente la sal, la viscosidad se mantiene bajo un amplio rango de pH y temperatura (66).

e) interacción sinérgica con galactomananos como la goma guar o la goma de algarrobo; la primera produce un incremento sinérgico en la viscosidad mientras que la segunda -- bajo condiciones apropiadas, produce geles termoreversibles.

f) pocas incompatibilidades: es compatible con otros hidrocoloides incluyendo el almidón; sus incompatibilidades son pocas y generalmente no se encuentran en los sistemas alimenticios(15,34).

Los galactomananos son polisacáridos que tienen cadenas principales de D-manosa con enlaces 1-4 parcialmente sustituidos por cadenas laterales de unidades de galactosa. Son -- similares en su estructura secundaria a la celulosa aunque de algún modo son más flexibles ( 68).

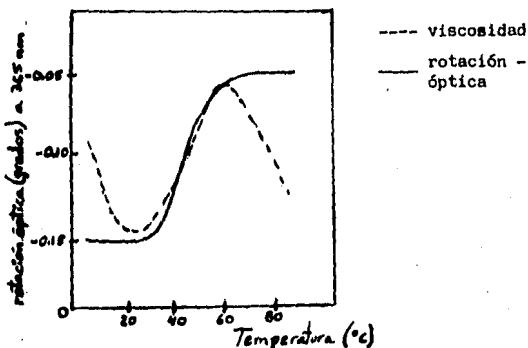
El grado de interacción entre galactomananos y la xantana decrece con el aumento en el contenido de D-galactosa en -- el primero.

La sustitución en la estructura de la xantana inhibe la interacción con el galactomanano por lo que la remoción de -- grupos acetyl de la goma de xantano por saponificación, da un producto que interactúa mejor con aquellos y por lo tanto se requiere menor cantidad de los mismos para gelificar una xantana desacetilada (28).

Cuando se combina la goma de xantano con la goma de algarrobo ocurre un incremento sinérgico en la viscosidad; a bajas concentraciones, el incremento es altamente significativo y a medida que la concentración del coloide es aumentada, se obtiene un gel termoreversible y altamente cohesivo.

Este incremento dramático en la viscosidad es notable -- cuando esta mezcla es sujeta a una acción intensa de corte o a una presión forzada a través de un homogenizador. Bajo condiciones de retorta, este sistema es estable. La formación de estos geles resulta más firme en la relación 1:3 de goma de xantano:goma de algarrobo (28,93).

Fig. 5.3. Cambios en viscosidad y rotación óptica cuando es calentada y enfriada una solución de xantana (1%).



Fuente: Adv in Carboh. Chem. & Biochem. Vol.31. 1975. Pag 303.

En una solución en frío de xantana se observa una transición de rotación óptica negativa; esto indica que la goma ---

puede adoptar una conformación ordenada pero sin llegar a la gelación. Las mezclas gelantes de xantana con goma de algarrobo o goma tara no dan resultados reproducibles de rotación óptica debido posiblemente a la fuerza del gel (28).

La sustitución en la cadena del galactomanano por las cadenas laterales de galactosa no es regular y permanecen regiones insustituídas en el esqueleto de manosa; estas regiones son las que interactúan sinérgicamente con las moléculas de la goma de xantano. Las mezclas de goma guar-goma de xantano muestran un incremento de viscosidad más bien que una gelación (como en el caso de goma de algarrobo-goma de xantano) debido a que esta goma se encuentra más altamente sustituida que la goma de algarrobo (68).

Se ha observado también una gran interacción en mezclas de goma de xantano-goma konjac (galactomanano parcialmente acetilado con enlaces  $\beta$ -D-1-4 producido por el microorganismo Amorphophallus konjac); esta mezcla forma un gel a bajas concentraciones ( $\approx 0.05\%$ ), concentraciones a las que el agarro no gelifica (28).

Muchas de sus propiedades pueden ser explicadas en términos de que se trata de una gran molécula (P.M. de 1 a 10 millones) teniendo, como ya se mencionó, una conformación ordenada en forma de varilla rígida; en esta conformación, que existe en solución a temperaturas moderadas, las cadenas laterales de trisacáridos envuelven al esqueleto de celulosa para dar esta estructura rígida (fig. 5.4). Debido a que los gru-

pos acetal pirúvicos se encuentran localizados en los grupos-D-manosil terminales de las cadenas laterales, no es sorprendente encontrar que xantanas con diferentes niveles de piruvato (1.0-6.0%) muestren diferentes propiedades reológicas (70).

Fig. 5.4 . Estructura de varilla rígida y de espiral aleatoria en la xantana.



Fuente: Progr. Fd.Nutr.Sci. Vol6.1982. Pag 78.

Se ha visto que existen diferentes estructuras en cuanto al contenido de piruvato en gomas de xantano que han sido explicadas por la existencia de hélices simples en adición a hélices dobles que abarcan varias moléculas de la goma. Se ha discutido la presencia de dos estructuras (una alta y otra baja en el contenido de piruvato) durante la fermentación como función del contenido de piruvato en las moléculas de xantana y en el contenido de electrolitos en la solución. La calidad mejorada de soluciones de la goma sometidas a calentamiento se explica por la incorporación de hélices simples a las hélices dobles (72).

La calidad de este hidrocoloide, así como su posterior uso, debe de evaluarse por la cantidad de ácido pirúvico presente en el producto aislado así como también su comportamiento reológico a bajas concentraciones ( $> 0.25\%$ ). Algunos factores como las condiciones de fermentación pueden afectar la calidad del producto (77).



Existen, en algunos sistemas alimenticios, interacciones de la goma con las proteínas; estas interacciones que causan muchas veces floculación, por ejemplo en jugos de pulpa de fruta, pueden ser eliminadas por la adición de pequeñas cantidades de carboximetil celulosa (CMC) junto con la xantana; en otros productos como yogurts acidificados, puede haber la formación de un precipitado granuloso entre la goma y la proteína de la leche al disminuir el pH; la rápida acidificación y la inclusión de CMC eliminan esta interacción (68).

El rango de conformaciones disponibles para polisacáridos y los principios que controlan las interacciones entre sus cadenas son pobres en relación a aquellas detalladas para polinucleótidos y proteínas (26).

## 6.- ESTRUCTURA Y PROPIEDADES DE DEXTRANAS.

## PROPIEDADES Y ESTRUCTURA DE DEXTRANAS.

Dextranas es el término aplicado a polisacáridos producidos por bacterias que crecen en un sustrato de sacarosa. Son poliglucanos, es decir, su esqueleto está formado por unidades de D-glucosa con enlaces  $\alpha$  (1-5) y con ramificaciones formadas por enlaces  $\alpha$  (1-3) y un pequeño número de  $\alpha$  (1-4). Todas las dextranas están compuestas exclusivamente por unidades  $\alpha$ -D-glucopiranosil difiriendo unicamente en el grado de ramificación y en la longitud de su cadena (32,48,70).

Su naturaleza química fue estudiada primeramente, como ya se mencionó en las generalidades, para evitar su formación debido a la presencia de secreción viscosa producida en operaciones que involucraban soluciones de sacarosa.

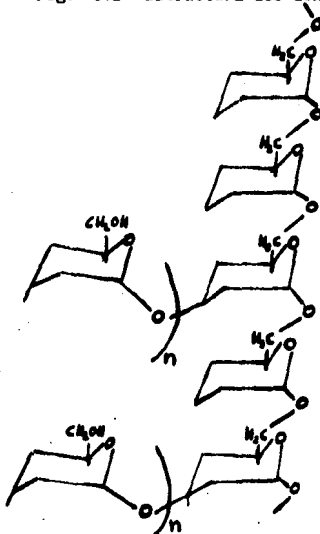
Las dextranas producidas por el Leuconostoc mesenteroides NRRL-B-512/F (microorganismo utilizado industrialmente) contiene alrededor de un 90 a 95% de enlaces  $\alpha$  1-6, aproximadamente un 4% de grupos terminales no reductores así como un 5% de enlaces  $\alpha$  1-3. El peso molecular de estas dextranas varía entre 30 y 50 millones (dextran nativo); en la mayoría de los casos, antes de su utilización (principalmente dentro de la industria farmacéutica) requieren de una hidrólisis parcial o fraccionación para reducir su peso molecular a aproximadamente 75 000-25 000, llamándose en este caso dextran de grado clínico que puede ser también obtenido por síntesis enzimática (capítulo 8.) (61,70).

Las dextranas difieren en sus propiedades físicas y químicas según el método de producción utilizado; las dextra-

nas obtenidas por especies o cepas dadas de bacterias pueden ser polímeros solubles que se dispersan y aumentan la viscosidad del medio o bien dextranas capsulares insolubles. Las diferencias en solubilidad y en sus características reológicas son debidas aparentemente a las proporciones y tipos de enlaces así como a su arreglo dentro de cada molécula de dextran (76).

Estudios realizados en 1958 por Koepsell y col. demostraron que el peso molecular de las dextranas podía ser afectado por la concentración de sacarosa presente en el medio y por la temperatura de incubación (59). El peso molecular puede estar influenciado también por la presencia de glucanhidrolasas producidas por muchas bacterias incluyendo aquellas que las sintetizan (54).

Fig. 6.1 Estructura del dextran.



Algunos estudios realizados para determinar la estructura de dextranas se mencionan a continuación:

En 1954 Jeanes y col. desarrollaron un método para analizar los tipos y la proporción de enlaces D-glucopiranosídicos en dextranas nativas a partir del ion periodato reducido y el ácido fórmico producido durante la reacción de oxidación con periodato (76).

En 1963 fueron iniciadas investigaciones del espectro r.m.p. (resonancia magnética del protón) de dextranas por Paseka y Cragg para determinar las proporciones de enlaces secundarios. Guggenheim (1970) sugirió que la solubilidad de las dextranas estaba gobernada por la proporción de enlaces  $\alpha$  1-3, lo cual fue confirmado en 1975 por Usui y col. utilizando estudios de espectrofotometría r.m.n. de dextranas solubles e insolubles; en 1977 se realizaron también estudios de metilación (Nisizawa y col.) encontrando en ambos casos que el dextran insoluble contenía una mayor cantidad de enlaces  $\alpha$  1-3. Un método rápido de metilación de dextranas es el de Hakamori que utiliza sulfóxido de metilo como solvente (50,76).

Estudios más recientes (Seymour 1979) fueron realizados estudiando el espectro infrarrojo comparando dextranas con bajo grado de ramificación y dextranas altamente ramificadas; estos espectros fueron graficados y las diferencias en absorción fueron relacionadas con el tipo y grado de ramificación de las dextranas, establecidos previamente por análisis de metilación (8).

Se han desarrollado también métodos de microscopía electrónica para el estudio ultraestructural de dextranas como el coloreado negativo o moléculas metálicas sombreadas utilizados en 1971 por Palade para determinar la medida de la distribución de las partículas de dextran y en 1977 por Holzwarth y Prestridge para el examen de la goma de xantano. Estas técnicas son de mayor utilidad en el caso de dextranas solubles ya que en el polímero insoluble existe la dificultad de lograr y mantener una dispersión adecuada. La fracturación congelada es un método satisfactorio para el examen de dextranas solubles 'in situ' ya que estos polímeros normalmente no son inmovilizados durante la fijación y son perdidos durante los pasos -- del proceso antes de su incrustación. Las dextranas no son -- intrínsecamente densas electrónicamente y esto produce dificultad para conferir suficiente densidad electrónica utilizando fijaciones convencionales; para evitar estos problemas algunos investigadores usan métodos citoquímicos derivados de la técnica con ácido periódico de Schiff en que un metal es depositado en los sitios de los aldehídos producidos por la oxidación con periodato de los grupos hidroxil adyacentes al dextran (5).

Un método para la visualización ultraestructural de dextranas (Ainsworth 1977) involucra la fijación secundaria con tetraóxido de osmio parcialmente reducido por la adición de ferrocianuro de potasio. La intensidad de la densidad electrónica de las dextranas analizadas por este método es debida --

probablemente a la formación de un complejo negro de osmio --  
con el dextran y puede ser, si es necesario, realizado por con  
tratinción de secciones con subnitrate de bismuto quelatado -  
con tartrato (5).

## 7.- SINTESIS DE LA GOMA DE XANTANO.



## SINTESIS DE GOMA DE XANTANO.

La goma de xantano es manufacturada mediante la fermentación sumergida aeróbica de Xanthomonas campestris NRRL-B-1459 empleando glucosa o sustancias relacionadas como la fuente de carbono. La D-glucosa fue el primer sustrato reportado para su producción (Rogovin y col. 1961); otros sustratos convenientes estudiados son: azúcar de maíz, sacarosa (Bretshneider, 1975), hidrolizados de granos de cereales (Cadmus, 1966; --- McNeely, 1969), almidones y harinas (McNeely, 1969). Las concentraciones iniciales de carbohidratos pueden variar entre 2 y 5% en peso dependiendo del tipo de sustrato y de la duración del periodo de fermentación; el rendimiento del polisacárido ha sido reportado entre 40-75% en base a los niveles iniciales de azúcar (70,77).

La cantidad de goma de xantano sintetizada durante la fermentación depende en gran parte del tipo y cantidad de la fuente de nitrógeno incorporada al medio como se verá más adelante.

