

Mapeamento das tendências de patenteamento de enzimas celulolíticas

Mapping of cellulolytic enzyme patenting trends

DOI:10.34117/bjdv7n7-032

Recebimento dos originais: 07/06/2021

Aceitação para publicação: 03/07/2021

Keilla Santos Cerqueira

Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Engenharia Química (PPEQ)
Universidade Federal da Bahia – UFBA
R. Prof. Aristίδes Novis, 2, Federação - 40210-630, Salvador - BA
keillascerqueira@hotmail.com

Jacqueline Rego da Silva Rodrigues

Doutora em Engenharia Química
Universidade Federal de Sergipe - UFS
Av. Marechal Rondon, s/n, Jardim Rosa Elze - 49100-000, São Cristóvão – SE
jrodrigues@academico.ufs.br

Roberto Rodrigues de Souza

Doutor em Engenharia Química
Universidade Federal de Sergipe - UFS
Av. Marechal Rondon, s/n, Jardim Rosa Elze - 49100-000, São Cristóvão – SE
rrsouza@ufs.br

Ana Katerine de Carvalho Lima Lobato

Doutora em Engenharia Química
Universidade Federal da Bahia – UFBA
R. Prof. Aristίδes Novis, 2, Federação - 40210-630, Salvador – BA
ana.lobato@unifacs.br

RESUMO

A produção de enzimas tem sido de interesse na academia e na indústria, refletida pelo aumento de publicações científicas e divulgações de patentes na última década. O objetivo deste estudo foi avaliar as tendências de patenteamento de enzimas, a fim de observar o progresso da ciência e da tecnologia. Foram analisadas patentes em dois importantes bancos de dados o Espacenet Patent search e do INPI do Brasil encontrando 276 documentos e pedidos de patentes. No entanto, após a análise do conteúdo da patente, as patentes incapazes de atender aos critérios de inclusão foram eliminadas restando 46 patentes de produção de enzimas celulolíticas que foram mapeadas e classificadas. As patentes foram classificadas de acordo com a frequência e o país de origem; principais microrganismos utilizados; os tipos de celulasas produzidas; de fermentação; as variáveis que mais influenciam na produção das enzimas, como pH, temperatura, matriz enzimática e espécie de microrganismo.

Palavras-chave: Enzimas microbianas, Celulase, Fermentação.

ABSTRACT

Enzyme production has been of interest in academia and industry, reflected by the increase in scientific publications and patent disclosures in the past decade. The purpose of this study was to assess trends in patenting enzymes, in order to observe the progress of science and technology. Patents were analyzed in two important databases, Espacenet Patent search and INPI do Brazil, finding 276 documents and patent applications. However, after analyzing the content of the patent, as patents unable to meet the inclusion criteria were eliminated, remaining 46 patents for the production of cellulolytic enzymes that were mapped and classified. Patents were classified according to frequency and country of origin; main microorganisms used; the types of cellulases produced; fermentation; the variables that most influence the production of enzymes, such as pH, temperature, enzyme matrix and species of microorganism.

Keywords: Microbial enzymes, Cellulase, Fermentation.

1 INTRODUÇÃO

Enzimas são proteínas especiais que têm ação catalisadora e são produzidas pelas células, estimulando ou desencadeando reações químicas importantíssimas para a vida, que dificilmente se realizariam sem a presença delas (1). Esses biocatalisadores orgânicos são produzidos pelas células, mas podem evidenciar a sua atividade intra ou extracelularmente (2). A característica principal da ação enzimática sobre organismos é sua especialidade.

Há muito tempo o homem já utilizava enzimas para catalisar uma série de reações, mesmo sem dominar a tecnologia e o conhecimento desse produto (3). Segundo Arnold (3) através de uma melhor compreensão da bioquímica, dos processos de fermentação, das técnicas da engenharia genética e dos métodos de recuperação e purificação, um número cada vez maior de enzimas pode ser produzido de forma acessível, tornando um grande atrativo para aplicação nas indústrias.

As enzimas celulolíticas são um grupo principal de enzimas que podem degradar celulose natural e biomassa em glicose (4). A hidrólise da celulose à glicose requer a sinergia de três dessas enzimas: A endoglucanase que ataca aleatoriamente as ligações β -(1,4) glicosídicas de regiões amorfas e cliva aleatoriamente as ligações internas das cadeias glicanas (5), esta reação resulta em uma rápida diminuição da viscosidade do licor misto de água de celulose, que fornece extremidades redutoras ou não redutoras de celuloligossacarídeo; a exoglucanase que libera a celobiose das extremidades não redutoras dos celoligossacarídeos (5), essa enzima pode hidrolisar tanto a celulose amorfa quanto a cristalina, mas geralmente não hidrolisa a celulose substituída como a

carboximetil celulose; e a β -glucosidase ou celobiase que pode melhorar significativamente a eficiência da hidrólise da celulose pela degradação da celobiose em glicose (5).

A biomassa vegetal que a enzima converte em glicose é uma dos mais abundantes e valiosos substratos poliméricos sustentáveis e atualmente é o recurso mais adequado para bioenergia renovável e produção bioquímica. A biomassa vegetal consiste principalmente em lignocelulose rica em polissacarídeos (celulose, hemiceluloses e pectina) e lignina (polímero aromático complexo) (6). Para poder usar eficientemente esse material complexo, ele precisa ser degradado e / ou modificado. Diferentes métodos foram desenvolvidos para a conversão de biomassa lignocelulósica, no entanto, a maneira mais ambientalmente sustentável é através do uso de enzimas. É necessário uma variedade de enzimas reativas a carboidratos e modificadoras de lignina para despolimerizar completamente a biomassa lignocelulósica (7).

Existem muitos grupos de microorganismos envolvidos na produção de celulase incluindo bactérias podridão branca (8). As enzimas celulase são produzidas principalmente a partir de fungos filamentosos para aplicação industrial (9), dentre elas destacam-se as indústrias de biocombustíveis, bioquímicos, alimentos, alimentos para animais, celulose e papel, têxteis, farmacêutico e cosmético (10). No entanto, apenas algumas espécies de microorganismos, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei* e *Myceliophthora thermophila*, são utilizados nas indústrias (11). Isso se deve em parte ao baixo nível de produção de enzimas, baixa capacidade de secreção, produção de toxinas, e ao comportamento de crescimento sob condições padrão de fermentação que tornam outros fungos pouco atraentes para aplicações industriais. Por outro lado, Dilokpimol, Peng (11) afirmou que muitas espécies mostraram promessa significativa com a produção de enzimas que degradam a parede celular da planta e habilidades de sacarificação de forma semelhantes aos da espécie *Aspergillus niger*.

A produção de enzimas em escala industrial pode ser feitos com um processo de fermentação submersa ou fermentação em estado sólido, ambos os processos, cada um com seus prós e contras, têm potencial para escala industrial da produção de enzimas celulase (Biswas et al., 2014). No entanto, a fermentação em estado sólido vem atraindo olhares mais atentos por ter um menor consumo de energia e aumento da concentração de enzimas (5). A fermentação em estado sólido (SSF) é uma processo amplamente utilizado para a produção de enzimas para uso industrial e aplicações analíticas. Oferece vantagens atraentes em relação à fermentação submersa, como menor nível de repressão

mediada por açúcar, níveis mais altos de produtividade e redução de custos operacionais, contudo, a expansão do SSF é o principal desafio para a aplicação industrial (12).

