

Atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* de levana: Uma visão geral de pesquisas recentes

In vitro and *in vivo* antioxidant activities of levan: An overview of recent research

Actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo* del levan: Una descripción general de investigaciones recientes

Recebido: 14/10/2024 | Revisado: 26/10/2024 | Aceitado: 27/10/2024 | Publicado: 30/10/2024

Edmilson Clarindo de Siqueira¹

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6415-906X>
Secretaria de Educação e Esportes de Pernambuco, Brasil
E-mail: edclarindo@gmail.com

Bogdan Doboszewski²

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7372-0322>
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil
E-mail: bdoboszewski@hotmail.com

Resumo

As espécies reativas de oxigênio (ROS) são parte do metabolismo normal dos organismos vivos. Elas afetam o desempenho dos sistemas biológicos, resultando até mesmo no desenvolvimento de doenças. A eliminação das ROS representa uma estratégia eficaz na prevenção de doenças. Por sua vez, os antioxidantes são substâncias químicas que reduzem as ROS. Eles podem ter origem sintética ou de fontes naturais. Ao contrário dos antioxidantes sintéticos, os antioxidantes naturais normalmente não apresentam efeitos colaterais. Neste sentido, levana é um polissacarídeo de frutose obtido naturalmente de plantas e microrganismos. Suas propriedades biológicas incluem, principalmente, as atividades anticancerígena, antiinflamatória e antioxidante. Atualmente, levana recebeu uma atenção especial do ponto de vista de suas atividades antioxidantes. Por isso, o objetivo deste trabalho foi fazer uma revisão sobre o potencial do biopolímero levana como agente antioxidante. Trata-se de uma revisão integrativa da literatura, em que os dados coletados foram analisados pela técnica da Análise de Conteúdo. Os resultados desta investigação mostraram que sua ação antioxidante levana depende de uma combinação de fatores, tais como origem microbiana, peso molecular, tipo de ensaio aplicado e a concentração polimérica. A análise dos resultados sugere que levana é um excelente eliminador de ROS, podendo combater algumas patologias associadas ao estresse oxidativo.

Palavras-chave: Radicais livres; Polissacarídeos; Frutana; Levana; Atividade antioxidante.

Abstract

Reactive oxygen species (ROS) are part of the normal metabolism of living organisms. They affect the performance of biological systems, even resulting in the development of diseases. Eliminating ROS represents an effective strategy for preventing diseases. In turn, antioxidants are chemical substances that reduce ROS. They can be synthetic or from natural sources. Unlike synthetic antioxidants, natural antioxidants usually do not have side effects. In this sense, levan is a fructose polysaccharide obtained naturally from plants and microorganisms. Its biological properties mainly include anticancer, anti-inflammatory and antioxidant activities. Currently, levan has received special attention from the point of view of its antioxidant activities. Therefore, the objective of this work was to review the potential of the biopolymer levan as an antioxidant agent. This is an integrative literature review, in which the data found was analyzed using the Content Analysis technique. The results of this investigation showed that its antioxidant action depends on a combination of factors, such as microbial origin, molecular weight, type of assay Applied and polymer concentration. Analysis of the results suggests that levan is an excellent ROS scavenger and can combat pathologies associated with oxidative stress.

Keywords: Free radicals; Polysaccharides; Fructan; Levan; Antioxidant activity.

Resumen

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son parte del metabolismo normal de los organismos vivos. Afectan el rendimiento de los sistemas biológicos, llegando incluso a provocar el desarrollo de enfermedades. La eliminación de ROS representa una estrategia eficaz para la prevención de enfermedades. A su vez, los antioxidantes son sustancias

¹ Secretaria de Educação e Esportes de Pernambuco – SEE/PE, EREM Carlos Rios, Arcoverde-PE, 56505-0251, Brasil.

² Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 52171-900, Brasil.

químicas que reduzem as ROS. Podem ter origem sintética ou fontes naturais. A diferença dos antioxidantes sintéticos, os antioxidantes naturais não costumam ter efeitos secundários. Neste sentido, a levana é um polissacarídeo de frutose que se obtém de forma natural a partir de plantas e microrganismos. Suas propriedades biológicas incluem principalmente atividades anticancerígenas, anti-inflamatórias e antioxidantes. Atualmente, a levana recebeu especial atenção desde o ponto de vista de suas atividades antioxidantes. Por isso, o objetivo deste trabalho foi revisar o potencial do biopolímero levana como agente antioxidante. Trata-se de uma revisão integradora da literatura, na qual os dados recopilados foram analisados mediante a técnica de Análise de Conteúdo. Os resultados desta investigação demonstraram que sua ação antioxidante depende de uma combinação de fatores, como o origem microbiano, o peso molecular, o tipo de ensaio aplicado e a concentração do polímero. O análise dos resultados sugere que a levana é um excelente eliminador de ROS e pode combater algumas patologias associadas com o estresse oxidativo.

Palabras clave: Radicais livres; Polissacarídeos; Fructana; Levana; Atividade antioxidante.

1. Introdução

Os carboidratos são biomoléculas essenciais para a maioria dos organismos vivos e são classificados em monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos. Os polissacarídeos estão presentes em todas as formas de vida e são divididos em homopolissacarídeos e heteropolissacarídeos. Estes podem ainda ser subdivididos em carregados ou não carregados, repetitivos ou não repetitivos, ramificados ou não ramificados. Os polissacarídeos são produzidos e armazenados dentro da célula como polissacarídeos intracelulares, ou ficar ligados à superfície da célula como polissacarídeos estruturais, ou ainda ser secretados para o exterior da célula como exopolissacarídeos (Moradali & Rehm 2020).

Dentre os carboidratos classificados como exopolissacarídeos, a levana tem recebido uma atenção especial nos últimos anos por ser um polímero com potencial promissor em uma variedade de processos científicos e industriais. A levana é um homopolímero de frutose produzido por vários microrganismos e algumas poucas espécies de plantas (Kırtel *et al.*, 2019). Possui propriedades físico-químicas valiosas, que inclui baixa viscosidade, alta solubilidade em água e óleo, forte adesividade, capacidade de formação de filme, compatibilidade com sais e surfactantes, estabilidade ao calor, estabilidade nos meios ácidos e básicos, alta capacidade de retenção de água, entre outras (Öner, Hernández & Combie, 2016; Eroglu *et al.*, 2017; Combie & Öner, 2019; Siqueira, 2019; Siqueira *et al.*, 2020).

As propriedades excepcionais supracitadas posicionam a levana como um novo biopolímero funcional para a produção de insumos e artefatos nas indústrias alimentícia, cosmética, química e farmacêutica (Kang *et al.* 2009; Eroglu *et al.*, 2017; Combie & Öner, 2019). Nos setores de alimento e cosmético, a levana tem sido bastante utilizada como emulsificante, estabilizador e espessante, agente encapsulante, osmorregulador e crioprotetor. Por sua vez, a levana também possui aplicações biomédicas importantes, como substituto do plasma, prolongador da atividade de algumas drogas, radioprotetor, inibidor hiperglicêmico, agente anticancerígeno, anti-AIDS, anti-inflamatório e antioxidante (Freitas *et al.* 2011; Öner, Hernández, & Combie, 2016; Eroglu *et al.*, 2017; Siqueira *et al.*, 2020).

Por outro lado, para obter a energia necessária nos processos bioquímicos os organismos contam com o metabolismo oxidativo, o qual resulta na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). As ROS geradas nesses processos desempenham um papel na indução de muitas doenças crônicas, como doenças coronárias e carcinogênicas. As ROS incluem íons de oxigênio, peróxidos e radicais oxigenados livres, sendo estes últimos os mais reativos e prejudiciais às biomoléculas. A capacidade de eliminação dos radicais hidroxilas é amplamente aceita como uma ferramenta para avaliar o potencial antioxidante dos polissacarídeos (Liu *et al.*, 2014; Franco-Robles *et al.*, 2015; Bouallegue *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2020).

A atividade antioxidante dos polissacarídeos é altamente dependente de sua solubilidade, composição de monossacarídeos, estrutura do anel de açúcar, peso molecular e grupos funcionais, com ocorrência de grupos com carga positiva ou negativa (Moradali & Rehm 2020). Os efeitos antioxidantes dos polissacarídeos têm sido investigados em modelos químicos e biológicos. Esta atribuição tem sido apoiada pela capacidade destes biopolímeros em eliminar radicais gerados

quimicamente *in vitro* como radical hidroxila (HO[•]), superóxido (O₂^{•-}), ácido 2,2'-azino-bis(3-tilbenziazolina-6-sulfônico) (ABTS^{•+}), 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•]), entre outros (Franco-Robles *et al.*, 2015; Fernandes & Coimbra, 2023).

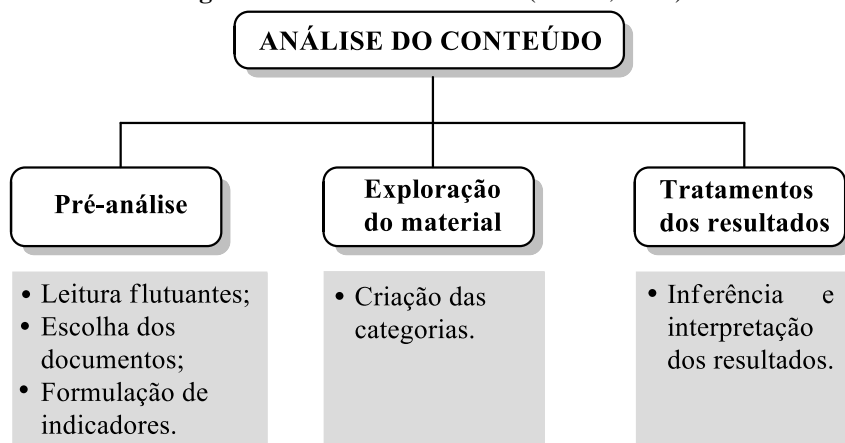
Embora a atividade antioxidante de levana com origem distinta tem sido bastante relatada (Esawy *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017; Vu *et al.*, 2021; Altıntaş *et al.*, 2022; Veerapandian *et al.*, 2023), até onde se sabe não há nenhum artigo de revisão acerca dessa abordagem. Portanto, o objetivo deste trabalho foi fazer uma revisão sobre o potencial do biopolímero levana como agente antioxidante.

2. Metodologia

Trata-se de uma revisão integrativa da literatura. Este método permite a sintetização do conhecimento e a compreensão da aplicabilidade de resultados de estudos significativos na prática (Souza, Silva & Carvalho 2022). Nessa perspectiva, esse trabalho tem a finalidade de reunir e sintetizar resultados de pesquisas sobre o potencial antioxidante de levana microbiana.

Para realizar a metodologia desta revisão foi realizado um levantamento eletrônico de estudos sobre o tema. Os dados foram analisados à luz da Análise de Conteúdo (Bardin, 2016) e foi executada de acordo com a Figura 1.

Figura 1 - Análise do Conteúdo (Bardin, 2016).



Fonte: Adaptado de Bardin (2016).

