

IMMOBILIZED ENZYMES APPLIED IN FOOD TECHNOLOGY: A TECHNOLOGICAL PROSPECTION

ENZIMAS IMOBILIZADAS APLICADAS NA TECNOLOGIA DE ALIMENTOS: UMA PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA

João Pedro Brasil de Oliveira¹; Ana Lúcia Pontes Freitas²

¹ Programa de Pós-Graduação em Bioquímica – Universidade Federal do Ceará – UFC – Fortaleza/CE – Brasil – joaopedrobol@hotmail.com

² Programa de Pós-Graduação em Bioquímica – Universidade Federal do Ceará – UFC – Fortaleza/CE – Brasil – pfreitas@bioquimica.ufc.br

Resumo

As enzimas imobilizadas destacam-se como biocatalisadores capazes de serem utilizados em diversos segmentos da indústria. Atualmente, a demanda por enzimas na indústria alimentar tem crescido consideravelmente, movimentando bilhões de dólares. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi realizar uma prospecção tecnológica do uso de enzimas imobilizadas em processos biotecnológicos envolvendo alimentos. Para o mapeamento científico e tecnológico, foram realizadas buscas na base de periódicos Science Direct, e nos bancos de patentes INPI, WIPO, USPTO e EPO. Através da análise dos resultados da busca na base EPO, foi possível observar que as primeiras patentes foram depositadas no início da década de 1970. Além disso, a China é o país com maior número de depósitos de patentes. Os códigos CIP mais frequentes nas patentes analisadas foram os da seção C (química e metalúrgica) e A (Necessidades humanas). Quanto a aplicação, os biocatalisadores imobilizados foram utilizados principalmente para o processamento de alimentos. Em relação ao Brasil, foi observado um baixo número de depósitos de patentes na área. De modo geral, existe uma grande perspectiva para a aplicação desses biocatalisadores imobilizados na indústria alimentar.

Palavras-chave: Imobilização; Indústria; Patentes.

Abstract

Immobilized enzymes have emerged as biocatalysts capable of being used in several industry segments. Currently, the demand for enzymes in the food industry has grown considerably, moving billions of dollars. In this context, the aim of this study was to perform a technological prospection of the use of immobilized enzymes in food technology. For scientific and technological mapping, searches were performed on the basis of ScienceDirect journals, and on the INPI, WIPO, USPTO and EPO patent banks. By analyzing the results of the search on the EPO basis, it was possible to observe that the first patents were published in the early 1970s. In addition, China is the country with the highest number of patents in the area. The most frequent IPCs codes in the patents analyzed were those in section C (Chemistry and metallurgy) and A (Human necessities). Regarding the application, immobilized biocatalysts were used mainly for food processing. In Brazil, few patents' deposits were reported in the area. In general, there is a great prospect for the application of the immobilized biocatalysts in the food industry.

Keywords: Immobilization; Industry; Patents.

1. Introdução

Enzimas são catalizadores biológicos responsáveis por acelerar a velocidade de reações químicas. Estas moléculas destacam-se por atuarem em condições brandas de temperatura, pressão e pH. Além disso, reações catalisadas por enzimas possuem elevada seletividade e especificidade, são econômicas e geram menos resíduos comparadas a catalizadores sintéticos (TAVANO, 2013). Assim, os biocatalizadores são amplamente utilizados em diversos segmentos da indústria, como por exemplo, a indústria de alimentos e bebidas, alimentação animal, farmacêutica, cosméticos, indústria têxtil, produção de couro, detergente e papel (BILAL; IQBAL, 2020).

Atualmente, mais de 500 produtos utilizam enzimas em alguma etapa da produção (KUMAR; SINGH, 2013). Além disso, foi projetado que o mercado global de enzimas corresponda a \$6,32 bilhões de dólares em 2021, sendo liderado pelo segmento de alimentos com cerca de \$1,89 bilhão de dólares (CHAPMAN; ISMAIL; DINU, 2018). Apesar do elevado potencial, a baixa estabilidade e a dificuldade de recuperar a enzima após o uso podem dificultar sua utilização em alguns processos industriais (IYER; ANANTHANARAYAN, 2008). Assim, as técnicas de imobilização destacam-se como uma alternativa para superar os problemas citados.