También es producida una goma similar por cultivos de Xanthomonas phaseoli responsables de la enfermedad de cierto tipo de frijol y que puede ser usada en formulaciones para barrenar fango (60).

La goma de xantano es producida por una fermentación de un cultivo puro de Xanthomonas campestris; en el proceso, el microorganismo es cultivado en un medio bien aerado por un

periodo de 36-72 hrs; este medio contiene glucosa comercial, una fuente conveniente de nitrógeno,  $K_2HPO_4$  y otros elementos en trazas. Para proveer alimento para la fermentación final, la bacteria es cultivada en varios pasos con pruebas asociadas de identificación previas a su introducción en el medio final (34,84).

El siguiente medio estandarizado proporcionó una viscosidad del caldo de fermentación de alrededor de 7000 cp ---- (1.4% de goma):

Ingrediente	% en peso
D-glucosa	2.1
productos solubles de destilería	0.8
$K_2HPO_4$ (pH 7.0)	0.5
$MgSO_4$	0.01
Agua	1000 ml

Agitación durante 48 horas

Se obtuvieron resultados similares sustituyendo una porción de productos solubles de destilería por 0.04% de urea; la utilización de  $NH_4OH$  para el control del pH (7.0) rindió cultivos con viscosidad de unos 9000 cp (2.6% del polisacárido) (77).

Han sido observadas ciertas variaciones de cepas de Xanthomonas campestris en fermentaciones de tipo continuo (Rogovin 1972) y en lote (Cadmus 1976) que afectan la calidad y rendimiento de la goma obtenida a pesar de que este microorganismo no es de difícil cultivo en un medio estándar de laboratorio (Jeanes y col. 1976) (77).

Estudios nutricionales en la producción de la goma de -

xantano a partir de Xanthomonas campestris NRRL-B-1459 muestran que, de las fuentes de carbono probadas, un medio con -- 4% de sacarosa o glucosa produjo títulos más altos de la goma; además, la adición de ciertos ácidos orgánicos como succinato, piruvato y  $\alpha$ -cetoglutarato, pueden estimular su producción; en cambio, el exceso en la concentración de estos, la inhiben. Ciertos aminoácidos como glutamato y sales de nitrato pueden resultar mejores que las sales de amonio para la producción -- (80).

La variación en el rendimiento con diferentes fuentes y concentraciones de nitrógeno sugieren que la productividad de la fermentación de xantana está limitada primeramente por los niveles de nitrógeno y carbono en el medio. Se han realizado diversos estudios a nivel laboratorio y planta piloto para -- estudiar los efectos en el crecimiento del microorganismo variando el contenido de nitrógeno en el medio, de 0.3 a 4.0% -- p/v. A la concentración más alta, los rendimientos se incrementaron y el tiempo de fermentación se redujo, pero la calidad de xantana, medida por parámetros de viscosidad, se redujo marcadamente. Los valores del índice de plasticidad y del coeficiente de consistencia fueron de 0.22 y 28.8 respectivamente para la xantana producida en un medio con 0.3% de nitrógeno; 0.86 y 0.215 respectivamente para la crecida con 4.0% -- de nitrógeno, comparada con 0.23 y 34.5 respectivamente para la xantana comercial. El decremento en la calidad del producto se debió parcialmente a células coprecipitadas en el producto

crudo y parcialmente a una estructura terciaria diferente de la xantana, producida a altas concentraciones de nitrógeno en el medio (33,77).

El patrón cinético del crecimiento de este microorganismo indica que este se encuentra restringido por algún factor de viscosidad, probablemente resistencia al transporte de nitrógeno, el cual es consumido exclusivamente para el crecimiento (77).

Se ha visto también que a bajas concentraciones de azúcar ( $> 2.0\%$ ) hay una disminución en la productividad si el nivel de nitrógeno se incrementa por arriba de  $0.06\%$  (el nitrógeno sería el nutriente limitante en el crecimiento celular). A medida que el caldo se torna más denso durante la fermentación y la velocidad de crecimiento es limitada por el transporte de nitrógeno, el incremento de este elemento puede ser sustituido por una fuente simple como amoníaco, por lo que el  $\text{NH}_4\text{OH}$  puede ser usado para el control del pH y para el incremento en el rendimiento. La producción de xantana también puede ser sensible a una alta concentración de fosfato inorgánico (77,80).

Moraine y Rogovin (1971) dieron evidencia de que el crecimiento de Xanthomonas campestris no está limitado solamente por los nutrientes; el crecimiento y la producción del polisacárido puede cesar debido a algún otro factor, probablemente un efecto relacionado con la formación del producto (77).

La velocidad de fermentación de la goma se incrementa -- con la concentración celular; la velocidad específica de formación, de cualquier manera, decrece con el incremento de viscosidad aunque la causa no sea muy clara (77).

El oxígeno del medio tiene que ser sustituido durante la fermentación para mantener la tensión de oxígeno por arriba -- de 20% de saturación de aire para mantener la velocidad específica de formación (Moraine y Rogovin, 1973). La agitación -- parece jugar un papel importante posiblemente para mejorar la transferencia de masa entre el medio y las células en adición de mantener la tensión de oxígeno. Los valores óptimos de pH -- y temperatura que han sido determinados para esta producción -- son de 7.0 y 28°C respectivamente (77).

Existen diversos procesos para el mejoramiento en el --- rendimiento en la producción de goma de xantano consistentes -- en la adición de uno o más compuestos como son los siguien--- tes:

1) mejoramiento del rendimiento por la adición de un esterol (ácido biliar): consiste en el cultivo de la bacteria -- en la presencia de una cantidad suficiente de un compuesto -- aditivo seleccionado de entre un grupo consistente en ácido -- desoxicólico, ácido cólico, sus sales y sus mezclas con lo -- cual el rendimiento del heteropolisacárido producido se incre -- menta. El compuesto aditivo debe ser añadido en cantidades -- suficientes (entre 400-700 ppm en un proceso batch y 300-500 -- ppm en un proceso continuo). Debido al costo de los compues -- tos purificados, se prefiere el uso de extractos crudos de --

de bilis (84).

2) uso de un ácido orgánico estimulador en donde el -- proceso es estimulado por la adición de un ácido orgánico seleccionado de un grupo consistente en ácido pirúvico, ácido  $\alpha$ -cetoglutarico, ácido succínico o una mezcla de ellos. Se usa un medio nutritivo conteniendo una fuente de carbono (por lo menos un azúcar) y una fuente de ácido cítrico que incrementa la producción; en adición, el medio contiene los nutrientes usuales. Se agrega el ácido orgánico como estimulante para la conversión de las fuentes de carbono a xantina; se prefiere particularmente el ácido succínico ( $\approx$  0.6-1.0% p/v en base al peso de la sal de sodio). El medio se ajusta a un pH de 6.8-7.2, se autoclava, se enfría y se mezcla con un cultivo del microorganismo. Se cultiva a 24-26°C con agitación continua y aereación durante 72-96 horas (84).

Se ha encontrado también que el uso de una concentración de glucosa  $>$  5% p/v en el medio en una fermentación de tipo batch, inhibe el crecimiento de la bacteria (el medio normalmente contiene una concentración de carbohidrato entre 1-5% p/v) y el cese prematuro de la fermentación; este problema puede ser allanado por la alimentación de la glucosa durante el curso de la fermentación; la adición gradual de glucosa al medio trae consigo un incremento en la concentración de goma en el caldo final. La adición de la solución de glucosa ( $\approx$  15-50% p/v) se empieza inmediatamente después de la inoculación del medio con la bacteria (84).

El mejoramiento en la productividad específica durante una fermentación continua puede lograrse mediante un incremento en la concentración promedio de células a través del aumento, por pasos, de los nutrientes limitantes de crecimiento -- en el medio; La expresión "productividad específica" es una medida de la cantidad de producto formado por una cantidad -- dada de células en una unidad dada de tiempo expresada generalmente como producto por gramo de células por hora. En un cultivo continuo con un medio conteniendo glucosa, sales minerales,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y glutamato o glutamato más extracto de levadura, la productividad específica puede mejorarse (bajo condiciones limitadas de nitrógeno) por un aumento en la concentración celular de  $\approx 2\text{g/l}$  a  $4\text{-}5\text{g/l}$  (la concentración celular -- está dada en términos de peso seco). Este incremento se obtiene mediante el aumento en la concentración de nitrógeno que es el nutriente limitante en el medio (84).

#### Recuperación y purificación de la goma de xantano.

Para un producto de grado alimenticio, la purificación -- involucra la clarificación del caldo de fermentación por centrifugación para la remoción de células. Posteriormente el -- producto es precipitado por alguno de los siguientes métodos:

a) precipitación con un solvente (acetona, metanol, etanol, isopropanol, 1-1-1-tricloroetano) combinándola, casi -- siempre, con una sal como KCl que se añade en cantidades de  $\approx 1\%$  p/v en base al volumen de agua

b) precipitación como la sal divalente del polímero a --  
pHs alcalinos por ejemplo, como la sal de calcio

c) precipitación como la sal de aluminio a pHs ácidos

d) precipitación como un complejo cuaternario de amonio-  
a pHs ácidos

e) secado por tambor de todo el líquido aunque en este -  
caso el producto obtenido es altamente coloreado y contiene -  
compuestos inmetabolizados

f) los polisacáridos acídicos, como la xantana, forman -  
sales de aminas con poliaminas alifáticas o alicíclicas te---  
niendo por lo menos tres átomos de nitrógeno amino y un peso-  
molecular de por lo menos 150; estas sales de amina para el -  
aislamiento del polisacárido del caldo de fermentación se ob-  
tienen por: 1) acidificación del medio, 2) formación de la sal  
por adición de la amina o una de sus sales y 3) reducción de-  
la concentración de la sal inorgánica (por ejemplo por dilu-  
ción) (Schroeck, 1981) (20,31,54)

El método más favorable para la recuperación de la xan-  
tana es por precipitación con un solvente, usando generalmen-  
te 45-60% en peso de isopropanol. La cantidad mínima requerida  
de alcohol para precipitar la goma depende de la fuerza ióni-  
ca y, en menor grado, de la concentración del polímero en el-  
caldo (ver tabla 7.1 ) (54).

El precipitado obtenido se separa por centrifugación y -  
es purificado por suspensión en 70% de etanol, redisolución -  
con 33% de etanol seguido por otra precipitación con la sal y



el alcohol. El precipitado resultante es entonces deshidratado por secado en tambor o por atomizador, el uso de un alcohol o liofilización y molido. El producto final de este proceso - no contiene Xanthomonas campestris viables y está de acuerdo con la descripción de la FDA para un material de grado alimenticio (54).

Tabla 7.1 . Concentración de sal y alcohol para la precipitación de xantana.

Concentración de KCl (% p/p)	Concentración de xantana (% p/p)	Vol. alcohol/vol de solución de xantana
0.0	1.0	1.0
1.0	1.0	0.7
0.0	2.0	0.9
1.0	2.0	0.6

Fuente: Adv. in Biochem. Eng. Vol.15. 1980.  
Pag 62.

Para la obtención de una goma de xantano alta en su contenido de piruvato, sustancialmente libre de coloración indeseable, se ha usado una fermentación del microorganismo en un medio conteniendo carbohidratos,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 \geq 0.15\%$  como fuente primaria de nitrógeno y un nivel total de fosfato de  $\geq 0.25\%$  (11).

Se ha encontrado, además, una correlación entre el contenido de calcio en la goma y las características de fluido de sus soluciones acuosas (una goma de xantano con bajo contenido de calcio tiene propiedades de fluido suave); para la obtención de esta goma, la bacteria debe crecer en un medio sustan

cialmente libre de iones calcio ( $\approx 4$  ppm por cada 1% de concentración de la goma en el caldo); para esto, el calcio contenido en el agua para la fermentación debe ser reducido al nivel apropiado por medios químicos como tratamiento de intercambio iónico, por destilación o utilizando agua blanda. Las fuentes comerciales de nitrógeno orgánico contienen cantidades apreciables de calcio por lo que es importante que la fuente de nitrógeno del proceso sea un material sustancialmente libre de iones calcio. El proceso comprende también el uso de altos niveles de fosfato en el medio (84)

Debido al tiempo requerido para la fermentación de cada batch, el bajo contenido del biopolímero en el medio fermentado y los pasos requeridos para la recuperación y purificación del producto, la goma de xantano puede ser considerada como un producto relativamente caro.

Existe la producción de otras gomias industriales con referencia a la xantana provenientes de organismos como ----- Azotobacter vinelandii y Pseudomonas aeruginosa (53).

Proceso de fermentación continua para la producción de goma de xantano.