1.1 CENÁRIO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS

A demanda por enzimas aumenta a cada dia, pois são mais seletivas, eficiente e significativamente menos perigosas que os catalizadores químicos. Mesmo que a grande maioria dos processos industriais ainda dependa de catalisadores químicos, o mercado de enzimas tem aumentado a cada ano desde a sua introdução na década de 1960. O mercado global de enzimas industriais foi estimado em aproximadamente 2 bilhões de dólares em 2004 (13), em 2010 o valor estimado foi de 3,3 bilhões de dólares (14), enquanto que em 2017 foi avaliado em 7 bilhões e deverá chegar a 10,5 bilhões em 2024 com uma Taxa de Crescimento Anual de 5,7% de 2018 a 2024 (15).

Os fungos de podridão branca produzem enzimas que são utilizados em vários processos industriais, e sua produção aumentou nas últimas décadas com uma receita de 8 bilhões de dólares (8). A Europa foi responsável por 1/3 da produção global de enzimas em 2017. No mesmo ano, estimou-se que cerca de 70% da participação no mercado de enzimas era detida pelos microrganismos fungicos, com destaque para o *Aspergillus niger* e o *Trichoderma reesei* (15). O aumento da demanda por enzimas se deve a sua ampla variedade de usos na indústria de alimentos, rações, farmacêutica, têxtil e de biocombustíveis (12).

2 METODOLOGIA

Dois bancos de dados de patentes foram utilizados nesta pesquisa: Espacenet Patent search e do INPI do Brasil (Instituto de Propriedade Industrial). O Espacenet Patent search é um banco de pesquisa mundial e o mais abrangente banco de dados de informações de patentes do mundo, combinando as patentes de mais de 100 países. O banco de dados de patentes do INPI pertence ao governo brasileiro e foi selecionado para comparar o que vem sendo produzido no Brasil com os outros países. Isso aumenta a necessidade de otimizar o processo de produção de enzimas, elevando à inovação tecnológica que deve ser refletido no banco de dados nacional de patentes industriais.

Três combinações diferentes de palavras-chave e operadores lógicos foram adotadas. A primeira combinação envolveu localizar e selecionar estudos com a palavra-chave “enzyme” que aparece no título de documento de patente e a palavra-chave “cellulase” que aparecem no tópico (título, palavras-chave ou resumo). O operador lógico

“AND” também foi usado para eliminar documentos de patentes focados em diferentes assuntos. Os códigos de patentes IPC usadas como critério de especificações foram: “C12N” e “C12Q. De acordo com a descrição do próprio site estes são códigos específicos para microorganismos ou enzimas, suas composições, propagação, preservação, manutenção de microorganismo, mutação genética ou engenharia de meio de cultura.

Assim, foi definida a seguinte combinação de palavras: (ti all "enzyme" AND ta all "cellulase") AND (ipc any "C12N" OR ipc any "C12Q") com prioridade de data de 2005 a 2020. Esta foi a combinação foi usada no banco de dados do Espacenet Patent search. A combinação de palavra da segunda base de dados seguiu a mesma lógica que a primeira, mas não utilizou o operador lógico com os códigos de patentes IPC para especificações. A combinação de palavras-chave incluiu "enzima celulolítica", aparecendo no resumo do documento ou pedido de patente. Também foram considerados pedidos de patente do INPI. O tempo médio para a avaliação de um pedido de patente do INPI é superior a uma década. Para evitar desconsiderar os avanços tecnológicos ainda em análise, optou-se por não descartá-los, uma vez que eles poderiam fornecer informações importantes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

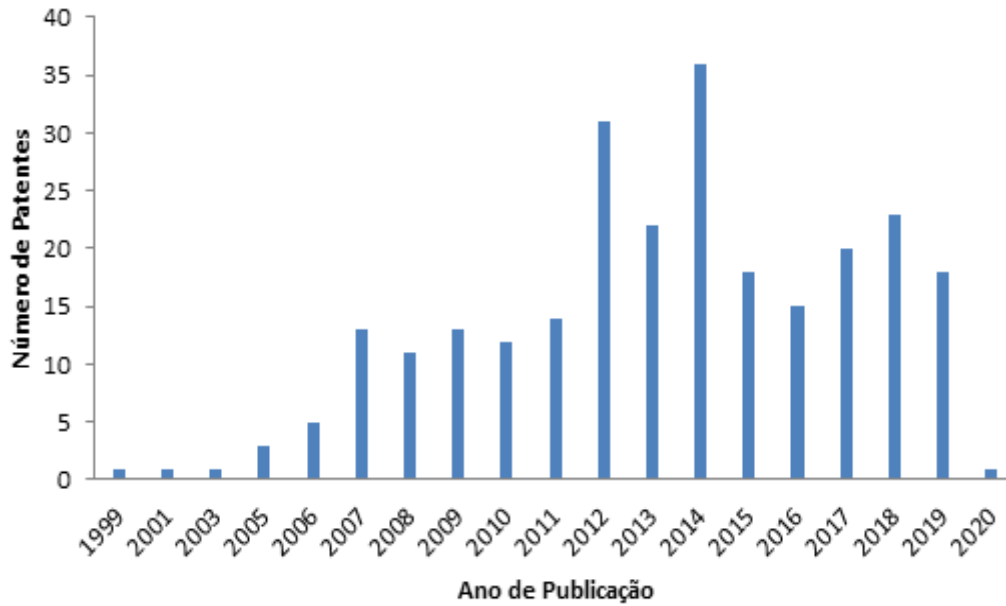
A Tabela 1 mostra o número de patentes encontradas tanto no Espacenet Patent search quanto no INPI. De acordo com a Tabela 1, foram encontrados ao todo 276 documentos e pedidos de patentes. No entanto, após a análise do conteúdo da patente, as patentes incapazes de atender aos critérios de inclusão foram eliminadas. O software de gerenciamento bibliográfico EndNote foi utilizado para organizar as referências.

Tabela 1 – Número de patentes encontradas.

Bases de dados de patentes	Número de patentes
Espacenet Patent search	258
INPI	18
Total	276

De acordo com a Tabela 1 dos duzentas e setenta e seis documentos de patentes quarenta e sete atenderam as aplicações. O Gráfico 1 apresenta a distribuição de patentes de acordo com o ano de publicação.