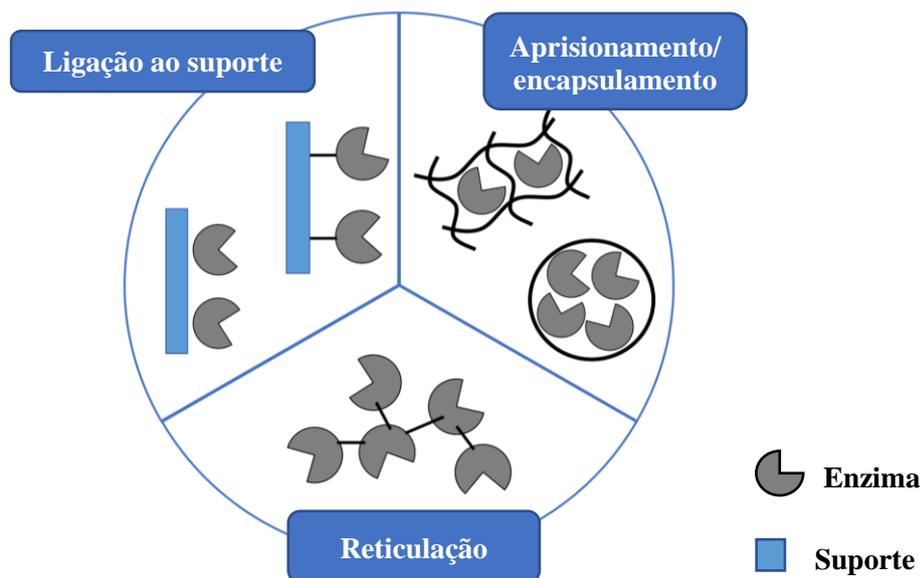
Imobilização enzimática consiste em reter fisicamente uma enzima ou grupos de enzimas em uma determinada região do espaço. Esta técnica permite a criação de biocatalizadores mais robustos com elevada estabilidade, resistência a inibidores, facilidade na operação e viabiliza o reuso (DICOSIMO et al., 2013). Vários protocolos de imobilização foram descritos tanto em patentes como na literatura científica, podendo ser divididos em três categorias: ligação a um suporte, aprisionamento/encapsulamento ou reticulação, como apresentado na figura 1.

Resumidamente, a ligação da enzima a um suporte pode ser física, iônica ou covalente. A adsorção física é geralmente mediada por interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio ou forças de Van der Waal, enquanto que as interações iônicas são mediadas por forças eletrostáticas. A imobilização por ligação covalente é um dos métodos mais estudados e envolve o acoplamento irreversível da enzima a um suporte, esta é a forma mais estável de imobilização e, portanto, requer protocolos mais complexos. A técnica de imobilização por aprisionamento consiste em inserir uma enzima em uma rede polimérica, membrana ou microcápsula (BEZERRA et al., 2015). Para isso, o biocatalizador é produzido pela síntese do suporte polimérico na presença da enzima (SHELDON; VAN PELT, 2013).

Outro método de imobilização ocorre através da reticulação. Nesta estratégia, os biocatalizadores são obtidos pela formação de ligações entre os grupos NH_2 na superfície da enzima com reagentes bifuncionais gerando um produto com elevada concentração enzimática e baixo

custo por não utilizar suporte (BEZERRA et al., 2015). Apesar de várias vantagens, é importante reconhecer as limitações para o uso de enzimas imobilizadas, como por exemplo, o custo associado ao suporte e ao processo, a perda da atividade enzimática e alterações desfavoráveis nas propriedades cinéticas (BEZERRA et al., 2015).

Figura 1 – Principais estratégias de imobilização



Fonte: Autoria própria (2021)

A indústria alimentar é um segmento que proporciona ampla oportunidade de aplicação para enzimas imobilizadas. Esses biocatalizadores podem ser empregados em vários estágios da produção, como por exemplo, a fabricação, processamento, embalagem, transporte ou armazenamento. Com isso, são utilizadas na panificação, produção de cerveja, bebidas, sucos de frutas e vinho, bem como na indústria de laticínios e na indústria de óleos e gorduras (BILAL; IQBAL, 2020). Neste contexto, o objetivo deste estudo foi realizar uma prospecção tecnológica do uso de enzimas imobilizadas em processos biotecnológicos envolvendo alimento.