El primer paso consiste en el cultivo de bacterias del género Xanthomonas para producir el material enzimático polimerizante exocelular; en el segundo paso, el polisacárido es producido en un sistema libre de células y que comprende:

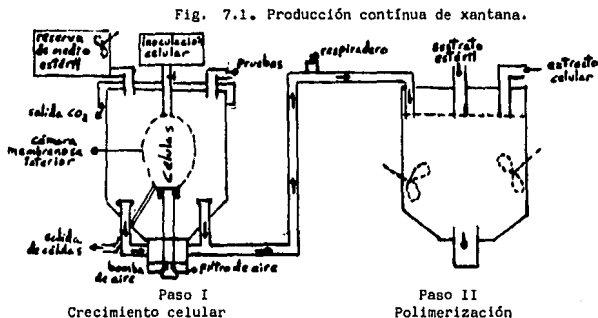
a) el cultivo continuo de bacterias viables del género -

Xanthomonas (fase de crecimiento entre el final de la exponencial y el principio de la estacionaria) en una cámara interna membranosa de un recipiente de fermentación conteniendo un medio de carbohidratos a pH 7.0-7.2 y una temperatura de alrededor de 28°C bajo condiciones convenientes para mantener a la bacteria en esta fase y que produzca el material enzimático polimerizante

b) separación continua y transferencia de dicho material enzimático del medio a un segundo recipiente para formar el medio de fermentación libre de células conteniendo el material enzimático y el sustrato

c) mantenimiento de este medio en el segundo recipiente a pH 6.5-6.8 y una temperatura de  $\approx 28^{\circ}\text{C}$  para formar el heteropolisacárido y

d) separación continua del polisacárido del medio (fig. 7.1.) (94).



Fuente: U.S. Pat 4218538. 1977.

## **8.- SINTESIS DE DEXTRANAS.**

### **8.1. SINTESIS ENZIMATICA DE DEXTRANAS.**

## SINTESIS DE DEXTRANAS.

### Generalidades.

Los exopolisacáridos han sido considerados generalmente como metabolitos secundarios (no relacionados con el crecimiento) producidos cuando la fuente de carbohidratos se encuentra presente en exceso (54).

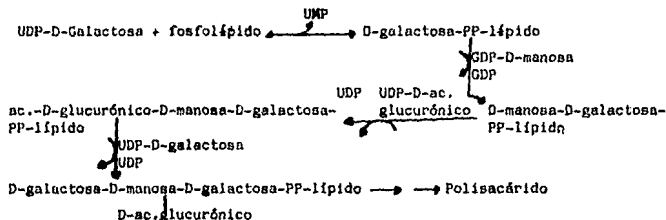
La captación del sustrato es una de las primeras limitaciones para la producción de exopolisacáridos. Un sustrato específico puede entrar a la célula por uno o más de los mecanismos de difusión facilitada, transporte activo o translocación de grupos. Las diferencias son esperadas con los diferentes tipos de microorganismos. Un sustrato que ha entrado a la célula es generalmente fosforilado ya sea por un mecanismo de translocación de grupos o por una hexoquinasa que utiliza ATP. Este sustrato fosforilado puede ser usado ya sea para la obtención de energía (catabolismo) o para la formación de productos anabólicos como polisacáridos intracelulares (como glucógeno), lipopolisacáridos, polisacáridos de la pared bacteriana o exopolisacáridos; de este modo, existe una competencia por el sustrato entre los diversos productos anabólicos - cuya síntesis está controlada por la célula (70).

Se sabe que muchos polisacáridos bacterianos están constituidos por unidades repetitivas de residuos de azúcar. La construcción de estas unidades es ejecutada por la transferencia de un grupo glucosil de un "azúcar nucleótido" a un por-

tador, un lípido isoprenoide-alcohol fosfato (70).

Se sospecha que el sitio de la biosíntesis del exopolisacárido está relacionado con la membrana citoplasmática donde se sabe que son sintetizados lipopolisacáridos (70).

Fig. 8.1 . Síntesis general de un polisacárido.



Fuente: Adv. in Carbohydr.Chem. & Biochem.  
Vol.36.1979.Pag.288.

Las dextranas pueden ser producidas directamente utilizando microorganismos o indirectamente con la ayuda de una enzima (o mezcla de enzimas) obtenida de células de Leuconostoc mesenteroides. El proceso comercial de producción microbiológica ha sido descrito por Bixler y col. (1953) utilizando este microorganismo (cepa NRRL-B-512-F) que produce dextran de acuerdo a la ecuación:

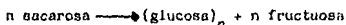


Tabla 8.1 . Obtención de dextran.

Cultivo	Cepa	Sustrato	Producto	Uso
Leuconostoc mesenteroides	NRRL-B-512-F	Sacarosa	Dextranas	Sustituto plasma sanguíneo; complemento de hierro; taimiz molecular (Se fadex).

Fuente: Ind.Appl.of Microbiol. Reviewe J.Pag172.

Las principales bacterias productoras de dextran pertenecen a la familia Lactobacteriaceae, tribu Streptococceae, género Leuconostoc, especies L.mesenteroides y L. dextranicum.

Todas las especies tienen en común que la sacarosa es la única fuente conveniente de carbohidratos para la manufactura del polisacárido. Los organismos pueden crecer casi en cualquier medio que contenga sacarosa junto con algunas sales inorgánicas y una fuente conveniente de nitrógeno (32,52,57,61)

Además de los organismos que utilizan sacarosa como sustrato, se han descubierto otras bacterias que utilizan otras fuentes de carbohidratos como cultivos de Acetobacter viscosum y Acetobacter capsulatum que convierten amilodextrinas en productos de alta viscosidad con propiedades parecidas a las de las dextranas (Hehre y Hamilton 1949) ( 52).

Tabla 8.2. Especies de bacterias que sintetizan dextran.

<u>Lactobacillus</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>
L. acidophilus	L. dextranicum	S. bovis
L. brevis	L. mesenteroides	S. challis
L. casei		S. faecalis
L. musicus		S. mitis
L. pasterianus		S. mutans
L. viridescens		S. sanguis
		S. viridans

Fuente: Adv. in Carb. Chem.&Biochem. Vol.30.  
1974. Pag 373.

Las cepas de Leuconostoc mesenteroides son particularmen

te útiles para esta producción y pueden dividirse en dos grupos:

1) células que crecen en la presencia de sacarosa que -- solamente producen dextran soluble y que por microscopía óptica no aparecen diferencias excesivas entre las células de la misma cepa cultivadas en glucosa y

2) cepas que cuando crecen en la presencia de sacarosa - contienen una mezcla de células acapsulares que producen dextran soluble y células que producen una cápsula de dextran in soluble visible por microscopía óptica. La proporción de células capsuladas es variable y depende, en parte, del medio de cultivo usado pero siempre constituyen la minoría (5-20%) de las células presentes (5).

No es necesario el uso de un microscopio para determinar si una cepa en particular está produciendo células capsuladas; esto puede hacerse examinando las colonias después de 48 horas de crecimiento en placas de agar suplementado con 3.6% de sacarosa; si las colonias producen distintas manchas blancas, las células capsuladas se encuentran presentes, en cambio, si las colonias son relativamente uniformes en densidad, probablemente las células capsuladas estén ausentes. Cada una de las manchas blancas es un agregado de numerosas células capsuladas (5).

Muchas bacterias productoras de ácido láctico tienen la capacidad de producir dextran extracelular cuando crecen en presencia de sacarosa (5).



La producción de dextranas por bacterias difiere de la formación de casi todos los demás exopolisacáridos en que el proceso es esencialmente extracelular y no requiere que el monosacárido sea activado y unido a un donador del tipo nucleósido difosfato. Así, a pesar de que existe un estricto requerimiento del sustrato, que sólo es satisfecho por la sacarosa y un pequeño número de oligosacáridos relacionados, hay pocos mecanismos de control que pueden ser utilizados para esta síntesis (5).

Los sistemas enzimáticos extracelulares involucrados en la síntesis de dextran han sido parcialmente purificados para hacerlos reaccionar con la sacarosa (como se verá más adelante).

La longitud de la cadena y los enlaces obtenidos usando el sistema natural dependen probablemente de la cepa utilizada y de las condiciones fisiológicas y por lo tanto, de las cantidades relativas y actividades de las enzimas específicas.

Una solución nutritiva para la preparación de dextran (pH 8.0) contiene: 10% sacarosa, 0.1% peptona, 0.1% KCl, 0.2%  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . El rendimiento puede ser incrementado por la adición de jugo de tomate, extracto de levadura, jarabe de maple y melazas (5,48).

La siguiente tabla muestra un medio para el cultivo de Leuconostoc mesenteroides para la obtención de dextran:

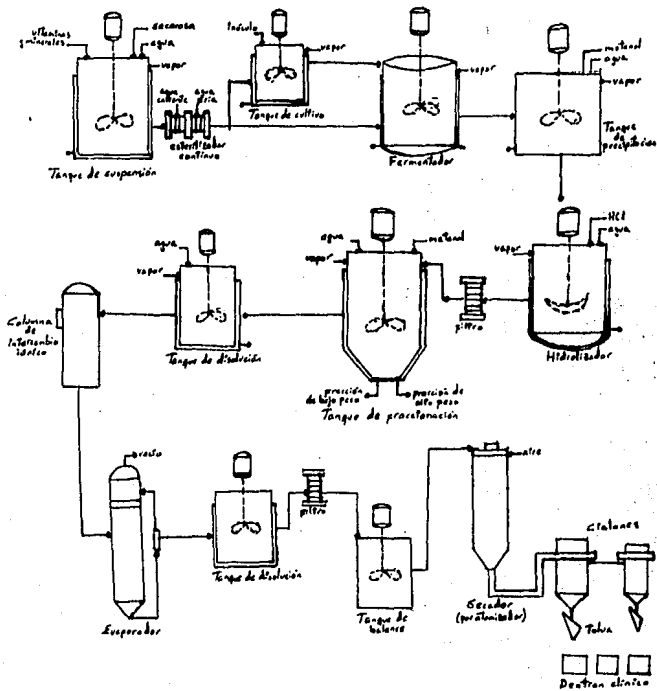
Tabla 8.3. Medio utilizado por McCleskey, Faville - y Barnett (1947) para el aislamiento de Leuconostoc mesenteroides.

Ingrediente	Cantidad
Triptona	10 g
Extracto de levadura	5 g
Azúcar crudo	100 g
Agar	20 g
Agua destilada	1000 ml
pH	6.7
Esterilización durante 15 minutos a 121° C	

Fuente: Ind. Microbiol. Prescott. 1959.  
Pag. 373.

La sacarosa (10%) en el medio, junto con extracto de levadura y sales minerales, proveen una fuente de factores de crecimiento. Este medio es sembrado con un gran inóculo de la bacteria y el cultivo es agitado para la transferencia de calor. Después de aproximadamente 24 horas el pH del medio cae a 4.5 y la viscosidad alcanza 400-700 pp; en este momento la síntesis puede considerarse completa. Para asegurar el control se toman muestras cada dos horas durante los últimos pasos -- del crecimiento. El medio de cultivo va a contener ciertos -- productos finales del metabolismo bacteriano como ácido acético, ácido láctico, etanol, en adición a las dextranas y azúcar residual (más adelante se verá la recuperación del dextran) -- (57,61).

Fig. 8.2. Obtención del dextran clínico.



Fuente: Ind. Microbiol. Prescott, 1959.  
Pag 374.

Se ha utilizado también, para la producción de un dextran de alta viscosidad, un medio consistente en melazas de caña - conteniendo 17.6% de azúcares reductores, 34.3% de sacarosa y 1.8% de gomas (0.7, 98.5, 0.53% respectivamente en azúcar cru do). El rendimiento de dextran disminuye, en este caso, con el incremento en la concentración de sacarosa y gomas. Las me lazas fueron pretratadas por dilución a 38.15°Brix y centri-- fugación; la cepa NIST 716 de Leuconostoc mesenteroides creció más rápidamente que la cepa NRRL B 512. El mayor rendimiento, medido por turbidez, viscosidad y recuperación del dextran -- se obtuvo con un medio conteniendo 20% sacarosa, pH 6.0 y des-- pués de una incubación a 30°C durante 48 horas (62).

Además del proceso batch de fermentación (fig. 8.2 ) se ha estudiado un proceso continuo con una velocidad de alimen-- tación de 12 ml/hr en un medio bien agitado a  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  en un ciclo de 48-50 hrs. obteniendo niveles de turbidez casi igua-- les que en una fermentación batch normal teniendo una produc-- ción de 0.27-0.28g de dextran/100 ml/ día con un porcentaje - de utilización de azúcar de 0.85-0.95g/100 ml/día (7).

Se ha producido también un dextran de Leuconostoc ----- mesenteroides LM 523 en un medio conteniendo 10% sacarosa co-- mercial y 0.5% de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  a un pH de 5.5-5.8 en una fermenta-- ción estacionaria de 24 hrs. a 30°C (74).

Una vez formado el dextran en el medio, este es precipi-- tado con metanol. El licor sobrenadante puede ser almacenado-

para la recuperación del alcohol. El dextran nativo precipitado se redissuelve con agua libre de pirógenos (equivalente a -- agua bidestilada con menos de 1-5 p.p.m. de sólidos totales)- a 60-70°C. La solución de dextran es llevada a un tanque para su hidrólisis con ácido clorhídrico diluido (la temperatura de hidrólisis se mantiene entre 100-105°C) (fig. 8.2 ) Se -- controlan la temperatura y el tiempo de hidrólisis basándose en datos obtenidos por mediciones de viscosidad. Se enfría, se neutraliza con NaOH debiendo tener una viscosidad de aproximadamente 5 cp. Se añade un peso calculado de metanol a una cantidad de peso conocido de la solución filtrada de dextran. Se agita y el dextran de alto peso molecular es precipitado (este precipitado es removido). Se continúa la agitación, se añade más metanol y fracciones con un PM entre 25 000 a 2000 000 son entonces precipitadas y llevadas a otro tanque para redissolverlas (el sobrenadante es llevado para la recuperación -- del solvente).

