



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR**  
**CURSO DE BIOTECNOLOGIA**

**ROBERTA LAIZ BEZERRA SANTO ALBANO**

**CORRELAÇÃO ENTRE PATENTES DEPOSITADAS E PUBLICAÇÕES DE  
ARTIGOS CIENTÍFICOS SOBRE PROTEASES VEGETAIS APLICADAS NA  
FABRICAÇÃO DE QUEIJO E LEITE HIPOALERGÊNICO**

**FORTALEZA**

**2013**

ROBERTA LAIZ BEZERRA SANTOS ALBANO

CORRELAÇÃO ENTRE PATENTES DEPOSITADAS E PUBLICAÇÕES DE ARTIGOS  
CIENTÍFICOS SOBRE PROTEASES VEGETAIS APLICADAS NA FABRICAÇÃO DE  
QUEIJO E LEITE HIPOALERGÊNICO

Monografia apresentada ao Curso de Biotecnologia do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Cleverton Diniz Teixeira de Freitas

Fortaleza

2013

ROBERTA LAIZ BEZERRA SANTOS ALBANO

CORRELAÇÃO ENTRE PATENTES DEPOSITADAS E PUBLICAÇÕES DE ARTIGOS  
CIENTÍFICOS SOBRE PROTEASES VEGETAIS APLICADAS NA FABRICAÇÃO DE  
QUEIJO E LEITE HIPOALERGÊNICO

Monografia apresentada ao Curso de  
Biotecnologia do Departamento de Bioquímica  
e Biologia Molecular da Universidade Federal  
do Ceará como requisito parcial para obtenção  
do Título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Cleverson Diniz Teixeira  
de Freitas

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Cleverson Diniz Teixeira de Freitas (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Márcio Viana Ramos  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Lúcia Ponte Freitas  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Telma (*in memoriam*) e Humberto. A minha tia, Tarcília. Aos meus irmãos, Paulo Augusto e Eduardo. Aos meus avós, Paulo e Laiz. Ao meu namorado, Andrade Júnior.

“É, nosso futuro assim será feito uma escada a se formar por sob os pés de quem sonhar, de quem ousar pensar além” (Jorge Vercillo)

## RESUMO

A principal vantagem da utilização de enzimas como produtos biotecnológicos é o poder de realizar processos industriais em condições mais moderadas e, principalmente, por serem específicas para o seu substrato. As proteases são enzimas amplamente empregadas na produção de alimentos. Na produção de queijo, como agente coagulante, e na produção de leite hipoalergênico, com a hidrólise de proteínas que podem ser responsáveis pelo surgimento de alergias. Este trabalho teve por objetivo fazer uma correlação entre o número de patentes depositadas e a quantidade de artigos científicos publicados no mundo relacionados a proteases vegetais ou de látex aplicadas na produção de queijo e leite hipoalergênico, desde 1976, visto que se tem interesse por proteases vegetais devido à queda no abate de vitelos, causando falta de coalho e, conseqüentemente, um aumento em seu custo. As buscas por patentes e artigos científicos foram realizadas utilizando as palavras-chave “plant”, “latex”, “protease”, “peptidase”, “proteinase”, “milk”, “dairy”, “casein” e “cheese”, combinadas através dos operadores booleanos “AND” e “OR”. As patentes foram pesquisadas nos bancos internacionais USPTO (Estados Unidos), Derwent Innovations Index (mundial) e ESPACENET-Worldwide (banco europeu com patentes mundiais) e o banco nacional INPI. Para a pesquisa de artigos científicos sobre o tema foi utilizando o *Web of Science*. Como resultado, foram encontradas apenas quatro patentes no tema em análise, sendo que nenhuma se referia à protease de látex. Porém o número de artigos científicos publicados com estudos de proteases vegetais aplicadas a produção de queijo e hidrolisados do leite vem crescendo no decorrer dos anos, principalmente a partir da década de 1990. Há um claro descompasso entre o número de estudos científicos publicados e o número de patentes requeridas para este fim. Isto evidencia que a prospecção por potencialidades biotecnológicas é intensa. Entretanto não há um evidente investimento/empreendedorismo para transformar as potencialidades em produtos comerciais e assim estimular o depósito de patentes. Um dos motivos para pouco depósito de patentes é que os cientistas precisam publicar artigos para terem maior reconhecimento e conseqüentemente maior índice de aprovação de projetos pelos órgãos de fomento. Tornando a pesquisa pública, não é mais permitido patentear o trabalho.

**Palavras-chave:** Leite hipoalergênico; Queijo; Patente; Protease.

## ABSTRACT

The main advantage of using enzymes as biotechnological inputs is the possibility to make industrial processes in a moderate condition, mainly because enzymes are specific to their substrate. Proteases are enzymes widely used in food processing. Proteases are pivotal tools in the manufacture of cheese, as a coagulating agent, and in the production of hypoallergenic milk, as a hydrolyzation agent of proteins that may be responsible for the onset of allergies. This study aimed at making a correlation between the number of patents and published scientific papers related to plants or latex proteases used in the production of cheese and hypoallergenic milk worldwide since 1976. There is an increasing interest in new proteases suitable for milk processing even due the fall in the slaughter of calves, causing shortness of rennet and hence an increase in its cost. The searches for patents and scientific publications were conducted using the keywords “plant”, “latex”, “protease”, “peptidase”, “proteinase”, “milk”, “dairy”, “casein” and “cheese”, combined through the operators " AND" and " OR ". Patents were searched on the international databases USPTO (United States), Derwent Innovations Index (global) and SPACENET-Worldwide (European database with worldwide patents) and the INPI for national patents deposits. For the papers research on the subject it was used the Web of Science portal. As a result it was only found four patents, none of which referred to protease latex, however the number of published scientific articles on studies of plant proteases applied to the production of cheese and milk hydrolysates has been growing over the years, specially from the 1990s. There is a clear mismatch between the number of published scientific studies and the number of patents applied for this purpose. This shows that prospecting for biotechnological potential is intense. However there is no obvious investment/ entrepreneurship to transform potential into commercial products and thus stimulate patent applications. One of the reasons for the few patent applications is that scientists need to publish articles in order to have a better recognition and, consequently, a higher rate of projects approval by funding agencies. Once the research results are public, it is no longer possible to patent it.

**Keywords:** Patent. Protease. Cheese. Hypoallergenic Milk.

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Número de patentes depositadas no banco de dados USPTO durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no título.....	30
Gráfico 2	Número de patentes depositadas no banco de dados USPTO durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no resumo.....	31
Gráfico 3	Número de patentes depositadas no banco de dados Derwent Innovations Index durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no título.....	33
Gráfico 4	Número de patentes depositadas no banco de dados Derwent Innovations Index durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no resumo.....	34
Gráfico 5	Número de patentes depositadas no banco de dados ESPACENET durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no título ou resumo.....	35
Gráfico 6	Número de patentes depositadas no banco de dados INPI durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no título.....	36
Gráfico 7	Número de patentes depositadas no banco de dados INPI durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no resumo.....	37
Gráfico 8	Número de artigos científicos publicados no Web of Science durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave do grupo 1 no título.....	37
Gráfico 9	Número de artigos científicos publicados no <i>Web of Science</i> durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave do grupo 2 no título.....	38
Gráfico 10	Número de artigos científicos publicados no Web of Science durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave do grupo 3 no título.....	39
Gráfico 11	Número de artigos científicos publicados no <i>Web of Science</i> durante o	

	período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave do grupo 1 no tópico.....	39
Gráfico 12	Número de artigos científicos publicados no Web of Science durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave do grupo 2 no tópico.....	40
Gráfico 13	Número de artigos científicos publicados no Web of Science durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave do grupo 3 no tópico.....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABST	Resumo
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
A	Protease aspártica
ATP	Adenosina trifosfato
C	Protease cisteínica
EC	Enzyme Commission
EPO	European Patent Office
G	Glutâmica
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
INPI	Instituto Nacional da Propriedade Intelectual
M	Metallo protease
N	Asparagina
pH	Potencial hidrogeniônico
S	Protease serínica
T	Threonina
TTL	Título
U	Desconhecida
USPTO	United States Patent and Trademark Office
WIPO	World Intellectual Property Organization

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>1.1</b>	<b>Vantagens de utilizar enzimas.....</b>	<b>12</b>
<b>1.2</b>	<b>Aplicações biotecnológicas das enzimas.....</b>	<b>13</b>
<b>1.2.1</b>	<b>Enzimas no processamento têxtil.....</b>	<b>13</b>
<b>1.2.2</b>	<b>Enzimas na indústria de polpa e papel.....</b>	<b>13</b>
<b>1.2.3</b>	<b>Enzimas na produção de etanol.....</b>	<b>14</b>
<b>1.2.4</b>	<b>Enzimas na indústria de cosméticos.....</b>	<b>14</b>
<b>1.2.5</b>	<b>Enzimas em catálise ambiental.....</b>	<b>15</b>
<b>1.2.6</b>	<b>Enzimas em medicamentos e diagnósticos.....</b>	<b>15</b>
<b>1.2.7</b>	<b>Enzimas na produção de bebidas e alimentos.....</b>	<b>16</b>
<b>1.3</b>	<b>Proteases.....</b>	<b>16</b>
<b>1.3.1</b>	<b>Aplicações biotecnológicas das proteases.....</b>	<b>17</b>
<b>1.3.2</b>	<b>Uso de proteases na produção de queijos e hidrolisados do leite.....</b>	<b>18</b>
<b>1.4</b>	<b>Propriedade Intelectual.....</b>	<b>20</b>
<b>1.4.1</b>	<b>Banco de dados de patentes.....</b>	<b>21</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>23</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1</b>	<b>Busca por patentes.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1.1</b>	<b>Busca por patentes no USPTO.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Busca por patentes no Derwent Innovations Index.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1.3</b>	<b>Busca por patentes no ESPACENET-Worldwide.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1.4</b>	<b>Busca por patentes no INPI.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2</b>	<b>Busca por artigos científicos no Web of Knowledge.....</b>	<b>26</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>4.1</b>	<b>Resultados e discussão das buscas nos bancos de patente.....</b>	<b>30</b>
<b>4.2</b>	<b>Resultados e discussão das buscas por artigos científicos no Web of Knowledge (Web of Science).....</b>	<b>37</b>
<b>4.3</b>	<b>Análise das publicações de artigos científicos e depósito de patentes.....</b>	<b>42</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>44</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As enzimas são, em sua maioria, proteínas que possuem atividade catalítica, acelerando reações biológicas que, na ausência das mesmas, o processo de transformação seria muito lento. Essas moléculas funcionam diminuindo a energia de ativação das reações químicas, tendo como consequência um grande aumento da velocidade de formação de produtos. Essas moléculas possuem características muito interessantes: são inertes, não são consumidas durante o processo, não afetam propriedades como entalpia, entropia e o equilíbrio das reações, porém atuam em condições ótimas de temperatura e pH, o que as diferem dos catalisadores químicos sintéticos (NELSON; COX, 2011).

Além do aumento da velocidade das reações, as enzimas possuem especificidade a um substrato ou seletivo grupo de estruturas quimicamente similares, o que as tornam seletivas quanto a sua utilização. Essa especificidade foi sugerida por Emil Fischer, em 1894, o qual afirmou que a enzima e o substrato possuíam encaixe perfeito, formulando o modelo conhecido como chave-fechadura. Porém esse modelo não explicava a estabilidade dos estados de transição que as enzimas demonstravam, foi quando em 1958, Daniel Koshland, sugeriu o modelo do encaixe induzido, onde as enzimas, que exibem estruturas flexíveis, sofriam alterações conformacionais de maneira a interagir com o substrato (NELSON; COX, 2011).

De acordo com a Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (2013), as enzimas são classificadas em seis classes principais, nas quais estão inclusas subclasses de acordo com a natureza do evento catalítico que realizam. Esse tipo de classificação dá informações precisas sobre a função metabólica da enzima. Assim, cada enzima recebe um nome sistemático e que identifica a reação que ela catalisa. A enzima fica representada, então, por “EC” que significa “Enzyme Commission” seguida por uma numeração, por exemplo, EC 2.7., onde o 2 significa a classe e o 7 a subclasse da enzima.

As classes das enzimas são:

- a) Classe 1: Oxirredutases - Para esta classe pertencem todas as enzimas que catalisam reações de oxidorredução, ou seja, transferência de elétrons;
- b) Classe 2: Transferases - São enzimas que transferem um grupo, por exemplo, um grupo metila, a partir de um composto (geralmente considerado como dador) para um outro composto (geralmente considerado como receptor);

- c) Classe 3: Hidrolases - Estas enzimas catalisam a clivagem hidrolítica de C-O, C-N, C-C e algumas outras ligações, incluindo ligações de anidrido fosfórico;
- d) Classe 4: Liases - São enzimas responsáveis pela adição de grupos químicos a ligações duplas ou a formação de ligações duplas pela remoção de grupos;
- e) Classe 5: Isomerases - Estas enzimas catalisam mudanças geométricas ou estrutural dentro da mesma molécula, produzindo isômeros. De acordo com o tipo de isomeria, elas podem ser chamadas de racemases, epimerases, cis-trans-isomerases, isomerases, tautomerases, mutases ou cicloisomerases;
- f) Classe 6: Ligases - São enzimas que catalisam a união de duas moléculas, consumindo energia em forma de ATP.