Dessa forma, esta prospecção é fundamental para mapear o desenvolvimento científico e tecnológico em determinada área, indicando as tendências do mercado (PARANHOS; RIBEIRO, 2018). Assim, este estudo foi conduzido através de busca e caracterização de patentes em bancos de propriedade intelectual no Brasil e no mundo.

2. Metodologia

A prospecção foi realizada com base na pesquisa de patentes e artigos científicos. Para a busca de patentes foram utilizadas as bases de dados gratuitas: Instituto Nacional de Propriedade

Industrial do Brasil (INPI), *European Patent Office* (EPO), *World Intellectual Property Organization* (WIPO) e *United States Patent and Trademark Office* (USPTO) utilizando as palavras-chave “Enzyme”, “*Immobilization*” e “*Food*”, sendo considerados os documentos que apresentaram esses termos no título e/ou resumo. Os mesmos termos em português foram utilizados para a busca de documentos em base nacional (INPI). Foram analisados todos os pedidos de patente existentes até fevereiro de 2021.

A análise dos artigos científicos foi feita através de busca na base de dados *Science Direct* utilizando as palavras chaves citadas acima. Foram considerados os artigos de pesquisa e as revisões publicadas até o ano de 2020.

3. Resultados e discussão

Os resultados das buscas por patentes e artigos científicos foram apresentados na Tabela 1. Comparando as bases de patentes, pode-se observar que a base WIPO apresentou maior número de documentos depositados, seguido pela EPO, USPTO e INPI. Inicialmente, as pesquisas foram conduzidas com o objetivo de avaliar a produção total de patentes e artigos científicos sobre imobilização enzimática e determinar a proporção de trabalhos na área de tecnologia de alimentos. Para isso, os resultados obtidos utilizando os termos “enzima” e “imobilizada” como palavras-chaves foram considerados como a produção total (100%) de artigos e patentes na área. Posteriormente, foi realizado um refinamento nas buscas para obter apenas as produções relacionadas ao uso desses biocatalizadores em alimentos.

Assim, foi observado que entre 3%-7% das patentes com enzimas imobilizadas possuem aplicação na área de tecnologia dos alimentos. Contudo, ao analisar as produções científicas, 27% dos artigos publicados são estudos envolvendo alimentos. O interesse pelas técnicas de imobilização tem crescido nos últimos anos e pode-se notar que uma possível aplicação na área alimentar representa uma parcela significativa dos trabalhos que utilizam enzimas imobilizadas. Porém, foi possível observar que a produção de patentes muitas vezes não acompanha a produção científica.

Tabela 1 – Distribuição de patentes e artigos científicos nas bases de dados

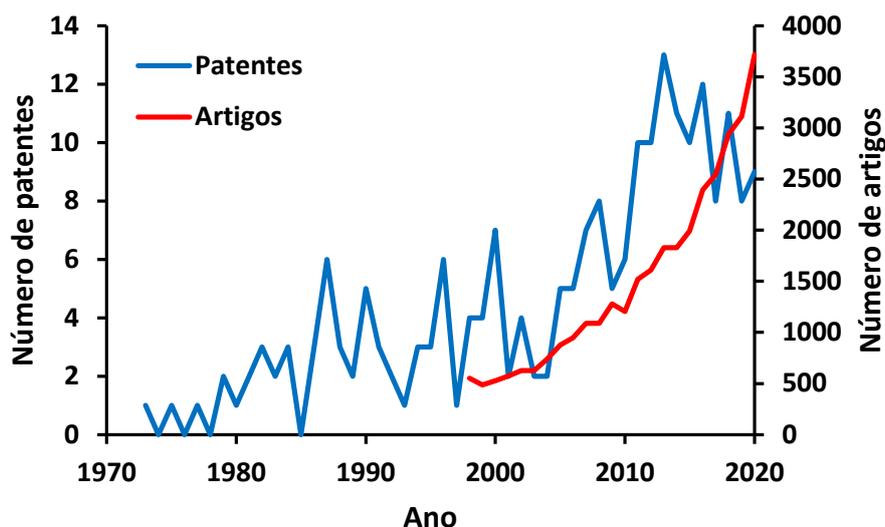
Palavras-chave	USPTO	WIPO	EPO	INPI	<i>Science Direct</i>
Enzima, imobilizada	647	8.471	7.284	157	147.711
Enzima, imobilizada, alimento	48	322	250	11	40.462