El objetivo de la hidrólisis es la obtención del dextran de grado clínico (peso molecular de 75 000  $\pm$  25 000) y esta -- es detenida cuando se ha alcanzado la viscosidad requerida.

Se añade agua libre de pirógenos a las fracciones de --- dextran clínico para disminuir su viscosidad y poder bombearlas a otro tanque de fraccionación. Posteriormente el dextran es desionizado. El paso final del proceso es el secado por -- atomizador; debido a que el dextran es altamente higroscópico, debe ser empacado en contenedores que brinden la adecuada pro

tección a la absorción de humedad (57).

Existen algunas dificultades particulares en la purificación de dextranas sintetizadas por varios estreptococos ya que la bacteria elabora simultáneamente fructosanas exocelulares (levanas). Las dextranas y las levanas sintetizadas por microorganismos del género Leuconostoc han sido separadas por precipitación fraccionaria de los polisacáridos con etanol acuoso. Estos procesos de separación son efectivos solamente cuando existen diferencias considerables en el peso molecular de estos dos productos. Algunos reportes (Mesner 1971) sugieren que la remoción de levanas de las preparaciones de dextran de estreptococos pueden facilitarse tratándolas con levanasas bacterianas (76).

#### Recuperación de exopolisacáridos.

Los procedimientos para la recuperación de polisacáridos de cultivos microbianos están basados, casi siempre, en métodos de aislamiento y purificación (que involucran, como ya se vió, la precipitación del polímero con un alcohol o una sal, la separación de sólidos, la conversión del precipitado a su forma soluble, secado, etc.). También pueden ser empleadas operaciones adicionales como pueden ser la remoción de células, la destrucción de actividades enzimáticas indeseables y modificaciones químicas o enzimáticas del polisacárido. Los métodos a escoger son determinados por la aplicación posterior de la goma (54,70).

La precipitación de polisacáridos es acompañada usualmente por la adición de un solvente como metanol, etanol, isopropanol o acetona: la adición de iones específicos que a cierto pH producen sales insolubles del polisacárido, o bien, por -- ajuste del pH para producir la forma ácida insoluble. La firmeza y naturaleza fibrosa del precipitado es afectada por las condiciones de precipitación y las fuerzas mecánicas durante la misma. El color del producto puede estar afectado también por la eficiencia del contacto del solvente durante la precipitación (54).

La recuperación de exopolisacáridos microbianos es crítica en determinar tanto el costo como las propiedades funcionales del producto final. Los principales fines del proceso de postfermentación consisten en uno o varios de los que se enumeran a continuación:

- 1) concentración del caldo de fermentación o extracto a una forma, generalmente un sólido, que es microbiológicamente estable, de fácil manejo, transporte y almacenamiento y que puede ser diluido o redisolto rápidamente para su uso en una aplicación particular

- 2) purificación para reducir el nivel de sólidos no polímeros tales como células o sales y mejorar el desempeño funcional, olor, etc. del producto

- 3) desactivación de enzimas indeseables contaminantes -- tales como celulasas, pectinasas, etc., y

4) modificación de las propiedades químicas del polímero para alterar tanto el desempeño funcional, las propiedades de manejo del producto seco como las características de dispersión y solución (79).

El número de técnicas disponibles para lograr estos objetivos es grande y los métodos usados a escala comercial dependen del fin exacto del proceso y del costo (79).

La intención general de un proceso de pre-recuperación de caldos de fermentación conteniendo exopolisacáridos es el de mejorar algún aspecto de la calidad o desempeño en una aplicación dada de tanto el caldo como el producto recuperado (79).

Algunos tratamientos para la desactivación, lisis o remoción de células en caldos de fermentación son igualmente aplicables para reconstituir soluciones o para recuperar el polisacárido como por ejemplo, tratamiento con calor (aunque la pasteurización del caldo, particularmente a altas temperaturas, causa muchas veces la degradación térmica de exopolisacáridos); tratamientos físicos tales como centrifugación o filtración, ultrasonido para la ruptura de células, etc.; tratamientos químicos para facilitar la separación de las partículas en el caldo como coagulación, calentamiento con alcohol, acetona, fenol o surfactantes no iónicos, tratamientos alcalinos para la lisis de células, etc.; tratamientos enzimáticos para la clarificación del caldo por digestión enzimática con proteinasas alcalinas, ácidas o neutras (79).

Sin embargo, la técnica más comúnmente usada para el aislamiento primario y purificación de polisacáridos acuosos-

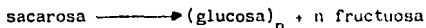


es la precipitación con solventes. Los costos de la recuperación del solvente (por ejemplo por destilación) y de las pérdidas inevitables del mismo durante la precipitación, representan una proporción significativa del costo total de producción (79).

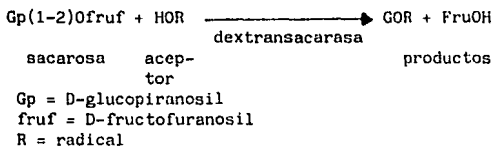
La purificación de exopolisacáridos es generalmente difícil debido a la alta viscosidad de los polímeros. Se han utilizado compuestos cuaternarios de amonio en casos en que se desee separar polisacáridos acídicos de neutros (el compuesto precipita polisacáridos acídicos) (70).

### 8.1. Síntesis enzimática de dextran.

La síntesis enzimática de dextran fue iniciada por Hehre y Sugg (1942) que demostraron la facilidad de un extracto libre de células de Leuconostoc mesenteroides para catalizar la formación del polisacárido a partir de la sacarosa sin pasos intermedios de fosforilación o reacciones que involucraran oxidación. La reacción postulada era:



La enzima involucrada en esta síntesis fue llamada dextransacarasa por Hestrin y col. en 1944 y está clasificada como una transglicosilasa (E.C.2.4.1.5.) :



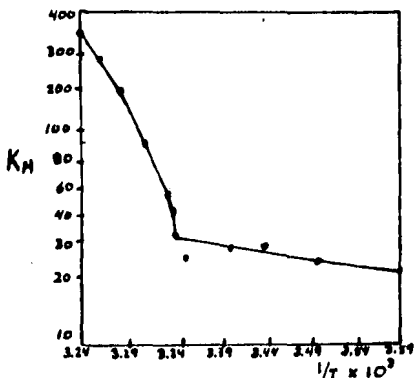
La enzima transfiere una porción glucosídica de sacarosa al extremo no reductor de la molécula de dextran liberando fructuosa (50,52,54,59,76).

El número de uniones glucosídicas en el dextran formado es igual al número de enlaces glucosídicos en la sacarosa que fue rota (10).

Se ha visto que en realidad la enzima es una mezcla de dos enzimas, una polimerizante y una ramificante con una alta selectividad por la sacarosa ya que su geometría no permite que ningún otro azúcar haga contacto con su sitio activo (52).

Se ha demostrado también que la enzima es lábil al calor y que por arriba de 30°C hay un marcado incremento en la constante de Michaelis lo cual indica una reducción en la afinidad de la enzima por el sustrato como se puede ver en la siguiente figura:

Fig. 8.3 . Gráfica semi-log de la constante de Michaelis contra el recíproco de la temperatura.



Fuente: Adv. in Carb. Chem. Vol.15. Pag 362.

La biosíntesis de dextran a partir de sacarosa es un proceso esencialmente irreversible y procede casi estequiométricamente; el equilibrio favorece la síntesis del polisacárido (52,59).

Las especies de Leuconostoc pueden ser cultivadas satisfactoriamente en una gran variedad de carbohidratos pero para la producción de dextran, la sacarosa debe de estar presente en el medio nutritivo (Neely en 1962 sugirió que el proceso de inducción de la enzima debía de ser desatada por

el grupo D-fructofuranosil de la sacarosa). Muchas cepas de -- Leuconostoc sintetizan sólo dextranas exocelulares solubles y puede presumirse que por lo tanto segregan dextran-sacarasa - exocelulares (76).

En general, las preparaciones de la enzima de Leuconostoc exhiben una actividad óptima a un pH de 5.0-5.5 (aunque el pH más favorable para su producción es de  $6.7 \pm 0.2$ ) y 29-34°C, - mientras que las dextran-sacarasa de Streptococcus exhiben -- una actividad óptima a un pH de 5.0-8.5 y 37-45°C (76).

La dextran-sacarasa obtenida de Leuconostoc mesenteroides es inducible (en la presencia de sacarosa), menos específica y requiere de iones divalentes para su síntesis (Kobayashi y -- Matsuda, 1974; Tsumuraya, 1976), mientras que la enzima de -- Streptococcus mutans o S. bovis ha sido clasificada como cons titutiva (Carlsson y Elander, 1973) (5,50).

La actividad principal de la dextran-sacarasa del organis mo Leuconostoc dextranicum parece estar también asociada con la estructura bacteriana (76).

Una unidad de dextran-sacarasa se define como la cantidad de enzima que convertirá 1 mg de sacarosa a dextran en 1 hr - a 30°C y un pH de 5.0 (59).

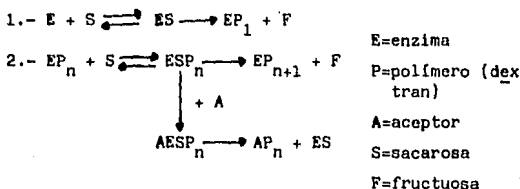
Han sido propuestos dos mecanismos para la síntesis de - dextran a partir de Leuconostoc mesenteroides (Ebert y Schenk 1968); ambos requieren de un sitio glucosídico aceptor y de - un sitio glucosídico donador de la enzima (fig. 8.4 ).

Chludzinski y col. (1976) sugirieron que si se encuentra

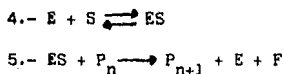
presente el precursor del dextran, la reacción procede por un mecanismo por pasos; esto es improbable ya que este tipo de mecanismo sugiere que toda la enzima se encuentra presente como enzima o como complejo enzima-sustrato. De hecho, la enzima existe casi completamente como complejo enzima-polímero -- (Mukasa y Slade, 1974; Kuramitsu, 1975; Ciordi, 1976) (50).

Fig. 8.4 . Mecanismos para la síntesis de dextran.

#### A. Inserción



#### B. Por pasos



Fuente: Adv. App. Microbiol. Vol 23. 1978.  
Pag 60.

Robyt y Corrigan (1977) dieron una explicación alternativa en que el dextran puede ligarse a la enzima provocando el cambio conformacional que la activa. Harlander y Schachtele (1978) encontraron que los fosfoglicéridos estimulaban la actividad de la dextran sacarasa por unión a un sitio distinto en la enzima; esto confirma la idea de que el estado conformacional de la enzima puede ser determinante para su actividad. La evidencia cinética indica que debe de tomar lugar una unión -

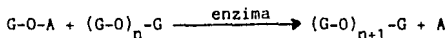
simultánea del aceptor al donador antes de que ocurra la polimerización ( 50,52).

La unión del donador (sacarosa) en el sitio aceptor de la enzima causa inhibición y exceso del aceptor en presencia de una baja concentración de sacarosa también provoca inhibición (por la interacción competitiva del aceptor y la sacarosa por el sitio donador). La formación de polisacáridos, en particular del dextran, sigue un mecanismo de polimerización en cadena en donde se distinguen los tres pasos de iniciación, propagación y terminación ( 52).

Bovey encontró que el peso molecular del polímero es muy alto al inicio de la reacción ( $50 \times 10^6$ ) y que continúa incrementándose después de que la sacarosa ha sido utilizada. Esto se puede explicar mediante la hipótesis de la presencia de la enzima ramificante en adición a la polimerizante; esto se verifica mostrando que la enzima iniciadora de la cadena principal es parcialmente destruida a 35°C, pero que la enzima ramificante continúa su función (52).

Las reacciones enzimáticas involucradas en la síntesis de homopolisacáridos indican que la sustancia donadora cede una unidad de glucósido que es transferido a una molécula aceptora con un pequeño cambio en la energía de enlace. La transferencia sucede por la mediación de un complejo enzima-sustrato-aceptor. Los pasos subsecuentes involucran la transferencia del glucósido a la sustancia aceptora y la consecuente liberación de la enzima del complejo. La reacción general-

para la formación del homopolisacárido se ilustra con la siguiente ecuación:



G = glucósido

A = aglicón

Hay tres actividades asociadas con el sitio donador de la enzima, a saber, unión con el sustrato, división del sustrato (actividad de sacarasa) y la transferencia de grupos  $\alpha$ -D-glucopiranosil (individualmente o en bloques) a una molécula aceptora. La sacarosa es el sustrato natural de las dextran-sacarasas siendo de 1.5 a 3.0 veces más efectiva que otros sustratos como la lactulosacarosa :  $\beta$ -D-gal- $\beta$ -(1-4)- $\beta$ -D-fruf-(2-1)- $\alpha$ -D-glc- $\beta$  por lo que se puede asumir nuevamente que el sitio de la enzima está ajustado a la estereoquímica de la molécula de sacarosa (59,76).