De acordo com o tipo de reação que as enzimas catalisam, elas podem ter diversos usos nas indústrias, quando se pensa numa aplicação biotecnologia dessas biomoléculas.

### **1.1 Vantagens de utilizar enzimas**

A principal vantagem da utilização de enzimas como produtos biotecnológicos é o poder de realizar processos industriais em condições mais moderadas (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

Processos enzimáticos foram implementados em uma ampla gama de indústrias nas últimas décadas, porque eles são específicos, rápidos na ação e muitas vezes poupam matérias-primas, energia, produtos químicos e/ou água em comparação com os processos convencionais (JEGANNATHAN; NIELSEN, 2013). Além disso, a catálise enzimática tem outros benefícios, como o aumento da qualidade de produtos, a redução de custos de laboratório e de maquinário, graças à melhoria do processo (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

A indústria utiliza reações químicas na maioria das manufaturas de produtos e bens consumidos pelo homem. Essas reações muitas vezes são catalisadas por compostos químicos sintéticos e que podem ser substituídos por enzimas.

As enzimas aplicadas na indústria devem ser estáveis e funcionais nas condições dos processos, pois as condições da reação na indústria diferem do ambiente natural das enzimas (LIESE; HILTERHAUS, 2013).

## **1.2 Aplicações biotecnológicas das enzimas**

A indústria utiliza cada vez mais enzimas nos seus processos, entre elas a indústria de alimentos, saúde humana e animal, farmacêutica, ração animal, papel, têxtil e detergente (MONTEIRO; SILVA, 2009).

### **1.2.1 Enzimas no processamento têxtil**

O processamento ou beneficiamento de artigos têxteis, que podem ter diferentes naturezas químicas, passam pelos processos de preparação, coloração ou tingimento e acabamento. Porém, antes desses processos, esses artigos precisam passar por etapas de remoção de impurezas, metodologias que façam aumentar a umectabilidade do material e conferir melhor acessibilidade do corante ou dos acabamentos à fibra. Essas impurezas podem ser naturais, como ceras, restos vegetais, gorduras, ou originadas a partir dos processos de fabricação do material fibroso. A remoção dessas impurezas normalmente se faz com a utilização de detergente em água, soluções alcalinas de detergente, soluções fortemente ácidas, peróxido de hidrogênio, dentre outros (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

A utilização de enzimas nesses processos de preparação e acabamento de fibras têxteis tem grande potencial, visto que essas fibras possuem composições químicas diferentes. Enzimas como amilases, pectina-liases e catalases são utilizadas nos processos de preparação ao tingimento e em relação ao acabamento são utilizadas celulases, proteases e lacases (SURRIBAS *et al.*, 2013).

### **1.2.2 Enzimas na indústria de polpa e papel**

A produção de celulose e papel teve um aumento global e tende a crescer no futuro próximo. O aumento de novas tecnologias informáticas e audiovisuais induziu a pensar que a utilização de papel viesse a diminuir gradualmente, porém a produção de novos computadores e tecnologias também conduziu o aumento no consumo de papel (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

A indústria de polpa e papel tem como característica o capital intensivo, o que gera uma pequena margem de lucro, o que tende a limitar o desenvolvimento de novas tecnologias. Porém faz necessário aumentar a produtividade e qualidade do papel, impostas por crescentes exigências, além do fato da indústria se encontrar sujeita a fortes pressões no

sentido de reduzir as emissões de poluentes para o ar e a água, no tocante ambiental (BAJPAI *et al.*, 1999).

A utilização de enzimas na fabricação de polpa e papel trazem grandes vantagens. Primeiramente porque essas enzimas podem ser utilizadas na modificação de lignina, hemicelulose, celuloses nativas e modificadas, bem como enzimas que degradam extrativos. A aplicação de xilanases no branqueamento da polpa é um grande exemplo de ferramenta biotecnológica eficiente e sem grandes investimentos. Segundo que, a utilização de enzimas nesses processos, também tem grande importância no que diz respeito a tecnologias sustentáveis, contribuindo para a redução de problemas ambientais (MITTAL; NAGAR; GUPTA, 2013).

### **1.2.3 Enzimas na produção de etanol**

A fabricação de etanol é um processo realizado pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*, no qual ela metaboliza um dissacarídeo, a sacarose, que é componente do caldo de cana-de-açúcar e o sorgo sacarino. Desta forma, a utilização de matéria-prima amilácea, como amido de milho, cevada, resíduos agro-industriais e madeira, como substratos para a fermentação alcoólica é limitada, sendo necessário que esses polissacarídeos sejam hidrolisados para a liberação de açúcares fermentáveis (YENNAMALLI, 2013). Comumente, esses polissacarídeos são hidrolisados por metodologias que empregam a hidrólise ácida. A grande desvantagem desta técnica é a formação de produtos tóxicos (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

A alternativa utilizada para a não formação desses produtos tóxicos é a hidrólise enzimática, que tanto pode ser utilizada para matérias-primas de natureza amilácea, utilizando as enzimas  $\alpha$ -amilase, glicoamilase, pupulanase, isoamilase,  $\alpha$ -glicosidase e  $\beta$ -amilase, e para matérias-primas lignocelulósicas, as enzimas celulasas,  $\beta$ -glicosidases, hemicelulasas, além das ferul-esterases que clivam ligações entre a hemicelulose e a lignina (BON; FERRARA; CORVO, 2008; YENNAMALLI *et al.*, 2013).

### **1.2.4 Enzimas na indústria de cosméticos**

A utilização de enzimas na indústria de cosméticos vem aumentando devido aos conhecimentos adquiridos sobre a fisiologia cutânea. Para a incorporação de enzimas nos cosméticos, deve ser levada em consideração a estabilidade das enzimas tanto no produto

cosmético quanto na hora da sua utilização. Podemos exemplificar o fato de a enzima se manter estável no produto até o prazo de validade, se a enzima continua ativa quando utilizado na pele, pois poderá haver mudança de pH (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

As enzimas podem ser incorporadas aos cosméticos com as mais variadas finalidades: antiacne, esfoliante cutâneo, higiene, tintura capilar, remoção de pelos, conservantes, anticaspa. Como exemplo de enzimas utilizadas em cosméticos, podemos citar proteases em produtos de peeling, superóxido-dismutase e catalase em formulações antienvhecimento, lipase e hialuronidase em produtos auxiliares no tratamento de celulite, fosfatase alcalina no estímulo à proliferação dos fibroblastos, tirosinase em produtos para bronzeamento. Há ainda substâncias que atuam sobre as enzimas da pele, funcionando como coenzimas e co-fatores (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

### **1.2.5 Enzimas em catálise ambiental**

A descontaminação ambiental por muitas vezes é realizada por microrganismos devido ao seu alto poder metabólico. Pressupõe que essa atividade de metabolizar componentes de poluição, se dá através de enzimas produzidas por esses organismos. De forma geral, essas enzimas degradam compostos tóxicos ou recalcitrantes a compostos inorgânicos, como dióxido de carbono e água (CHAUDHURI *et al*, 2013). Como exemplo de enzimas com poder despoluidor temos as peroxidases e as lacases que clivam corantes, anilinas, pesticidas.

Embora algumas enzimas sejam utilizadas com a função de despoluir, a gestão ambiental de resíduos se caracteriza também pela prática de reduzir a matéria-prima, além de reduzir a utilização de produtos agressivos ao meio ambiente (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

### **1.2.6 Enzimas em medicamentos e diagnósticos**

O uso de enzimas com função terapêutica começou com a utilização de enzimas do pâncreas de porco, empregadas em tratamentos gastrointestinais. Várias enzimas já são aplicadas em diversas desordens, como por exemplo, anti-inflamatórios, câncer, fibrose cística, deficiências metabólicas, dentre outros. Como exemplos de enzimas com função terapêutica temos a asparaginase para tratamento de leucemia, colagenase para úlceras de

pele, catalase para inflamação ou estresse oxidativo, ribonuclease para antivirais, dentro outros (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

Já as enzimas com potencial aplicação em diagnósticos, seguem três categorias: métodos enzimáticos de ensaios para análises clínicas, enzimas como biomarcadores e enzimas cujo nível é avaliado para diagnóstico clínico de doenças (BON; FERRARA; CORVO, 2008)

### **1.2.7 Enzimas na produção de bebidas e alimentos**

As enzimas são ferramentas ideais para formulações de alimentos, visto que elas são específicas para o seu substrato. O processamento de alimentos por enzimas é mais simples que os processos químicos ou físico-químicos, que podem afetar todo o substrato. Além do fato de as enzimas serem de origem natural e, portanto, são consideradas mais seguras para o uso em alimentos e bebidas do que aditivos químicos (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

Enzimas como a  $\alpha$ -amilase, amilo-glicosidade,  $\beta$ -amilase são aplicadas na panificação, lipase no desdobramento de óleos e gorduras, lactase na hidrólise da lactose, renina na precipitação da caseína do leite, peptidases para a produção de proteína hidrolisada, maturação de queijos e produtos lácteos (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

### **1.3 Proteases**

De acordo com Barrett *et al.* (1994 *apud* BON *et al.*, 2008), peptidases, peptídeo-hidrolases ou proteases são enzimas hidrolíticas que clivam ligações peptídicas nas proteínas. As peptidases são enzimas que pertencem a classe 3 (hidrolases) e a subclasse 3.4 (peptídeo-hidrolases), segundo o Comitê de Nomenclatura Enzimática. Elas podem clivar ligações no interior ou extremidades da cadeia polipeptídica, sendo denominadas, respectivamente, de endopeptidases e exopeptidases. As exopeptidases podem atuar na região N-terminal ou C-terminal na cadeia polipeptídica, sendo denominadas, respectivamente, aminopeptidases e carbopeptidases. (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

As endopeptidases são também conhecidas como proteinases e são classificadas de acordo com o aminoácido do sítio ativo envolvido na atividade enzimática ou no seu mecanismo de ação (van der HOORN, 2008).

De acordo com o sistema MEROPS peptidase database (<http://merops.sanger.ac.uk/>), as peptidases podem ser agrupadas em famílias, das quais são:

Aspartica (A), Cisteína (C), Glutâmica (G), Metalo (M), Asparagina (N), Serina (S), Threonina (T), Desconhecida (U) (RAWLINGS *et al.*, 2012).

As proteases pertencentes a cada tipo catalítico são incluídas em famílias, com base na similaridade de estrutura primária. Algumas proteases classificadas na mesma família podem ainda ser incluídas em clãs, de acordo com seu grau de homologia (RAWLINGS *et al.*, 2012).

### 1.3.1 Aplicações biotecnológicas das proteases

O estudo das proteases começou no final do século XVI, quando os fisiologistas estavam interessados no sistema digestivo humano. Porém as primeiras proteases já eram utilizadas na antiguidade, de forma empírica, através de tecidos animais, vegetais e outros materiais biológicos ricos dessas enzimas para a preparação de queijo, tratamento do couro, dentre outros (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

As proteases são ricas em diversidade estrutural e mecanismos de ação, o que possibilita as mais variadas aplicações biotecnológicas, como, por exemplo, na indústria têxtil, de alimentos, detergente e farmacêutica (GONZÁLEZ-RÁBADE *et al.*, 2011).

Na indústria de detergentes, em 1913, Röhm criou o primeiro detergente contendo a enzima tripsina, porém não obteve muito sucesso devido a instabilidade da enzima em pH muito alcalino. Porém no decorrer dos anos, novas formulações de detergentes foram criadas para atender as condições de lavagens. O uso de enzimas em detergentes aumentou nos últimos anos devido ao alto desempenho que as proteases possuem em remoção de manchas, sendo desnecessário, assim, adição de produtos químicos, tornando o detergente menos agressivo e auxiliando na diminuição do uso de água e energia (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

Na indústria farmacêutica, a atenção maior vem para as proteases como alvo quimioterápico de inibidores de origem natural ou sintética, pois são importantes para a fisiologia e bioquímica de agentes etiológicos causadores de doenças, como esquistossomose, malária, AIDS, candidíase, além de desordens inflamatórias, respiratória, cardiovascular. Hoje há vários inibidores proteolíticos capazes de controlar a progressão de alguma patologia, por serem seletivos com relação à enzima alvo (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

Já na indústria de alimentos, as proteases podem ser usadas com a finalidade de se obter um produto com melhor sabor, aroma, textura, funcionalidade e até qualidade nutricional. Essas proteases podem ser utilizadas para a preparação de sopas e molhos.

Exopeptidases também são usadas para diminuir o sabor amargo de queijos. A hidrólise por proteases também é uma técnica utilizada para eliminar epítomos alergênicos de peixes, trigo, soja, castanha e leite. Elas também podem aumentar o tempo de prateleira de produtos alimentícios, por produzir peptídeos antimicrobianos nos alimentos (BON; FERRARA; CORVO, 2008).