Fonte: Autoria própria (2021)

De acordo com a tabela 1, as bases WIPO e EPO apresentaram os maiores resultados da pesquisa. Contudo, este estudo foi conduzido utilizando os dados obtidos da busca na base EPO, pois esta apresenta uma maior cobertura de dados e de países comparado à WIPO (JÜRGENS; HERRERO-SOLANA, 2015). Esta pesquisa foi realizada visando explorar as informações que essa base pode fornecer a respeito da distribuição de patentes por países, ano de depósito, por Classificação Internacional de Patente (CIP) e principais aplicações. Além disso, os resultados da busca no INPI também foram considerados a fim de avaliar a situação do Brasil no cenário mundial.

Como resultado da busca usando a combinação de palavras “*enzyme*”, “*immobilization*” e “*food*” na base EPO foram obtidos 250 resultados. Após a retirada de patentes duplicadas e sem relação com o objetivo deste estudo, 217 documento foram considerados válidos. A figura 2 destaca a evolução anual dos depósitos de patentes e publicações científicas na área. Com relação às patentes, o primeiro depósito ocorreu em 1973. Como observado, entre as décadas de 1970 até o início da década de 2000 ocorreram poucos depósitos de patentes, com grandes oscilações no número de depósito por ano. Somente a partir de 2004 foi observado uma tendência de crescimento no número de patentes depositadas por ano, com um pico de 13 patente em 2013. Em relação à frequência de publicações científicas, foi observado um crescimento exponencial de estudos no período analisado (1998-2020), totalizando 40.465 artigos até o final de 2020, evidenciando assim o interesse pelas técnicas de imobilização enzimática para a produção de biocatalizadores usados em alimentos.

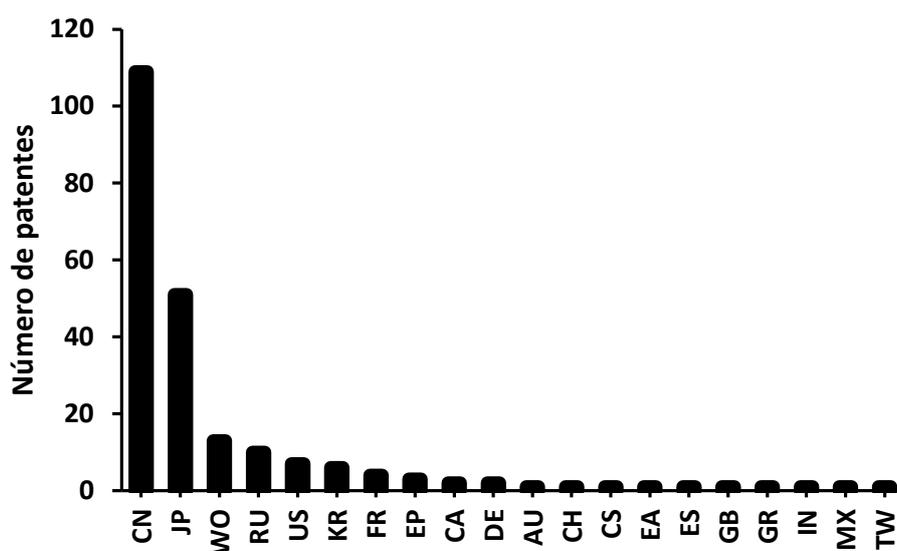
Figura 2 – Evolução anual do número de patentes e artigos científicos publicados nas bases de dados



Fonte: Autoria própria (2021)

Os depósitos das patentes foram realizados em 20 países incluindo a Organização Mundial da Propriedade Intelectual, Organização Europeia de Patentes e a Organização Euroasiática de Patentes, como apresentado na figura 3. O país com maior número de patentes depositadas no EPO relacionada ao uso de enzima imobilizadas na tecnologia de alimento foi a China com 109 patentes, correspondendo a 50% do total de documentos disponíveis, seguido do Japão (23%), e a Organização Mundial da Propriedade Intelectual (5%). É interessante destacar que a América do Norte e a Europa são os maiores consumidores de enzimas industriais; porém países como a China, Japão e Índia apresentam crescente aumento da demanda por esses biocatalizadores (PATEL; SINGHANIA; PANDEY, 2016). Esses dados corroboram com os resultados aqui apresentados em que a produção tecnológica desses três países corresponde a 74% do total observado. Além disso, Giese (2015) em um estudo avaliando patentes relacionada ao uso, em diferentes áreas, de biocatalizadores imobilizados, destaca que a China também lidera nos pedidos de patentes, com 40,9% da produção total; enquanto que o Japão encontra-se na 5ª posição com 6,1%.