A Análise de Conteúdo tem como base a criação de categorias que consistem em agrupamentos que estejam previamente estabelecidos de forma expressiva. Para a execução da análise de conteúdo, foi utilizado as três premissas estabelecidas por Bardin (2016):

2.1 Pré-análise

Corresponde à leitura preliminar de todo o material coletado, leitura exploratória e criação das categorias de análise (Campanini & Rocha, 2021).

Nesta fase foi utilizada uma pesquisa sistemática para encontrar periódicos científicos que discutam atividades antioxidante do biopolímero levana. Para isso, foram privilegiadas produções com classificação A1, A2, B1 e B2 do Qualis da Capes, com recorte temporal definido entre 2012 e 2024.

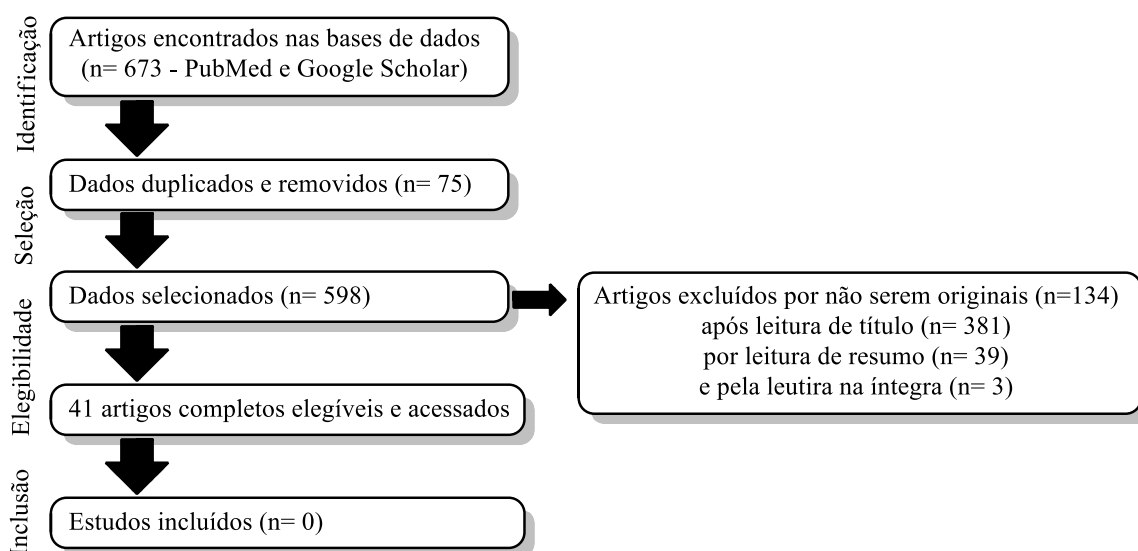
2.2 Exploração do material

A pesquisa foi realizada nos bancos de dados PubMed, SciELO e Google Acadêmico, utilizando os descritores em português e inglês, a saber: “Levana antioxidante” (*Levan antioxidant*), “Frutana antioxidante” (*Fructan antioxidant*) e “Exopolissacarídeo antioxidante” (*Exopolysaccharide antioxidant*). A maioria dos artigos foram encontrados no Google Acadêmico.

Nesta fase, foram realizadas leituras mais aprofundadas, assim como a seleção dos indicadores e a organização das informações coletadas. Além disso, foram feitos o descarte e agrupamento dos artigos por elementos específicos, como também a classificação desses elementos de acordo com a organização das ideias obtidas e suas variáveis (Campanini & Rocha, 2021).

A Figura 2 a seguir, apresenta o fluxograma, de acordo com a sequência PRISMA, para a seleção dos estudos encontrados.

Figura 2 – Fluxograma, explicativo das principais etapas de análises desenvolvidas na pesquisa.



Fonte: Adaptado de Santos *et al.* (2021).

2.3 Tratamentos dos dados

A interpretação dos dados foi realizada pela elaboração e construção de sentidos entre os dados coletados e a literatura pertinente (Campanini & Rocha, 2021; Santos *et al.*, 2021). A Análise de Conteúdo desenvolvida por Bardin (2016) auxilia na contextualização do estudo, uma vez que o passo a passo da técnica e as particularidades de cada fase são essenciais para validação e sua aplicação na pesquisa.

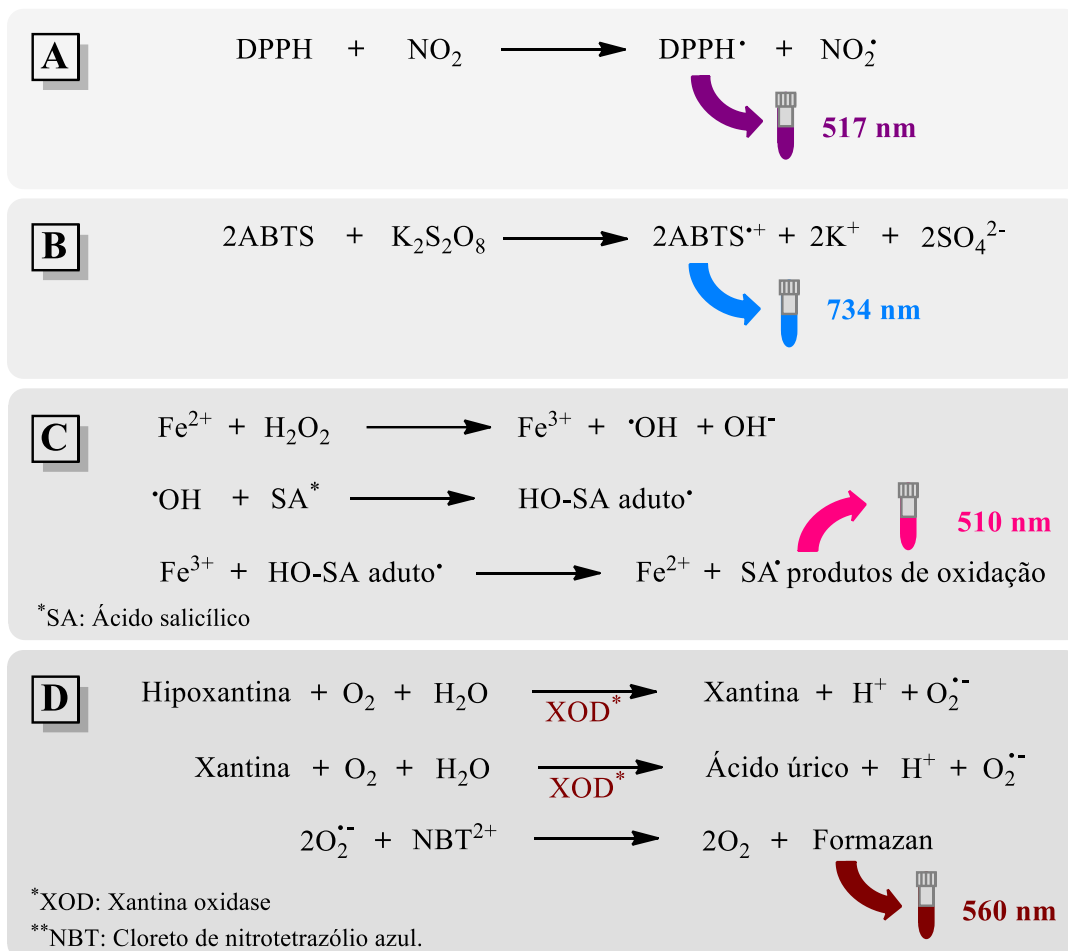
2.4 Ensaios utilizados para determinar a atividade antioxidante

As substâncias antioxidantes eliminam os radicais livres através de duas formas principais: transferência de átomo de hidrogênio (HAT) e transferência de elétron único (SET). O HAT depende do fornecimento de hidrogênio para conseguir a eliminação de radicais livres, enquanto que o SET é mediado pela transferência de elétrons (Wang *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2020).

Existem vários métodos de eliminação de radicais e, conseqüentemente, para a determinar a ação antioxidante de polissacarídeos. Os mais comuns incluem o ensaio de eliminação no radical DPPH, o ensaio do ABTS⁺, eliminação do radical

HO[•], eliminação do ânion O₂^{•-}. Estes ensaios baseiam-se em diferentes mecanismos de reação de SET (Wang *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2020; Fernandes & Coimbra, 2023), como mostra a Figura 3 a seguir:

Figura 3 - Métodos mais utilizados para determinar a atividade antioxidante em polissacarídeos.



Fonte: Adaptado de Fernandes & Coimbra (2023).

Uma breve descrição de cada ensaio apresentado na Figura 3 pode ser conferida nas seções a seguir.

2.4.1 Método 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

O método do DPPH é o mais utilizado para determinação da atividade antioxidante de polissacarídeos devido à sua simplicidade, baixo custo e resultados rápidos. A solução DPPH apresenta cor violeta medida em 517 nm (Figura 3.A). Ao reagir com um antioxidante, a cor desbota, atribuída à redução do radical em difenil-2-picril hidrazina via mecanismos de transferência de átomos de hidrogênio (Gulcin, 2020). O DPPH é solúvel em solventes orgânicos, geralmente etanol, o que impede sua aplicação generalizada para medir a atividade antioxidante de polissacarídeos que tendem a ser insolúveis nestes solventes (Fernandes & Coimbra, 2023).

2.4.2 Método do ácido 2,2'-Azino-bis(3-etilbenztiazolina-6-sulfônico) (ABTS⁺⁺)

O ABTS⁺⁺ é um radical catiônico produzido pela oxidação do reagente ABTS. O persulfato de potássio é utilizado como oxidante, formando uma cor azul intensa (Gulcin, 2020). O decaimento da cor é medido por espectrofotometria a 734 nm

(Xiao *et al.*, 2022; Fernandes & Coimbra, 2023), atribuído à redução de ABTS^{•+} após os mecanismos de transferência de átomo de hidrogênio e elétrons (Figura 3.B).

A solubilidade dos polissacarídeos em água, bem como do reagente ABTS, permite a utilização deste método para a determinação da atividade antioxidante de vários carboidratos. A representação dos dados neste método inclui, além dos valores de SC₅₀ (concentração suficiente para diminuir a concentração do radical em 50%), equivalentes de compostos solúveis em água como o padrão Trolox, ácido ascórbico, entre outros (Gulcin, 2020). A desvantagem deste método é que o ABTS^{•+} é um radical sintético, por isso a extrapolação do ensaio para efeitos biológicos não é possível, permitindo apenas a comparação entre as estruturas polissacarídicas (Fernandes & Coimbra, 2023).

2.4.3 Radical hidroxila (OH[•])

O radical HO[•] pode ser gerado a partir de O₂^{•-} e H₂O₂, bem como através da quelatação de íons de ferro ou cobre. A eliminação de HO[•] pode ser medida contabilizando a quantidade de Fe³⁺ livre na presença de H₂O₂ em soluções tamponadas neutras. Esta estratégia permite considerar tanto a eliminação de HO[•] como a quelatação de ferro como mecanismos antioxidantes de polissacarídeos (Gulcin, 2020). Para polissacarídeos, o mais comum é baseado em um sistema Fe²⁺ + H₂O₂ + ácido salicílico (Figura 3.C). Esta metodologia é baseada na geração de HO[•], assegurada pela redução de Fe³⁺ a Fe²⁺ por um aduto OH-ácido salicílico, e na hidroxilação do ácido salicílico, medida a 510 nm (Ning *et al.*, 2021). Estes resultados são frequentemente expressos como valores de concentração de SC₅₀.