Se ha visto que la maltosa y el dextran soluble son inhibidores competitivos e incompetitivos respectivamente en la síntesis de dextran insoluble (Sharma y col., 1975); esta inhibición parece deberse a la habilidad de estos para actuar como aceptores glucosídicos. Se sabe que también la fructuosa inhibe la actividad de la enzima (Gibbons, 1968) (50).

El dextran también puede ser formado, como ya se mencionó anteriormente, a partir de dextrinas por microorganismos que elaboran dextran-dextrinasa (Acetobacter capsulatum y Acetobacter viscosum). Las adaptaciones de esta síntesis han sido patentadas por Kooi (1958) (59).

En general, el proceso de la síntesis enzimática del

dextran involucra:

- 1) la producción de dextransacarasa
- 2) la remoción de células bacterianas del medio de producción
- 3) la síntesis de dextran en una mezcla de reacción conteniendo sacarosa, la enzima y un precursor; bajo condiciones controladas, y
- 4) la fraccionación y purificación del producto (57).

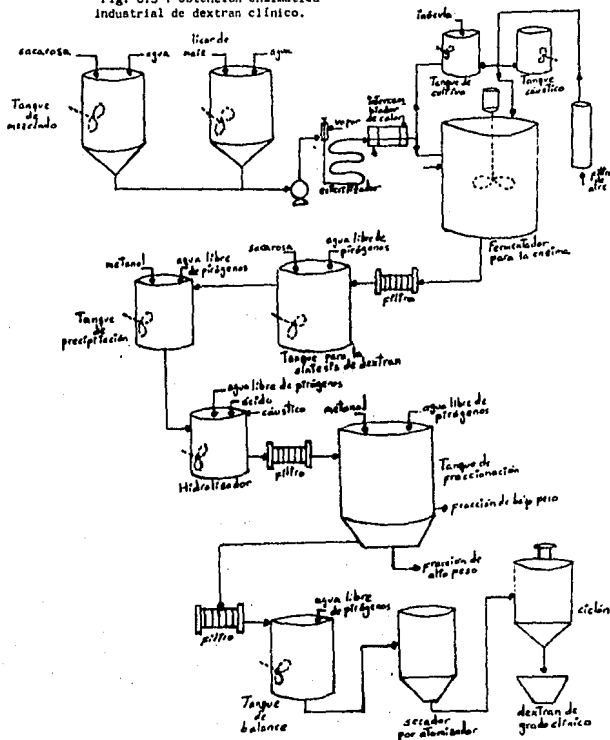
La fig. 8.5 muestra un proceso industrial para la obtención de dextran de grado clínico.

La cepa de Leuconostoc mesenteroides NRRL-B-512 se cultiva en un medio conteniendo sacarosa (2% en peso), licor de maíz (2% en base seca),  $K_2HPO_4$  (0.1%) y 0.5% en volumen de sales (4%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.2% NaCl, 0.2%  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  y 0.2%  $MnSO_4$ ). Concentraciones mayores de sacarosa aumentan la cantidad de dextran pero se dificulta la remoción de células (Tsuchiya y col., 1952). El pH se mantiene alrededor de 6.7 cuando comienza el crecimiento bacteriano; este valor se mantiene por la adición automática de álcali; sin embargo, a este pH no existe gran retención de actividad enzimática (aproximadamente un 35% de la actividad se pierde en 1 hr a 25°C) (57,61).

Se requieren alrededor de 8 a 12 horas para que el medio muestre la actividad máxima de dextransacarasa. La temperatura usada para su producción es de  $25 \pm 1^\circ C$  ya que a temperaturas mayores se acelera la destrucción de su actividad. La producción de la enzima es favorecida por una aereación moderada (61).



Fig. 8.5 . Obtención enzimática industrial de dextran clínico.



Fuente: Ind. Microbiol. Prescott, 1959, Pag 380.

El medio es posteriormente clarificado y filtrado o centrifugado. Las células bacterianas pueden ser removidas completamente pasando el medio a través de un filtro Seitz. El pH del filtrado se ajusta finalmente a 5.0-5.2 que es el óptimo para la actividad y estabilidad de la enzima (Koepsell, 1952) pudiendo ser almacenado por casi un mes a 15°C sin pérdida apreciable de actividad (Sohns y col. 1954) (57,61).

En general, se puede decir que para controlar la síntesis de dextran existen estos factores: 1) la concentración de sacarosa, 2) la concentración de dextranasa, 3) el tipo de precursor, 4) la concentración del precursor y 5) la temperatura de reacción (57).

La producción enzimática de dextran ofrece varias ventajas sobre el proceso microbiológico principalmente en que en aquel pueden ser ajustadas las condiciones de tal forma que son producidas las dextranas del tamaño molecular requerido en la polimerización enzimática; los factores que afectan esta polimerización han sido estudiados por diversos investigadores; por ejemplo, Hellman y col. (1955) encontraron que una temperatura de alrededor de 15°C y un tiempo de aproximadamente 8 hrs eran los óptimos; Tsuchiya y col. (1955) encontraron que la concentración inicial de sacarosa en la mezcla de reacción afectaba tanto el rendimiento como el peso molecular promedio de las dextranas producidas (57,61).

La producción de dextranas de bajo peso molecular (de grado clínico) es realizada por un incremento en la concentra-

ción de la enzima a 30°C o por un decremento en la temperatura de reacción (61).

Se ha encontrado que ciertos azúcares actúan como precursores en la reacción de polimerización; estos incluyen dextranas de bajo peso molecular ( $\overline{PM}$  15 000 - 20 000).

El producto de la síntesis libre de células puede diferir también del producto de cultivos enteros en su contenido de enlaces 1-3. Las diferencias obtenidas son debidas probablemente a la pérdida o inactivación de una de las enzimas involucradas durante la preparación del material libre de células por lo que existe la posibilidad de usar una mezcla de enzimas de actividades conocidas para producir el polímero conteniendo los enlaces deseados en las proporciones correctas --- (Mayer, 1975) (5,61).

Ya que la enzima es extracelular, la producción de dextran a partir de cultivos libres de células, puede dar altos rendimientos, calidad y recuperación del producto(70).

**9.- USOS DE LAS GOMAS MICROBIANAS**

**A. USOS DE DEXTRANAS.**

**B. USOS DE GOMA DE XANTANO.**

## USOS DE LAS GOMAS MICROBIANAS.

Los polisacáridos microbianos extracelulares han crecido en importancia en los últimos 20 años. Son de interés industrial como polímeros solubles o gomas que encuentran un amplio uso como agentes espesantes, gelificantes, suspensores, etc.- Encuentran uso significativo dentro de la industria alimentaria para controlar las propiedades reológicas de muchos productos. Han sido utilizados solos o combinados para la modificación en espesor y textura de muchos productos, para mejorar su apariencia y, en muchos casos, para resaltar el aspecto de productos naturales. Pueden ser usados también para la gelación, retención de agua, arrastre de gas, emulsificación, formación de películas y fijación de sabor. La aceptación de muchos productos depende en como éste se comporta bajo condiciones de fluido; por lo tanto, las propiedades reológicas son una consideración importante en el desarrollo de productos alimenticios. En la tabla 9.1 se pueden ver algunos de los usos que tienen los polisacáridos en alimentos.

La mayoría de las gomas se comportan como fluidos pseudoplásticos cuya principal característica es la reducción de su viscosidad a medida que aumenta el esfuerzo cortante. Esta propiedad es importante en alimentos semifluidos viscosos que están sujetos a diferentes manipulaciones mecánicas (23,53,41).

Tabla 9.1 . Principales usos de los polisacáridos  
en alimentos

---

Estabilizadores a través de sus interacciones con agua

Emulsificantes

Gelificantes

Estabilizan o forman espumas

Mejoran la textura dándole "cuerpo" al alimento

Espesantes y agentes de viscosidad

Encapsulación de sabores artificiales, fijación de sabores

Estabilizan sistemas con ciclos congelamiento/descongelamiento

Controlan la cristalización de azúcares, sales y agua

Forman películas resistentes

Agentes de suspensión de sólidos en líquidos

Agentes adhesivos

Espesantes en alimentos dietéticos bajos en calorías

Agentes floculantes

Reducen el daño estructural causado por el congelamiento

---

Fuente:Quim. de los Alimentos. Badui.  
1981. Pag.78.

Un estabilizador (sustancia que ayuda a mantener una ---  
emulsión cuando ya ha sido formada) puede tener las mismas ca  
racterísticas como emulsificante (sustancia capaz de ayudar a  
la formación de una mezcla estable de dos sustancias de otro-  
modo inmiscibles) o puede servir para espesar uno u otro par-  
ticipante de la emulsión o hacerla más viscosa y por lo tan--  
to, menos probable para separarse en sus componentes. Tales -

sustancias son usadas ampliamente en la producción comercial de pan, confección de harinas, helados, margarina, chocolates y confitería(83).

Una mayor necesidad de hidrocoloides puede ser en el área de alimentos análogos de carne, frutas fabricadas, utilización de desperdicios y control de contaminación. Nuevas áreas pueden surgir con el desarrollo de las nuevas tecnologías de procesos de retorta, empaquetado aséptico y cocinado en microondas (23).

Tabla 9.2 . Reclassificación de gomas de acuerdo a sus niveles de uso (1980) según la lista GRAS.

Clase I*	Clase II*	Clase III*
Celulosa	Goma arábica	Carragenina (PM 100 000)
CMC	Goma algarrobo	
Gelatina	Goma tragacanto	
Dextrinas	Goma karaya	
Pectinas	Goma guar	
Almidones crudos y pregelatinizados	Agar	* Clase I.- seguro para su uso a niveles comunes y a niveles futuros.
	Alginatos	Clase II.- seguro para su uso a niveles comunes pero se requiere mayor búsqueda para su seguridad a niveles mayores.
	Metilcelulosa	
	Dextran	
	Goma xantano	
	Almidones modificados	Clase III.- Uso común permitido -- pendiente de estudios adicionales.

Fuente: Progr. Food & Nutr. Sci. --  
Vol. 6. 1982. Pag 301.

Tabla 9.3 . Distribución de gomas de acuerdo a su -  
uso industrial

Tipo de uso	%
Detergentes y productos lavandería	16
Textiles	14
Adhesivos	12
Papel	10
Pinturas	9
Alimentos	8
Farmacéuticos y cosméticos	7
Otros	24

Fuente: Adv.in Carb. Chem.&Biochem.Vol.36.  
1979. Pag.268.

Tabla 9.4 . Distribución de gomas de acuerdo a sus-  
propiedades funcionales.

Función	Uso (%)
Agente estabilizante, suspensor y dispersante	25
Agente espesante	23
Agente formador de películas	17
Agente retenedor de agua	12
Coagulante	7
Coloide	6
Reductor de fricción o lubricante	5
Otros	5

Fuente: Adv.in Carb. Chem.&Biochem.Vol.36.  
1979. Pag.269.



## A) USOS DE DEXTRANAS.

La utilización más importante para el dextran y sus derivados es dentro de la industria química y farmacéutica.

En aplicaciones médicas el dextran es parcialmente hidrolizado (a un peso molecular promedio de 50 000 - 100 000) para su uso como extendedor de plasma sanguíneo en el tratamiento de shock o en el tratamiento de pacientes que han perdido cantidades considerables de sangre; sin embargo, desde 1955 - sólo han sido producidas cantidades limitadas para su uso -- clínico (52,59,70).

Los métodos usados para la producción de dextran clínico son: la hidrólisis ácida parcial del dextran nativo seguida - de fraccionamiento con varios solventes; la producción enzimática del dextran de bajo peso molecular; ultrasonido para - la despolimerización del dextran nativo. Los dos primeros --- se trataron en el capítulo correspondiente a la producción de dextran (52).

La fracción de dextran de peso molecular promedio de --- 40 000 es usado para mejorar el flujo en capilares para pre-- venir la oclusión vascular y para la perfusión artificial de -- órganos (70).

En todos estos casos el dextran presenta las ventajas de que puede ser esterilizado así como almacenado sin refrigeración, no lleva virus que causen hepatitis infecciosa, no inter

fiere con el tipo sanguíneo, su viscosidad es satisfactoria y no causa sedimentación de las células sanguíneas (57).

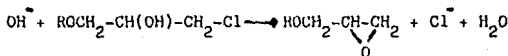
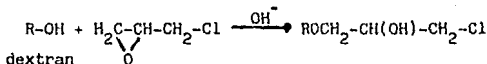
Otros usos farmacéuticos propuestos están basados en el hecho de que el dextran es absorbido por los tejidos del cuerpo; tales aplicaciones incluyen: absorbente quirúrgico, material de suturación y un aditivo para agente de contraste de rayos X (59).

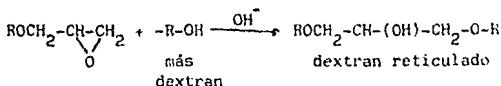
Un éster de ácido sulfúrico del dextran tiene propiedades anticoagulantes (similares a las de la heparina, Ingelman 1946) y antiúlceras; un complejo de dextran-hierro ( $\bar{M}$  50 000) es usado para la anemia por deficiencia de hierro en animales (59,61,70).