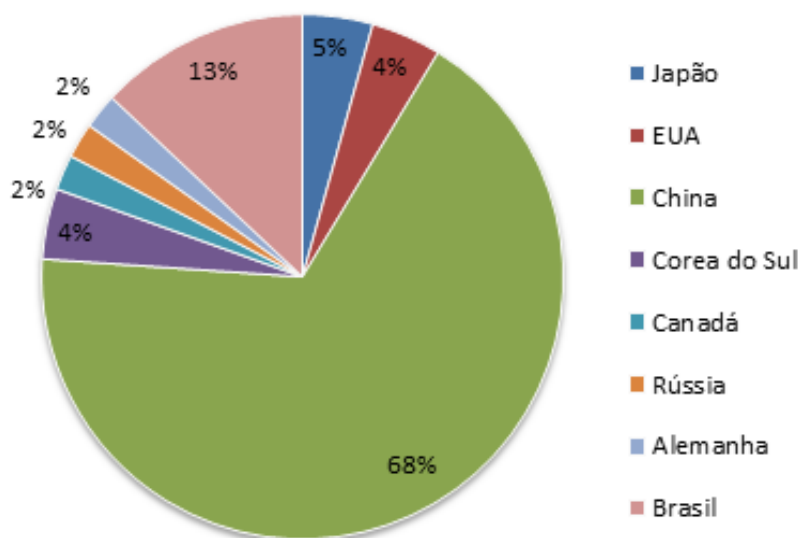
Gráfico 1 - Frequência de publicação de documentos e pedidos de patente no período estudado.



De acordo com o Gráfico 1, o número de patentes em produção de enzimas sofreu um aumento expressivo a partir de 2012. Entre 1999 e 2011, foram encontrados 60 documentos de patentes; entre 2012 e 2020, havia 184; apresentando 71% das patentes selecionadas por esta pesquisa.

O Gráfico 2 ilustra, em porcentagem, os principais países de origem dos pedidos de patentes estudados no trabalho, com destaque para China, uma das nações mais ricas em recursos biológicos do mundo, com 67% dos pedidos de patentes, a China além de possuir o maior contingente populacional do mundo, o crescimento econômico do país está proporcionando crescente acesso desta população ao mercado consumidor (16). Juntos, estes fatores pressionam a procura por produtos e serviços relacionados à saúde e alimentação, os quais são diretamente impactados pelo desenvolvimento da biotecnologia. Em segundo lugar o Brasil com 13%, sendo todas as patentes brasileiras retiradas da base de dados brasileira INPI.

Gráfico 2 - Países de origem dos pedidos de patentes de produção de enzimas celulolíticas.



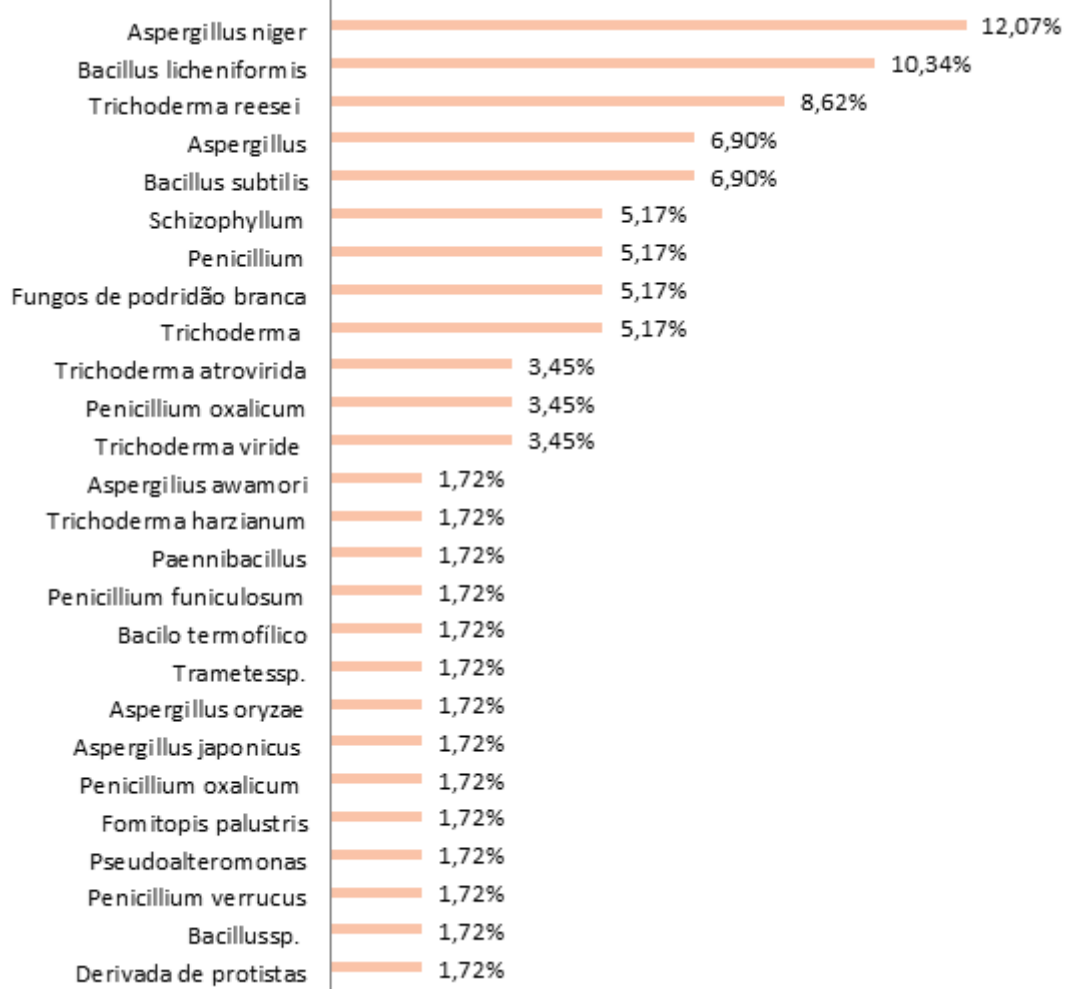
O processo de produção de enzimas envolve etapas de isolamento e seleção de microrganismos produtores, caracterização de resíduos para identificação dos meios mais propícios para o cultivo, produção das enzimas e a partir de então avaliar o perfil cinético e otimizar as condições de crescimento. O caldo enzimático obtido pode ser utilizado na forma bruta ou pode ser purificado.

3.1 MICRORGANISMOS PRODUTORES DE ENZIMAS CELULOLÍTICAS

As enzimas são obtidas a partir de diferentes fontes, a obtenção de enzimas de origem microbiana é preferível devido à possibilidade de produção por processos fermentativos em grande escala com regularidade e requerimentos nutricionais bastante simples (17). Devido à ampla utilização das enzimas nos processos industriais, a necessidade da busca por novas cepas microbianas produtoras vem crescendo.

As enzimas de origem microbiana produzidas nos documentos foram obtidas por diferentes microrganismos, sejam eles isolados ou não da natureza, Assim, nos 46 documentos de patentes selecionados, alguns microrganismos para produção de enzimas celulolíticas se destacaram. Esta informação é apresentada no Gráfico 3.

Gráfico 3 - Principais microrganismos utilizados nas patentes.