2.4.4 Radical ânion superóxido (O₂^{•-})

O radical ânion O₂^{•-} é gerado a partir da transferência de elétrons para o dióxigênio molecular (O₂). Embora seja um oxidante fraco, o O₂^{•-} forma radicais OH[•] (altamente oxidantes) pela a reação com H₂O₂ (Gulcin, 2020).

Dentre os métodos disponíveis para eliminação de O₂^{•-}, os mais relevantes baseiam-se na geração de radicais utilizando xantina oxidase com hipoxantina ou xantina como substratos, aproximando este modelo de sistemas biológicos (Figura 3.D). O O₂^{•-} gerado é medido após sua oxidação em O₂ por uma sonda oxidante, geralmente cloreto de nitrotetrazólio azul (NBT), que é convertido em formazan. Essa reação altera a cor da solução do amarelo do NTB para o azul do formazan, permitindo sua medição espectrofotométrica em 560 nm. Na presença de antioxidantes, o O₂^{•-} é reduzido a H₂O₂, levando a uma menor formação de formazan (Gulcin, 2020).

Além dos ensaios supracitados há também aquele que mede a capacidade antioxidante de redução férrica (FRAP). Este ensaio consiste na redução do Fe³⁺ a Fe²⁺ na presença de tripiridiltriazina (TPTZ) para formar um complexo Fe²⁺-TPTZ de um azul intenso (Esawy *et al.*, 2016).

3. Resultados e Discussão

No levantamento deste estudo foram identificados 673 artigos (nas plataformas PubMed e Google Scholar). Destes, foram removidos 632 artigos: 75 artigos por repetição, 134 por não serem originais, 381 pelo título, 39 pelo resumo e 3 pela leitura na íntegra. Após os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos, foram selecionados 41 artigos.

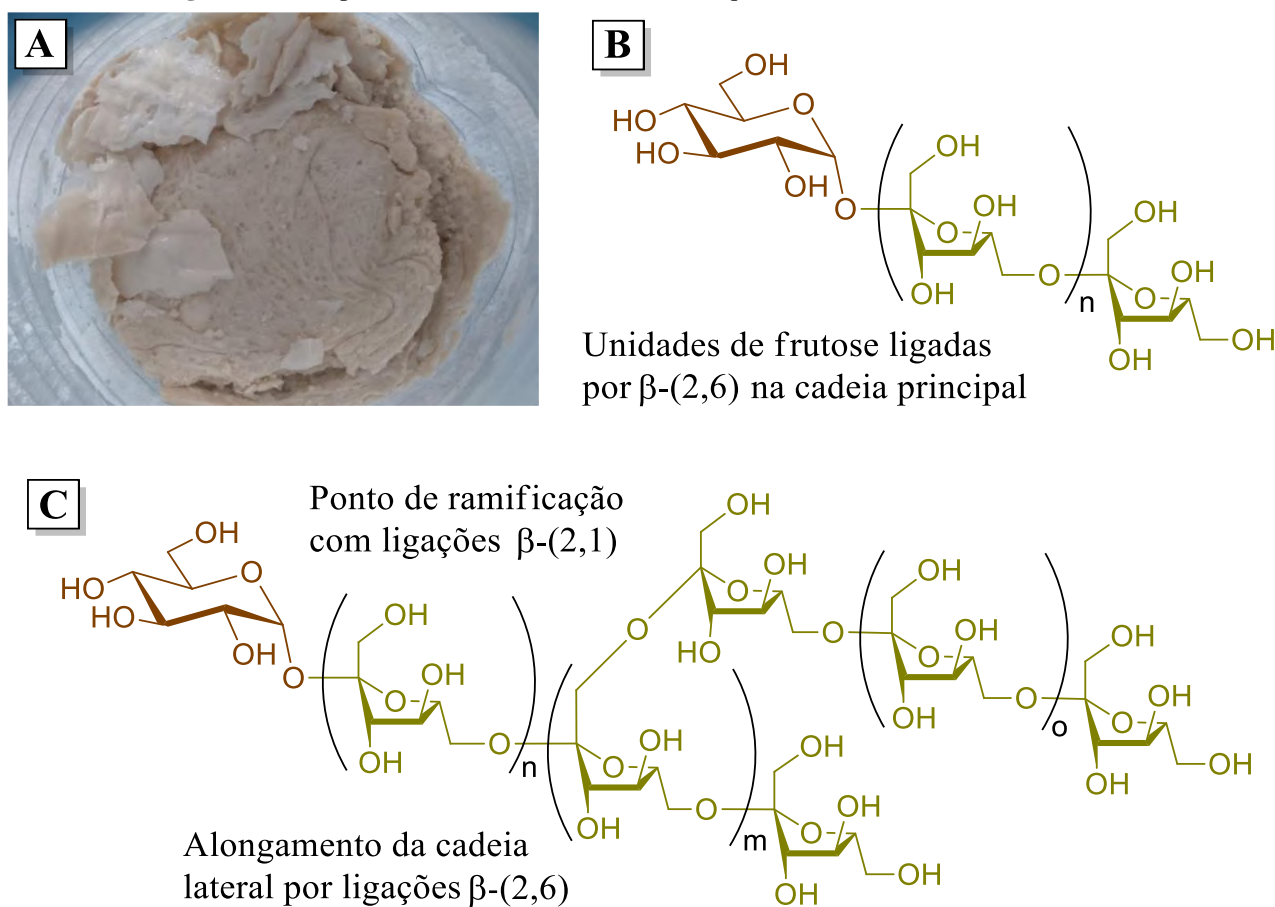
Dos 41 estudos finais selecionados, a maior parte (26: 63,41%), era sobre a ação antioxidante de levana na sua forma pura a partir de ensaios *in vitro* (Tabela 1). Enquanto que 4 estudos (9,75%) abordaram a ação antioxidante de levana, também na forma pura, só que por ensaios *in vivo*. Um número de 2 artigos foi encontrado sobre a ação antioxidante levana funcionalizada com grupos químicos. Enquanto que 4 (9,75%) artigos foram encontrados abordando a triagem de novos microrganismos produtores de levana com ação antioxidante. Por fim, 5 (12,19%) estudos investigaram os efeitos

antioxidantes de levana na forma de nanoestruturas. Vale salientar que alguns destes estudos abordaram mais de uma das temáticas supracitadas.

3.1 Considerações gerais sobre o biopolímero levana

O biopolímero levana (Figura 4.A) é formado por resíduos de frutose, que estão unidos por ligações β -(2,6) em uma cadeia principal (Figura 4.B) e ligações β -(2,1) em ramificações (Figura 4.C) que ocorrem esporadicamente (Srikanth *et al.*, 2015a; Öner, Hernández & Combie, 2016; Siqueira *et al.*, 2023).

Figura 4 - O biopolímero levana (A) e sua estrutura química linear (B) ou ramificada (C).

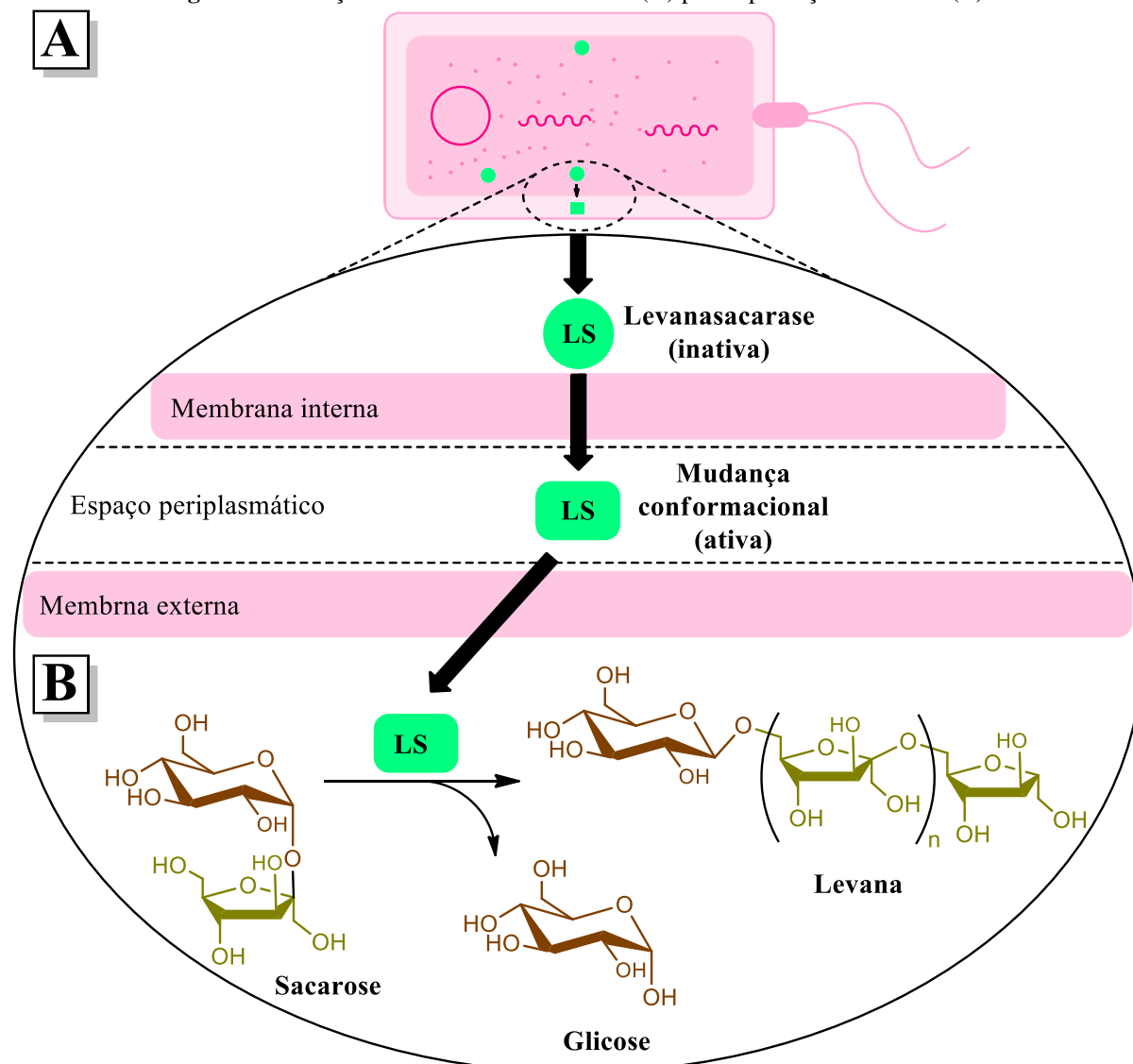


Fonte: Elaborado pelos autores usando o software ChemDraw (Siqueira *et al.*, 2023, adaptado).