### 1.3.2 Uso de proteases na produção de queijo e hidrolisados do leite

Aproximadamente um terço da produção de leite do mundo é usada para fabricação de queijo. Entre os anos de 2000 e 2008, houve um aumento de 17% em todo o mundo na produção de queijo e 43% no Brasil (FARKYE, 2004).

É evidente que os queijos tem um papel muito importante na base alimentar de muitas pessoas em todo o mundo. Isso faz com que a produção de queijos obtidos por meio de coagulação enzimática, tais como o queijo Prato, tenda a aumentar, o que significa que a procura por coagulantes (proteases) irá crescer (CAVALCATE *et al.*, 2004).

A coagulação do leite é o principal passo para a produção de queijo, que é geralmente feito por meio da protease renina. Esta é uma enzima obtida a partir de estômagos de bezerros (CAVALCATE *et al.*, 2004). Porém o abate de vitelos diminuiu, causando falta de coalho e, conseqüentemente, um aumento em seu custo (ANDRÉN, 2002 *apud* MERHEB-DINI *et al.*, 2012).

Para sobrepor este problema, a indústria de laticínios tem procurado outras fontes de proteases que possam mimetizar a ação da renina para a produção de queijos. Nesse contexto, as enzimas proteolíticas de origem vegetal tem recebido atenção especial devido às suas propriedades de serem ativas numa vasta gama de temperatura e pH (TEJADA; FERNÁNDEZ-SALGUERO, 2003).

Infelizmente, a ação proteolítica excessiva da maioria das proteases vegetais tem limitado a sua utilização no fabrico de queijo devido a baixos rendimentos de queijo, sabor amargo e os defeitos de textura. Conseqüentemente, a busca de novas enzimas coagulantes em potencial a partir de plantas continua, a fim de torná-las industrialmente úteis e corresponder à crescente demanda mundial para a produção de queijo de boa qualidade, aroma, sabor e textura (HASHIM *et al.*, 2011).

Um dos coalhos vegetais mais bem sucedidos e conhecidos, que foram utilizados para a fabricação de queijos tradicionais em Portugal e Espanha, foi obtido a partir das flores do cardo, *Cynara cardunculus* (TEJADA; FERNÁNDEZ-SALGUERO, 2003). O uso dessas

proteases vegetais como coagulantes do leite é muito interessante, uma vez que as enzimas são naturais e podem também ser usadas para a produção de queijos destinados aos consumidores lacto-vegetarianos e mercados ecológicos (GOMEZ *et al.*, 2001).

Outra grande aplicação de proteases na indústria alimentícia está no preparo de hidrolisados proteicos. Isso porque muitas proteínas presentes nos alimentos são responsáveis pelo surgimento de alergias, que vêm drasticamente aumentando nas últimas décadas (FERREIRA; SEIDMAN, 2007).

Entre os vários alimentos, o leite bovino é a principal causa de alergia alimentar nos primeiros meses de vida e a falta de tratamento adequado pode trazer sérias consequências para o desenvolvimento da criança. Estima-se que alergia às proteínas do leite de vaca é responsável por 77% dos casos de alergia alimentar (RESTANI *et al.*, 2009).

Esse problema trata-se de uma reação do sistema imunológico às proteínas do leite, que provoca problemas gastrintestinais (diarreia, constipação, náuseas e vômitos), respiratórios (asma, rinite e chiado no peito) e na pele (manchas, lesões nas dobras e coceiras) (FIOCCHI *et al.*, 2010).

O leite contém aproximadamente 20 diferentes proteínas que podem estar envolvidas nas reações alérgicas. Contudo, as caseínas (80% das proteínas do leite) estão entre as principais causas de alergia (RESTANI *et al.*, 2009).

As formulações mais frequentemente utilizadas em lactentes alérgicos ao leite de vaca consistem de hidrolisados de caseína e de soro de leite, que são muito eficazes (97%) (BENEDÉ *et al.*, 2013). No Estado do Ceará, o número de crianças entre zero e dois anos que apresentam alergia ao leite bovino é bastante alto e devido ao elevadíssimo preço do leite hidrolisado, inacessível a muitas famílias, impôs ao Governo a criação de um programa público para cadastramento e fornecimento de leite para estas crianças durante os dois primeiros anos de vida. Recentemente, início de 2013, este programa foi ampliado para até três anos de idade. Existem dois produtos disponíveis que são importados e de elevadíssimo custo. Um dos produtos, utilizado nos casos mais agudos, representa uma formulação de aminoácidos livres, isento de proteínas ou peptídeos do leite. Enquanto o outro, utilizado os casos menos drásticos, é formulado com peptídeos derivados da hidrólise do leite bovino.

## 1.4 Propriedade Intelectual

Diante das possíveis aplicações das enzimas nas diversas áreas das indústrias e ao montante de dinheiro envolvido, a proteção do processo de obtenção e aplicação destas moléculas através das patentes é um passo imprescindível para a indústria e para a pesquisa básica.

A propriedade intelectual abrange dois ramos principais: *Copyright*, que lida com autoria de obras literárias, musicais e artísticas; e Propriedade Industrial, que abrange patentes, marcas e repressão aos atos de concorrência desleal. Cada país possui sua legislação a respeito à propriedade intelectual, sendo aplicada, obviamente, apenas dentro dos seus limites territoriais. Se o proprietário de uma patente deseja obter tal propriedade em outros países, deverá solicitar tal patente obedecendo à legislação de cada país (MACEDO; MÜLLER; MOREIRA, 2001).

Patente é um título de propriedade temporária sobre uma invenção ou modelo de utilidade, outorgado pelo Estado aos inventores ou autores ou outras pessoas físicas ou jurídicas detentoras de direitos sobre a criação. Em contrapartida, o inventor se obriga a revelar detalhadamente todo o conteúdo técnico da matéria protegida pela patente. A proteção da invenção, na maioria dos países, tem duração de 20 anos (MACEDO; MÜLLER; MOREIRA, 2001). No Brasil, a vigência da patente é de 20 anos e a de modelo de utilidade é de 15 anos, sempre contados da data do depósito (INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL, 2013).

No que diz respeito a patenteamento de produtos de origem natural, como, por exemplo, extratos com atividade biológica ou moléculas isoladas de plantas é passível de patenteamento na maioria das legislações, porém o Brasil não segue essa ideia (MACEDO; MÜLLER; MOREIRA, 2001). O artigo 10<sup>a</sup> da Lei de Propriedade Industrial Brasileira, Lei n° 9.270/96 diz que “não se considera invenção nem modelo de utilidade o todo ou parte de seres vivos naturais e materiais biológicos encontrados na natureza, ou ainda que dela isolados, inclusive o genoma ou germoplasma de qualquer ser vivo natural e os processos biológicos naturais” (BRASIL, 1996).

No Brasil, um produto encontrando na natureza não é patenteável, porém o isolamento, assim como a purificação desse produto da natureza, pode ser transformado em um produto manufaturado patenteável (MACEDO; MÜLLER; MOREIRA, 2001).

### 1.4.1 Banco de dados de patentes

Empresários ou pesquisadores que pretendem investir em inovação deverão fazer uma busca por anterioridades em bancos de patentes antes de investir em novos projetos, assim poderá reduzir os riscos de perda do investimento e, principalmente, reduzir gastos com honorários profissionais de advogados e agentes da propriedade intelectual caso já exista algo a respeito do que virá a ser desenvolvido.

Para isso, existem diversos bancos de patentes onde essa busca pode ser feita e todos esses bancos utilizam mecanismos de buscas através do uso de palavras-chave, combinadas através de operadores booleanos, onde os principais são “AND” e “OR”.

O Instituto Nacional da Propriedade Intelectual (INPI) (<https://gru.inpi.gov.br/pPI/jsp/patentes/PatenteSearchBasico.jsp>) disponibiliza busca de patentes depositadas no Brasil. O banco disponibiliza a visualização de patentes depositadas a partir de 1992, com atualização semanal do banco. São mais de 50 mil registros bibliográficos e resumos dos pedidos publicados no Brasil. O banco possuem linguagem em português e a pesquisa por patente também deverá ser realizada em língua portuguesa (TUTORIAL..., 2013).

O Derwent Innovations Index é um banco de dados associado ao Web of Knowledge (<http://apps.webofknowledge.com>). Este banco reúne patentes de vários outros bancos de diversos países, com patentes depositadas a partir de 1963 e com mais de 20 mil patentes adicionadas por semana. Esse banco engloba patentes nas áreas de engenharias química, elétrica, eletrônica e mecânica, além da biológica. Há mais de 30 milhões de patentes neste banco com links para textos completos de patentes disponíveis gratuitamente na Internet (USPTO e European Patents). No mecanismo de busca, os termos deverão ser escritos em língua inglesa (TUTORIAL..., 2013).

O United States Patent and Trademark Office (USPTO) (<http://patft.uspto.gov/netahtml/PTO/search-adv.htm>) é o banco de patentes dos Estados Unidos, onde abrange patentes depositadas a partir de 1790, com atualização semanal. São mais de 7 milhões de patentes depositadas. O banco permite a visualização de patentes já depositadas e pedidos de patentes. As pesquisas nesse banco também deverão ser realizadas em inglês (TUTORIAL..., 2013).

O ESPACENET (<http://www.epo.org/searching/free/espacenet.html>) é o banco de patentes europeu que abrange outros dois bancos, um banco europeu e um banco mundial, o European Patent Office (EPO) e World Intellectual Property Organization (WIPO),

respectivamente. São mais de 60 milhões de patentes mundiais depositadas com atualização toda semana, abrangendo patentes a partir de 1836. A interface do banco pode ser em vários idiomas, mas a pesquisa só pode ser realizada em inglês (TUTORIAL..., 2013).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Este trabalho teve por objetivo geral fazer uma correlação entre o número de patentes depositadas e a quantidade de artigos científicos publicados no mundo relacionados a proteases vegetais aplicadas na produção de queijo e leite hipoalergênico.

### **2.2 Objetivos específicos**

Pesquisar nos bancos de patentes USPTO, Derwent Innovations Index, ESPACENET e INPI o número de patentes relacionadas à protease vegetal ou de látex para a produção de queijo e leite hipoalergênico, de 1976 a 2013.

Pesquisar no Web of Science o número de artigos científicos publicados sobre protease vegetal ou de látex para a produção de queijo e leite hipoalergênico, de 1976 a 2013.

Comparar o número de patentes depositadas e o número artigos científicos publicados no tema e desenvolver uma análise crítica dos dados e a perspectiva biotecnológica de investimentos nesta área.

### 3 METODOLOGIA

Descrição dos métodos de busca de patentes e artigos científicos sobre proteases vegetais ou proteases de látex com aplicação na fabricação de queijo e hidrólise de proteínas do leite.

#### 3.1 Buscas por patentes

As buscas por patentes no tema de proteases vegetais ou proteases de látex aplicadas na fabricação de queijos e hidrólise de proteínas do leite foram realizadas nos principais bancos de patentes mundiais e do Brasil. Os bancos internacionais foram USPTO (Estados Unidos), Derwent Innovations Index (mundial) e ESPACENET-Worldwide (banco europeu com patentes mundiais), todos com buscas em inglês, e o banco nacional INPI, com buscas em português.

As palavras-chave utilizadas para as buscas foram plant, latex, protease, peptidase, proteinase, milk, dairy, casein e cheese para busca em inglês nos bancos USPTO, ESPACENET-Worldwide e Derwent Innovations Index. Para buscas no INPI, as palavras-chave foram planta, látex, protease, peptidase, proteinase, leite, laticínio, caseína e queijo.

Para aperfeiçoar a busca, essas palavras-chave foram combinadas utilizando os operadores booleanos “AND” e “OR”, em três grupos de buscas:

- a) Grupo 1: ((plant OR latex) AND (protease OR peptidase OR proteinase));
- b) Grupo 2: ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese));
- c) Grupo 3: ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)).

Nas buscas realizadas nos bancos USPTO, Derwent Innovations Index e ESPACENET-Worldwide foram utilizados os três grupos para as pesquisas. As buscas no INPI também foram utilizados os três grupos, porém a escrita das palavras-chave foi em língua portuguesa, ficando em inglês apenas os operadores booleanos.

Além das pesquisas utilizando as palavras-chave, no banco ESPACENET-Worldwide, foi realizada uma busca de patentes das principais empresas no ramo de laticínios utilizando apenas o grupo 2, juntamente com o nome das empresas.

### **3.1.1 Busca por patentes no USPTO**

A busca de patentes no banco USPTO foi realizada no dia 24 de novembro de 2013, entre 15:32 e 17:44 horas, com busca de patentes depositadas a partir do ano de 1976 a 2013.

Foi acessada a página oficial do USPTO: <http://www.uspto.gov/>, onde contém a aba “Patents”. Nesta aba foi selecionada a opção “Patent Search”, onde na nova página que se abriu foi clicado em “USPTO Patent Full-Text and Image Database (PatFT)” e depois em “Searching Full Text Patents (Since 1976)”, selecionando “Advanced Search”. As palavras-chave foram escritas no campo específico da página, onde foi selecionada a opção por busca dessas palavras-chave no título (ttl) e depois no resumo (abst) da patente depositada.