Figura 3 – Distribuição de patentes por país



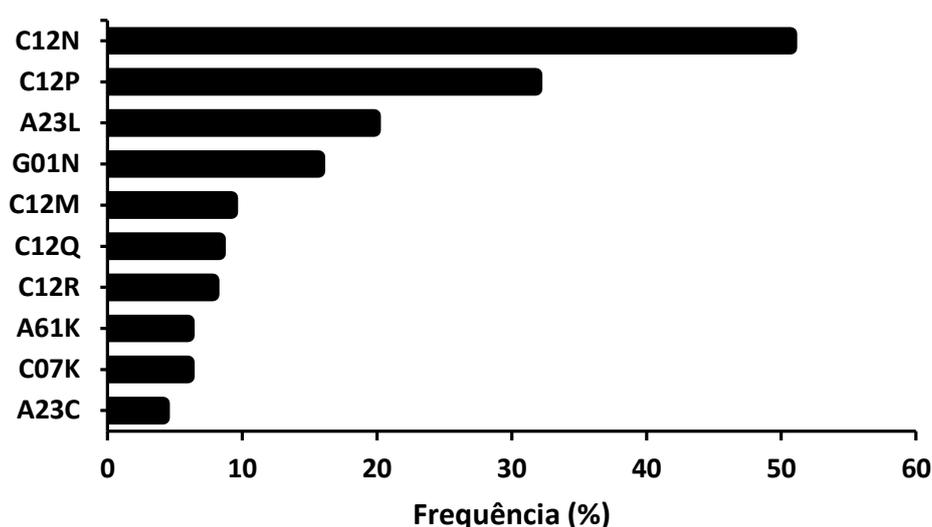
Legenda: CN – China; JP – Japão; WO – Organização Mundial da Propriedade Intelectual; RU – Rússia; US – Estado Unidos; KR – República da Coreia; FR – França; EP – Organização Europeia de Patentes; CA – Canadá; DE – Alemanha; AU – Austrália; CH – Suíça; CS – Checoslováquia; EA – Organização Euroasiática de Patentes; ES – Espanha; GB – Reino Unido; GR – Grécia; IN – Índia; MX – México; TW – Taiwan.

Fonte: Autoria própria (2021)

As patentes depositadas também foram avaliadas de acordo com a Classificação Internacional de Patentes (CIP). Foram encontradas patentes em 7 das 8 seções presentes na CIP: A (Necessidades humanas), B (Operações e transportes), C (Química e metalúrgica), D (Têxtil e

papel), E (Construções fixas), G (Física) e H (Eletricidade). Apenas a seção F (Engenharia mecânica) não foi representada nos documentos analisados. Como observado na figura 4, aproximadamente 50% das patentes estão classificadas como C12N (Microorganismo e enzimas). É importante destacar que a CIP C12N 11/00 abrange as patentes que utilizam enzimas ou células microbianas imobilizadas. Contudo, foi observado que apenas metade das patentes avaliadas neste trabalho são classificadas com este código, o que poderia dificultar a busca por anterioridade na área. Os 10 códigos CIP (incluindo seções, subseções e classes) mais representativos nas patentes analisadas foram apresentados na Figura 4 com suas respectivas descrições. Resultados semelhantes foram observados em outro estudo avaliando o uso, em diferentes áreas, de biocatalizadores imobilizados em que as CIP A61K, C12P e C12R também se destacam entre as patentes avaliadas (GIESE, 2015).