A ocorrência de levana na natureza é bastante diversificada, sendo encontrada desde plantas, fungos e leveduras, arqueas e bactérias (Srikanth *et al.*, 2015a; Öner, Hernández & Combie, 2016; Kirtel *et al.*, 2019). No entanto, são as bactérias os microrganismos mais utilizados para a sua produção. Algumas destas bactérias, inclui *Acetobacter*, *Aerobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Gluconobacter*, *Halomonas*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* e *Zymomonas* (Srikanth *et al.*, 2015a; Öner, Hernández & Combie, 2016).

A síntese de levana ocorre no meio extracelular pela ação da enzima levanasacarase (EC 2.4.1.10), uma frutossiltransferase pertencente à família das hidrolases glicosídicas (Öner, Hernández & Combie, 2016; Siqueira *et al.*, 2023). A enzima utiliza a sacarose como substrato preferencial após ser ativada no espaço periplasmático (Figura 5.A) (Freitas *et al.*, 2011; Srikanth *et al.*, 2015a; Öner, Hernández & Combie, 2016; Siqueira *et al.*, 2019; Siqueira *et al.*, 2023).

Figura 5 - Ativação da enzima levanasacarase (A) para a produção de levana (B).



Fonte: Elaborado pelos autores usando o software ChemDraw (Siqueira *et al.*, 2023, adaptado).

Após sua ativação, a enzima levanasacarase (LS) atua sobre a sacarose promovendo sua hidrólise (Figura 5.B). A maior parte da glicose gerada na hidrólise da sacarose é utilizada no metabolismo bacteriano, sendo que algumas unidades podem ser utilizadas no início da cadeia de levana. Por sua vez, as unidades de frutose irão formar o biopolímero através da reação de transfrutossilacção (Srikanth *et al.*, 2015a; Öner, Hernández & Combie, 2016; Siqueira, 2019; Siqueira *et al.*, 2019; Siqueira *et al.*, 2020).

Por outro lado, a atividade dos antioxidantes ocorre por meio de duas vias básicas, seja pela eliminação de ROS ou pela inibição da síntese de ROS. Os compostos enzimáticos, exibem capacidade antioxidante por meio da degradação simples de ROS em intermediários menos prejudiciais. Alguns antioxidantes sintéticos, como hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno e ésteres de ácido gálico, exibem potencial antioxidante; no entanto, efeitos adversos à saúde limitam seu uso. Por sua vez, antioxidantes naturais exógenos, como vitaminas, carotenoides e compostos polifenólicos demonstraram alto potencial para eliminar e combater os níveis exacerbados de radicais livres (Wang *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017; Omran & Baek, 2021). Portanto, ao contrário dos antioxidantes sintéticos, os antioxidantes naturais normalmente não apresentam efeitos colaterais.

3.2 Atividade antioxidante de levana

As propriedades antioxidantes de levana foram estudadas usando ensaios *in vitro* e *in vivo* (Dahech *et al.*, 2013; Esawy *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017; Vu *et al.*, 2021). A Tabela 1 a seguir, apresenta diferentes tipos de levana com origens microbianas distintas e suas respectivas atividades antioxidantes.

Tabela 1 - Atividade antioxidante de levana produzida por diferentes microrganismos.

Microrganismos produtor	Concentração de levana	Método utilizado	Resultados	Referência
<i>Paenibacillus polymyxa</i> EJS-3	1 mg/mL	HO [•]	68,55%	Liu <i>et al.</i> , 2012
<i>Bacillus subtilis</i> NRC1aza	3,5 µg/mL	DPPH	SC ₅₀	Abdel-Fattah <i>et al.</i> , 2012
<i>Bacillus licheniformis</i>	5% (w/w)	TBARS	40% SOD 28% CAT	Dahech <i>et al.</i> , 2013
<i>B. subtilis</i>	0,8 mg/mL	DPPH	61,19%	Razack, Velayutham Thangavelu, 2014
<i>Acetobacter xylinum</i> NCIM2526	1,25 mg/mL	DPPH	81,26%	Srikanth <i>et al.</i> , 2015b
<i>B. subtilis</i> M	4,5 mg/mL	DPPH	56,25%	Esawy <i>et al.</i> , 2016
	2,5 mg/mL	Poder redutor	1,023	
	2,5 mg/mL	FRAP	2669 µmol TE/100g	
	0,5-2,5 mg/mL	ABTS	14,32-40,97 mg/mL	
<i>Lactobacillus plantarum</i> KX041	6 mg/mL	DPPH	82%	Wang <i>et al.</i> , 2017
	0,2 mg/mL	ABTS	83%	
	8 mg/mL	HO [•]	82,64%	
	8 mg/mL	H ₂ O ₂ (O ₂ ^{•-})	70,34%	
<i>B. fenoliresistens</i> KX139300	1250 µg/mL	DPPH	80,9%	Al-Halbosiy <i>et al.</i> , 2018
<i>B. subtilis</i> AF17	2 mg/mL	DPPH	70,27 µmol/mL (α-tocoferol)	Bouallegue <i>et al.</i> , 2019
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> S81	0.5-8,0 mg/mL (6,0 mg/mL)	DPPH	100%	Taylan, Yilmaz & Dertli, 2019
<i>B. subtilis</i> natto KB1	0,1 mg/mL	DPPH	57,3%	Domżał-Kędzia <i>et al.</i> , 2019
<i>B. licheniformis</i> BK1	NPs L-Fe ²⁺ 0,5 mg/mL	DPPH	88%	Hertadi, Amari & Ratnaningsih, 2020
	NPs L-Cu ²⁺ 0,5 mg/mL	DPPH	95%	
<i>B. subtilis</i> natto	10 mg/mL	DPPH	58%	Silva <i>et al.</i> , 2020
<i>Bacillus megaterium</i>	5 mg/mL	DPPH	94,79%	Pei <i>et al.</i> , 2020
		HO [•]	79,30%,	
		O ₂ ^{•-}	87,12%	
		ABTS ⁺	96,12%	
<i>Pantoea agglomerans</i> ZMR7	2 mg/mL	DPPH	89,3%	Al-Qaysi <i>et al.</i> , 2021
<i>B. licheniformis</i>	5 mg/mL	DPPH	75%	Hertadi, Permatasari & Ratnaningsih, 2021
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,1 mg/mL	DPPH	13,89%	Korany <i>et al.</i> , 2021
			SC ₅₀ (24,42 mg/mL)	
<i>B. subtilis</i> natto KB1	NPsL 100 µg/mL	DPPH	8,8%	Lewińska <i>et al.</i> , 2021
<i>B. subtilis</i> MT453867	20 µg/mL	DPPH	100%	Gamal <i>et al.</i> , 2021
<i>Bacillus velezensis</i> VTX20	4 mg/mL	DPPH	64,0%	Vu <i>et al.</i> , 2021
		HO [•]	40%,	
<i>B. subtilis</i>	450 µg/mL	DPPH	71,21%	Mummaleti <i>et al.</i> , 2022
	1.200 µg/mL	FRAP	2.146,84 µmol TE/100g	

<i>Halomonas elongata</i> 153B	200 µg/mL	DPPH	67,88%	Altıntaş <i>et al.</i> , 2022
<i>B. subtilis</i> natto	2,5 mg/mL	DPPH	72%	Silva <i>et al.</i> , 2022
<i>B. subtilis</i> MZ292983.1	10 mg/mL	DPPH	93,68%	Veerapandian <i>et al.</i> , 2023
<i>Chromohalobacter salexigens</i>	500 µg/mL	DPPH	64,01%	Aytar Çelik <i>et al.</i> , 2024
<i>B. megaterium</i> OP315322	200 µg/mL	DPPH	G: 99,66%	Wahab <i>et al.</i> , 2024
<i>Rhizobium sp.</i> OP363928.			K: 95,78%	
			M: 95,78%	

Fonte: Elaborado pelos autores.

Como mostrou a Tabela 1, atividade antioxidante de levana foi demonstrada em vários trabalhos, usando diferentes ensaios (Esawy *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017; Pei *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2020; Vu *et al.*, 2021). Esawy *et al.* (2016), demonstraram que levana de *B. subtilis* M possui ação antioxidante frente aos ensaios de DPPH, poder redutor, FRAP e ABTS. Usando levana de *B. velezensis* VTX20, Vu *et al.* (2021) também obtiveram bons resultados pelos os ensaios de DPPH (64,0%) e HO[•] (40%). Estes resultados são considerados bons para cada tipo de ensaio utilizado.

Além do tipo de ensaio utilizado, é importante destacar também a concentração usada do polímero. Por exemplo, Wang *et al.* (2017) verificaram que ação antioxidante de levana de *L. plantarum* KX041 era dependente da concentração (Tabela 1). Na concentração de 0,2 mg/mL, pelo o ensaio de ABTS, sua atividade antioxidante foi de 83%. Na dose de 6 mg/mL, com o ensaio de DPPH, a ação antioxidante foi de 82%. Já na concentração de 8 mg/mL, o efeito antioxidante foi de 70,34% e 82,64%, pelos ensaios de H₂O₂ (O₂^{•-}) e HO[•], respectivamente (Wang *et al.*, 2017).

Veerapandian *et al.* (2023) também observaram o mesmo comportamento com levana de *B. subtilis* MZ292983.1. A eliminação máxima de radicais DPPH (93,68%) foi alcançada em uma concentração de 10 mg/mL. É importante destacar que o DPPH é um radical livre estável à temperatura ambiente e é normalmente usado como uma ferramenta para avaliar a atividade de eliminação de radicais livres dos antioxidantes. As taxas de eliminação de DPPH aumentam gradualmente com o aumento da concentração da amostra (Zhang *et al.*, 2020), como foi observado anteriormente.

Outros trabalhos também demonstraram que o efeito antioxidante de levana pode variar com o método e a concentração polimérica. Pei *et al.* (2020) demonstraram que levana de *B. megaterium* tem forte ação antioxidante frente aos ensaios de DPPH, O₂^{•-}, HO[•] e ABTS⁺ em concentração variando de 0,5 a 5 mg/mL. Na concentração de 0,5 mg/mL, a ação antioxidante de levana foi de 35,34, 32,20, 21,07 e 42,06% para DPPH, O₂^{•-}, HO[•] e ABTS⁺, respectivamente. Na dose de 5 mg/mL, os efeitos de eliminação aumentaram para 94,78, 79,29, 87,12 e 96,12%, respectivamente.

Pelos os ensaios DPPH e FRAP, Mummaleti *et al.* (2022) verificaram uma forte ação antioxidante em levana de *B. subtilis*. Usado como padrão, o ácido ascórbico apresentou 100% de atividade antioxidante a 450 µg/mL; na mesma concentração, levana apresentou atividade de 71,21%. A atividade antioxidante de levana aumentou com o aumento da concentração, apresentando 100% de atividade na concentração de 1200 µg/mL. Nesta concentração, levana apresentou um valor máximo de FRAP de 2.146,84 µmol TE/100g (Mummaleti *et al.*, 2022).