Geles reticulares de dextran (sefadex) son usados para la purificación y fraccionamiento de varias sustancias biológicas incluyendo la recuperación de proteínas de desperdicios líquidos y corrientes efluentes (70).

En el laboratorio el sefadex es un medio para la filtración en gel y la electroforesis en gel. Los derivados de sefadex son usados también para la cromatografía de intercambio iónico (44).

El sefadex está constituido por enlaces entrecruzados de cadenas de dextran parcialmente degradado por una secuencia de reacciones con epoclorohidrina:





Otros usos del dextran es como ingrediente de pasta dental, talco (Toulmin,1956) y en la manufactura de conos de helados dietéticos; éteres y ésteres del dextran pueden utilizarse en lacas (61).

Se usa en la precipitación de geles para purificar, separar y concentrar metales para su uso como combustible en reactores nucleares, catalizadores, recubrimientos en cerámica, refractarios, materiales ferroeléctricos y pigmentos (70).

Se usa satisfactoriamente en el harrenado de lodos; el dextran nativo de alto peso molecular es usado en emulsiones para rayos X y fotografía (70).

Los usos del dextran dependen de la distribución de su peso molecular. Debido a que es inocuo para el cuerpo humano cuando es ingerido, se han encontrado también usos en el área de alimentos como espesante; a pesar de sus propiedades deseables, no ha reemplazado totalmente a las gomas vegetales en productos alimenticios (59).

Una combinación de dextran y un antibiótico ha sido reportado para su uso como preservativo alimenticio (Novak, 1957) (61).

Se utiliza también en confituras de centro suave y como un sustituto parcial para malta cebada (48).

Algunos otros usos sugeridos incluyen materiales de cubrimiento que varían desde cubiertas para semillas hasta

vehículos de pigmentos en esmaltes de base acuosa (59).

Cuando el dextran es usado como un componente en el pan, la proporción de gluten puede ser incrementada y son mejorados el volúmen de la hogaza, la retención de humedad y la vida de anaquel (31).

Varias patentes han cubierto un gran número de usos, por ejemplo, como método de preservación de camarones (Toulmin, 1956), como método de preservación de productos alimenticios en que el dextran sirve como película protectora (Toulmin, 1957), en la manufactura de filamentos especiales (Bishop, 1957), para compuestos helados (Toulmin, 1957) y en la manufactura de tubos labiales (Novak y Tyree, 1956) (57).

El dextran NRRL-B-512-F se disuelve fácilmente en agua para dar soluciones claras que son estables a la esterilización por calor y al congelado y descongelado (31).

En la industria del azúcar, las dextranas pueden tener efectos indeseables: las dextranas insolubles contribuyen a la obstrucción de filtros, tanques, etc. y pueden interferir en la remoción de la materia suspendida en la clarificación durante la manufactura del azúcar crudo. Las dextranas solubles pueden aumentar la viscosidad de jugos de caña y jarabes siendo esto indeseable para la clarificación y la filtración además de retardar la velocidad de cristalización de la sacarosa. Estos efectos pueden disminuir minimizando las demoras en el proceso, desde el cortado de la caña de azúcar o mediante la adición de una dextranasa bacteriana que cataliza la --

hidrólisis del dextran de caña a un rango más bajo que el --- dextran 2000 aunque esta enzima tiene una baja estabilidad -- térmica. La mezcla del jugo de caña es el punto preferido para la adición de la enzima (100-200 g de dextranasa/1000 l/ - 1-8 hrs) (31,56,76).

Pruebas del dextran de peso molecular promedio de ----- 75 000  $\pm$  25 000 en metabolismo, muestran que cuando es aplicada intravenosamente en el hombre o en animales, el metabolismo es completo; cuando es ingerido sirve como una fuente de - glucógeno en hígado. La comparación de productos de  $\overline{PM}$  de --- 75 000 y  $10 \times 10^6$  en pruebas de alimentación con ratas, mostraron una digestibilidad de 90 y 86% respectivamente. La ruptura del dextran en el tracto intestinal está determinada por la dextranasa presente y por la estructura del dextran y no - por su tamaño molecular; las dextranasas se encuentran en la mucosa intestinal del hombre y otros mamíferos, en el colon - como producto de algunos microorganismos de la flora y en varios tejidos especialmente hígado, riñón y bazo (31).

Está aceptado en la lista GRAS (1978) bajo las especificaciones de la Federal Food, Drug and Cosmetic Act como un -- constituyente de superficies de contacto en alimentos:  $\overline{PM}$  por debajo de 100 000 producido por la fermentación bacteriana de la sacarosa, libre de microorganismos viables, con un contenido de cenizas  $\leq 0.1\%$ , fibra cruda  $\leq 0.15\%$ , proteína  $\leq 1.0\%$ , - una rotación específica de  $+ 200^\circ$ , un contenido de As  $\leq 1$  ppm, metales pesados totales (como plomo)  $\leq 10$  ppm y residuos de -

solventes (como acetona)  $\leq 15$  ppm; se ha concluido que su uso es seguro cuando es utilizado como un componente de los materiales de empaque de alimentos (es decir, como aditivo indirecto) (85,86).

La siguiente tabla muestra algunos de los usos y las patentes para el dextran.

Tabla 9.5 . Usos y patentes para el dextran.

Aplicación	Patente
Textiles resistentes al agua (éster)	US 2734 055
Luca (éter y éster)	US 2734 828
Talco	US 2749 277
Cubierta para semillas	US 2764 843
Adhesivo	US 2746 880
Preservación camarones	US 2758 930
Filamento (éter)	US 2702 231
Anticoagulante (sulfato)	US 2715 091
Dextranasa	US 2716 054
Esponja artificial	US 2731 015
Base de tubo labial (éster)	US 2749 276
Prolongación de vida de espumas	US 2758 920
Punta filtro cigarrros	US 2768 913
Jarabe de alta viscosidad	US 2409 816
Barrenado de lodos	US 2360 327

Aplicación	Patente
Preparaciones dentríficas	US 2779 708
Bebidas	Swiss 217 217

Fuente: Adv. Carboh. Chem. Vol. 15. 1960.  
Pag 367,368.

#### B) USOS DE GOMA DE XANTANO.

La goma de xantano presenta la ventaja de que en todos - sus usos la concentración de ella es menor y su comportamiento es superior que aquellas sustancias usadas previamente a - su introducción como aditivo (31).

La goma de xantano se usa en aplicaciones de panadería co mo enlazante de agua en sistemas de pasteles y para mejorar la vida de anaquel. En mezclas esponjosas reemplaza parcialmente al huevo y tiene una buena estabilidad de congelamiento/des-- congelamiento (por ejemplo para rellenos de frutas). La tabla 9.6 muestra las aplicaciones industriales de la goma.

Se usa en la industria panadera como un espesante y esta bilizante en pudines y también como espuma y estabilizante de emulsiones en cremas artificiales, rellenos de pastel y para el mejoramiento de la consistencia de mantequilla (58).

Se han hecho adiciones de 0.4% en peso de goma de xantano, 50% de agua y/o 25% de almidón de trigo en base al peso - de harina así como sus posibles combinaciones para pasteles - conteniendo 65% de huevo blanco; en este sistema la xantana - incrementó la estabilidad de la espuma y el almidón contribu-

yó a la estructura de los pasteles con un contenido reducido de huevo blanco. El agua añadida disminuyó la tensión superficial del huevo permitiendo una mayor incorporación de aire (49).

Se han realizado formulaciones de masas de pan utilizando xantana para unir los gránulos de almidón; con este sistema los períodos requeridos de la fermentación de la masa en la hechura convencional de pan pueden ser eliminados. La goma mejora la cohesión de los gránulos de almidón y produce un pan con una estructura comparable en apariencia, sentido en la boca y volúmen de hogaza con los panes comerciales. Es posible también la fortificación de estos panes almidón-xantana con proteína de soya (14,31).

Fórmula básica:

	Base de harina 500g
Almidón	200.0g
Aceite de maíz	11.0g
Azúcar	16.0g
Sólidos de leche	4.4g
Sal	4.0g
Goma xantano	12.0g
Levadura	9.4g
Agua	243.2g

En la preparación de panes de almidón libre de gluten (para propósitos dietéticos) este interactúa con la goma para formar una matriz que permite el desarrollo, durante el hornea



do, de una estructura similar a la obtenida en panes normales. En este sistema basta una baja concentración de xantana para lograr un volúmen de hogaza, una textura de miga y una calidad de corteza deseables. La goma puede ser combinada con gluten bajo condiciones controladas para dar un gluten modificado que tiene mejores características de rehidratación y es procesado más fácilmente que el gluten normal; en este sistema las mejoras impartidas a las propiedades del gluten parecen ser el resultado de un complejo formado entre la goma y la gliadina libre del gluten(20,68).

La goma de xantano imparte propiedades de fluido pseudo-plástico al batido y así facilita las operaciones de bombeo. En masas refrigeradas mejora la estabilidad congelado/descongelado y la retención de humedad sin deterioro del desarrollo de la masa durante el horneado (66,68).

Tabla 9.6 . Aplicaciones industriales de la goma de xantano.

Abrasivos	Emulsiones	Petróleo
Adhesivos	Geles	Barrenado lodos
Sprays en agricultura	Tintas	Farmacéuticos
Cerámica	Pinturas	Pigmentos
Cosméticos	Papel	Pulimentos
Agente suspensor	Textiles	Soldaduras

Fuente: Adv. in. Carb. Chem. & Biochem. Vol. 36. 1979. Pag. 296.

Debido a que la viscosidad de la xantana es virtualmente independiente del pH y a su alta pseudoplasticidad, se utili-

za en aderezos y jugos de fruta; los aderezos que la contiene fluyen sin esfuerzo de la botella pero recobran su alta viscosidad inicial al caer resultando con una buena adhesión en la comida, mejora la estabilidad de la emulsión y ha hecho posible la reducción en la concentración del estabilizador -- debido a su eficiencia de espesamiento. Es añadida a la fase acuosa del aderezo y dispersada por suspensión con una pequeña cantidad de aceite vegetal (22,68,78).

Tabla 9.7 . Usos de la goma de xantano en alimentos.

---

Aderezos para ensaladas (normales y bajos en calorías)

Condimentos y salsas picantes

Quesos y productos derivados

Sustituto de huevo (libre de colesterol)

Carnes gelificadas

Postres gelificados

Pudines en polvo

Jarabes densos y cubiertas de postres

Bebidas de fruta, leche en polvo dietética

Gravies, salsas y sopas deshidratadas

---

Fuente: Adv. in Carb. Chem. & Biochem. Vol. 36.  
1979. Pag. 295.

En algunos casos, por ejemplo en aderezos libres de --- aceite, las propiedades de fluido provistas por la goma no -- satisfacen enteramente los requerimientos de manufactura; esto puede remediarse con el uso de alginato de propilenglicol-

en combinación con la goma o por la inclusión  
tes como el poliabsorbato 60 (68).

ESTA ULTIMA TESTIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Salsas y gravies logran estabilidades notables al calor-  
y al congelado-descongelado manteniéndose las viscosidades --  
constantes bajo un amplio rango de temperatura; es ideal ----  
también para catsups y condimentos dándoles además "brillo" a  
estas favoreciendo su aspecto para el consumidor (68,93)

En cubiertas de chocolate proporciona una consistencia -  
excelente y buenas propiedades de fluido, y debido a su alta-  
viscosidad al reposo, aparecen espesas y apetecibles (68).

Pueden producirse carnes congeladas y pasteles de pesca-  
do por adición de xantana al producto guisado congelado para-  
actuar como agente protector del coloide (63).

Las combinaciones de goma de xantano/galactomananos han-  
sido usadas para una gran variedad de usos como lo muestra la  
tabla 9.8 .

Tabla 9.8 . Usos industriales de galactomananos.

<u>Industria</u>	<u>Producto</u>	<u>Goma</u>	<u>Función</u>
Alimentaria	postres	xantana/g. tara	efectos siner- gisticos
	pudines ge- latinosos	xantana/g. alga rrobo	efectos siner- gisticos
Perforación de pozos	Aceite para perforar	g. guar/xantana	estabilización de retículos

Fuente: Adv.in Carb.Chem.&Biochem.Vol.31.  
1975.Pag.310.

Las mezclas goma de xantano/galactomananos actúan siner-  
gísticamente para dar las propiedades reológicas deseadas, a-

bajas concentraciones, en leches re combinadas y pasteurizadas (36).

Cuando la xantana se combina con la goma guar o goma algarrobo, ocurre un incremento de viscosidad y se forma un gel térmicamente reversible calentando la mezcla a temperaturas mayores de 55°C y por enfriamiento subsecuente (36).

Son usadas mezclas estabilizadoras de goma de xantano -- en muchos productos incluyendo leches de soya, leches re combinadas de chocolate, malteadas, pudines de leche, cremas espesas, emulsión en queso cottage y en batidos congelados; se ha encontrado que en productos de leche en polvo el polifosfato de tetrasodio y goma de xantano u otras gomas, incrementan notablemente la viscosidad del sistema; esta viscosidad dura lo suficiente para poder ser usada en preparaciones de leches malteadas y servir las al consumidor dentro de un tiempo razonable manteniendo su espesamiento durante su consumo (US Pat-4219 583)(20,36,37).