### **3.1.2 Busca por patentes no Derwent Innovations Index**

A busca de patentes no banco Derwent Innovations Index foi realizada no dia 26 de novembro de 2013, entre 18:04 e 19:47 horas, com busca de patentes depositadas a partir do ano de 1976 a 2013.

Foi acessado o site oficial do Web of Knowledge: <http://wokinfo.com/>. Na aba “Product access”, foi selecionado a opção “Web of Knowledge”. Aberta a página guia, foi clicado na sessão “Selecionar uma base de dados” e depois em “Derwent Innovations Index”. Nesta página, foi selecionadas buscas de patentes no intervalo de 1976 a 2013. As palavras-chave foram escritas no campo específico da página, onde foi selecionada a opção por busca dessas palavras-chave no “Título” e depois no “Tópico” da patente depositada.

Depois que as patentes foram mostradas, a pesquisa foi refinada na sessão “Área de conhecimento”, sendo selecionada a opção “FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY”.

### **3.1.3 Busca por patentes no ESPACENET-Worldwide**

Foi acessada a página oficial no banco ESPACENET: <http://www.epo.org/>. Na aba “Searching for patents”, foi selecionada a opção “Espacenet-patent search”. Aberta a página guia para a pesquisa, na sessão “Access Espacenet at the EPO”, foi clicado em “Open Espacenet at the EPO”. Após o redirecionamento da página, foi clicado em “Advanced Search”, selecionando a opção “Worldwide”. Nos espaços relacionados à busca, o conjunto de

palavras-chave foi escrito no espaço “Title or abstract” e no espaço “Publication date” foi inserido o espaço de tempo de 1976 a 2013.

Por motivo deste banco de patentes ser mais completo em termo de buscas, ele foi selecionado para pesquisar patentes depositadas por empresas, pois há um espaço específico para esse tipo de busca. Então selecionando as mesmas metodologias das busca descritas, utilizando apenas o grupo 2 ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese)) de palavras-chave, foram pesquisadas patentes depositadas das principais empresas no ramo de laticínios, das quais são: Fonterra, Dairy farmers of America, Nestlé, Deans Foods, Royal Friesland Campina, Lactalis, Arla Foods, Danone, California Dairies, Kraft Foods, Nordmilch & Humana e Saputo (STOCK; SIQUEIRA, 2011).

### **3.1.4 Busca por patentes no INPI**

No INPI, a busca de patentes foi realizada em 24 de novembro de 2013, de 18:25 a 19:23 horas.

Foi acessada a página de busca do INPI: <https://gru.inpi.gov.br/pPI/>. Na página que abriu, foi clicado na palavra “Continuar”. Na nova página, foi selecionada a opção “Pesquisa Base Patentes” e depois “Pesquisa Avançada”. Nessa nova página, foi escrito nos campos selecionados para a busca, as palavras-chave, com busca por “Título” e, depois, busca por “Resumo”, no período de 1992 a 2013.

### **3.2 Busca de artigos científicos no Web of Knowledge**

Para a pesquisa de artigos científicos sobre o tema, foram utilizadas as mesmas combinações de palavras-chave das buscas de patentes, divididas em grupos:

- a) Grupo 1: ((plant OR latex) AND (protease OR peptidase OR proteinase));
- b) Grupo 2: ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese));
- c) Grupo 3: ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)).

A pesquisa foi realizada no site do Web of Knowledge: <http://wokinfo.com/>. Na aba “Product acess”, foi selecionado a opção “Web of Knowledge”. Aberta a página guia, foi clicado na seção “Web of Science”. Nesta página, foram selecionadas buscas de artigos científicos no intervalo de 1976 a 2013. As Palavras-chave foram escritas no campo

específico da página, onde foi selecionada a opção por busca dessas palavras-chave no “Título” e depois no “Tópico” dos artigos. Depois que os artigos foram mostrados, a pesquisa foi refinada na sessão “Área de conhecimento”, sendo selecionada a opção “FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY”.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As proteases, também conhecidas como enzimas proteolíticas, são enzimas que catalisam a quebra de proteínas por hidrólise das ligações peptídicas (TURK, 2006). Elas são classificadas em serínicas (EC 3.4.21), cisteínicas (EC 3.4.22), aspárticas (EC 3.4.23) e metaloproteinases (EC 3.4.24) (OTTO; SCHIRMEISTER, 1997).

Até bem recentemente, proteases eram consideradas principalmente proteínas de degradação de enzimas. No entanto, essa visão mudou radicalmente e proteases são agora vistas como moléculas extremamente importantes que estão envolvidas em inúmeros processos vitais, como as vias de sinalização que são estritamente reguladas por proteases e a desregulação da atividade da protease pode levar a patologias como doenças cardiovasculares e inflamatórias, câncer, osteoporose e distúrbios neurológicos. Usando análise bioinformática do genoma de humanos, pelo menos 500-600 proteases (2% dos genomas) foram identificadas (TURK, 2006).

As proteases serínicas eram consideradas raras nas plantas, porém nos últimos anos, várias dessas enzimas foram isoladas e purificadas de várias espécies de plantas em partes distintas, que vão desde as sementes de plantas laticíferas a frutas. Elas tem de fato sido encontradas e extraídas a partir das sementes de cevada (*Hordeum vulgare* L. cv. Morex), soja (*Glycine max* [L.] Merr.) e arroz (*Oryza sativa* L.); a partir do látex da *Euphorbia supina*, dente de leão (*Taraxacum officinale*) e jaca (*Artocarpus heterophyllus* L.); a partir das flores, caules, raízes e folhas de *Arabidopsis thaliana*; a partir das raízes tuberosas; a partir de os brotos de bambu; a partir de folhas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Cesnjevec ) e tomate (*Lycopersicon esculentum* L. ) (ANTÃO; MALCATA, 2005).

O envolvimento de proteases serínica nas plantas tem sido bem documentado em muitos processos fisiológicos, estes incluem microsporogênese, simbiose, resposta de hipersensibilidade (HR), sinal de transdução e diferenciação, senescência e degradação ou processamento de proteínas (ANTÃO; MALCATA, 2005).

As proteases cisteínicas estão distribuídas em todos os seres vivos, desde bactérias até mamíferos (OTTO; SCHIRMEISTER, 1997). Em plantas, essas proteínas são encontradas em todos os tecidos e órgãos, apresentando uma grande variedade de funções fisiológicas (SCHALLER, 2004).

Proteases, principalmente do tipo cisteínica, são também relatadas em látex, no qual a papaína, presente em *C. papaya*, é a mais conhecida. Além da papaína, o látex de *C.*

*papaya* possui outras três proteases cisteínicas (MEZHLUMYAN; KASYMOVA; YULDASHEV, 2003). Em látex, as proteases são sintetizadas nas suas formas inativas e ativadas após a planta sofrer injúria mecânica, dessa forma possuindo papel indireto de defesa (SILVA *et al.*, 1997; AZARKAN *et al.*, 2003). Do mesmo modo, o látex de *Ficus glabrata* e *F. carica* (SGARBIERI *et al.*, 1964), *Calotropis gigantea* (ABRAHAM; JOSHI, 1979), *Ervatamia coronaria* (NALLAMSETTY; KUNDU; JAGANNADHAM, 2003), *Morrenia brachystephana* (CAVALLI *et al.*, 2003) e *Carica candamarcensis* (TEIXEIRA *et al.*, 2008) apresentam múltiplas proteases cisteínicas. Contudo poucos trabalhos relatam a presença de proteases aspárticas (DEVARAJ; GOWDA; PRAKASH, 2008) e nenhum descreve a presença de metaloproteases.

As proteases constituem o grupo mais importante de enzimas industriais, onde ocupa o primeiro lugar no mercado mundial de enzima, estimado em US\$ 3 bilhões, sendo utilizadas, por exemplo, na indústria de papel, detergente, alimentos e no processamento de couro e agentes terapêuticos (GONZÁLESZ-RÁBADE, 2011).

A hidrólise de proteínas dos alimentos, por exemplo, é realizada por várias razões: melhoria das características nutricionais, retardando a deterioração, modificação de diferentes propriedades funcionais (capacidades de solubilidade, formação de espuma, coagulação e emulsificantes), prevenção de interações indesejáveis, mudança de sabores e odores, e remoção de fatores tóxicos ou inibitórios, entre outros (GONZÁLESZ-RÁBADE, 2011).

Uma das aplicações mais importantes de proteases na indústria alimentar é a utilização de coalho no fabrico de queijo. Enzimas de coagulação do leite foram encontradas em quase todos os tipos de tecidos das plantas e que parece ser uma regra geral que todas as enzimas proteolíticas possuem a capacidade de coagular o leite em condições adequadas (TAMER; MAVITUMA, 1997).

Na produção de queijo, a coagulação do leite por coalho de vitelo é o procedimento mais comumente usado. No entanto, a baixa oferta de coalho de vitelo e a incidência de encefalopatia espongiiforme bovina são incentivos na busca de enzimas de microorganismos e plantas. Já a utilização de proteases para a hidrólise de proteínas do leite, principalmente a caseína (até 80 % do conteúdo total de proteína) que é um dos alérgenos mais críticos do leite, é de suma importância, visto que a utilização de proteases no processamento do leite diminui a alergenicidade, contribuindo principalmente para a saúde de crianças e idosos (BENEDÉ *et al.*, 2013).

Visto que as proteases são de extrema importância para a indústria é de suma importância realizar um pedido de patente quando algo de interesse é descoberto, porém uma

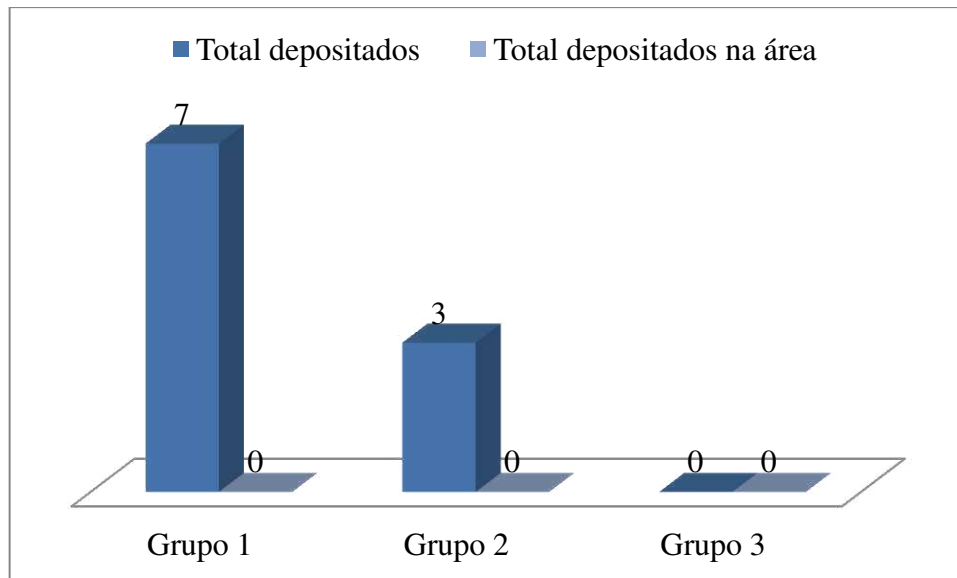
busca por anterioridade se faz necessário antes de grandes investimentos, assim poderá reduzir os riscos de perda do investimento.

#### 4.1 Resultados e discussão das buscas nos bancos de patentes

As buscas por patentes na área de proteases vegetais ou de látex aplicadas à produção de queijo e leite hipoalérgico foram realizadas em bancos de patentes: USPTO, Derwent Innovations Index, ESPACENET-Worldwide e INPI.

De acordo com a pesquisa realizada no banco de patentes USPTO, por palavras-chave contidas no título, foram encontradas no grupo 1 e grupo 2, sete e três patentes, respectivamente. Contudo, após análise de cada patente, nenhuma destas estava relacionada no tema proposto (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Número de patentes depositadas no banco de dados USPTO durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no título.



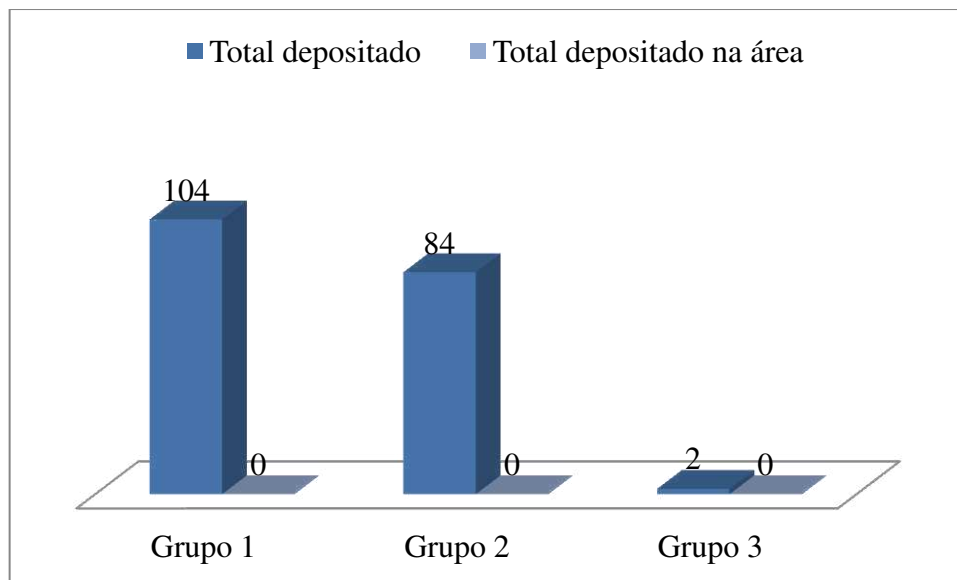
Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: Grupo 1 – ((plant OR latex) AND (protease OR peptidase OR proteinase)); Grupo 2 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese)); Grupo 3 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)).