O fungo filamentoso *Aspergillus* é o melhor produtor de exo e endoglicosidades, e é reconhecido pelas elevadas produções de β -glicosidases, o que representa uma vantagem no processo de sacarificação da biomassa (18). Muitas espécies de fungos possuem a habilidade de degradar a celulose produzindo as celulasas extracelulares. Os principais gêneros produtores são *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* (19).

Na natureza encontramos varias espécies de microrganismos convivendo no mesmo ambiente. Para estudar as propriedades de um determinado microrganismo em particular, deve-se primeiramente isola-lo em cultura pura onde todas as células na população sejam idênticas. Os ingredientes necessários para o crescimento de microrganismos podem ser supridos por uma mistura de todos os nutrientes requeridos em um sistema artificial denominado meio de cultura. A Tabela 2 apresenta uma relação dos documentos que utilizaram essa técnica para isolar os microrganismos produtores de

enzimas, assim como a fonte do isolamento e o meio de cultivo utilizado para o crescimento dos mesmos.

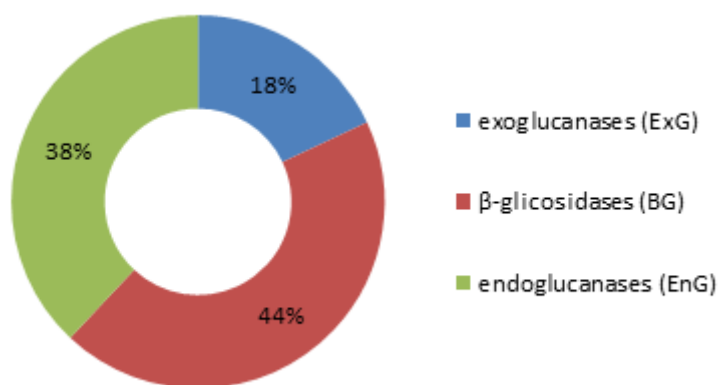
Tabela 2 – Procedimento utilizado pelas patentes no isolamento do microrganismo produtor de enzimas celulolíticas.

Número da publicação	Referências	Microrganismo isolado	Fonte do isolamento	Meio de cultivo utilizado	Identificação da cepa produtora de celulase
US2010221807A1	Cellulase enzyme and method for producing the same		Protistas simbióticos intestinais de insetos selecionados do grupo que consiste em <i>Reticulitermes speratus</i> , <i>Hodotermopsis sjostedti</i> , <i>Neotermes koshunensis</i> , <i>Mastotermes darwiniensis</i> e <i>Cryptocercidae</i>		-
CN103468602A	Bacterial strain H1 capable of producing cellulose and enzyme production culture medium of bacterial strain H1	<i>Bacillus sp.</i> H1	Soja em pó	CMC-Na; soja em pó; (NH ₄) ₂ SO ₄ ; MgSO ₄ ; extrato de levedura; CaCl ₂ ; KH ₂ PO ₄ ; peptona	Meio sólido contendo carboximetilcelulose e um reagente de coloração com vermelho Congo
KR101803073B1	Penicillium verrucosum COKE4E Having a Producing Ability of Lignocellulolytic Enzyme	<i>Penicillium verrucus</i>	Carvão betuminoso usado no processo de fundição.		Meio sólido contendo carboximetilcelulose e um reagente de coloração com azul de tripiano
CN101200700A		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Área marítima de Lianyungang	Peptona; fermento em pó; preparação de água do mar, carboximetilcelulose de sódio (CMC-Na); extrato de levedura; KH ₂ PO ₄ ; ágar;	Meio sólido contendo carboximetilcelulose

Das patentes estudadas somente 8% delas isolou o microrganismo produtor da enzima celulolítica de um substrato lignocelulósico. Tal etapa permite a obtenção de um microrganismo adaptado as condições de produção desse grupo de enzimas. O meio de cultivo é muito variável porque depende do microrganismo e de suas condições favoráveis de crescimento para produção da enzima, essa que por sua vez é produzida nas condições que favorecem o produto final ou finalidade enzimática. A maioria das patentes, mesmo as que não isolam o microrganismo, utilizam meio sólido contendo carboximetilcelulose e um reagente de coloração com vermelho Congo para identificar a capacidade do microrganismo de degradar a celulose. A atividade enzimática é determinada pelo método de Hankin and Anagnostakis (20), através da relação entre o diâmetro médio do halo de degradação e o diâmetro médio da colônia, expresso como Índice Enzimático (21).

A classificação das celulases, de acordo com seu local de atuação no substrato celulósico, as divide em três grandes grupos: endoglucanases (EnG), que clivam ligações internas da fibra celulósica; exoglucanases (ExG), que atuam na região externa da celulose; e β -glicosidases (BG), que hidrolisam oligossacarídeos solúveis em glicose (5). O Gráfico 4 mostra os principais grupos de celulases produzidos nas patentes.

Gráfico 4 - Principais grupos de enzimas celulolíticas produzidos pelas patentes estudadas.

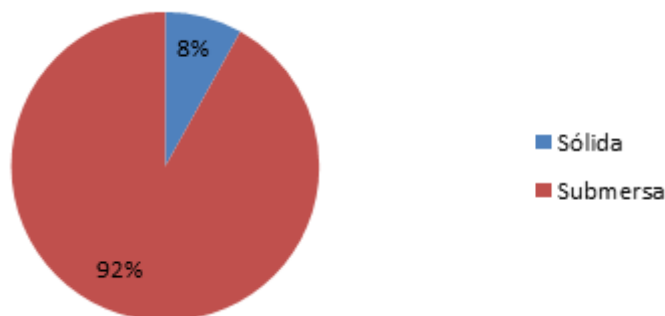


Mesmo os três grupos sendo responsáveis pela hidrólise das biomassas muitas patentes focaram em favorecer a produção de um ou dois desses grupos, sendo a preferência pelas β -glicosidases, enzima responsável pela hidrólise da celobiose em duas moléculas de glicose. Estes monossacarídeos quando fermentados são convertidos em etanol, ou seja, depende da finalidade o tipo de enzima que vai ser produzida uma vez que o rendimento da hidrólise enzimática depende de muitos fatores como tipo e

concentração de substrato, pré-tratamento aplicado a biomassa, termoestabilidade das enzimas, carga de sólidos, tempo de reação, pH e agitação.