Somado ao tipo de ensaio e a concentração utilizados, a ação antioxidante de levana pode variar de acordo sua origem. Por exemplo, levana de *B. subtilis* NRC1aza, gerou uma SC₅₀ de 3,5 µg/mL pelo o ensaio de DPPH (Abdel-Fattah *et al.*, 2012). Levana de *A. xylinum* NCIM2526 mostrou ação antioxidante de 81,26% na concentração de 1,25 mg/mL (Srikanth *et al.*, 2015b). Pelo mesmo método, levana de *P. agglomerans* ZMR7 demonstrou 16,3% de atividade antioxidante na concentração de 200 µg/mL. A maior atividade antioxidante desta levana foi observada na concentração de 2 mg/ml, exibindo 89,3% de atividade eliminadora (Al-Qaysi *et al.*, 2021). Na concentração de 200 µg/mL, levana de *H. elongata* 153B demonstrou efeito antioxidante um pouco menor (67,88%), mas considerado significativo (Altıntaş *et al.*, 2022).

Sabe-se que dentre os microrganismos produtores de levana (Tabela 1), aqueles pertencentes ao gênero *Bacillus* possuem uma maior demanda. Por exemplo, levana produzida por *B. subtilis* AF17 apresentou um efeito notável na eliminação

de radicais DPPH, em comparação com hidroxianisol butilado – BHA, usado como controle positivo (Bouallegue *et al.*, 2019). O poder redutor de levana e BHA foi avaliado em concentrações de 0,1 a 2 mg/mL. A 2 mg/mL a atividade antioxidante total de levana e BHA foi de 70,27 e 197 $\mu\text{mol/mL}$ (equivalentes de α -tocoferol), respectivamente. Já a SC_{50} de levana e BHA foi de 1,20 mg/mL e 0,06 mg/mL, respectivamente. Observou-se que o efeito antioxidante de levana era dependente da concentração (Bouallegue *et al.*, 2019).

Domżał-Kędzia *et al.* (2019), verificaram que levana de *B. subtilis* natto KB1 de baixo peso molecular (LMW) exerce forte atividade antioxidante nas concentrações de 0,01 a 1,00 mg/mL. A fração de LMW suprimiu a peroxidação lipídica da emulsão de óleo de linhaça em 57,35% (após o tratamento com o indutor, Fe^{2+}). Concluiu-se que LMW de *B. subtilis* natto KB1 possui um potencial antioxidante e, portanto, pode ser utilizado em diferentes áreas da biomedicina. Levana de *B. subtilis* natto aumentou sua atividade antioxidante com o aumento da concentração. Na concentração de 10 mg/mL, sua ação inibitória de DPPH foi de 58 % (Silva *et al.*, 2020).

A atividade antioxidante de levana de *B. subtilis* MT453867 na forma bruta (CL) e levana dializada (DL) foi determinada utilizando o ensaio DPPH (Gamal *et al.*, 2021). A CL inibiu completamente a atividade oxidativa do DPPH (100%) a 20 $\mu\text{g/mL}$, enquanto a DL causou apenas 37% da atividade de inibição a 25 $\mu\text{g/mL}$.

Como o estresse oxidativo está associado a várias doenças e lesões teciduais, a avaliação *in vivo* das propriedades antioxidantes de levana também foi realizada usando diversos modelos experimentais. Experimentos *in vivo* e teóricos sugerem fortemente que levana neutraliza o estresse oxidativo, agindo como genuína eliminadora de ROS (Dahech *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2014).

Belghith *et al.* (2012) investigaram os efeitos antioxidantes do levana de *B. licheniformis* em ratos com dieta rica em colesterol. Verificou-se que doses diárias de levana (5%) durante 60 dias alterou positivamente as atividades das enzimas antioxidantes plasmáticas e os perfis lipídicos. A administração de levana em ratos diabéticos induzidos por aloxana causou o aumento das enzimas superóxido dismutase (SOD) em 40%, 50%, 44 % e 34%, e catalase (CAT) em 18%, 20%, 12% e 18% no fígado, rim, pâncreas e coração, respectivamente. Além disso, foi observada uma redução significativa na toxicidade dos índices hepáticos e renais, ou seja, as atividades das fosfatases alcalinas (ALP), aspartato e lactato-transaminases (AST e ALT), bilirrubina total, creatinina e ureia em 19%, 31%, 32%, 36 %, 37% e 23%, respectivamente. A mesma levana foi investigada por Dahech *et al.* (2013), que também observaram um aumento significativo na atividade das enzimas SOD e CAT de 40% e 28%, respectivamente (Tabela 1).

Liu *et al.* (2014) investigaram a atividade antioxidante de levana de *Arctium lappa* L. (ALP1) por ensaios *in vitro* e *in vivo*. No primeiro ensaio, a taxa de eliminação de OH^{\bullet} para ALP1 foi de apenas 4,2%, na dose de 0,3125 mg/mL. No entanto, na concentração de 2,5 mg/mL, a taxa de eliminação OH^{\bullet} atingiu 99,19%. No ensaio *in vivo*, foi investigado o efeito de ALP1 sobre as enzimas antioxidantes em camundongos idosos. Com 200 mg/kg de peso corporal de ALP1, apenas a atividade da SOD foi aumentada no soro dos camundongos; enquanto que todas as doses de ALP1 aumentaram significativamente a atividade de CAT no fígado dos camundongos (Liu *et al.*, 2014).

Outro resultado interessante a ser destacado neste trabalho é a ALP1 diminuiu os níveis de malondialdeído (MDA) no soro e no fígado dos camundongos (Liu *et al.*, 2014). O MDA ($\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$) é um importante biomarcador utilizado na avaliação do estresse oxidativo. Os produtos da peroxidação lipídica, como MDA, podem ser utilizados como indicadores da ação dos radicais livres no organismo. O MDA possui ação citotóxica e genotóxica, encontrando-se em níveis elevados em algumas patologias associadas ao estresse oxidativo (Antunes *et al.*, 2008). Portanto, o trabalho Liu *et al.* (2014) reforça o potencial de ALP1 como antioxidante natural para a indústria alimentícia e farmacêutica.

Levana é aceito como um polissacarídeo atóxico e foi avaliado como seguro por muitos estudos científicos (Kang *et al.* 2009). Sabe-se que os valores de LD_{50} (dose letal mediana) e NOEL (nenhum nível efetivo observado) para levana são 7,5

g/kg de peso corporal e 1,5 g/kg/dia, respectivamente (Kang *et al.* 2009). O potencial antioxidante desta levana em condições de alta glicose em células beta pancreáticas (INS-1E), demonstrou uma correlação entre a redução do estresse oxidativo e a apoptose, com o seu tratamento (Kazak *et al.*, 2014). Além de oferecer proteção contra o estresse oxidativo, levana possui um forte efeito antioxidante associado à aterosclerose (Liu *et al.*, 2014; Öner, Hernández & Combie, 2016).

Haddar *et al.* (2020) testaram levana de *Bacillus mojavensis* contra a toxicidade induzida por tetracloreto de carbono (CCl₄) e cisplatina. O BHA foi utilizado como controle positivo. Foi verificada uma significativa atividade antioxidante, indicada pelo aumento das enzimas CAT, SOD e GPx e da diminuição da peroxidação lipídica. Além disso, a SC₅₀ de levana mostrou um valor de 1,11 mg/mL. Estes resultados foram obtidos em concentrações variando de 1 a 15 mg/mL (Haddar *et al.*, 2020).

Por fim, Song *et al.* (2022) avaliaram as funções de levana de *Erwinia herbicola* no estresse oxidativo em células osteoblásticas (MC3T3-E1) induzidas por lipopolissacarídeo (LPS). As células MC3T3-E1 foram incubadas com levana (50 mg/mL) por 72 h. A análise dos resultados mostrou que a levana aumentou significativamente a atividade de SOD (157%) e CAT (122%) em células osteoblásticas (Song *et al.*, 2022).

Em resumo, levana emergiu recentemente como antioxidante promissor em diversas indústrias, como cosmética, farmacêutica e biomedicina. Esta característica tem levado muitos pesquisadores a buscar por novos microrganismos produtores de levana em diversos ambientes no planeta.

3.3 Triagem de microrganismos produtores de levana com ação antioxidante

A seleção de estirpes microbianas que gerem altas frações de massa do bioprodutos ajudará a projetar sistemas de fabricação sustentáveis para produção de levana em larga escala (Siqueira & Oner, 2023).

Esawy *et al.* (2013) isolaram uma estirpe de *B. subtilis* M a partir do mel. A levana produzida pela cepa foi caracterizada e fracionada em F1, F2 e F3 com pesos moleculares de 21,8, 13,118, 9,53 kDa, respectivamente. A capacidade de absorção radical das frações foi testada contra os radicais peróxil (ROO[•]) e hidroxila (HO[•]) por um ensaio cinético. A fração F3 teve uma maior afinidade de eliminação de radicais tanto para ROO[•] quanto para HO[•]. O mesmo grupo de pesquisadores, obtiveram resultados semelhantes em um segundo trabalho (Esawy *et al.*, 2016), usando a mesma estirpe (Tabela 1).

Duas cepas de *B. subtilis* (HMNig-2 e MENO2) também foram isoladas de mel e utilizadas na produção de levana (Hamdy *et al.*, 2018). As levanas de *B. subtilis* HMNIG-2 e *B. subtilis* MENO2 foram avaliadas pelo método do DPPH e demonstraram atividades de 48% e 40% respectivamente na concentração de 3 mg/mL. Os autores destacam a importância desses isolados e a aplicação dos seus produtos na promoção da saúde (Hamdy *et al.*, 2018).

Salama *et al.* (2019) isolaram 18 cepas bacterianas do mel e observaram que todas expressavam o gene para a LS produtora de levana. O isolado *B. subtilis* NRC, identificado por exame morfológico e 16S rRNA, foi usado na produção de levana. Atividade antioxidante desta levana foi avaliada através dos ensaios de DPPH, ABTS, FRAP e poder redutor. Pelo método DPPH, a atividade variou de 8,17 a 26,71%. Pelo ensaio de FRAP, levana atingiu a taxa de 2105 µM Trolox/100g na concentração de 5 mg/mL. Pelo ensaio de ABTS⁺ sua atividade antioxidante foi de 17,94% e 51,51% para as concentrações de 1 mg/mL e 5 mg/mL, respectivamente (Salama *et al.*, 2019).

Cepas de *Pseudomonas* também têm sido isoladas e utilizadas na produção de levana. Korany *et al.* (2021) isolaram uma estirpe de *P. fluorescens* em solo egípcio e utilizaram-na para produzir levana. A atividade antioxidante desta levana foi avaliada pelo ensaio DPPH. Sua ação antioxidante foi de 13,89% na concentração de 0,1 mg/mL e o seu valor de SC₅₀ foi de 24,42 mg/mL, usando Trolox como padrão (Tabela 1).