No grupo 1, as patentes encontradas estavam relacionadas: a transformação genética de plantas com gene que codifica para uma protease de defesa contra inseto; protease para evitar o escurecimento enzimático em alimentos; e um processo para a preparação de uma solução de proteases vegetais. No grupo 2, foram encontradas patentes para a produção

de queijos a partir de proteases de microrganismos. Já no grupo 3, não foram encontradas patentes com a combinação de palavras pesquisadas, mostrando que não possuem patentes de proteases vegetais ou de látex aplicadas na fabricação de queijos ou de leites hidrolisados, utilizando em seu título essas palavras-chave.

Quando foi feita a pesquisa com as palavras-chave presentes no resumo (Gráfico 2), foram encontradas várias patentes para os grupos 1 e 2 e apenas duas no grupo 3. O interessante é que após análise de todas as patentes, nenhuma delas era no tema de estudo.

Gráfico 2 – Número de patentes depositadas no banco de dados USPTO durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no resumo.



Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: Grupo 1 – ((plant OR latex) AND (protease OR peptidase OR proteinase)); Grupo 2 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese)); Grupo 3 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)).

As patentes encontradas estavam relacionadas à transformação genética de plantas resistentes a pragas, anticorpos recombinantes, protease para a produção de fármacos, métodos de isolamento e purificação de polipeptídeos, proteases para formulação de detergentes, métodos para neutralizar a alergenicidade de proteínas do látex e também produção de queijo usando protease de microrganismos.

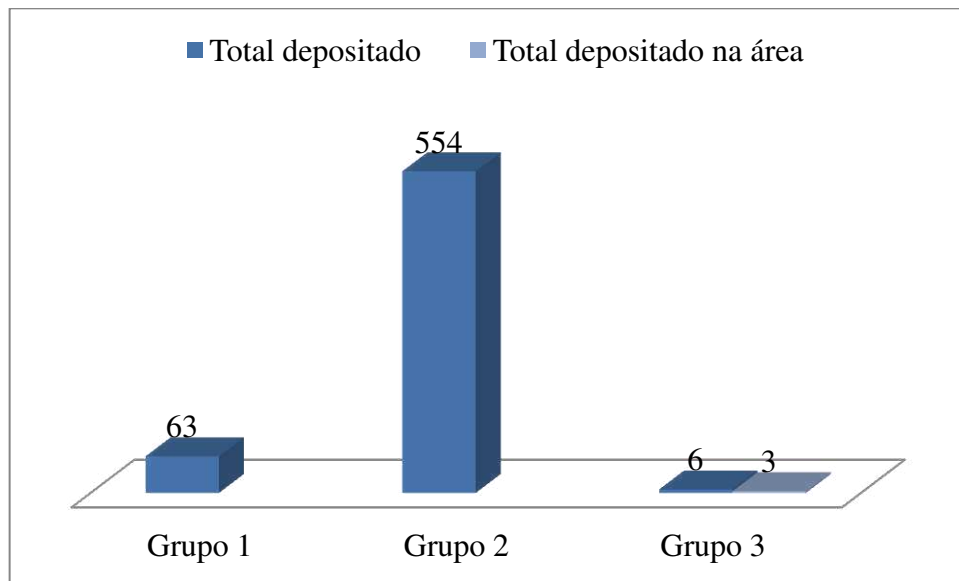
Utilizando os grupos de palavras-chave para a pesquisa no USPTO, nenhuma patente foi encontrada no tema da pesquisa. Então se pode concluir que não há patentes depositadas neste banco, a partir do ano de 1976 a 2013, no tema de patente de protease vegetal ou de látex com a aplicação na produção de queijo e hidrólise de proteínas do leite.

Vale resaltar que esse resultado foi obtido para o conjunto de palavras-chave e combinações feitas para este trabalho.

No banco de patentes Derwent Innovations Index, que é associado ao Web of Knowledge, pesquisando as palavras-chave no título, foram encontrados um grande número de patentes no grupo 1 e 2. No grupo 3, foram encontradas seis patentes, das quais três estavam relacionados ao tema da pesquisa, como pode-se observar no Gráfico 3. As patentes encontradas foram:

- Micromolecule milk production through plant protease hydrolyzation, que possui número de patente CN1522580-A, data da publicação em 25 de agosto de 2004 e invenção chinesa. Esta patente é descrita como um método para a produção de moléculas que envolve a hidrólise de proteínas do leite através de proteases de planta sob condições específicas. Sua aparência e sabor não têm nenhuma mudança, nem gosto anormal. É favorável para a digestão e absorção para pessoas idosa e infantil (TENG; MENG; XU, 2004).
- Transformed yeast that produce plant aspartic acid protease, useful for milk coagulation in cheese making, que possui número de patente WO200075283-A, EP1196542-A, WO200075283-A1, data de publicação em 9 de junho de 1999 e invenção norte americana. Esta patente é descrita como uma levedura transformada, contendo gene de origem vegetal, que codifica para uma protease aspártica com atividade de coagulação do leite para produção de queijo (SOARES; CALIXTO; PLANTA, 1999).
- Prepn. of hydrolysate of milk hoe protein rich in alpha-lactoglobulin – by adding protease from plant to aq. soln. of milk hoe protein which selectively hydrolyses beta-lactoglobulin, que possui número de patente JP3092870-B2, data de publicação em 25 de setembro de 2010. Esta patente é descrita como um hidrolisado de proteínas do leite preparado por adição de protease originada de planta, que hidrolisa seletivamente beta-lactoglobulina. Depositada por Snow Brand Molk Prod Co Ltd e Amano Pharm KK, 2010.

Gráfico 3 – Número de patentes depositadas no banco de dados Derwent Innovations Index durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no título.



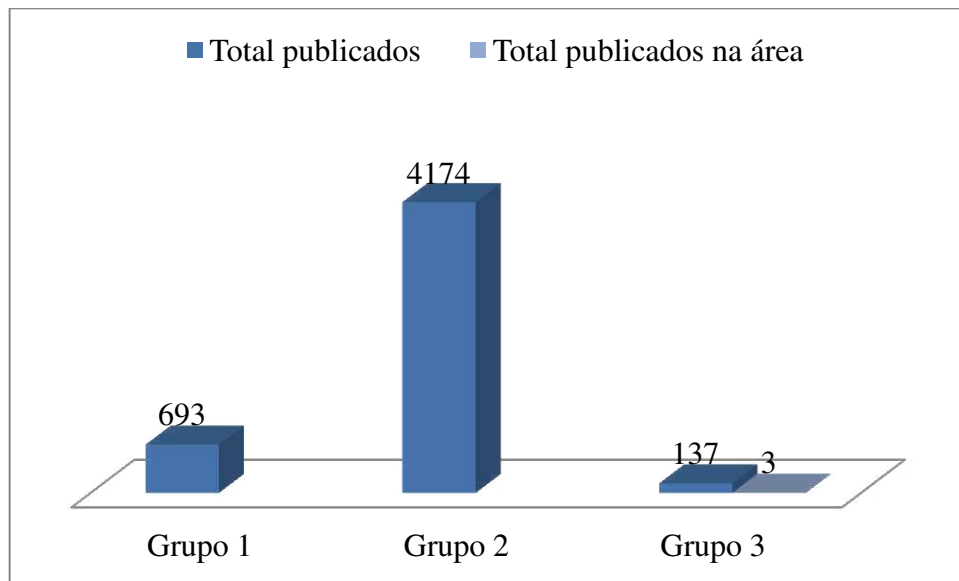
Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: Grupo 1 – ((plant OR latex) AND (protease OR peptidase OR proteinase)); Grupo 2 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese)); Grupo 3 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)).

Nas buscas utilizando as palavras-chave no resumo (Gráfico 4), foram encontradas muitas patentes no grupo 1 e 2, sendo analisado apenas o grupo 3. Das 137 patentes encontradas no grupo 3 e após análise de cada uma, foi encontrada 3 patentes no tema, sendo que essas 3 já haviam sido encontradas na busca realizada no título (Gráfico 3).

Das patentes que foram encontradas e que não estavam relacionadas ao tema em análise, muitas delas eram relacionadas à defesa de plantas, através da técnica do DNA recombinante. Há muitas patentes também com proteases para a produção de leite e queijo de soja, ou para a produção de ração animal ou de fármacos. Quanto as patentes que envolvem palavras-chave leite e queijo, a maioria das patentes descreve a produção através de proteases originadas de bactérias e leveduras. Também foram encontradas patentes de proteases relacionadas com a produção de suplementos dietéticos.

Então, neste banco de dados, foram encontradas apenas 3 patentes no tema de proteases vegetais ou de látex na produção de queijo e leite hipoalergênico, utilizando o conjunto e combinação de palavras-chave descritas na metodologia de busca.

Gráfico 4 – Número de patentes depositadas no banco de dados Derwent Innovations Index durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no resumo.



Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: Grupo 1 – ((plant OR latex) AND (protease OR peptidase OR proteinase)); Grupo 2 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese)); Grupo 3 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)).

No geral, no banco Derwent Innovations Index, foram encontradas apenas quatro patentes de proteases vegetais e nenhuma de látex aplicada à produção de queijo e leite hipoalergênico.

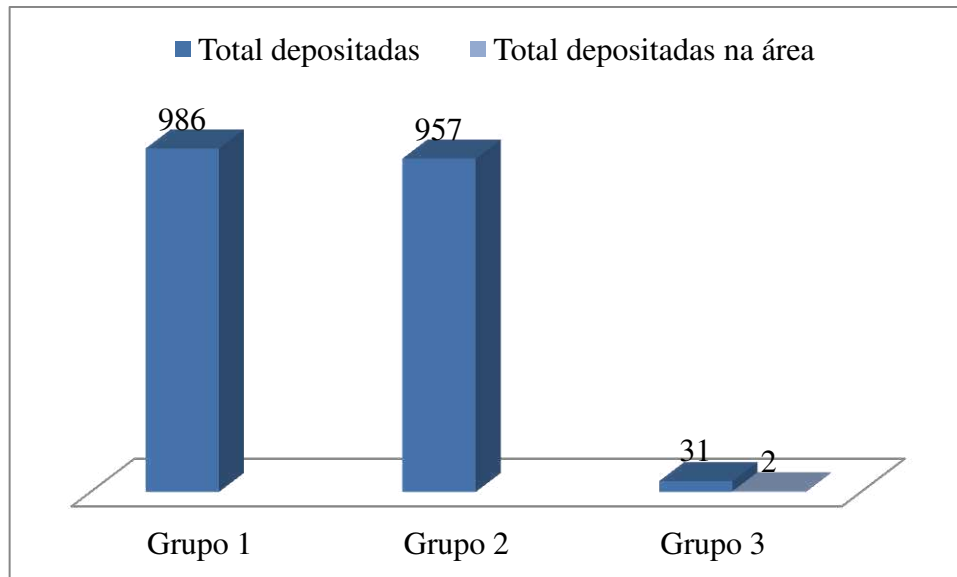
No banco de patentes ESPACENET, fazendo a busca por título ou resumo, simultaneamente, os grupo 1 (986) e 2 (957) mostraram um número muito grande de patentes, o que impossibilitou a análise detalhada de cada patente. Como o grupo 3 é o objetivo do trabalho e encobre o grupo 1 e 2, ele foi o único grupo analisado. Das 31 patentes que o banco mostrou em relação ao grupo 3, após a análise de todas, apenas 2 patentes pertencem ao tema de estudo (Gráfico 5).

A patente intitulada de “Micromolecule milk production through plant protease hydrolyzation” já foi encontrada no banco de patentes Derwent Innovations Index. O motivo para encontrar essa patente nos dois bancos é que o Derwent Innovations Index é um banco que abrange patentes depositadas por todo o mundo, mas não significa dizer que esse banco possui todas as patentes que já foram depositadas no mundo.

A outra patente encontrada foi: “Production of milk whey protein hydrolysate”, que possui número de patente JPH05103595, data da publicação em 18 de outubro de 1991. Esta patente é descrita como um método eficaz para se obter um hidrolisado hipoalérgico a

partir de uma protease de origem vegetal que é adicionada a uma solução aquosa de proteínas do soro do leite em uma concentração específica.

Gráfico 5 – Número de patentes depositadas no banco de dados ESPACENET durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no título ou resumo.