Figura 4 – Classificação das patentes de acordo com a Classificação internacional de patentes (CIP)



Legenda: C12N – micro-organismos ou enzimas; C12P – processos de fermentação ou uso de enzimas; A23L – alimentos, produtos alimentícios ou bebidas não alcoólicas, sua preparação ou tratamento; G01N – investigando ou analisando materiais, determinando suas propriedades químicas ou físicas; C12M – aparelho para enzimologia ou microbiologia; C12Q – processos de medição ou teste envolvendo enzimas, ácidos nucleicos ou microrganismos; C12R – processos usando microrganismos; A61K – preparações para fins médicos, odontológicos ou de toalete; C07K – peptídeos; A23C – laticínios.

Fonte: Autoria própria (2021)

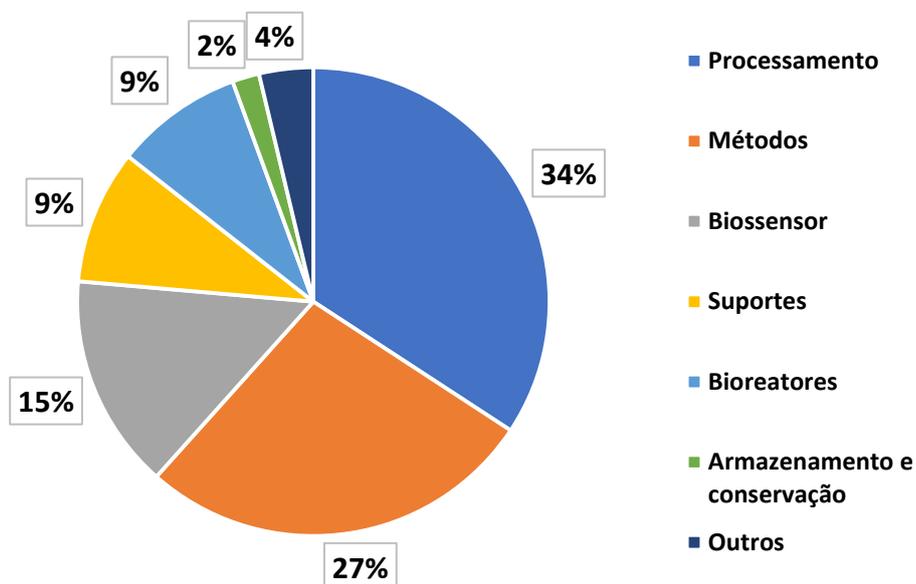
Os documentos de patentes obtidos após a busca na base EPO foram avaliados com o objetivo de mapear as possíveis aplicações dos biocatalizadores imobilizados na tecnologia de alimentos. Como observado na Figura 5, o uso de enzimas imobilizadas para o processamento de alimentos correspondeu a 34% das patentes avaliadas. Nessa categoria foram agrupadas as patentes

em que enzimas imobilizadas podem ser empregadas no preparo ou tratamento de produtos alimentícios. Alguns trabalhos mostram que as enzimas podem ser usadas para alterar propriedades físico-químicas dos alimentos, aumentar a estabilidade, qualidade e tempo de prateleira, além de modificar sabor, odor e textura. (TAVANO, 2013).

Outra categoria de destaque foram as patentes propondo métodos de imobilização ou novos suportes de qualidade alimentar para o preparo dos biocatalizadores, correspondendo a 27% e 9% do total da busca, respectivamente. A escolha do método de imobilização e do suporte a ser utilizado são fundamentais, uma vez que estes devem ser compatíveis com a enzima e a forma de aplicação do biocatalizador (SHELDON; VAN PELT, 2013).

O uso de enzimas imobilizadas na produção de biossensores correspondeu a 15% das patentes obtidas. Esta aplicação se desenvolveu amplamente nas últimas décadas. Os biocatalizadores podem ser utilizados na detecção e/ou análise dos componentes dos alimentos, sendo importantes para a segurança alimentar. Isso ocorre pois os biossensores possuem alta sensibilidade, especificidade, portabilidade e bom custo-benefício (NGUYEN et al., 2019). Além disso, patentes relacionadas ao uso de enzimas imobilizadas em biorreatores ou no armazenamento e conservação de alimentos também se destacaram entre os resultados da busca com 9% e 2%, respectivamente.

Figura 5 – Aplicações dos biocatalizadores imobilizados na tecnologia de alimentos



Fonte: Autoria própria (2021)

Através de uma análise com base nas enzimas mencionados nos documentos de patentes, foi possível observar que as hidrolases são as mais representativas, seguidas pelas oxido-redutases.