Amostras de massa fermentada coletadas na província de Gümüşhane (Turquia) foram isoladas cepas de *L. mesenteroides* S81, as quais foram identificadas pelo sequenciamento do gene 16S rRNA (Taylan, Yilmaz & Dertli, 2019). A

levana produzida por *L. mesenteroides* S81 exibiu forte ação eliminatória de OH[•], que foi dependente da concentração. Na concentração de 6 mg/mL, a taxa de eliminação de levana atingiu quase 100% e o valor de SC₅₀ foi de 1,7 mg/mL.

Um total de 65 bactérias foram isoladas de pasta de soja fermentada na província de Phu Tho, Vietnã (Vu *et al.*, 2021). Após 48 h de incubação, seis isolados potentes foram selecionados. A partir da análise do rRNA 16S, foram classificados como *Enterococcus avium* VCN28, *Bacillus licheniformis* VTX18, *Bacillus velezensis* VTX20, *Variovorax paradoxus* VTX6, *Paracoccus aerius* VTX25 ou *Bacillus subtilis* VTX22. Dos seis isolados testados, a cepa *B. velezensis* VTX20 foi a que produziu a maior quantidade de levana (75,5 g/L). Pelo o ensaio de DPPH, a taxa máxima da atividade antioxidante para a levana de *B. velezensis* VTX20 foi de 64%.

Atualmente, os microrganismos extremófilos tornaram-se uma opção atraente como fábricas de células para a produção de levana (Siqueira & Oner, 2023). Por exemplo, uma cepa halofílica (*H. elongata* 153B, KF668257.1) foi isolada em Sivas (Turquia) e usada na produção de levana (Altıntaş *et al.*, 2022). A ação antioxidante desta levana foi avaliada na concentração de 200 µg/mL. Levana apresentou efeito antioxidante variando entre 19,67 e 67,88%, enquanto o do ácido ascórbico foi de 85 e 140%.

A triagem por microrganismos termofílicos também deve ser considerada na síntese de biopolímeros, uma vez que a temperatura é um parâmetro importante no processo de esterilização. Usando *Bacillus haynesii*, um microrganismo termofílico, Ağçeli (2023) produziu várias levanas em faixa de temperatura variando de 4°C-95°C. As levanas obtidas nas diferentes temperaturas foram avaliadas quanto a ação antioxidante e todas apresentaram atividade de 84% em média.

Por fim, um grupo de 87 bactérias isoladas foram investigadas quanto à presença do gene que codifica a LS (Aytar Çelik *et al.*, 2024). Através da análise de rRNA 16S, isolado P19-1 foi identificado como *Chromohalobacter salexigens*. A levana obtida de *C. salexigens* foi avaliada quanto a sua ação antioxidante nas doses entre 12,5 e 500 µg/mL. Na concentração de 500 µg/mL, levana exibiu atividade antioxidante de 64%.

Além da triagem por microrganismos produtores de levana com ação antioxidante, a modificação molecular desta frutana também tem contribuído bastante para este fim.

3.4 Levana funcionalizada e suas propriedades antioxidantes

A modificação molecular de polissacáridos tem como objetivo aumentar sua atividade biológica (Siqueira *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020). Os grupos hidroxílicos presentes na molécula de levana (Figura 4) podem ser modificados quimicamente pela adição ou substituição de grupos funcionais, gerando derivados com propriedades antioxidantes (Siqueira *et al.*, 2019).

Abdel-Fattah *et al.* (2012) avaliaram os efeitos antioxidantes de levana produzida por *B. subtilis* NRC1aza após sua funcionalização com grupos sulfato (SL1). Pelo ensaio de eliminação de DPPH, os autores observaram uma SC₅₀ de 1,5 µg/mL para SL1.

As modificações de levana de *P. polymyxa* EJS-3 por acetilação (AL), fosforilação (PL) e benzoilação (BL) melhoram significativamente a atividade antioxidante (Liu *et al.*, 2012). Na concentração de 1 mg/mL, as atividades de eliminação de HO[•] de AL, PL e BL foram de 77,8%, 47,3% e 89,8%, respectivamente. Já os valores de SC₅₀ para AL, PL e BL foram de 0,26, 0,21 e 0,33, respectivamente (Liu *et al.*, 2012).

Huang *et al.* (2020) relataram que a atividade antioxidante de levana produzida por *B. licheniformis* (cepa FRI MY-55) melhorou após a fosforilação (PL). A ação antioxidante de levana foi avaliada pelos ensaios de DPPH, ABTS, poder redutor, radical O₂^{•-} e radical hidroxila. Pelo ensaio de DPPH, o efeito antioxidante de PL (20,97%) foi cerca de 1,5 vezes maior que a da LL (14,51%). Pelo de ABTS a ação antioxidante de PL aumentou apenas ligeiramente em 4,2%. Pelo o teste do poder redutor foi aumentado em cerca de 40,8%. No ensaio de eliminação do radical superóxido foi aumentada em 35,3%. Por fim, a atividade de eliminação de HO[•] de PL foi aumentada em cerca de 6 vezes em relação à LL (Huang *et al.*, 2020).

Levana e seus derivados quimicamente modificados são atraentes para aplicações biomédicas atribuíveis às suas propriedades antiinflamatórias, antitumorais e antioxidantes (Kim & Chung, 2016). Somado às modificações químicas, levana também têm sido utilizadas no desenvolvimento de nanomateriais biologicamente ativos.

3.5 Nanomateriais à base de levana com propriedades antioxidantes

O papel antioxidante de nanomateriais à base de levana também têm sido extensivamente estudados (Kim & Chung, 2016; Siqueira *et al.*, 2020). Os nanoantioxidantes têm muitas vantagens sobre os antioxidantes convencionais, envolvendo maior biodisponibilidade, liberação controlada e entrega direcionada ao local de ação (Omran & Baek, 2023).

Devido às suas propriedades anfífilas, a principal aplicação do levana até agora tem sido a produção de nanopartículas. Nanopartículas de óxido de cério revestidas com levana (LCNPs) foram sintetizadas pela técnica de coprecipitação one-pot e sua ação antioxidante (Kim & Chung, 2016). A taxa de eliminação de DPPH foi de aproximadamente 85% para as LCNPs em pH 7. Já em pH 4, a atividade de eliminação diminuiu drasticamente. Além disso, os níveis de ROS foram reduzidos em células NIH3T3 induzidas por H₂O₂ após o tratamento com LCNPs revestidos com levana (Kim & Chung, 2016).

Levana de *B. licheniformis* BK1 foi utilizada como incipiente em quatro nanopartículas metálicas (NPsLFe²⁺, NPsLCu⁺, NPsLCo²⁺ e NPsLZn²⁺) (Hertadi, Amari & Ratnaningsih, 2020). As NPsLFe²⁺ e NPsLCu⁺ exibiram atividade antioxidante proeminente com um nível de inibição de até 88% e 95%, respectivamente.

Usando uma levana produzida por *B. subtilis* natto KB1, Lewińska *et al.* (2021) examinaram o efeito antirradicalar de nanopartículas e nanoemulsão à base desta levana em protótipos de formulações cosméticas (creme, tônico e soro). Destes protótipos, o creme contendo nanopartículas e nanoemulsão de levana foi capaz de eliminar 88% do DPPH após 5 min, e 100% após 30 min.

A disponibilidade de levana como um ligante biológico para obter materiais biocompósitos foi demonstrada por Chełminiak-Dudkiewicz *et al.* (2023), que prepararam e caracterizaram um tipo de esponja porosa à base de levana e óleo de cannabis (Lev@CBDs). A capacidade antioxidante da esponja foi avaliada pelo teste de eliminação DPPH. A esponja Lev@CBD apresentou uma atividade antioxidante de 68,93% na concentração 500 µg/mL, enquanto o ácido ascórbico apresentou atividade de 90,83% na mesma concentração (Chełminiak-Dudkiewicz *et al.*, 2023).

Kop *et al.* (2019) desenvolveram um híbrido supramolecular a partir do encapsulamento de fulereno (C₆₀) com levana de *B. licheniformis* NS032. A atividade antioxidante do híbrido foi investigada pelo método de eliminação de DPPH. Os autores observaram que a capacidade de sequestro de radicais do fulereno permaneceu preservada, e um efeito positivo da hidrofobização do levana foi observado.

Devido às suas propriedades de adsorção, levana tem um alto potencial para a formação de filmes. Mujtaba *et al.* (2023) avaliaram o efeito protetor de filmes combinados à base de quitosana (CH), mucilagem de chia (CH-MLG) e levana (LVN) no revestimento de cereja doce. A levana utilizada foi produzida por *Halomonas smynensis* AAD6^T. A interação entre o tempo de armazenamento e os tratamentos de revestimento mostrou efeitos significativos na atividade antioxidante das frutas. A atividade antioxidante na colheita foi registrada como 28,75 mg fw. No final do período de vida útil, a maior atividade antioxidante (33,43 mg fw) foi registrada com os filmes de CH-LVN e a menor (47,07 mg fw) com os filmes à base de CH (Mujtaba *et al.*, 2023).

Finalmente, Silva *et al.* (2020) avaliaram as propriedades antioxidante de um cosmético multifuncional à base de levana e óleo essencial de canela. As formulações cosmecêuticas foram desenvolvidas usando ammonium acryloyldimethyltaurate/VP copolymer, contendo levana a 1 % e óleo de canela a 0,5 %, 1% e 2 %. Os ativos levana e o óleo de canela apresentaram atividade antioxidante máxima de 58% e 21% respectivamente na concentração de 10 mg/mL.

O mecanismo da atividade antioxidante de levana ainda não está bem claro. Algumas hipóteses apontam que esta atividade pode estar relacionada à estrutura molecular desta frutana, uma vez que levana possui muitos grupos hidroxilas (Figura 4). Os resultados indicam que o potencial redutor e a forte atividade antioxidante de levana se devem à capacidade desta frutana de encerrar a reação em cadeia dos radicais livres, doando um elétron aos radicais livres (Kim & Chung, 2016; Mummaleti *et al.*, 2022). No geral, todos os ensaios *in vitro* demonstraram que levana possui um grande potencial para ser desenvolvido como antioxidante natural (Esawy *et al.* 2016).

Por sua vez, os ensaios antioxidantes *in vivo* podem refletir as implicações biológicas, incluindo o efeito sobre as enzimas antioxidantes, as vias metabólicas relacionadas à oxidação e a ativação ou repressão da expressão gênica de compostos e enzimas antioxidantes. Foi relatado que levana atua sobre SOD, GPx e CAT, as principais enzimas antioxidantes endógenas, aumentando suas concentrações. Essas enzimas são consideradas a primeira linha de defesa contra ROS geradas *in vivo* durante o estresse oxidativo. Portanto, o efeito de levana no aumento dos níveis dessas enzimas estar relacionado à melhoria dos danos oxidativos nas células ou organismos (Belghith *et al.*, 2012; Dahech *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2014).

A bioprospecção de microrganismos produtores de levana com ação antioxidante pode abrir novas fronteiras neste aspecto ao permitir o uso de sistemas de produção microbiana mais eficientes. Embora, as levanas produzidas por espécies de *Bacillus* emergiram recentemente como antioxidantes comerciais promissores, pouco se sabe sobre a produção desta frutana por *Bacillus velezensis* VTX20, bem como sua biossíntese genética, características e atividade antioxidante resultante (Vu *et al.*, 2021).