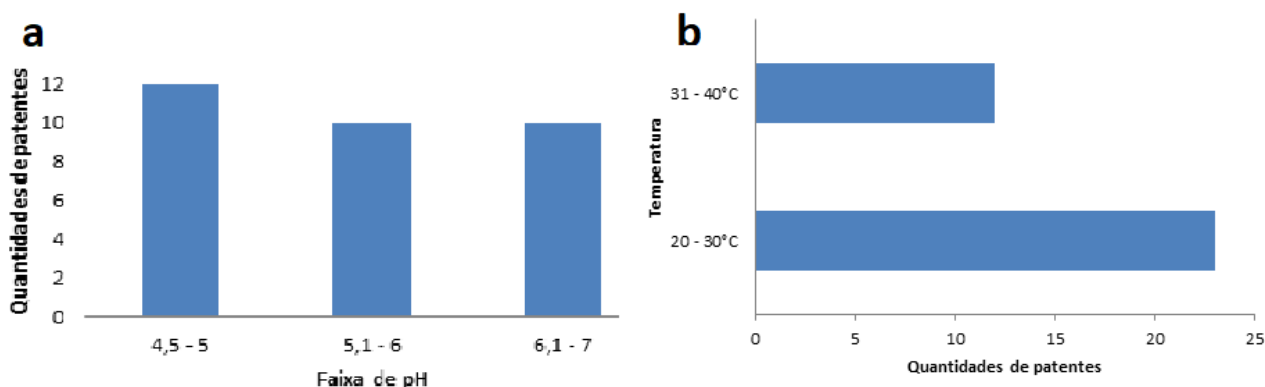
A natureza do substrato utilizado define se a fermentação será submersa ou semi-sólida. O processo fermentativo no qual os microrganismos são cultivados em um ambiente com ausência, ou próximo da ausência, de água livre é definido como fermentação em estado sólido (FES) (22). Vale ressaltar que o substrato deve apresentar umidade suficiente para garantir o crescimento celular e as atividades metabólicas do microrganismo. Uma vantagem considerável da FES é a utilização de resíduos agroindustriais como substrato e suporte para o crescimento microbiano. Esses resíduos são subprodutos oriundos da atividade agrícola, gerados em grandes quantidades e apresentam baixo valor comercial (23). A disposição desse resíduo sem o tratamento adequado pode ocasionar problemas ambientais e proliferação de doenças. Como mostra o Gráfico 5 noventa e dois por cento das fermentações das patentes estudadas foram obtidas por cultivo submerso.

Gráfico 5 - Frequência, em porcentagem, das fermentação utilizada pelos documentos de patentes.



A fermentação submersa, por ser realizada em meio nutriente líquido, tem a facilidade de crescimento dos microrganismos em condições controladas de pH e temperatura. Essa vantagem é explorada pela maioria das patentes uma vez que a maior parte delas utiliza esse tipo de fermentação. Além do controle da temperatura e do pH, a escolha das faixas utilizadas é importante para um melhor rendimento do processo fermentativo. Os Gráficos 6 a e 6b mostram as faixas de pH e temperatura utilizadas nas patentes.

Gráfico 6 – a) Faixas de pH utilizadas nas patentes. b) Faixas de temperatura utilizadas nas patentes.



A faixa de pH utilizada nas patentes foram bem distribuídas entre 4,5 e 7 uma vez que foram utilizados diferentes tipos de microrganismos e cada um deles tem seu pH ótimo, os três microrganismos, ilustrados no Gráfico 3, mais utilizados tem diferentes faixas de pH, o *Aspergillus niger* (24) (25) (26) (27) e o *Trichoderma reesei* (28), por exemplo tem seu pH ótimo entre 4,0 e 5,5, já o *Bacillus licheniformis* tem seu pH ótimo em torno de 6,5 e 7 (29) (30) (31), por esse motivo o pH é uma variável estudada na maior parte das patentes para otimização do processo de produção de enzimas.

A temperatura, assim como o pH, é uma variável muito estudada entre as patentes, pois durante o processo fermentativo cada microrganismos possui uma temperatura ótima que favorece um maior crescimento celular, influenciando também na atividade enzimática que diminuiu significativamente quando se utilizam altas temperaturas. Dentre os documentos estudados 45% deles utilizam uma temperatura de 30°C.

Outra importante variável é o tipo de pré-tratamento utilizado no resíduo lignocelulósico antes da etapa da fermentação, o Quadro 1 mostra alguns tipos de tratamento feito na matriz enzimática dos documentos estudados.

Quadro 1 – Tratamentos físico-químicos utilizados na matriz enzimática para produção das enzimas celulolíticas.

Número da publicação	Matriz enzimática	Pré-tratamento utilizado	Referência
JP2017201902A	Madeira Palha de arroz e similares	Moagem, tratamento ácido / alcalino, tratamento hidrotérmico.	(32)
CN106754830A	Casca de arroz	Lavagem e secagem em um forno a 70°C por 24 h e resfriada à temperatura ambiente e tratamento térmico.	(33)

CN103468583A	Farelo de trigo	Ultrassônico.	(34)
JP2017201902A	Madeira Palha de arroz e similares	Moagem, tratamento ácido / alcalino, tratamento hidrotérmico.	(32)
CN103695392A	Casca de laranja	Lavagem e secagem em um forno a 70°C por 24 h e resfriada à temperatura ambiente e tratamento térmico.	(35)
CN102392004A	Semente líquida	Tratamento térmico	(36)
CN109136108A	Meio líquido e palha de rami	- autoclavagem	(37)
KR20130062959A	Palha de arroz		(38)
CN104480093A	Farelo de trigo e polpa de beterraba		(39)
JP2008206484A	Resíduos agrícolas, como kenaf, palha de arroz, palha de cevada ou bagaço ou papel usado ou lascas de madeira.		(40)
CN103695392A	Bagaço		(41)
CN103468582A	Casca de laranja		(42)
CN101586097A	Talo de palha		(43)
CN102409005A	Esterco de vaca empilhado		(44)
CN101705215A	Farelo e palha		(45)
CN101805725A	Farelo, pó de palha		(46)
	Bagaço		(47)
BR 11 2018 069674 9	lignocelulosico pre-tratado		(48)
PI 0600409-1	Resíduos de destilação de fermentação etanoica		(48)

Os demais autores (Moriya, Kudo (32); RONGHU, JIAJUN (33); Kim and Kim (49); LI, YAOWEI (50); XUEZHI, ZHONGHAI (51); JINNA, JIANHUA (52); FISH, MARSHALL (53); YUDUO, HAO (54); SUNG and BOK (55); HAIYAN, QIQIAN (56); BOWEN, XUEZHEN (57); WENBING, ZHENXIU (58); BO, YONGMING (59); GUIJUN, HONGBING (60); WENBING, ZHENXIU (61); XUERONG, YIWEN (62); QIU YA, WEI (63); YONGMING, HAIQING (64); ZHAOJIAN, JINHUI (65); ZHAOJIAN, ENQI (66); Sousa, Ricart (67); Chaabane and Monot (68); Chaabane and Cohen (69); Bon, Gottschalk (70); FENGWU, HONGJIN (71); Алан, Маршалл (72); HUI, YANG (73); YONGMING, HAIQING (74); JIAN (75); GERHARDT, HEINE (76)) utilizam somente o tratamento térmico com uma solução de açúcares.

O pré-tratamento visa à modificação da estrutura da biomassa lignocelulósica, expondo a celulose e hemicelulose para a hidrólise, esta etapa é responsável pela conversão dos carboidratos de cadeia longa em açúcares fermentáveis. Das patentes estudadas que utilizaram resíduos e fizeram o pré-tratamento 78% utilizam somente o pré-tratamento térmico, como a autoclave. Sem essa etapa as enzimas tem dificuldade de acessar o substrato, ocasionando baixos rendimentos de açúcares na hidrólise enzimática.