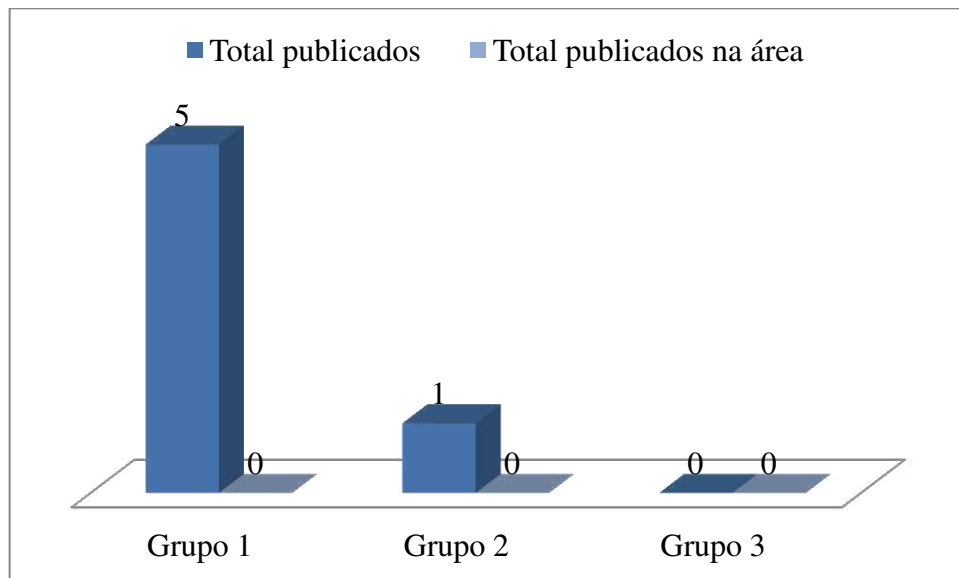
Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: Grupo 1 – ((plant OR latex) AND (protease OR peptidase OR proteinase)); Grupo 2 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese)); Grupo 3 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)).

Também foi analisada a possibilidade de depósito de patentes pelas principais empresas no ramo de laticínios, das quais são: Fonterra, Dairy farmers of America, Nestlé, Deans Foods, Royal FrieslandCampina, Lactalis, Arla Foods, Danone, California Dairies, Kraft Foods, Nordmilch & Humana e Saputo (STOCK; SIQUEIRA, 2011).

Essa busca foi realizada utilizando apenas o grupo 2 de palavras-chave e o nome da empresa. Como resultado, nenhuma dessas empresas depositou patentes no tema em análise, usando o banco de dados ESPACENET.

Dos dados coletados no INPI, para buscas usando as palavras-chave no título, foram observados cinco patentes para o grupo 1 e uma patente para o grupo 2. Para o grupo 3 de palavras-chave, não foi encontrado nenhuma patente. Para as seis patentes encontradas no geral, nenhuma estava relacionada ao tema de análise (Gráfico 6).

Gráfico 6 – Número de patentes depositadas no banco de dados INPI durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no título.



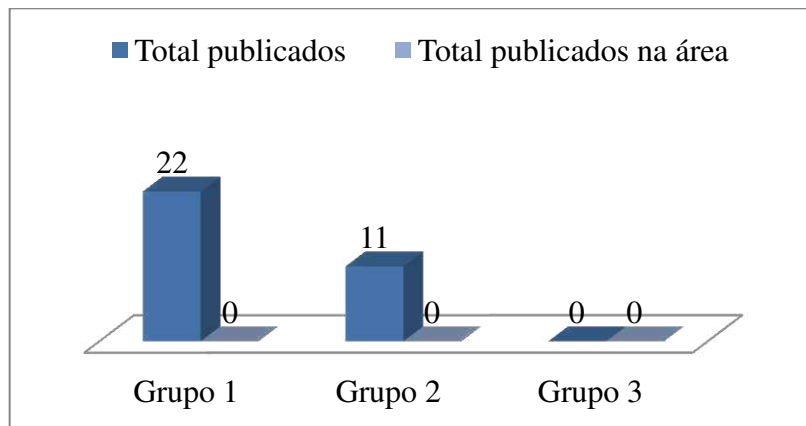
Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: Grupo 1 – ((plant OR latex) AND (protease OR peptidase OR proteinase)); Grupo 2 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese)); Grupo 3 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)).

Nas buscas utilizando as palavras-chave no resumo da patente, nos grupos 1 e 2 foram encontradas 22 e 11 patentes, respectivamente, porém também não foi encontrada nenhuma patente referente ao tema em análise (Gráfico 7). No grupo 3, também não foi encontrada nenhuma patente.

Em relação a depósito de patentes no Brasil, vale salientar que não é possível patentear proteases, já que faz parte da natureza, e nenhum produto encontrado na natureza pode ser patenteado no Brasil.

Das patentes encontradas, o assunto se referia a plantas modificadas geneticamente para a produção de proteases, produção de polipeptídeos para melhorar o valor nutricional da ração animal, controle da floculação na produção de etanol, tratamento de HIV e câncer.

Gráfico 7 – Número de patentes depositadas no banco de dados INPI durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave no resumo.

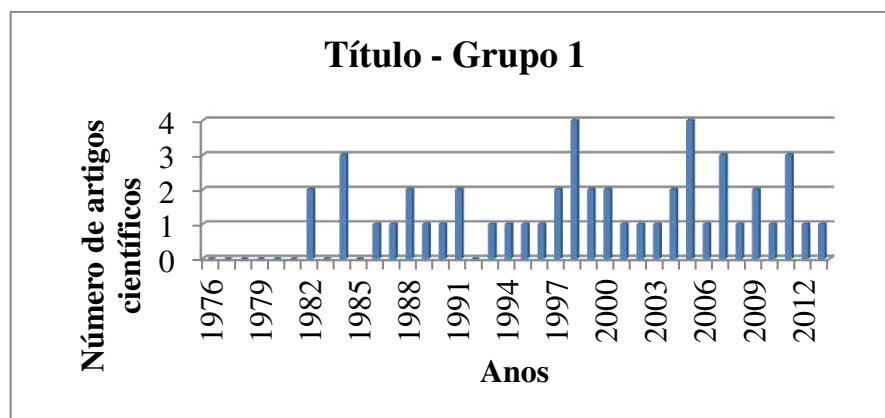


Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: Grupo 1 – ((plant OR latex) AND (protease OR peptidase OR proteinase)); Grupo 2 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese)); Grupo 3 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)).

#### 4.2 Resultados e discussão das buscas por artigos científicos no Web of Knowledge (Web of Science)

No Web of Science foi observada uma pequena quantidade de publicações de artigos científicos quando a pesquisa foi realizada utilizando o grupo 1 de palavras-chave no título (Gráfico 8). Apesar de pequena, foi observada uma regularidade no decorrer dos anos de 1982 a 2013. No período de 1976 a 1981 não foram encontradas publicações (Gráfico 8).

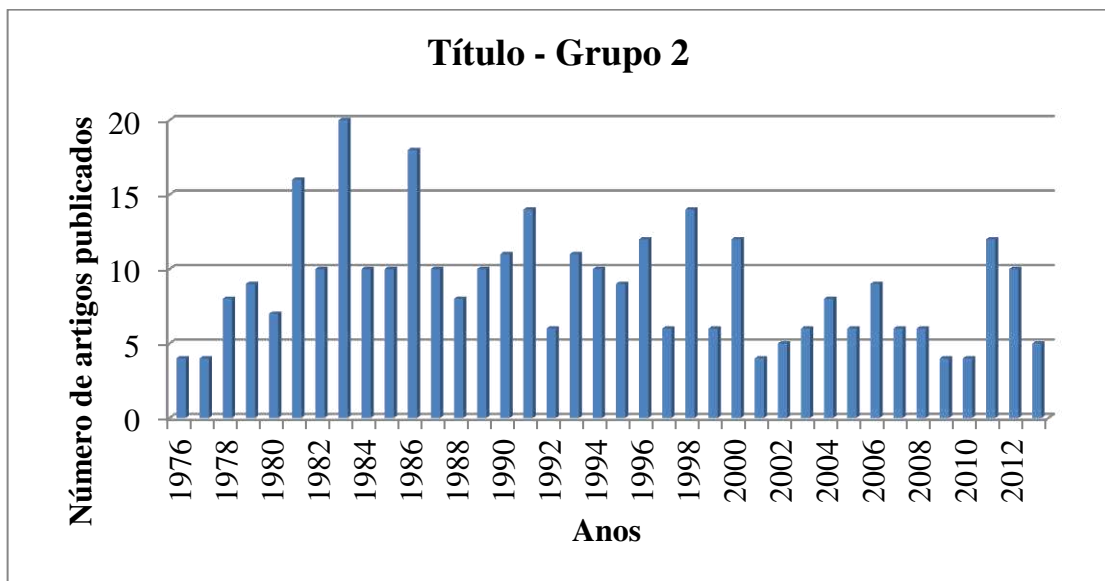
Gráfico 8 – Número de artigos científicos publicados no Web of Science durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave do grupo 1 no título.



Fonte: Adaptado do Web of Science. Legenda: Grupo 1 – ((plant OR latex) AND (protease OR peptidase OR proteinase)).

Buscando pelo título as palavras-chave do grupo 2, o número de artigos foi maior que do grupo 1. Ao longo dos anos, foi observado um ápice de publicações em 1983 com 20 publicações. Entre 1979 a 1988 foi o período que mais houve publicações de artigos com essas palavras-chave no título, e nos demais anos também houve publicações, porém foi irregular (Gráfico 9).

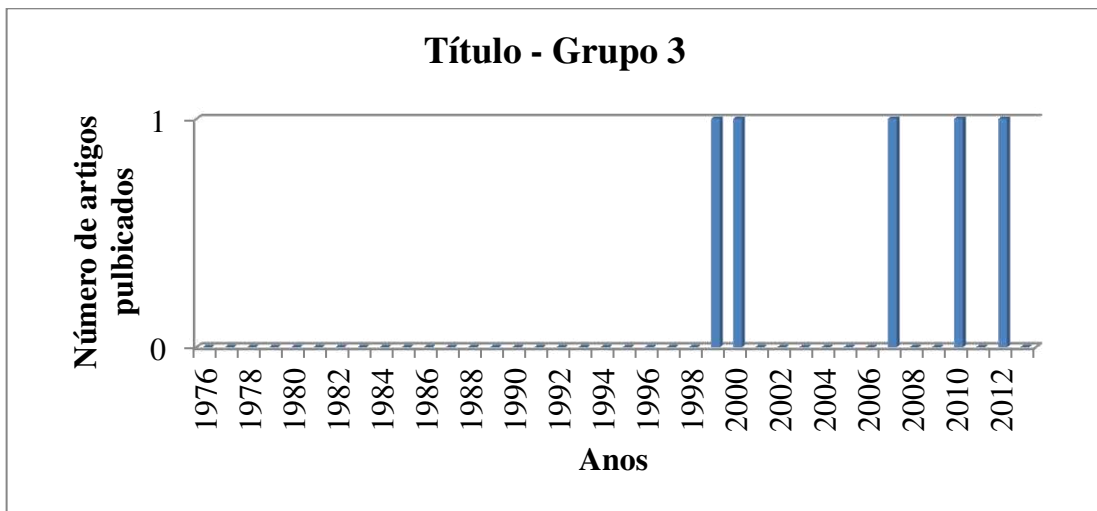
Gráfico 9 – Número de artigos científicos publicados no Web of Science durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave do grupo 2 no título.



Fonte: Adaptado do Web of Science. Grupo 2 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese)).

Já utilizando as palavras-chave do grupo 3, grupo que mais restringe a busca, foi observado que apenas nos anos de 1999, 2000, 2007, 2010 e 2012 houve publicações com essas palavras em seu título, cada ano com apenas uma publicação (Gráfico 10).

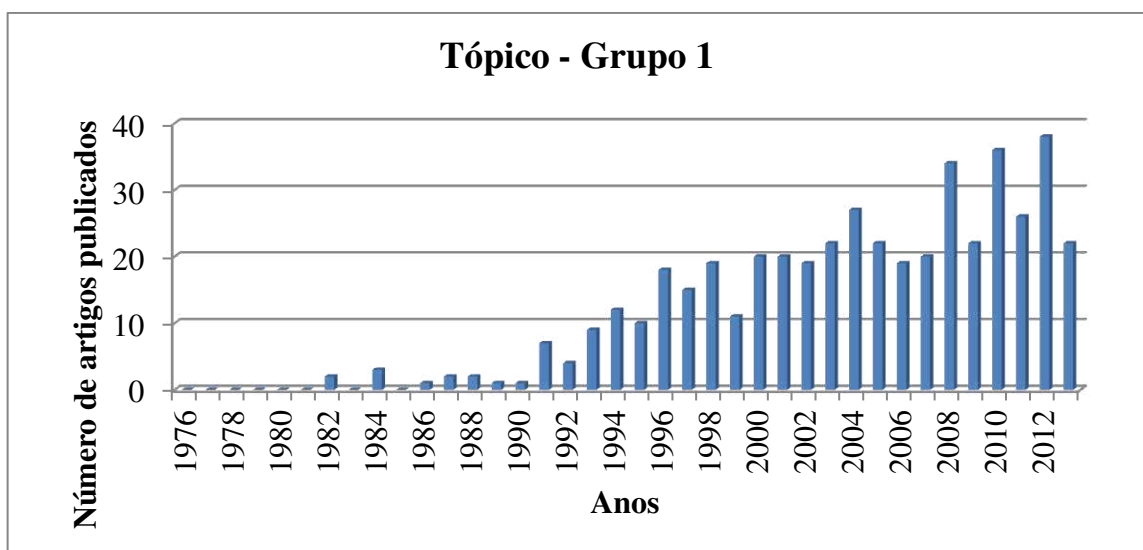
Gráfico 10 – Número de artigos científicos publicados no Web of Science durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave do grupo 3 no título.