Sabe-se que a atividade biológica dos polissacarídeos pode ser afetada por vários fatores, inclusive a presença de grupos funcionais (Moradali & Rehm 2020; Pei *et al.*, 2020). A modificação química com grupos carboximetil, sulfato e fosfato aumentam a carga negativa superficial de levana, causando expansão da cadeia e repulsões eletrostáticas intermoleculares. Isso a torna o polímero mais solúvel em água, aumentando sua atividade antioxidante (Xia *et al.*, 2021). Dentre os grupos carregados negativamente, os carboximetilados foram melhores antioxidantes do que os derivados sulfatados e fosforilados (Fernandes & Coimbra, 2023).

Como já foi relatado, Zhang *et al.* (2020) usaram uma frutana (AAP70-1) extraída de *Anemarrhena asphodeloides* Bunge e realizaram as modificações químicas para obter os derivados carboximetilado (CM-AAP70-1s) e sulfatado (SAAP70-1). Os efeitos de eliminação de radicais dos derivados carboximetilados foram superiores aos dos sulfatados. A introdução de grupos carboximetil aumentou significativamente a solubilidade em água de AAP70-1, melhorando as atividades antioxidantes (Zhang *et al.*, 2020).

A substituição por grupos hidrofóbicos, como benzoíla e acetila, também atribuiu propriedades antioxidantes melhoradas à levana. Levana na forma benzoilada teve maior eliminação de OH[•] que aquela com grupo acetila (Liu *et al.*, 2012). Isso pode ser atribuído aos elétrons desemparelhados do anel aromático benzoíla, que favorecem à eliminação de radicais e quelação de metais (Fernandes & Coimbra, 2023).

Atualmente, vários nanomateriais à base de levana tem sido desenvolvido, incluindo micro e nanopartículas poliméricas, nanopartículas metálicas, micropartículas magnéticas, nanofilmes, nanocompósitos, nanogéis e nanofibras (Siqueira *et al.*, 2020). As propriedades antioxidantes intrínsecas dos nanomateriais dependem de sua configuração ajustável, propriedades físico-químicas, cristalinidade, carga de superfície, tamanho de partícula, relação superfície-volume e revestimento de superfície (Omran & Baek, 2021). No geral, todos esses nanomateriais à base de levana têm demonstrados atividades antioxidantes.

4. Considerações Finais

Neste estudo, o principal objetivo foi avaliar o potencial antioxidante de levana. Os resultados desta investigação mostraram que sua ação antioxidante pode depender de uma combinação de fatores, tais como origem microbiana, peso molecular, tipo de ensaio aplicado e a concentração polimérica utilizada. Tomados em conjunto, esses resultados sugerem que levana pode atuar como um eliminador de espécies reativas de oxigênio, podendo combater algumas patologias associadas ao estresse oxidativo.

Os experimentos recentes *in vitro*, *in vivo* e teóricos sugerem fortemente que levana neutraliza o estresse oxidativo, agindo como captador genuíno de espécies reativas de oxigênio. Contudo, o mecanismo desta atividade ainda não está totalmente elucidado. Mais pesquisas são necessárias e devem ser concentradas principalmente na relação entre a estrutura molecular desta frutana e sua função antioxidante.

Levana é um polissacarídeo neutro e possui atividade antioxidante menos eficaz que as suas formas modificadas quimicamente, principalmente àquelas com grupos carregados negativamente, como sulfatos, fosfatos e carboxilatos. Os polissacarídeos carregados negativamente possuem excelentes propriedades de quelação com metais, que resultam em propriedades antioxidantes melhoradas. Diferentemente dos polissacarídeos carregados negativamente, levana forma preferencialmente complexos de coordenação, que tem menor estabilidade energética, sendo favorável à geração de radicais.

Devido às propriedades excepcionais, levana tem sido posicionada como um candidato atraente no desenvolvimento de nanomateriais sustentáveis. Ao explorar ainda mais o potencial nanotecnológico deste biopolímero é possível angariar novas oportunidades para aplicações inovadoras que beneficiam várias indústrias e contribuem para avanços nos cuidados de saúde, conservação ambiental e biotecnologia. Apesar de se enquadrar no conceito de antioxidante, o papel deste biopolímero necessita ainda ser bem definido de acordo com a matriz nanoestruturada, a qual está envolvido.

Este estudo levantou questões importantes sobre a natureza bioativa de levana, com foco principal nos seus efeitos antioxidantes. Os resultados apresentados aqui podem aumentar o campo em rápida expansão acerca de ingredientes alimentares promovedores de boa saúde. A limitação mais importante deste estudo se restringiu às poucas informações acerca do mecanismo de ação antioxidante de levana.

Referências

- Abdel-Fattah, A. M., Gamal-Eldeen, A. M., Helmy, W. A. & Esawy, M. A. (2012). Antitumor and antioxidant activities of levan and its derivative from the isolate *Bacillus subtilis* NRC1aza. *Carbohydrate Polymers*, 89(2), 314–322.
- Ağçeli, G. K. (2023). Similarities and differences of nano-sized levan synthesized by *Bacillus haynesii* at low and high temperatures: Characterization and bioactivity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253(Pt 3), 126804.
- Al-Qaysi, S. A. S., Al-Haideri, H., Al-Shimmary, S. M., Abdulhameed, J. M., Alajrawy, O. I., Al-Halbosi, M. M., Moussa, T. A. A. & Farahat, M. G. (2021). Bioactive Levan-Type Exopolysaccharide Produced by *Pantoea agglomerans* ZMR7: Characterization and Optimization for Enhanced Production. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(5), 696–704.
- Altıntaş, Ö. E., Öner, E. T., Çabuk, A. & Çelik, P. A. (2022). Biosynthesis of Levan by *Halomonas elongata* 153B: Optimization for Enhanced Production and Potential Biological Activities for Pharmaceutical Field. *Journal of Polymers and the Environment*, 1–16.
- Antunes, M. V.; Lazzaretti, G.; Gamaro, G. D.; Linden, R. (2008). Estudo pré-analítico e de validação para determinação de malondialdeído em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 44 (02), 279–287.
- Aytar Çelik, P. A., Barut, D., Altıntaş, Ö. E., Enuh, B. M., Yaman, B. N., Mutlu, M. B., Çabuk, A. & Öner, E. T. (2024). QPCR-guided screening of levansucrase: levan characterization and genomic insights. *Journal of Polymers and the Environment*, 1–14.
- Bardin, L. (2016). Análise do conteúdo. Edições 70.
- Belghith, K. S., Dahech, I., Hamden, K., Feki, A., Mejdoub, H. & Belghith, H. (2012). Hypolipidemic effect of diet supplementation with bacterial levan in cholesterol-fed rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(4), 1070–1074.

- Bouallegue, A., Casillo, A., Chaari, F., La Gatta, A., Lanzetta, R., Corsaro, M. M., Bachoual, R. & Ellouz-Chaabouni, S. (2019). Levan from a new isolated *Bacillus subtilis* AF17: Purification, structural analysis and antioxidant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 316–324.
- Campanini, B. D. & Rocha, M. B. (2021). O teatro na educação brasileira para a construção do pensamento científico: um estudo na formação inicial de professores. *Ciência & Educação*, 27, e21073, 1–17.
- Chełminiak-Dudkiewicz, D., Machacek, M., Długaszewska, J., Wujak, M., Smolarkiewicz-Wyczachowski, A., Bocian, S., Mylkie, K., Goslinski, T., Marszall, M. P. & Ziegler-Borowska, M. (2023). Fabrication and characterization of new levan@CBD biocomposite sponges as potential materials in natural, non-toxic wound dressing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 126933, 1–16.
- Combie, J. & Öner, E. T. (2019). From healing wounds to resorbable electronics, levan can fill bioadhesive roles in scores of markets. *Bioinspiration & Biomimetics*, 14(01), 1–11.
- Dahech, I., Fakhfakh, J., Damak, M. & Belghith, H. (2013). Structural determination and NMR characterization of a bacterial exopolysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 59, 417–422.
- Domżał-Kędzia, M., Lewińska, A., Jaromi, A., Weselski, M., Pluskota, R. & Łukaszewicz, M. (2019). Fermentation parameters and conditions affecting levan production and its potential applications in cosmetics. *Bioorganic Chemistry*, 1–8.
- Eroglu, M. S., Oner, E. T., Mutlu, E. C. & Bostan, M. S. (2017). Sugar based biopolymers in nanomedicine; New emerging era for cancer imaging and therapy. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 17(11), 1–14.
- Esawy, M. A., Amer, H., Gamal-Eldeen, A. M., El Enshasy, H. A., Helmy, W. A., Abo-Zeid, M. A. M., Malek, R., Ahmed, E. F. & Awad, G. E. A. (2013). Scaling up, characterization of levan and its inhibitory role in carcinogenesis initiation stage. *Carbohydrate Polymers*, 95, 578–587.
- Esawy, M. A., Hashem, A. M., Ahmed, E. F., Taie, H. A. A., El Aty, A. A. A., Salama, B. M., Gamal, A. A. & Awad, G. E. A. (2016). Sequential optimization by statistical designs for levansucrase and levan production by *Bacillus subtilis* M and its evaluation of antioxidant activity. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(8), 475–485.
- Fernandes, P. A. R., Coimbra, & M. A. (2023). The antioxidant activity of polysaccharides: A structure-function relationship overview. *Carbohydrate Polymers*, 314, 15, 120965, 1–15.
- Franco-Robles, E. & López, M. G. (2015). Implication of Fructans in Health: Immunomodulatory and Antioxidant Mechanisms. *The Scientific World Journal*, 289267, 1–15.
- Freitas, F., Alves, V. D. & Reis, M. A. M. (2011). Advances in bacterial exopolysaccharides: From production to biotechnological applications. *Trends in Biotechnology*, 29 (8), 388–398.
- Gamal, A. A., Abbas, H. Y., Abdelwahed, N. A. M., Kashef, M. T., Mahmoud, K., Esawy, M. A. & Ramadan, M. A. (2021). Optimization strategy of *Bacillus subtilis* MT453867 levansucrase and evaluation of levan role in pancreatic cancer treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 1, 1590–1601.
- Gulcin, I. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of Toxicology*, 94 (3), 651–715.
- Haddar, A., Feriani, A., Hamed, M., Sila, A. & Ellouz-Chaabouni, S. (2021). Preventive effect of *Bacillus mojavensis* levan against carbon tetrachloride and cisplatin toxicity: in vivo study. *Environmental Science and Pollution Research*, 1–10.
- Hamdy, A. A., Elattal, N. A., Amin, M. A., Ali, A. E., Mansour, N. M., Awad, G. E. A., Farrag, A. R. H. & Esawy, M. A. (2018). In vivo assessment of possible probiotic properties of *Bacillus subtilis* and prebiotic properties of levan. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 190–197.
- Hertadi, R., Amari, M. M. S., Ratnaningsih, E. (2020). Enhancement of antioxidant activity of levan through the formation of nanoparticle systems with metal ions. *Heliyon*, 6, e04111, 1–9.
- Hertadi, R., Permatasari, N. U. & Ratnaningsih, E. (2021). Box-Wilson Design for Optimization of in vitro Levan Production and Levan Application as Antioxidant and Antibacterial Agents. *Iranian Biomedical Journal*, 25(3), 202–212.
- Huang, T.-T., Huang, M.-Y., Tsai, C.-K. & Su, W.-T. (2020). Phosphorylation of levan by microwave-assisted synthesis enhanced anticancer ability. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 1–9.
- Kang, S. A., Jang, K. H., Seo, J. W., Kim, K. H., Kim, Y. H., Rairakhwada, D., Seo, M. Y., Lee, J. O., Ha, S. D., Kim, C. H., Rhee, S. K. (2009). Levan: applications and perspectives. In: Rehm, B. H. A. (ed.), *Microbial production of biopolymers and polymer precursors: applications and perspectives*. Caister Academic Press, ISBN: 978-1-904455-36-3, pp. 145–161.
- Kazak, H., Barbosa, A. M., Baregzy, B., Alves da Cunha, M. A., Toksoy Oner, E., Dekker, R. F. H. & Khaper, N. (2014). Biological activities of bacterial levan and three fungal β -glucans botryosphaeran and lasiodiplodan under high glucose condition in the pancreatic β -cell line INS-1E. In: Popescu, L. M., Hargens, A. R., Singal, P. K. (eds.). *Adaptation Biology and Medicine: New Developments*, vol. 7, Narosa Publishing House, New Delhi, pp.105–115.
- Kim, S. J. & Chung, B. H. (2016). Antioxidant activity of levan coated cerium oxide nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 150, 400–407.
- Kirtel, O., Lescliner, E., Van den Ende, W. & Öner, E. T. (2019). Discovery of fructans in Archaea. *Carbohydrate Polymers*, 149–156.
- Kop, T. J., Jakovljević, D. M., Živković, L. S., Žekić, A., Beškoski, V. P., Milić, D. R., Gojgić-Cvijović, G. D. & Bjelaković, M. (2020). Polysaccharide-fullerene supramolecular hybrids: Synthesis, characterization and antioxidant activity. *European Polymer Journal*, 123, 109461, 1–10.