Além disso, transferases, liases e isomerases também foram mencionadas, porém em menor número entre as patentes avaliadas.

Dentro das hidrolases, as que mais se destacaram nas patentes analisadas foram as Glicosidases, lipases e proteases. Na indústria alimentar as glicosidases podem ser utilizadas para obtenção de xaropes, prebióticos, adoçantes e reduzir o teor de lactose no leite (CONTESINI et al., 2013). Atualmente, Glicose isomerase é uma das enzimas imobilizada mais utilizada em larga escala, sendo importante para a produção de xarope de frutose com o objetivo de adoçar alimentos e bebidas (DICOSIMO et al., 2013). As lipases podem ser utilizadas na modificação do valor nutricional e do sabor dos alimentos (MEHTA et al., 2021). Em relação às proteases, esta podem ser utilizadas para modificar o valor nutricional, facilitar digestão, eliminar proteínas tóxicas e promover mudanças no sabor, textura e odor dos alimentos (TAVANO, 2013).

O segundo grupo de enzimas com grande destaque entre as patentes foram as oxido-redutases, como por exemplo as glicoses oxidases e as lacases. A literatura científica destaca que essas enzimas podem ser utilizadas para aumentar a capacidade de armazenamento dos alimentos, na clarificação de sucos e como intensificadores de sabor (PATEL; SINGHANIA; PANDEY, 2016).

Embora existam muitas publicações científicas e patentes relacionadas ao uso de biocatalizadores imobilizados, são poucos as enzimas imobilizadas comercializadas para utilização em larga escala (DICOSIMO et al., 2013). Atualmente, as empresas Novozymes, DSM e DuPont são as principais fornecedoras de enzimas para diversas aplicações. Além disso, existem empresas especializadas em enzimas imobilizadas, como a Zymtronix. Na tabela 2 foram apresentadas algumas enzimas imobilizadas comerciais com aplicações na tecnologia de alimentos.

Tabela 2 – Exemplo de enzimas imobilizadas comerciais

Produtos	Empresas	Enzimas	Referência
Sweetzyme™ T	Novozymes	Glicose isomerase	AMARAL-FONSECA et al., 2021
GenSweet® IGI	DuPont	Glicose isomerase	LUZZI et al., 2020
Lipozyme® RM	Novozymes	Lipase	COLLAÇO et al., 2021
Novozym® 435	Novozymes	Lipase	KIM et al., 2020
Lipozyme® TL IM	Novozymes	Lipase	SILVA et al., 2015

Fonte: Autoria própria (2021)

Em relação ao Brasil, a busca utilizando os termos “enzima, imobilizada e alimento” na base INPI revelou 11 resultados, dos quais 3 pertencem a famílias de patentes e já foram analisados anteriormente a partir da busca na base EPO. A primeira patente foi depositada em 2002, enquanto que a mais recente foi depositada em 2018. Os documentos de patentes foram avaliados com o objetivo de mapear as possíveis aplicações dos biocatalizadores, de forma semelhante ao realizados

com as patentes obtidas na base EPO. Foi observado que as patentes brasileiras têm enfoque no uso de enzimas imobilizadas para o processamento de alimentos, produção de biossensores e uso em biorreatores. Em relação a CIP, os códigos mais frequentemente encontrados nas patentes foram na área de química e metalúrgica (C12N, C12P, C12Q) e necessidades humanas (A23L).

Após análise das patentes, foi possível observar que a produção tecnológica no Brasil se concentra majoritariamente em universidades públicas. Vários grupos de pesquisas trabalham com enzimas imobilizadas no país. Com isso, esse baixo número de depósitos de patentes pode ser explicado pelo distanciamento entre academia e o setor produtivo, desconhecimento dos processos, entre outros motivos (DIAS; ALMEIDA, 2013). Assim, a transferência de tecnologia das universidades para a indústria, torna-se um grande desafio atual para a geração de novos processos e produtos a partir da pesquisa desenvolvida nas instituições públicas.

4. Conclusão

Através das buscas realizadas nos bancos de dados foi possível mapear o desenvolvimento científico e tecnológico do uso de enzimas imobilizadas na área de tecnologia dos alimentos. Além disso, foi possível identificar a ampla variedade de processos em que esses biocatalizadores podem ser aplicados na indústria.