Fonte: Adaptado do Web of Science. Grupo 3 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)).

Já utilizando as palavras-chave no tópico, observamos que em todos os grupos, o número de artigos publicados foi muito maior e se manteve crescente, principalmente, a partir de 1991. No grupo 1, houve poucas publicações nos anos que antecedem 1991 e, no período de 1976 a 1981, não houve nenhuma publicação com esse conjunto de palavras-chave (Gráfico 11).

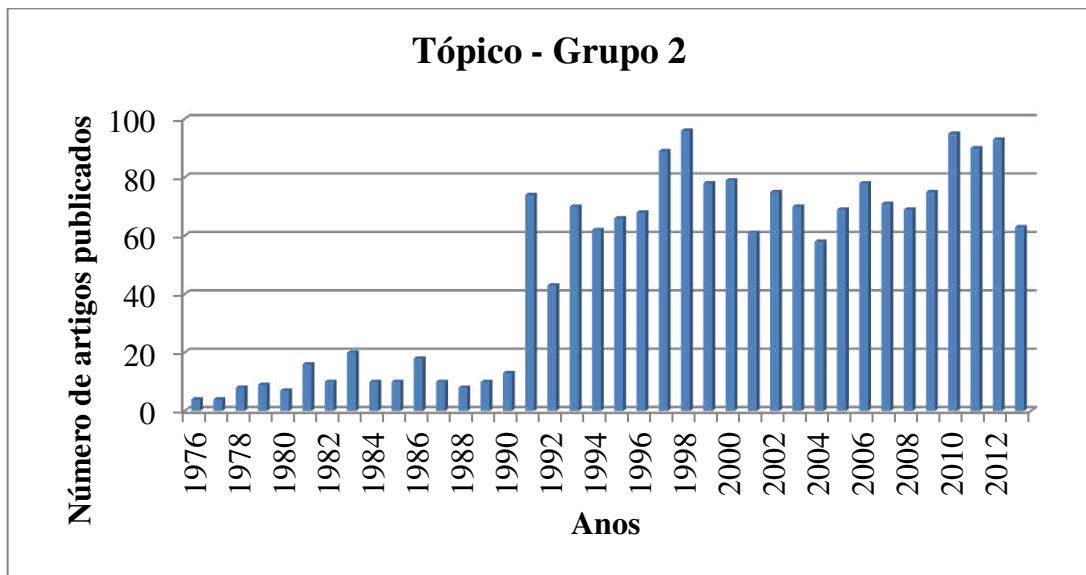
Gráfico 11 – Número de artigos científicos publicados no Web of Science durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave do grupo 1 no tópico.



Fonte: Adaptado do Web of Science. Legenda: Grupo 1 – ((plant OR latex) AND (protease OR peptidase OR proteinase)).

Utilizando as palavras-chave do grupo 2 no tópico, foi observado que em todos os anos houve publicações com esse conjunto de palavras, sendo que no período de 1976 a 1990 o número de publicações eram muito baixas em relação ao grande aumento que foi em 1991 e que se manteve até hoje (Gráfico 12).

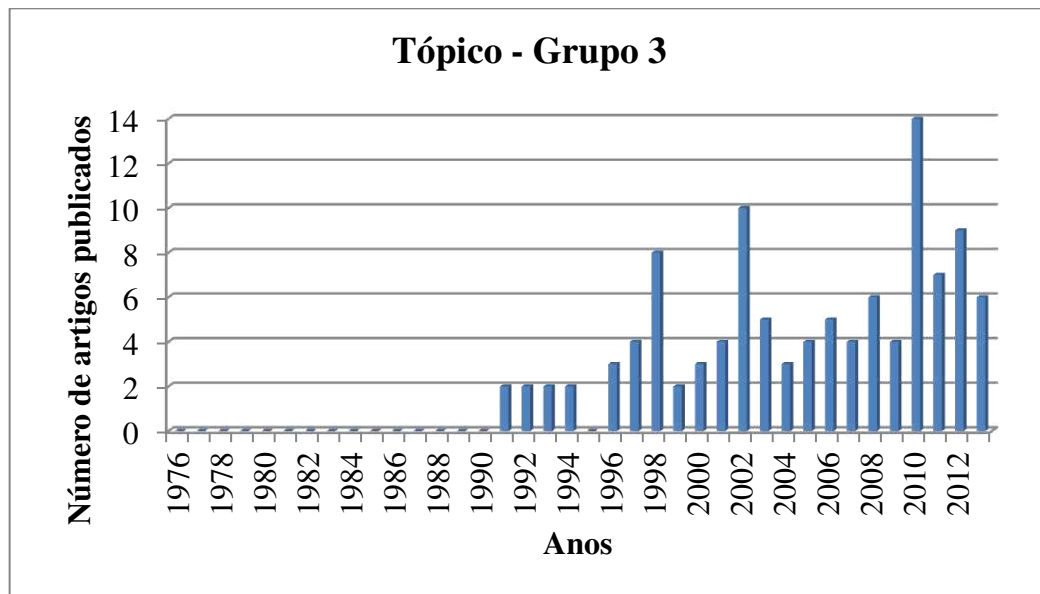
Gráfico 12 – Número de artigos científicos publicados no Web of Science durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave do grupo 2 no tópico.



Fonte: Adaptada do Web of Science. Grupo 2 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese)).

No grupo 3, o número de publicações a partir de 1991 a 2013, se manteve em crescimento de maneira geral, mas tendo quedas em apenas alguns anos. De 1976 a 1990 não houve nenhuma publicação com esse grupo de palavras-chave.

Gráfico 13 – Número de artigos científicos publicados no Web of Science durante o período de 1976-2013, pesquisando as palavras-chave do grupo 3 no tópico.



Fonte: Adaptada do Web of Science. Grupo 3 – ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)).

Analisando os resultados obtidos, observa-se que a pesquisa de artigos científicos publicados ao longo dos anos de 1976 a 2013, utilizando as palavras-chave no título dos artigos, de forma geral, apresentaram poucos trabalhos publicados no tema, sendo quase insignificante o número de publicações. Mas quando essas palavras-chave são utilizadas no tópico ou resumo do artigo, observa-se que o número de publicações aumenta, visto que no resumo dos artigos é que contém maiores informações sobre o artigo publicado.

Vale resaltar que todas as pesquisas por artigos científicos estão relacionados a alimentos, uma vez que a pesquisa foi refinada por área de conhecimento utilizando a opção “FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY”.

Utilizando o grupo 1 de palavras-chave ((plant OR latex) AND (protease OR peptidase OR proteinase)) no resumo, observou-se que a o número de publicações foi crescente a partir de 1991 (Gráfico 11), porém essas publicações envolvem proteases vegetais ou do látex sem discriminar o verdadeiro conteúdo da publicação, não sendo, então, parâmetro para analisar o crescimento da pesquisa de proteases vegetais na produção de queijo e leite hipoalergênico.

Quando analisamos o grupo 2 de palavras-chave no resumo ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese)), observou-se que a partir de 1991 também houve um grande crescimento de publicações de artigos relacionados a

proteases vegetais e queijo e leite (Gráfico 12). Quase triplicando o número de publicações em relação ao grupo 1. Embora um número crescente de artigos científicos, também não se pode tirar grandes conclusões, pois nesse grupo há proteases de variados seres vivos, não sendo apenas proteases vegetais. Mesmo assim, podemos observar que estudos de proteases relacionados à produção de queijo e leite vêm crescendo no decorrer dos anos.

Em relação ao grupo 3 de palavras-chave ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)) que é o grupo que mais restringe e caracteriza a pesquisa, foi observado que de 1991 a 2013 também houve um crescimento no número de publicações de artigos no tema, porém de forma irregular, com alguns anos publicando mais e outros menos (Gráfico 13).

O grupo 3 é o que mais caracteriza a pesquisa, pois ele é os resultados obtidos do grupo 2, que, como foi mostrado, teve um grande número e crescente publicações de artigos, sendo restringida pela palavra plant (planta), onde chegamos mais próximo do número real de publicações relacionadas a proteases vegetais ou de látex na produção de queijo e hidrolisados do leite.

### **4.3 Análise das publicações de artigos científicos e depósitos de patentes**

Ao analisar o grupo 3 ((protease OR peptidase OR proteinase) AND (milk OR dairy OR casein OR cheese) AND (plant OR latex)), que é o que mais restringe a pesquisa ao que de fato está sendo procurando no trabalho, pois foram os únicos a apresentarem patentes, nos gráficos 4 e 5 foram encontradas 137 e 31 patentes que possuem essas palavras-chave em sem resumo, respectivamente, mas apenas 4 patentes foram encontradas no tema em análise.

Em relação aos artigos publicados no tema e selecionando também o grupo 3, observa-se que o pico de artigos publicados que contenham essas palavras-chave foi em 2010, com 14 publicações (Gráfico 13), mas com crescimento a partir de 1991.

Como a pesquisa dos artigos foi refinada a “FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY”, um pequeno número de artigos no tema foi encontrado. Já a busca por patentes não havia métodos de refinar a busca. Mesmo assim se pode observar que o número de patentes no tema da pesquisa é menor que o número de publicações de artigos científicos.

Considerando os aspectos avaliados é possível ainda discutir que outros pontos. É curioso que diante a vasta literatura que descreve proteases vegetais, não tenhamos evidenciado correlações diretas para a aplicação destas na fabricação de queijos ou de hidrolisados de leite. É preciso lembrar que ambas as aplicações são temas de ponta na

indústria. Ou seja, é notória a necessidade de novas proteases para ambas as aplicações, entretanto não há evidentes correlações entre publicações e patentes.

Certamente é esperado que o número de publicações científicas em um tema específico seja muito maior que o número de documentos de propriedade. Entretanto, considerando os resultados observados nesta pesquisa pode ser concluído que proteases laticíferas podem representar uma excelente fonte primária para bioprospecção para aplicação na produção de queijos e hidrolizados de leite.

Um dos motivos para a maior produção de artigos científicos em relação ao número de depósito de patentes é que os cientistas são avaliados pelo número de publicações que possui. Mais publicações levam a um maior reconhecimento e maior índice de aprovação de projetos pelos órgãos de fomento (FEDERMAN, 2008).

Quando levamos essa problemática para o Brasil, vemos que em 2009, o Brasil publicou 32 mil artigos científicos, o que equivale a 54% produção latino-americana e 2,7% da mundial, e em relação a patentes foram contabilizados 673 pedidos de patentes entre 1990 e 2007 (GRANDELLE, 2011).

Alguns cientistas contentam-se em apresentar seus estudos em revistas científicas, congressos e seminários. Como, depois de uma apresentação em público, não é mais permitido patentear o trabalho, acabam sem registrá-lo (GRANDELLE, 2011).

Ainda em relação ao Brasil, uma das principais fontes de desestímulo ao sistema de proteção intelectual vem do aspecto do próprio INPI, que possui em seu interior uma burocratização intensa que se torna obstáculo a quem quer ter sua proteção garantida (LAMANA; KOVALESKI, 2010).

Outro aspecto a ser levantado, é a ineficiência do nosso sistema judiciário, que é tão lento quanto o sistema de patentes. Há falta de um juizado especializado em propriedade intelectual. Por esses motivos é mais fácil publicar artigos científicos do que fazer depósitos de patentes. E toda essa burocracia também gera uma contradição, pois mais da metade do que se gasta com pesquisa vem de fundos públicos, o que deveria voltar a sociedade na forma de resultados, porém esse retorno tem sido pouco repassado (GRANDELLE, 2011).

## **5 CONCLUSÃO**

De acordo com as pesquisas realizadas sobre depósito de patentes sobre proteases vegetais ou de látex aplicadas na produção de queijo e leite hipoalergênico, pode-se observar que o número de patentes ainda é pequeno, porém é notório o aumento das publicações de artigos científicos no tema, o que pode sugerir que a pesquisa nesse ramo está aumentando.

Em relação a pedido de depósito de patente no Brasil, pode-se concluir que a burocratização é um dos empecilhos para que esse ramo se desenvolva.

## REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, K.I., JOSHI, P.N. Studies on proteinases from *Calotropis gigantea* latex. Purification and some properties of two proteinases containing carbohydrates. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 568, p. 111–119, 1979.
- ANTÃO, C. M.; MALCATA, F. X. Plant serine proteases: biochemical, physiological and molecular features. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 43, p. 637–650, 2005.
- AZARKAN, M., EL MOUSSAOUI, A., VAN WUYTSWINKEL, D., DEHON, G., LOOZE, Y. Fractionation and purification of the enzymes stored in the latex of *Carica papaya*. **Journal of Chromatography B**, v. 790, p. 229-238, 2003.
- BAJPAI, P.; BAJPAI, P. K.; KONDO, R. Introduction, biotechnology for environmental protection in the pulp and paper industry. Berlin, **Springer-Verlag**, 1999.
- BENEDÉ, S.; LÓPEZ-EXPÓSITO, I.; GIMÉNEZ, G.; GRISHINA, G.; BARDINA, L.; SAMPSON, H.A.; MOLINA, E.; LÓPEZ-FANDIÑO, R. In vitro digestibility of bovine b-casein with simulated and human oral and gastrointestinal fluids. Identification and IgE-reactivity of the resultant peptides. **Food Chemistry**, v. 143, p. 514-521, 2013.
- BINOD, P.; PALKHIWALA, P.; GAIKAIWARI, R.; NAMPOOTHIRI, K. M.; DUGGAL, A.; DEY, K.; PANDEY, A. Industrial enzymes – present status and future perspectives for India. **Journal of scientific & Industrial research**, v. 72, ed. 5, p. 271-286, 2013.
- BON, E. P. S.; FERRARA, M. A.; CORVO, M. L. **Enzimas em biotecnologia: produção, aplicação e mercado**. Rio de Janeiro: Interciência: UFRJ: CAPES: FAPERJ: FCT [Portugal], 2008.
- BRASIL. Lei nº 9.279, de 14 de maio de 1996. **Regula direitos e obrigações relativos à propriedade industrial**. <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/L9279.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9279.htm)> Acesso em: 21 de novembro de 2013.
- CAVALCANTE, M. T. H.; TEIXEIRA, M. F. S.; LIMA FILHO, J. L.; PORTO, A. L. F. Partial purification of new milk-clotting enzyme produced by *Nocardopsis* sp. **Biores. Technol.**, v. 93, p. 29-35, 2014.
- CAVALLI, S.E.V., ARRIBÉRE, M.C., CORTADI, A., CAFFINI, N.O., PRIOLO, N.S. Morrenain bI, a papain-like endopeptidase from the látex of *Morrenia brachystephana* Griseb. (Asclepiadaceae). **Journal of Protein Chemistry**, v. 22, p. 15-21, 2003.
- CHAUFHURI, G.; DEY, P.; DALAL, D.; VENU-BABU, P.; THILAGARAJ, W. R. A Novel Approach to Precipitation of Heavy Metals from Industrial Effluents and Single-Ion Solutions Using Bacterial Alkaline Phosphatase. **Water air and soil pollution**, v. 224, ed. 4, número do artigo1625, 2013.
- DEVARAJ, K.B., GOWDA, L.R., PRAKASH, V. An unusual thermostable aspartic protease from the latex of *Ficus racemosa* (L.). **Phytochemistry**, v. 69, p. 647–655, 2008.

FARKYE, N. Cheese Technology. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, p. 91-98, 2004.

FEDERMAN, S. R. **Publicar ou depositar a patente?** Instituto Carlos Chagas / ICC / Fiocruz. Publicado em 2008.

<<http://www.fiocruz.br/icc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=43&sid=30>> Acesso em: 9 de dezembro de 2013.

FERREIRA, C.T.; SEIDMAN, E. Alergia alimentar: atualização prática do ponto de vista gastroenterológico. **Jornal de Pediatria**, v. 83(1), p. 7-20, 2007.

FIOCCHI, A.; BROZEK, J.; SCHUNEMANN, H. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guidelines. **WAO Journal**, p. 57-161, 2010.

GÓMEZ, R.; SANCHEZ, E.; VIOQUE, M.; FERREIRA, J.; TEJADA, L.; FERNÁNDEZ-SALGUERO, J. Microbiological characteristics of ewe's milk cheese manufactured using aqueous extracts of flowers from various species of cardoon *Cynara L.* **Milchwissenschaft**, v. 56, p. 16-19, 2001.

GONZÁLEZ-RÁBADE, N.; BADILLO-CORONA, J.A.; ARANDA-BARRADAS, J.S.; OLIVER-SALVADOR, M.C. Production of plant proteases in vivo and in vitro - A review. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 983-996, 2011.

GRANDELLE, R. **Aumento da produção científica brasileira não se reflete em maior número de patentes, diz estudo.** Publicado em 2011.

<<http://oglobo.globo.com/ciencia/aumento-da-producao-cientifica-brasileira-nao-se-reflete-em-maior-numero-de-patentes-diz-estudo-2771681>> Acesso em 9 de dezembro de 2013.

HASHIM, M. M.; MINGSHENG, D.; IQBAL, M. F.; XIAOHONG, C. Ginger rhizome as a potential source of milk coagulating cysteine protease. **Phytochemistry**, v. 72, p. 458-464. 2011.

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL – INPI. **Guia Básico - Patentes.** Disponível em: <[http://www.inpi.gov.br/portal/artigo/guia\\_basico\\_patentes](http://www.inpi.gov.br/portal/artigo/guia_basico_patentes)>. Disponível em: 23 de novembro de 2013.

LAMANA, S.; KOVALESKI, J. L. Patentes e o desenvolvimento econômico. **Convibra Administração - Congresso Virtual Brasileiro de Administração**, 2010.

<[http://www.convibra.com.br/upload/paper/adm/adm\\_1518.pdf](http://www.convibra.com.br/upload/paper/adm/adm_1518.pdf)> Acesso em: 9 de dezembro de 2013.

LIESE, A.; HILTERHAUS, L. Evaluation of immobilized enzymes for industrial applications. **Chem. Soc. Rev.**, v. 42, p. 6236-6249, 2013.

MACEDO, M. F. G.; MÜLLER, A. C. A.; MOREIRA, A. C. **Patenteamento em biotecnologia. Um guia prático para os elaboradores de pedidos de patentes.** Brasília: Embrapa comunicação para transferência de tecnologia, 2001.

MERHEB-DINI, C.; GARCIA, G. A. C.; PENNA, A. L. B.; GOMES, E.; DA SILVA, R. Use of a new milk-clotting protease from *Thermomucor indicae-seudaticae* N31 as coagulant and changes during ripening of Prato cheese. **Food Chemistry**, v. 130, p. 859-865, 2012.

MEZHLUMYAN, L.G., KASYMOVA, T.D., YULDASHEV, P.K. Proteinases from *Carica papaya* latex. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 39, p. 223-228, 2003.

MITTAL, A.; NAGAR, S.; GUPTA, V. K. Production and purification of high levels of cellulase-free bacterial xylanase by *Bacillus* sp SV-34S using agro-residue. **Annals of microbiology**, v. 63, ed. 3, p. 1157-1167, 2013.

MONTEIRO, V. N.; SILVA, R. N. Aplicações Industriais da Biotecnologia Enzimática. **Revista Processos Químicos**. Jan/ Jun, 2009.

NALLAMSETTY, S., KUNDU, S., JAGANNADHAM, M.V. Purification and biochemical characterization of a highly active cysteine protease Ervatamin A from the latex of *Ervatamia coronaria*. **Journal of Protein Chemistry**, v. 22, p. 1-13, 2003.

NOMENCLATURE COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY (NC-IUBMB). **Enzyme Nomenclature**. Disponível em: <<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>>. Acesso em: 21 de novembro de 2013.

NELSON, D. L; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

OTTO, H.H.; SCHIRMEISTER, T. Cysteine proteases and their inhibitors. **Chemical Reviews**, v. 97, p. 133-171, 1997.

RAWLINGS, N.D.; BARRETT, A.J.; BATEMAN, A. MEROPS: the database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors. **Nucleic Acids Research**, v. 40, p. 343-350, 2012.

RESTANI, P.; BALLABIO, C.; LORENZO, C.D.; TRIPODI, S.; FIOCCHI, A. Molecular aspects of milk allergens and their role in clinical events. **Anal Bioanal Chem**, v. 395, p.47-56, 2009.

SCHALLER, A. A cut above the rest: the regulatory function of plant proteases. **Plant**, v. 220, p. 183-197, 2004.

SGARBIERI, V.C., GUPTE, S.M., KRAMER, D.E., WHITAKER, J.R. Ficus enzymes: Separation of proteolytic enzymes of *Ficus carica* and *Ficus glabrata*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 239, p. 2170–2177, 1964.

SHARMAA, R.; CHISTIB, Y.; BANERJEEA, U. C. Production, purification, characterization, and applications of lipases. **Biotechnology Advances**, v, 19, p. 627-662, 2001.

SILVA, L.G., GARCIA, O., LOPES, M.T.P., SALAS, C.E. Changes in protein profile during coagulation of latex from *Carica papaya*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 615-619, 1997.

SNOW BRAND MILK PROD CO LTD; AMANO PHARM KK. **Prepn. of hydrolysate of milk hoe protein rich in alpha-lactoglobulin – by adding protease from plant to aq. soln. of milk hoe protein which selectively hydrolyses beta-lactoglobulin.** Derwent Innovations Index. Disponível em:

<[http://apps.webofknowledge.com/full\\_record.do?product=DIIDW&search\\_mode=Refine&qid=13&SID=2AmmDUP98CrT4PwAi5s&page=1&doc=5&colname=DIIDW&cacheurlFromRightClick=no](http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=DIIDW&search_mode=Refine&qid=13&SID=2AmmDUP98CrT4PwAi5s&page=1&doc=5&colname=DIIDW&cacheurlFromRightClick=no)>. Acessado em: 28 de novembro de 2013.

SOARES, PAIS. M. S.; CALIXTO, F. D. C. S. S.; PLANTA, R. J. **Transformed yeast that produce plant aspartic acid protease, useful for milk coagulation in cheese making.**

Derwent Innovations Index. Disponível em: <

[http://apps.webofknowledge.com/full\\_record.do?product=DIIDW&search\\_mode=Refine&qid=13&SID=2AmmDUP98CrT4PwAi5s&page=1&doc=4&colname=DIIDW&cacheurlFromRightClick=no](http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=DIIDW&search_mode=Refine&qid=13&SID=2AmmDUP98CrT4PwAi5s&page=1&doc=4&colname=DIIDW&cacheurlFromRightClick=no)>. Acessado em: 28 de novembro de 2013.

STOCK, L. A.; SIQUEIRA, K. B. **Resultados preliminares do International Farm**

**Comparison Network para 2011.** EMBRAPA, ano 5, nº 55, junho/2011. Disponível em:

<<http://www.cileite.com.br/content/resultados-preliminares-do-ifcn-para-2011>>. Acesso em: 26 de novembro de 2013.

SURRIBAS, A.; MARTINEZ, A.; ALAMAN, M.; de la VARGA, M.; PAUL, R.; BOTET, J. M. Biotechnological Solutions for Reducing the Environmental Impact of Cotton Processing. **Amer assoc textile chemists colorists**, v. 13, ed. 6, p. 44-49, 2013.

TAMER, M. I.; MAVITUNA, F. Protease from freely suspended and immobilized *Mirabilis jalapa*. **Process Biochem**, v. 32, p. 195–200, 1997.

TEIXEIRA, R.D., RIBEIRO, H.A.L., GOMES, M.T., LOPES, M.T.P., SALAS, C.E. The proteolytic activities in latex from *Carica candamarcensis*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, p. 956–96, 2008.

TEJEDA, L.; FERNÁNDEZ-SALGUERO, J. Chemical and microbiological characteristics of ewe milk cheese (Los Pedroches) made with a powdered vegetable coagulant or calf rennet. **Ital. J. Food. Sci.**, v. 15, p. 125-132, 2003.

TENG, L; MENG, Q; XU, G. **Micromolecule milk production through plant protease hydrolyzation.** Derwent Innovations Index. Disponível em: <

[http://apps.webofknowledge.com/full\\_record.do?product=DIIDW&search\\_mode=Refine&qid=13&SID=2AmmDUP98CrT4PwAi5s&page=1&doc=2&colname=DIIDW](http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=DIIDW&search_mode=Refine&qid=13&SID=2AmmDUP98CrT4PwAi5s&page=1&doc=2&colname=DIIDW) >. Acessado em: 28 de novembro de 2013.

TURK, B. Targeting proteases: successes, failures and future prospects. **Nature Reviews|Drug Discovery**, v. 5, p. 785-799, 2006.

TUTORIAL DE BUSCA EM BANCOS DE PATENTES. **Fiocruz**. Disponível em:

<[http://inova.cpqrr.fiocruz.br/pt-br/webfm\\_send/41](http://inova.cpqrr.fiocruz.br/pt-br/webfm_send/41)>. Acesso em: 21 de novembro de 2013.

van der HOORN, R.A.L. Plant Proteases: from phenotypes to molecular mechanisms. **Annual Review of Plant Biolology**, v. 59, p. 191-223, 2008.

YENNALLI, R. M.; RADER, A. J.; KENNY, A. J.; WOLT, J. D.; SEN, T. Z.  
Endoglucanases: insights into thermostability for biofuel applications. **Biotechnology for  
biofuels**, v. 6, número do artigo: 136, 2013.