Se pueden obtener yogurts acidificados directamente a -- partir de leche acidulada y una mezcla de espesantes en proporciones específicas que comprende almidón (estable a pffs -- bajos), CMC, xantana y goma algarrobo (20).

Una mezcla de xantana/galactomanano tiene una amplia variedad de usos que van desde helados de agua hasta postres -- congelados con un alto contenido de grasa. Las ventajas de -- ella incluyen: buena calidad de batido, nivel más bajo de uso,

temperatura más baja de enfriamiento lograda con la misma refrigeración, sensación cremosa más tersa, pequeño enmascaramiento de sabor y buena protección al choque térmico, baja viscosidad a alta fuerza al corte. La mezcla comprende  $\approx 25$ -75 partes en peso de xantana y  $\approx 25$ -75 partes en peso de goma algarrobo. Los hidrocoloides en helados restringen el crecimiento de cristales durante el almacenamiento y distribución, restringen el movimiento de agua y la tendencia a congelarse y formar cristales. La concentración de estos agentes no excede al 0.16% aunque cantidades mayores aumentarían la estabilidad del producto pero la textura resultaría demasiado gomosa y poco humectante (12,20,36,38).

Los geles de goma de xantano/galactomanano en postres son un ejemplo de la modificación de textura. En pudines instantáneos de leche se logran propiedades reológicas únicas usando el sistema gelificante xantano/goma algarrobo; estos pudines tienen una excelente consistencia cremosa y se desbaratan fácilmente en la boca (20,93).

Los almidones modificados por goma de xantano (por ejemplo de raíz, camote, cereal o sus mezclas) exhiben propiedades similares a aquellos almidones pregelatinizados modificados químicamente; tienen incrementada su estabilidad al ácido y al calor y aumentada su resistencia a la disolución en medio acuoso. El proceso de modificación comprende: calentamiento a gelatinizar una mezcla acuosa de almidón/xantana a una

temperatura  $\leq 100^{\circ}\text{C}$ , calentamiento hasta reducir el contenido de humedad a  $\approx 5-10\%$ , secado adicional de la mezcla (a una -- humedad  $\leq 7\%$ ) a  $> 100^{\circ}\text{C}$  lo suficiente para causar la interacción entre el almidón y la goma. El secado en tambor es el -- método preferido que combina el calentamiento y el secado --- (13).

Los sustitutos de almidón bajos en calorías, como celu-- losa vegetal purificada y almidones modificados, pueden ser -- mejorados por la adición de 1.0-3.5% en peso de goma de xanta no y 2.0-7.0% en peso de un emulsificante como la lecitina -- (20).

La goma de xantano puede sustituir al almidón en sopas -- dietéticas. En la producción de imitaciones de bajo costo de quesos (Cheddar y azul) se utilizan como ingredientes mayori-- tarios: harina de trigo, mantequilla, jarabe de maíz, harina de soya, y como ingredientes minoritarios: sal, goma de xanta no, sabor y color; los ingredientes se mezclan por  $\approx 15$  minutos, se vacían a una tolva vibradora, de aquí la mezcla seca pasa a un molino de carne modificado ajustado con una placa y un cuchillo rotatorio de doble filo; la extrusión es dentro -- del rango de 400-500 lb/hr. Los cubos ( $\frac{1}{4}$ " ) son descargados -- del extrusor, enfriados y empacados en cartones corrugados re vestidos de polietileno (18).

La goma de xantano baja en su contenido de calcio puede incorporarse a aderezos de ensaladas, bebidas de fruta, cocoa,

gravies, sopas, etc. (19,89).

En algunos productos enlatados la goma de xantano no sólo es usada para facilitar las operaciones de bombeo y llenado (debido a su alta pseudoplasticidad) sino también como un reemplazo parcial del almidón para dar una penetración de calor más rápida durante la esterilización; esta mejora es debida al hecho de que a las temperaturas de esterilización la conformación de la molécula de xantana cambia de su forma rígida a la espiral aleatoria con una reducción de viscosidad (fig. 5.4) (66,68).

Se usa para mantequilla de cacahuete mediante la formación de una suspensión de xantana y aceite de cacahuete (la goma se usa en niveles de 0.07-0.13% en peso) (20).

Ha sido probada para la suspensión de ingredientes como melazas o MgO en alimentos para animales. Se utiliza también en productos alimenticios que contienen glicerol y propilenglicol como preservativos (para aumentar la viscosidad) (64).

En el proceso de retorta, su alta pseudoplasticidad hace más fácil el llenado dejando el tope de la bolsa limpio y conveniente para el sellado (68).

Tiene aplicación potencial como agente formador de películas, espesante, agente para dar cuerpo, preparación de cosméticos, vehículos farmacéuticos, agente emulsificante y estabilizante. Se ha usado también para estabilizar pasta de dientes, alimentos enlatados para mascotas y en pesticidas aplica

dos en agricultura (70).

Mezclas de 1:1 en peso de xantana libre de celulasa con-celulósicos (incluyendo hidroxietil celulosa, CMC, hidroxipro-pil metil celulosa) pueden emplearse como espesantes en ali-mentos o mezclas de bebidas (3).

La goma de xantano es ampliamente aceptada como aditivo-en la industria alimentaria. Los resultados en estudios de --alimentación por dos años en ratas y perros con una dosis dia-ria por arriba de 1.0 g/Kg revelaron que no hubo diferencias-significativas en la velocidad de crecimiento, sobrevivencia, valores hematológicos, peso de órganos, incidencia de tumo---res, etc. En la 3er generación de ratas estudiadas fueron com-parables los resultados con los controles de sus padres tanto en supervivencia como en funcionamiento reproductivo (91).

En estudios utilizando el método de rastreo radioactivo, se encontró que la digestibilidad de la goma era de ~~2~~ 15%(46).

En 1969 la FDA aprobó su uso como aditivo, como un ingre-diente en aderezos en 1971 y como ingrediente estabilizador -opcional en ciertos quesos en 1973; en 1974 la USDA la inclu-yó en su lista autorizada de ingredientes no cárnicos (31,34).

Internacionalmente es aprobada como aditivo alimenticio-(Canadá, México, Venezuela, Nueva Zelanda y Dinamarca) (34).





# No Oil Low Calorie Italian

USE WATER AND VINEGAR ONLY



TEAR HERE

## SPECIAL DIRECTIONS—DO NOT USE OIL

Use the GOOD SEASONS® Crust (or a pt)

1. Pour vinegar to 1/4 line (1/4 cup)
2. Add water to 1/2 line (2 tablespoons)
3. Add contents of envelope
4. Shake immediately until well blended
5. Add water, fill oil to 3/4 line (2/3 cup)
6. Shake again, until well blended

MAKES 8 FL. OZ. (1 CUP) SALAD DRESSING.

### NUTRITION INFORMATION

PORTION SIZE: 1 TABLESPOON AS PACKAGED  
PORTIONS PER ENVELOPE: 16 AND AS PREPARED

CALORIES	8
PROTEIN	0
CARBOHYDRATE	2 g
FIBER	0
SODIUM	160 mg

CONTAINS LESS THAN 2% OF THE U.S. RECOMMENDED DAILY ALLOWANCE (U.S. RDA) OF PROTEIN, VITAMIN A, VITAMIN C, THIAMIN, RIBOFLAVIN, NIACIN, CALCIUM, AND IRON.

INGREDIENTS: SUGAR, SALT, MODIFIED CORNSTARCH, GARLIC, ONION, GUM ARABIC (THICKENER), SPICES, RED BELL PEPPER WITH SODIUM BENZOATE (PRESERVATIVE), DEXTROSE, HYDROLYZED VEGETABLE PROTEIN, NATURAL FLAVOR WITH DHA (PRESERVATIVE)



5148A1E  
GENERAL FOODS CORP.  
WHITE PLAINS, NY  
10625, U.S.A.  
P-3973



# Kern's.

# Kern's.

NO ARTIFICIAL FLAVORS  
OR PRESERVATIVES ADDED



**SHAKE WELL BEFORE**

**DRINKING.**

CONTAINS WATER, COCONUT PINEAPPLE JUICE, SUGAR, CITRIC ACID, NATURAL FLAVORING.

© 1974 KERN FOODS, INC.

INTERNATIONAL INFORMATION FOR A. C. SERVING 2 SERVINGS PER 8 FL. OZ.

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

COCONUT PINEAPPLE NECTAR

**KERN'S NECTARS** are made from the whole fruit—more than just juice. There are over a dozen delicious varieties to choose from...try one in place of your usual breakfast drink...or any time.

**SUMMER COOLER**

Fill glass with ice cubes; mix 2 parts Kern's Nectar with 1 part sparkling water. Top off with a squeeze of lime or lemon.

**NECTAR YOGURT FLIP**

1 (8 oz.) carton low fat plain yogurt - 1 (12 oz.) can Kern's Coconut-Pineapple Nectar, chilled

Blend nectar and yogurt till smooth, adding crushed ice if you like. Makes 2 or 3 servings.

For additional delicious recipes write to: Kern's Kern / Kern Foods, Inc., Dept. TF / P.O. Box 1207 / Industry, CA 91704.



*Special Offer*

## 10.- RESUMEN.

## RESUMEN.

Los polisacáridos, gomas o hidrocoloides de origen microbiano a los que se refiere este trabajo, dextran y goma de xantano (o xantana), tienen diversas aplicaciones tanto en la industria alimenticia como en otras industrias.

Actualmente tienen gran importancia por su papel como espesantes, emulsificantes, suspensores, etc. para el mejoramiento en la textura de variados alimentos como pudines, salsas, jugos de carne, coberturas de chocolate, productos lácteos, etc.

Las propiedades funcionales de estas gomas se deben principalmente a que sus soluciones se comportan como fluidos no Newtonianos, es decir, sus viscosidades cambian con la velocidad de corte a la que se sujetan (la viscosidad decrece con el incremento de corte).

El dextran, producido por el microorganismo Leuconostoc mesenteroides mediante la fermentación de la sacarosa, tiene también aplicaciones en la industria química (sefadex) y farmacéutica (extendedor de plasma sanguíneo). El dextran utilizado en este último caso es un dextran que ha sido hidrolizado o bien, ha sido producido enzimáticamente y que tiene un peso molecular de  $75000 \pm 25000$  llamado dextran de grado clínico.

La goma de xantano es producida por la bacteria Xanthomonas campestris que crece en un medio con una fuente de carbohidrato como la glucosa, una fuente de nitrógeno y una fuente

de fósforo entre los nutrientes principales. En la actualidad encuentra una gran variedad de aplicaciones en diversas industrias; dentro de la industria alimenticia es utilizada sola - o bien mezclada con galactomananos (como la goma de algarrobo) para la formación de geles termorreversibles.

## 11.- CONCLUSIONES.

## CONCLUSIONES.

La mayoría de los alimentos necesitan emulsificantes, -- tanto naturales como manufacturados ya que todos ellos contienen agua así como proteínas, carbohidratos y grasas. En el -- caso de los alimentos naturales ellos cuentan con sus propios sistemas emulsificantes, pero es necesario, en el caso de los alimentos elaborados, el uso de otras sustancias, ya sea --- extraídas de los alimentos naturales o bien sintetizadas por otros medios.

Una gran parte de los alimentos que se encuentran en -- la actualidad a disposición del consumidor requieren de un -- número de aditivos ya sea para su conservación o bien para -- el mejoramiento o el mantenimiento de su textura, su sensa--- ción en el paladar, su apariencia o su presentación; dentro - de estos últimos se encuentran las gomas o hidrocoloides que, como se ha visto, tienen un gran campo y diversos usos potenciales dentro de la industria alimenticia por lo que se hace necesaria una mayor investigación para su producción y su --- aplicación.

Los métodos de producción por síntesis microbiana tanto de estos polisacáridos como de otros materiales son de gran - importancia ya que en la mayoría de los casos, los microorganismos utilizados, a manera de diminutas fábricas, transforman eficazmente materiales abundantes en productos a veces -- difíciles de obtener por otros medios.

Actualmente en México existen diversos proyectos en el -



Departamento de Biotecnología y Bioingeniería dentro de los -  
cuales se encuentra la obtención de polisacáridos (gomas) de-  
aplicación industrial (29), sin embargo, este proceso se en--  
cuentra aún en etapa de laboratorio.

En el mercado actual de nuestro país no existe una gran-  
variedad de productos alimenticios que utilicen la goma de --  
xantano; sólo algunos aderezos para ensalada la usan en su --  
formulación para el mejoramiento de su textura (algunos de --  
ellos utilizan otro tipo de gomass como la goma guar). Debido-  
al ritmo de vida cada vez más acelerado, es necesario el uso  
de productos cuya preparación sea más fácil y rápida por lo -  
que la utilización de las gomass y otros aditivos será cada --  
vez mayor en la industria alimentaria de México como es el --  
caso de otros países como los Estados Unidos en donde existe-  
una gran diversidad de productos que contienen a la goma como  
son: jarabes de chocolate, sabores artificiales de mantequi--  
lla para bisquets, aderezos dietéticos, néctares y jugos, ---  
salsas para barbacoa, etc.