- Korany, S. M., El-Hendawy, H. H., Sonbol, H. & Hamada, M. A. (2021). Partial characterization of levan polymer from *Pseudomonas fluorescens* with significant cytotoxic and antioxidant activity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(11), 6679–6689.
- Lewińska, A., Domzał-Kędzia, M., Kierul, K., Bochynek, M., Pannert, D., Nowaczyk, P. & Łukaszewicz, M. (2021). Targeted hybrid nanocarriers as a system enhancing the skin structure. *Molecules*, 26, 1063, 1–20.
- Liu, J., Luo, J., Ye, H. & Zeng, X. (2012). Preparation, antioxidant and antitumor activities in vitro of different derivatives of levan from endophytic bacterium *Paenibacillus polymyxa* EJS-3. *Food and Chemical Toxicology*, 50 (3-4), 767–772.
- Liu, W., Wang, J., Zhang, Z., Xu, J., Xie, Z., Slavin, M. & Gao, X. (2014). In vitro and in vivo antioxidant activity of a fructan from the roots of *Arctium lappa* L. *International Journal of Biological Macromolecules*, 65, 446–453.
- Moradali, M. F. & Rehm, B. H. A. (2020). Bacterial biopolymers: from pathogenesis to advanced materials. *Nature Reviews (Microbiology)*, 18, 195-210.
- Mujtaba, M., Ali, Q., Yilmaz, B. A., Kurubas, M. S., Ustun, H., Erkan, M., Kaya, M., Cicek, M. & Oner, E. T. (2023). Understanding the effects of chitosan, chia mucilage, levan based composite coatings on the shelf life of sweet cherry. *Food Chemistry*, 416, 135816, 1–16.
- Mummaleti, G., Sarma, C., Kalakandan, S. K., Gazula, H., Sivanandham, V. & Anandharaj, A. (2022). Characterization of levan produced from coconut inflorescence sap using *Bacillus subtilis* and its application as a sweetener. *LWT - Food Science and Technology*, 154, 112697.
- Ning, X., Liu, Y., Jia, M., Wang, Q., Sun, Z., Ji, L., Mayo, H. M., Zhou, Y., & Sun, L. (2021). Pectic polysaccharides from radish *Sophora tonkinensis* exhibit significant antioxidant effects. *Carbohydrate Polymers*, 262, Article 117925.
- Omran, B. & Baek, K-H. (2023). Nanoantioxidants: Pioneer Types, Advantages, Limitations, and Future Insights. *Molecules*, 26, 7031, 1–37.
- Öner, E. T., Hernández, L. & Combie, J. (2016). Review of Levan polysaccharide: From a century of past experiences to future prospects. *Biotechnology Advances*, 34(5), 827–844.
- Pei, F., Ma, Y., Chen, X. & Liu, H. (2020). Purification and structural characterization and antioxidant activity of levan from *Bacillus megaterium* PFY-147. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161, 1181–1188.
- Razack, S. A., Velayutham, V., Thangavelu, V. (2014). Medium optimization and in vitro antioxidant activity of exopolysaccharide produced by *Bacillus subtilis*. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 31(2), 296–303.
- Salama, B. M., Helmy, W. A., Ragab, T. I. M., Ali, M. M., Taie, H. A. A. & Esawy, M. A. (2019). Characterization of a new efficient low molecular weight *Bacillus subtilis* NRC16 levansucrase and its levan. *Journal of Basic Microbiology*, 59, 1004–1015.
- Santos, I. V. *et al.* (2021). Óleos essenciais utilizados no tratamento de neuralgias: Uma revisão sistemática. *Research, Society and Development*, 10, 5, e6710514606, 1-14.
- Silva, R. T., Bersaneti, G. T., Chideroli, R. T., Pereira, U. P., Lonni, A. A. S. G., Bigotto, B. G. & Celligoi, M. A. P. C. (2020). Propriedades biológicas da levana de *Bacillus subtilis* natto e do óleo essencial de canela para aplicação em formulações cosmeceúticas. *Brazilian Journal of Development*, 6, 5, 23009–23024.
- Siqueira, E. C. (2019). Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados à base do biopolímero levana contendo paromomicina. 2019, 161 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular Aplicada) - Universidade de Pernambuco, Recife.
- Siqueira, E. C., Doboszewski, B., Rebouças, J. S., Pinheiro, I. O., Öner E. T. & Formiga, F. R. (2019). Molecular Modification of Levan and Biotechnological Applications of its Derivatives. In: Duru, Ö. A. (ed.). *Microbial Exopolysaccharides: Current Research and Developments*. Caister Academic Press, U. K., 247–294.
- Siqueira, E. C., Rebouças, J. S., Pinheiro, I. O., & Formiga, F. R. (2020). Levan-based nanostructured systems: An overview. *International Journal of Pharmaceutics*, 580, 119242, 1–11.
- Siqueira, E. C., Alves, A. A., Silva, P. E. C., Barros, M. P. S. & Houllou, L. M. (2023). Polyhydroxyalkanoates and exopolysaccharides: An alternative for valuation of the co-production of microbial biopolymers. *Biotechnology Progress*, 23, e3412, 1-9.
- Siqueira, E. C. & Öner, E. T. (2023). Co-production of levan with other high-value bioproducts: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 235, 123800, 1–10.
- Song, Y., Zhang, H., Song, Z., Yang, Y., Zhang, S. & Wang, W. (2022). Levan polysaccharide from *Erwinia herbicola* protects osteoblast cells against lipopolysaccharide triggered inflammation and oxidative stress through regulation of ChemR23 for prevention of osteoporosis. *Arabian Journal of Chemistry*, 15, 1–7.
- Srikanth, R., Reddy, C. H. S. S. S., Siddartha, G., Ramaiah, M. J. & Uppuluri, K. B. (2015a) Review on production, characterization and applications of microbial levan. *Carbohydrate Polymers*, 120, 102–14.
- Srikanth, R., Siddartha, G., Reddy, C. H. S. S. S., Harish, B. S., Ramaiah, M. J. & Uppuluri, K. B. (2015b). Antioxidant and anti-inflammatory levan produced from *Acetobacter xylinum* NCIM2526 and its statistical optimization. *Carbohydrate Polymers*, 123, 8–16.
- Souza, M. T., Silva, M. D. & Carvalho, R. (2022). Revisão integrativa: o que é e como fazer. *Einstein*, São Paulo, 8(1), 102–106. https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1679-45082010000100102&script=sci_arttext&tlng=pt.
- Taylan, O., Yilmaz, M. T. & Dertli, E. (2019). Partial characterization of a levan type exopolysaccharide (EPS) produced by *Leuconostoc mesenteroides* showing immunostimulatory and antioxidant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 436–444.

- Veerapandian, B., Shanmugam, S. R., Sivaraman, S., Sriariyanun, M., Karuppiyah, S. & Venkatachalam, P. (2023). Production and characterization of microbial levan using sugarcane (*Saccharum* spp.) juice and chicken feather peptone as a low-cost alternate medium. *Heliyon*, 9, e17424, 1–11.
- Vu, T. H., Quach, N. T., Nguyen, N. A., Nguyen, H. T., Ngo, C. C., Nguyen, T. D., Ho, P.-H., Hoang, H., Chu, H. H. & Phi, Q.-T. (2021). Genome Mining Associated with Analysis of Structure, Antioxidant Activity Reveals the Potential Production of Levan-Rich Exopolysaccharides by Food-Derived *Bacillus velezensis* VTX20. *Applied Sciences*, 11, 7055.
- Wang, J., Hu, S., Nie, S., Yu, Q., Xie, M. (2016). Reviews on Mechanisms of *In Vitro* Antioxidant Activity of Polysaccharides. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 5692852, 1–13.
- Wang, X., Shao, C., Liu, L., Guo, X. & Xu, Y. (2017). Optimization, partial characterization and antioxidant activity of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* KX041. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 1173–1184.
- Wahab, W. A. A., Shafey, H. I., Mahrous, K. F., Esawy, M. A., & Saleh, S. A. A. (2014). Coculture of bacterial levans and evaluation of its anti-cancer activity against hepatocellular carcinoma cell lines. *Scientific Reports*, 14, 3173, 1–18.
- Xia, S., Zhai, Y., Wang, X., Fan, Q., Dong, X., Chen, M., & Han, T. (2021). Phosphorylation of polysaccharides: A review on the synthesis and bioactivities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 184, 946–954.
- Xiao, X., Qiao, J., Wang, J., Kang, J., He, L., Li, J., Guo, Q., & Cui, S. W. (2022). Grafted ferulic acid dose-dependently enhanced the apparent viscosity and antioxidant activities of arabinoxylan. *Food Hydrocolloids*, 128, Article 107557.
- Zhang, J., Li, Z., Zhou, L., Bao, J. & Xu, J. (2020). The modifications of a fructan from *Anemarrhena asphodeloides* Bunge and their antioxidant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 4435–4443.