4 CONCLUSÃO

Este trabalho analisou os principais documentos de patentes mundiais de produção de enzimas celulolíticas, abrangendo um período 2005 a 2020. Foram estudados 46 documentos de patentes com foco na em produção de enzimas celulolíticas. Mesmo com informações limitadas, alguns dados sigilosos, é possível destacar algumas características e as variáveis mais estudadas no processo de produção de enzimas e suas respectivas faixas de uso. Algumas patentes descreveram o isolamento de diferentes microrganismos em uma variedade de fontes de carbono para produção de enzimas. Um outro comportamento recorrente nas patentes foi o uso de um microrganismo já identificado, cedido por um banco de dados, estes possuem as condições ótimas de cultivo já são conhecidas na literatura. Existem muitas espécies produtoras de enzimas celulolíticas e cada uma tem a sua vantagem a depender do destino final da enzima. As variáveis mais estudadas na produção de enzimas são pH, temperatura, matriz enzimática e espécie de microrganismo, essas são as que mais influenciam produção das enzimas. Características importantes para o desenvolvimento de novas tecnologias são os seguintes: isolamento de um microrganismo já adaptado para produzir enzimas; utilização de resíduo lignocelulósico; identificar o melhor tipo de fermentação e por fim utilização do caldo enzimático para um objetivo específico. Assim, mais estudos são necessários para avaliar não apenas a qualidade e o rendimento das enzimas produzidas, mas também a relação custo-benefício da adoção de novas tecnologias baseadas na utilização de resíduos lignocelulósico como suporte para produzir enzimas celulolíticas

REFERÊNCIAS

1. KUBY SA. A STUDY OF ENZYMES: ENZYME CATALYSTS, KINETICS, AND SUBSTRATE BINDING: CRC PRESS; 2019.
2. PRAZERES DMF. USE OF ENZYMES IN THE DOWNSTREAM PROCESSING OF BIOPHARMACEUTICALS. PHARMACEUTICAL BIOCATALYSIS: FUNDAMENTALS, ENZYME INHIBITORS, AND ENZYMES IN HEALTH AND DISEASES. 2019:41.
3. ARNOLD FH. INNOVATION BY EVOLUTION: BRINGING NEW CHEMISTRY TO LIFE (NOBEL LECTURE). ANGEWANDTE CHEMIE INTERNATIONAL EDITION. 2019.
4. MOHAPATRA S, MISHRA SS, PAUL M, THATOI H. LIGNOLYTIC ENZYMES FROM FUNGUS: A CONSOLIDATED BIOPROCESSING APPROACH FOR BIOETHANOL PRODUCTION. FRONTIERS IN SOIL AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY. 2020:167-80.
5. SUBSAMRAN K, MAHAKHAN P, VICHITPHAN K, VICHITPHAN S, SAWAENKAEW J. POTENTIAL USE OF VETIVER GRASS FOR CELLULOLYTIC ENZYME PRODUCTION AND BIOETHANOL PRODUCTION. BIOCATALYSIS AND AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY. 2019;17:261-8.
6. HOUFANI AA, ANDERS N, SPIESS AC, BALDRIAN P, BENALLAOUA S. INSIGHTS FROM ENZYMATIC DEGRADATION OF CELLULOSE AND HEMICELLULOSE TO FERMENTABLE SUGARS—A REVIEW. BIOMASS AND BIOENERGY. 2020;134:105481.
7. ROMANÍ A, ROCHA CM, MICHELIN M, DOMINGUES L, TEIXEIRA JA. VALORIZATION OF LIGNOCELLULOSIC-BASED WASTES. CURRENT DEVELOPMENTS IN BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING: ELSEVIER; 2020. P. 383-410.
8. DE SOUZA LOPES L, VIEIRA N, DA LUZ JMR, DA SILVA MDCS, CARDOSO WS, KASUYA MCM. PRODUCTION OF FUNGAL ENZYMES IN MACAÚBA COCONUT AND ENZYMATIC DEGRADATION OF TEXTILE DYE. BIOCATALYSIS AND AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY. 2020:101651.
9. SERBENT M, GUIMARÃES D, DRECHSLER-SANTOS E, HELM C, GIONGO A, TAVARES L. GROWTH, ENZYMATIC PRODUCTION AND MORPHOLOGY OF THE WHITE-ROT FUNGI LENTINUS CRINITUS (L.) FR. UPON 2, 4-D HERBICIDE EXPOSITION. INTERNATIONAL JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY. 2020:1-18.
10. DE LIMA MDPS, COELHO V, BARBOSA EEP, PIMENTA L, BATISTA SCP, PRADO FB, ET AL. ALTERNATIVA DE FONTES NUTRICIONAIS PARA DESENVOLVIMENTO DA FASE MICELIAL E PRODUÇÃO DE HIDROLASES POR COGUMELO COMESTÍVEL DE FLORESTA TROPICAL. BRAZILIAN JOURNAL OF DEVELOPMENT. 2021;7(3):22890-907.

11. DILOKPIMOL A, PENG M, DI FALCO M, WOENG TCA, HEGI RMW, GRANCHI Z, ET AL. PENICILLIUM SUBRUBESCENS ADAPTS ITS ENZYME PRODUCTION TO THE COMPOSITION OF PLANT BIOMASS. BIORESOURCE TECHNOLOGY. 2020:123477.
12. PAPADAKI E, KONTOGIANNOPOULOS KN, ASSIMOPOULOU AN, MANTZOURIDOU FT. FEASIBILITY OF MULTI-HYDROLYTIC ENZYMES PRODUCTION FROM OPTIMIZED GRAPE POMACE RESIDUES AND WHEAT BRAN MIXTURE USING ASPERGILLUS NIGER IN AN INTEGRATED CITRIC ACID-ENZYMES PRODUCTION PROCESS. BIORESOURCE TECHNOLOGY. 2020:123317.
13. JOSEPH B, RAMTEKE PW, THOMAS G. COLD ACTIVE MICROBIAL LIPASES: SOME HOT ISSUES AND RECENT DEVELOPMENTS. BIOTECHNOLOGY ADVANCES. 2008;26(5):457-70.
14. SARROUH B, SANTOS TM, MIYOSHI A, DIAS R, AZEVEDO V. UP-TO-DATE INSIGHT ON INDUSTRIAL ENZYMES APPLICATIONS AND GLOBAL MARKET. J BIOPROCESS BIOTECH S. 2012;4:002.
15. ATALAH J, CÁCERES-MORENO P, ESPINA G, BLAMEY JM. THERMOPHILES AND THE APPLICATIONS OF THEIR ENZYMES AS NEW BIOCATALYSTS. BIORESOURCE TECHNOLOGY. 2019;280:478-88.
16. ZUCOLOTO GF. PATENTEAMENTO EM BIOTECNOLOGIAS: A EXPERIÊNCIA CHINESA. 2013.
17. RIBEIRO BC, GOIS IM, BISPO DF, MARQUES J, SILVA CF. ISOLAMENTO E SELEÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS PRODUTORES DE ENZIMAS DE INTERESSE COMERCIAL. SCIENTIA PLENA. 2018;14(2).
18. HUANG Y, BUSK PK, GRELL MN, ZHAO H, LANGE L. IDENTIFICATION OF A B-GLUCOSIDASE FROM THE MUCOR CIRCINELLOIDES GENOME BY PEPTIDE PATTERN RECOGNITION. ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY. 2014;67:47-52.
19. LIU X, PAN S, GONG M, XU C, TU S, EDITORS. STUDY ON DEGRADATION OF RAPE STRAW BY CELLULOSE DEGRADING WHITE ROT FUNGUS. AIP CONFERENCE PROCEEDINGS; 2019: AIP PUBLISHING LLC.
20. HANKIN L, ANAGNOSTAKIS S. THE USE OF SOLID MEDIA FOR DETECTION OF ENZYME PRODUCTION BY FUNGI. MYCOLOGIA. 1975;67(3):597-607.
21. ANDERSON J. THE USE OF TRIBUTYRIN AGAR IN DAIRY BACTERIOLOGY. BERL INT MIKROBIOL KONGR. 1939;3:726-8.
22. MERINO A, EIBES G, HORMAZA A. EFFECT OF COPPER AND DIFFERENT CARBON AND NITROGEN SOURCES ON THE DECOLORIZATION