De modo geral, a China se destaca com o maior número de depósitos de patentes, impulsionado pela demanda do mercado. Em relação ao Brasil, o país apresenta boa publicação científica, porém foi observado um baixo número de depósitos de patentes em comparação com o cenário mundial. Com isso, fica evidente a necessidade do Brasil de ampliar as políticas de incentivo ao desenvolvimento tecnológico.

Referências

AMARAL-FONSECA, M. et al. Optimization of simultaneous saccharification and isomerization of dextrin to high fructose syrup using a mixture of immobilized amyloglucosidase and glucose isomerase. **Catalysis Today**, v. 362, p. 175-183, 2021.

BEZERRA, C. S. et al. Enzyme immobilization onto renewable polymeric matrixes: Past, present, and future trends. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 26, 2015.

BILAL, M.; IQBAL, H. M. N. State-of-the-art strategies and applied perspectives of enzyme biocatalysis in food sector—current status and future trends. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 60, n. 12, p. 2052-2066, 2020.

CHAPMAN, J.; ISMAIL, A. E.; DINU, C. Z. Industrial applications of enzymes: Recent advances, techniques, and outlooks. **Catalysts**, v. 8, n. 6, p. 238, 2018.

- COLLAÇO, A. C. A. et al. Development of an integrated process involving palm industry co-products for monoglyceride/diglyceride emulsifier synthesis: Use of palm cake and fiber for lipase production and palm fatty-acid distillate as raw material. **LWT**, v. 135, p. 110039, 2021.
- CONTESINI, F. J. et al. Potential applications of carbohydrases immobilization in the food industry. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 1, p. 1335-1369, 2013.
- DIAS, C. G.; ALMEIDA, R. B. Produção científica e produção tecnológica: transformando um trabalho científico em pedidos de patente. **Einstein (São Paulo)**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2013.
- DICOSIMO, R. et al. Industrial use of immobilized enzymes. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 15, p. 6437-6474, 2013.
- GIESE, E. C. Biocatalisadores imobilizados: Prospecção de inovações tecnológicas na última década. **Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 5, n. 3, p. 2296-2307, 2015.
- IYER, P. V.; ANANTHANARAYAN, L. Enzyme stability and stabilization—aqueous and non-aqueous environment. **Process biochemistry**, v. 43, n. 10, p. 1019-1032, 2008.
- JÜRGENS, B.; HERRERO-SOLANA, V. Espacenet, Patentscope and Depatisnet: A comparison approach. **World Patent Information**, v. 42, p. 4-12, 2015.
- KIM, J. et al. Enzymatic preparation of food-grade l- α -glycerylphosphorylcholine from soy phosphatidylcholine or fractionated soy lecithin. **Biotechnology progress**, v. 36, n. 1, p. e2910, 2020.
- KUMAR, A.; SINGH, S. Directed evolution: tailoring biocatalysts for industrial applications. **Critical reviews in biotechnology**, v. 33, n. 4, p. 365-378, 2013.
- LUZZI, G. et al. Enhancing the sweetening power of lactose by enzymatic modification in the reformulation of dairy products. **International Journal of Dairy Technology**, v. 73, n. 3, p. 502-512, 2020.
- MEHTA, A. et al. The lipases and their applications with emphasis on food industry. In: **Microbial biotechnology in food and health**. Academic Press, 2021. p. 143-164.
- NGUYEN, H. H. et al. Immobilized enzymes in biosensor applications. **Materials**, v. 12, n. 1, p. 121, 2019.
- PARANHOS, R. C. S.; RIBEIRO, N. M. Importância da prospecção tecnológica em base em patentes e seus objetivos da busca. **Cadernos de Prospecção**, v. 11, n. 5, p. 1274, 2018.
- PATEL, A. K.; SINGHANIA, R. R.; PANDEY, A. Novel enzymatic processes applied to the food industry. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 64-72, 2016.
- SHELDON, R. A.; VAN PELT, S. Enzyme immobilisation in biocatalysis: why, what and how. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 15, p. 6223-6235, 2013.
- SILVA, M. J. A. et al. Lipozyme TL IM as catalyst for the synthesis of eugenyl acetate in solvent-free acetylation. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 176, n. 3, p. 782-795, 2015.
- TAVANO, O. L. Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 90, p. 1-11, 2013.