## 12.- BIBLIOGRAFIA.

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Badui Dergal S. Química de los Alimentos. Ed. Alhambra. 1981. Pp 76-78, 98-101. México, D.F.
- 2.- Baird J.K.; Sandford P.A.; Cottrell I.W. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.16.No.5.May 1984. 5G338.
- 3.- Baird J.K.; Sandford P.A.; Shim J.L. Synergistic --- blends of cellulase-free xanthan gum and cellulosics. U.S. -- Patent, 1982, 4313765.
- 4.- Barnes C.S. Food Science and Technology Abstracts. - IFIS. Vol. 8. No.10. Oct 1976. 10G674.
- 5.- Berkeley R.C.; Gooday G.W.; Ellwood D.C. Microbial - Polysaccharides and Polysaccharases. Academic Press. Chicago. 1980. Pp 17,18,85-98,148-153.
- 6.- Betz D.A. Food Science and Technology Abstracts. --- IFIS. Vol.11.No.11.Nov 1979. 11T520.
- 7.- Bhatnagar R.; Prabhu K.A. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.10.No.10. Oct 1978. 10L750.
- 8.- Biological Abstracts. Vol.69. No.12. Jun 1980. ---- 80836, 80838, 80839, 80843.
- 9.- Birch G.G.; Spencer M. Food Science. Pergamon Press. 1972. Pp 146-148.
- 10.- Burrows W. Ph.D. Textbook of Microbiology. W.B. Saunders Co. 1964. Pp 133-135.
- 11.- Cadmus M.C.; Knutson C.A. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.16. No.7. Jul 1984. 7T346.
- 12.- Centro de Control Informa. Vol.2. No.9. Dic 1982.

- 13.- Chang H.; Wintersdorff P. Food Science and Technology Abstracts. Vol.14. No.11. Nov 1982. 112741.
- 14.- Christianson D.D.; Gardnea H.W. Food Technology. -- Vol. 28. No.6. Jun 1974. Pp 23-25.
- 15.- Cottrell I.W.; Kang K.S. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.11. No.12. Dic 1979. 12T569.
- 16.- Cottrell I.W. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol. 12. No.5. May. 1980. 5G292.
- 17.- Covacevich M.T.; Richards G.N. Food Science and --- Technology Abstracts. IFIS. Vol. 10. No.6. Jun 1978. 6L408.
- 18.- Dietz J.H.; Ziemba J. Food Science and Technology - Abstracts. IFIS. Vol.4. No.10. Oct 1972. 10P1619.
- 19.- Empey R.A.; Dominik J.G. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol. 14. No.2. Feb 1982. 2T86. (U.S. Patent 4263399)
- 20.- Food Additives. Recent Developments. Ed. by Johnson J.C. Noyes Data Co. 1983. Pp 95-102, 111-115.
- 21.- Food Chemicals Codex. National Academy Press. 1981. Pp 347.348.
- 22.- Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.4. No.3. Mar 1972. 3T172.
- 23.- Glicksman M. The hydrocolloids industry in the 80's. Progress in Food and Nutrition Science. Vol.6. 1982. Pp 299--301.
- 24.- Godet P. Food Science and Technology Abstracts. --- IFIS. Vol.5.No.3.Mar 1973. 3T149.

25.-Hille M. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.15. No.11. Nov 1983. 11M1809.

26.- Holzwarth G. Conformation of the Extracellular Poly saccharide of Xanthomonas campestris . Biochemistry. Vol.15.- No.19. 1976. Pp 4333-4335.

27.- Hubbard D.W.;Williams C.N. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.10.No.5. May 1978. 5T180.

28.- Iain C.M.; Morrison A. Chemistry and Interactions -- of Seed Galactomannans. Advances in Carbohydrate Chemistry &- Biochemistry. Vol.31. 1975. Pp 301-304, 310, 311.

29.- Información Científica y Tecnológica. CONACYT. Vol. 4, No.67. Abr 1982. Pp 34,35.

30.- Jeanes A. Food Science and Technology Abstracts. -- IFIS. Vol.6. No.7. Jul 1974. 7T419.

31.- Jeanes A. Extracellular Microbial Polysaccharides.- Food Technology. Vol.28. No.5. May 1974. Pp 34-37.

32.- Jeanes A. Food Science and Technology Abstracts. -- IFIS. Vol.9. No.3. Mar 1977. 3L270.

33.- Kennedy J.F.; Jones B.; Barker S.A. Food Science -- and Technology Abstracts. IFIS. Vol. 16. No.5. May 1984. 5T227.

34.- Kelco Co. Xanthan Gum Offers Versatility, Safety -- Food Technology. Vol.28. No.6. Jun 1974. Pp 18, 19, 21.

35.- Kennedy J.F.; Bradshaw I.J. Production, properties- and applications of Xanthan. Progress in Industrial Microbio-logy. Vol.19. 1984. Pp 319-371.

36.- Kisselburgh A.B. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol. 15. No.6. Jun 1983. 6P912, 6P915.

- 37.- Kisselburgh A.B. Recombination of milks and creams. Bulletin, International Dairy Federation. No.142. 1982. Pp 50  
51.
- 38.-Kisselburgh A.B. Recombination of butter + ice cream. Bulletin, International Dairy Federation. No.142. 1982. Pag -  
138.
- 39.- Kitchen R.A. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.16. No.7. Jul 1984. 7L407.
- 40.- Krumel K.L.; Sarkar N. Food Science and Technology- Abstracts. IFIS. Vol.7. No.9. Sep 1975. 9T424.
- 41.- Krumel K.L.; Sarkar N. Flow Properties of Gums useful to the Food Industry. Food Technology. Vol.29. No.4. 1975. Pp 36,38.
- 42.- Lawson C.J. Food Science and Technology Abstracts.- IFIS. Vol.9. No.3. Mar 1977. 3T122.
- 43.- Lee H.L. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.14. No.8. Ago 1982. 8L552 (U.S. Patent 4299825).
- 44.- Lees D.A. Polysaccharide Gels and Networks. Advances in Carbohydrate Chemistry & Biochemistry. Vol.24. 1969. - Pp 267-269, 313, 314.
- 45.- Lehninger A.L. Bioquímica. Ed. Omega. 1981. Pag 272.
- 46.- McNeely W.H.; Kovacs P. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.7. No.1. Ene 1975. 1T14.
- 47.- McNeely W.H.; Kovacs P. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.8. No.3. Mar 1976. 3T102.
- 48.-Merck Index. 9a ed. 1976. Pp 386, 387, 1297. Secciones 2904,9719.

49.- Miller L.L. Food Science and Technology Abstracts.-  
IFIS. Vol.15. No.12. Dic 1983. 12M1944.

50.- Montville T.J.; Cooney C.L.; Sinskey A.J. Strepto--  
coccus mutans Dextranucrase; A Review. Advances in Applied -  
Microbiology. Vol.24. 1978. Pp 55-65, 75-77.

51.- Morris E.R. Food Science and Technology Abstracts.-  
IFIS. Vol.9. No.3. Mar 1977. 3T168.

52.- Neely W.B. Dextran. Advances in Carbohydrate Chemis-  
try. Vol.15. 1960. Pp 341-369.

53.- Pace G.W.; Righelato R.V. Food Science and Techno--  
logy Abstracts. IFIS. Vol.13. No.3. Mar 1981. 3T123.

54.- Pace G.W.; Righelato R.C. Production of Extracellu-  
lar Microbial Polysaccharides. Advances in Biochemical Engi--  
neering. Vol.15. 1980. Pp 41-63.

55.- Patton J.T.; Dugar S.R. Process Biochemistry. Vol.-  
10. No.5. 1981. Pp 46-49.

56.- Fulcher R.P.; Inkerman P.A. Dextranase. Characteri-  
zation of the Enzyme for use in Sugar Mills. Proceedings of -  
the Queensland Society of Sugar Cane Technologists. 1976. Pp-  
295-305.

57.- Prescott S.C.; Dunn C.G. Industrial Microbiology.--  
Mc Graw Hill Book Co. 3a ed. 1959. Pp 370-385. 389.

58.- Pulz O.; Sandau E. Food Science and Technology Abs-  
tracts. IFIS. Vol.12. No.6. Jun 1980. 6M7280.

59.- Rainbow C.; Rose A.H. Biochemistry of Industrial --  
Microorganisms. Academic Press. 1963. Pp 300-305.

- 60.- Rivière J. Industrial Applications of Microbiology. John Wiley & Sons. 1a ed. 1977. Pp 172,173.
- 61.- Rose A.H. Ph. D. Industrial Microbiology. Butterworths & Co. 1961. Pp 214-216. London.
- 62.- Samaniego R.L.; Gonzales-Gapud V.S. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.15. No.1. Ene 1983. 1L3.
- 63.- Sanei K.K. Food Science and Technology Abstracts. - IFIS. Vol.15. No.7. Jul 1983. 7G546. (JP Pat 5739145B2).
- 64.- Sanei K.K. Gum Thickening Agents. Japanese Examined Patent 1982, JP 5716775.
- 65.- Sanderson G.R. Food Science and Technology Abstracts IFIS. Vol. 14. No.5. May 1982. 5L353.
- 66.- Sanderson G.R. Polysaccharides in Foods. Food Technology, Vol.35. No.7. Jul 1981. Pp 50-57, 83.
- 67.- Sanderson G.R. Progress in Food and Nutrition Science Vol.6. 1982. Pp 77-87.
- 68.- Sanderson G.R. The interaction of Xanthan Gum in -- Food Systems. Progress in Food and Nutrition Science. Pergamon Press. Vol.6. 1982. Pp 77-86.
- 69.- Sandfors P.A. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.12. No.9. Sep 1980. 9T447.
- 70.- Sandford P.A. Exocellular Microbial Polysaccharides. Advances in Carbohydrate Chemistry & Biochemistry. Vol.36. -- 1979. Pp. 268-296, 303-305.
- 71.- Schahjahan B.; Radeer M.A. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.16. No.8. Ago 1984. 8T434.



- 72.- Seeger B. Food Science and Technology Abstracts. --  
IFIS. Vol. 14. No.4. Abr 1982. 4T199.
- 73.- Shallenberger R.S.; Birch G.G. Sugar Chemistry. AVI  
Publishing Co. 1975. Pag 163.
- 74.- Shei K.H. Food Science and Technology Abstracts. --  
IFIS. Vol.9. No.8. Ago 1977. 8L583.
- 75.- Sidebotham R.L. Food Science and Technology Abstracts  
IFIS. vol.8. No.11. Nov 1976. 11L829.
- 76.- Sidebotham R.L. Dextrans. Advances in Carbohydrate-  
Chemistry & Biochemistry. Vol.30. 1974. Pp 373-386, 418-423,-  
442-444.
- 77.- Slodki M.E.; Cadmus M.C. Production of Microbial --  
Polysaccharides. Advances in Applied Microbiology. Vol.23. --  
1978. Pp 19-25. Academic Press.
- 78.- Smith I.H.; Pace G.W. Food Science and Technology -  
Abstracts. IFIS. Vol.15. No.3. Mar 1983. 3T141.
- 79.- Smith I.H.; Pace G.W. Recovery of Microbial Polysa-  
ccharides. Journal of Chemical Technology and Biotechnology.-  
Vol.32. No.1. 1982. Pp 119-123.
- 80.- Souw P.; Demain A.L. Food Science and Technology --  
Abstracts. IFIS. Vol.12. No.3. Mar 1980. 3T133.
- 81.- Stoloff L. Polysaccharide Hidrocolloids Commerce. -  
Advances in Carbohydrate Chemistry. Vol.13. 1958. Pp 265-287.
- 82.- Symes K.C. Food Science and Technology Abstracts. -  
IFIS. Vol. 13. No.6. Jun 1981. 6L422.
- 83.- Taylor R.J. Food Additives. John Wiley & Sons. 1980.  
Pag 21.

- 84.- Torrey S. Microbiological Syntheses. Recent Advances. Noyes Data Co. 1983. Pp 232-239.
- 85.- U.S. of America. food & Drug Administration. Federal Register 42 (Nov 1977). Food Science and Technology Abstracts IFIS. Vol 10. No.4. Apr 1978. 4U247.
- 86.- U.S. of America. Food & Drug Administration. Federal Register 43 (Jul 1978). Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.11. No.1. Ene 1979. 1U60.
- 87.- Urquidi R.L. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.10. No.10. Oct 1978. 10T374.
- 88.- Weisrock W.P.; Klein H.S. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.15. No.11. Nov 1983. 11T691.
- 89.- Winteradorff P. Food Science and Technology Abstracts IFIS. Vol.14. No.3. Mar 1982. 3T142
- 90.- Whitcomb P.J. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.9. No.3. Mar 1977. 3T166.
- 91.- Woodard G.; Woodard W.W.; McNeely W.H. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol.6. No.10. Oct 1974. 10T580.
- 92.- Zaid S.A.; Jafri J. Food Science and Technology Abstracts. IFIS. Vol12. No.6. Jun 1980. 6L383.
- 93.- Ziemba J.V.; Alikonis J.J. What's happening with -- Food Additives. Food Engineering. Vol.44. No.1. Ene 1972. Pp- 80,82,88.
- 94.- U.S. Patent 4218538. Church B.D. Dic 1977.