OF AN INDUSTRIAL DYE MIXTURE UNDER SOLID-STATE FERMENTATION. JOURNAL OF CLEANER PRODUCTION. 2019;237:117713.

23. MARONE A, TRABLY E, CARRÈRE H, PROMPSY P, GUILLON F, JOSEPH-AIMÉ M, ET AL. ENHANCEMENT OF CORN STOVER CONVERSION TO CARBOXYLATES BY EXTRUSION AND BIOTIC TRIGGERS IN SOLID-STATE FERMENTATION. APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY. 2019;103(1):489-503.

24. TAI WY, TAN JS, LIM V, LEE CK. COMPREHENSIVE STUDIES ON OPTIMIZATION OF CELLULASE AND XYLANASE PRODUCTION BY A LOCAL INDIGENOUS FUNGUS STRAIN VIA SOLID STATE FERMENTATION USING OIL PALM FROND AS SUBSTRATE. BIOTECHNOLOGY PROGRESS. 2019;35(3):E2781.

25. ABU E, AMEH D. CELLULASE AND AMYLASE PRODUCTION BY ASPERGILLUS NIGER SL. 1 IN AMMONIA TREATED AGROWASTES AND EVALUATION OF SOME KINETIC PARAMETERS OF THE ENZYMES. BIOSCIENCE RESEARCH JOURNAL. 2019;15(1).

26. KARAMI F, GHORBANI M, MAHOONAK AS, KHODARAHMI R. FAST, INEXPENSIVE PURIFICATION OF B-GLUCOSIDASE FROM ASPERGILLUS NIGER AND IMPROVED CATALYTIC/PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES UPON THE ENZYME IMMOBILIZATION: POSSIBLE BROAD PROSPECTS FOR INDUSTRIAL APPLICATIONS. LWT. 2020;118:108770.

27. SUTAONEY P, CHOUDHARY R, GUPTA A. BIOPROSPECTING CELLULOLYTIC FUNGI ASSOCIATED WITH TEXTILE WASTE AND INVITRO OPTIMIZATION OF CELLULASE PRODUCTION BY ASPERGILLUS FLAVUS NFCCI-4154. DEVELOPMENT. 2020;13(1):64-84.

28. LODHA A, PAWAR S, RATHOD V. OPTIMISED CELLULASE PRODUCTION FROM FUNGAL CO-CULTURE OF TRICHODERMA REESEI NCIM 1186 AND PENICILLIUM CITRINUM NCIM 768 UNDER SOLID STATE FERMENTATION. JOURNAL OF ENVIRONMENTAL CHEMICAL ENGINEERING. 2020:103958.

29. AFZAL M, QURESHI MZ, KHAN S, KHAN MI, IKRAM H, ASHRAF A, ET AL. PRODUCTION, PURIFICATION AND OPTIMIZATION OF CELLULASE BY BACILLUS LICHENIFORMIS HI-08 ISOLATED FROM THE HINDGUT OF WOOD-FEEDING TERMITE. INTERNATIONAL JOURNAL OF AGRICULTURE AND BIOLOGY. 2019;21(1):125-34.

30. WIJAYANTI S, OLIVIANI K, KUSNADI J, PUTRI R. CHARACTERIZATION OF CRUDE CELLULASE ENZYME PRODUCED BY BACILLUS LICHENIFORMIS P12 ISOLATE.

31. GHOSH A, SUTRADHAR S, BAISHYA D. DELINEATING THERMOPHILIC XYLANASE FROM BACILLUS LICHENIFORMIS DM5 TOWARDS ITS

POTENTIAL APPLICATION IN XYLOOLIGOSACCHARIDES PRODUCTION. WORLD JOURNAL OF MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY. 2019;35(2):34.

32. MORIYA S, KUDO T, INOUE T, TODAKA N, KITAMOTO K, ARIOKA M, ET AL., INVENTORS; GOOGLE PATENTS, ASSIGNEE. CELLULASE ENZYME AND METHOD FOR PRODUCING THE SAME2010.

33. RONGHU F, JIAJUN H, WENBIN H, TUN L, RONGHU F, JIAJUN H, ET AL., INVENTORS; GOOGLE PATENTS, ASSIGNEE. BACTERIAL STRAIN H1 CAPABLE OF PRODUCING CELLULASE AND ENZYME PRODUCTION CULTURE MEDIUM OF BACTERIAL STRAIN H12013.

34. FUHUA F, QIRUI G, GAOYANG L, PEIJUN L, ZHENYUAN N, YANG S, ET AL., INVENTORS; GOOGLE PATENTS ASSIGNEE. PENICILLIUM OXALICUM WX-209 STRAIN WITH HIGH CELLULASE YIELD AND ENZYME PRODUCING METHOD2013.

35. HEQUN X, WEI Z, YINGCHUN Z, HEQUN X, WEI Z, YINGCHUN Z, INVENTORS; POMACE ENZYME AS WELL AS PREPARATION METHOD AND APPLICATION THEREOF2016.

36. JIA D, RONGJIE L. COMPOSITE ENZYME OF CELLULASE, XYLANASE AND CELLOBIASE, AS WELL AS PREPARATION METHOD THEREOF. 2012.

36. WENBING G, ZHENXIU H, YUANDE P, CHUNLIANG X, LI Y, YINGJUN Z, ET AL., INVENTORS; FERMENTATION MEDIUM CAPABLE OF IMPROVING ENZYME ACTIVITY OF CELLULASE PRODUCED BY MICROORGANISMS, APPLICATION OF FERMENTATION MEDIUM AND ENZYME PRODUCTION METHOD2019.

37. JUNG CM, JONG KT, SUK KY, HEE KY, KEUM S. ENZYME FOR PRODUCING OF BIOFUEL METHOD OF PRODUCTION THEREOF AND HYDROLYTIC METHOD OF BIOMASS USING THE ENZYME. 2013.

39. ZACHO GM, INVENTOR; PROCESS FOR PRODUCTION OF AN ENZYME PRODUCT2015.

40. YUJI I, INVENTOR; METHOD FOR COLLECTING ENZYME2008.

41. HEQUN X, WEI Z, YINGCHUN Z, INVENTORS; POMACE ENZYME AS WELL AS PREPARATION METHOD AND APPLICATION THEREOF2014.

42. FUHUA F, QIRUI G, GAOYANG L, PEIJUN L, ZHENYUAN N, YANG S, ET AL., INVENTORS; PECTINASE PREPARATION PRODUCING ASPERGILLUS JAPONICUS PJ01 AND ENZYME PRODUCTION METHOD2013.

43. PENGMEIL, LONGLONG M, ZHONGMING W, CHUANGZHI W, JINGLIANG X, ZHENHONG Y, ET AL., INVENTORS; METHOD FOR IMPROVING ENZYME VITALITY FOR PRODUCTION OF CELLULASE STRAIN BY PREPROCESSING STRAW STALK THROUGH WHITEROT FUNGUS2009.

44. YABIN C, LISHU G, YANBO N, HAOQIONG W, BO Y, INVENTORS; THERMOPHILIC BACTERIUM HAVING DOUBLE ENZYME ACTIVITIES AND BEING USED FOR AEROBIC COMPOSTING FERMENTATION2012.
45. RONGJIE L, WEILI L, XIAOLING M, PEIJIAN X, INVENTORS; XYLANASE/CELLOBIASE COMPOSITE ENZYME AND PREPARATION METHOD THEREOF2010.
46. XIAOLAN L, YINGHUA T, XIQUN Z, INVENTORS; COMPLEX ENZYME GENERATED BY ASPERGILLUS NIGER AND APPLICATION THEREOF IN BOILING-OFF OF FLAX ROVING2010.
47. CHAABANE FB, COHEN C, INVENTORS; PROCESSO DE PRODUÇÃO DE CELULASES COM BAGAÇO LIGNOCELULÓSICO PRÉ-TRATADO2017.
48. WARZWODA M, BALLERINI D, MONOT F, INVENTORS; PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DE MATERIAIS CELULÓSICOS OU LIGNO-CELULÓSICOS2006.
49. KIM S, KIM C. PENICILLIUM VERRUCULOSUM COKE4E HAVING A PRODUCING ABILITY OF LIGNOCELLULOLYTIC ENZYME. 2017.
50. LI C, YAOWEI F, SHU L, MINGSHENG L, SHUJUN W, INVENTORS; OCEAN LOW-TEMPERATURE CELLULASE AND ENZYME PRODUCING METHOD AS WELL AS PRODUCING STRAIN PSEUDOALTEROMONAS THEREOF2008.
51. XUEZHI L, ZHONGHAI L, YUQI Q, YINBO Q, GUANGSHAN Y, INVENTORS; PENICILLIUM OXALICUM STRAIN FOR INCREASING ENZYME ACTIVITIES OF CELLULASE AND HEMICELLULASE2014.
52. JINNA C, JIANHUA H, YONGLI L, JIANGUO L, YANXIN L, ZHANYING L, ET AL., INVENTORS; BACILLUS SUBTILIS WITH HIGH-YIELD COMPOUND ENZYME AND APPLICATION THEREOF2019.
53. FISH, MARSHALL N, MILLER LB, INVENTORS; ENZYME COMPLEX2010.
54. YUDUO C, HAO L, ZHIGANG M, YANG Y, INVENTORS; COMPLEX ENZYME PREPARATION FOR EXTRACTING EFFECTIVE PLANT COMPONENTS AND METHOD FOR PREPARING COMPLEX ENZYME PREPARATION2015.
55. SUNG HJ, BOK KH, INVENTORS; BACILLUS LICHENIFORMIS B1, ALKALOPHILIC ENZYME SOLUTION AND METHOD OF PRODUCING THE SAME2009.
56. HAIYAN H, QIQIAN L, YONGLING T, INVENTORS; EXTRACT OF ASPERGILLUS ORYZAE FERMENTED ENZYME LIQUID AND APPLICATION OF EXTRACT2016.
57. BOWEN G, XUEZHEN J, XIANGYANG L, SHANSHAN W, SHOUNAN W, YUTING Y, ET AL., INVENTORS; BACILLUS SUBTILIS CAPABLE OF

PRODUCING SUBSTANCE WITH MULTIPLE ENZYME ACTIVITIES AND APPLICATION OF BACILLUS SUBTILIS2016.

58. WENBING G, ZHENXIU H, YUANDE P, CHUNLIANG X, LI Y, YINGJUN Z, ET AL., INVENTORS; METHOD FOR IMPROVING ENZYME ACTIVITY PRODUCED BY WHITE ROT FUNGI2019.

59. BO H, YONGMING H, HAIQING L, JIYUN Y, YUMING Z, INVENTORS; PROBIOTICS-CONTAINING SPECIAL COMPLEX ENZYME FOR PIGLETS AND PREPARATION METHOD OF COMPLEX ENZYME2014.

60. GUIJUN L, HONGBING L, WENMING L, JIYUN Y, YUMING Z, INVENTORS; WHEAT DAILY RATION ENZYME CONTAINING PROBIOTICS AND PREPARATION METHOD THEREOF2014.

61. WENBING G, ZHENXIU H, YUANDE P, CHUNLIANG X, LI Y, YINGJUN Z, ET AL., INVENTORS; FERMENTATION CULTURE MEDIUM FOR IMPROVING ENZYME ACTIVITY OF WHITE-ROT FUNGI PRODUCED ENZYME AND APPLICATION OF FERMENTATION CULTURE MEDIUM2018.

62. XUERONG CLF, YIWEN S, PING W, QIANG W, YUANYUAN Y, JIUGANG Y, ET AL., INVENTORS; METHOD FOR IMPROVING TRAMETES ENZYME PRODUCTION WITH LIGNOSULFONATE AS INDUCTIVE AGENT2015

63. QIUYA G, WEI T, XIAOBIN Y, INVENTORS; ASPERGILLUS NIGER STRAIN OF COMPLEX ENZYME FOR LIQUOR MAKING2015.

64. YONGMING H, HAIQING L, HONGBING L, JINJIE Z, YONGMING Z, INVENTORS; ALKALINE XYLANASE-CONTAINING DEDICATED ENZYME FOR PIGLETS AND PREPARATION METHOD OF ALKALINE XYLANASE-CONTAINING DEDICATED ENZYME2014.

65. ZHAOJIAN G, JINHUI H, ENQI L, HUIGANG S, SHIRONG T, DAWEI X, ET AL., INVENTORS; METHOD FOR PREPARING COMPLEX ENZYME PREPARATION OF HEAT-RESISTANT FERULIC ACID ESTERASE AND CELLULOSE BY FERMENTING TRICHODERMA ATROVIRIDE THROUGH AIRLIFT FERMENTATION TANK2015.

66. ZHAOJIAN G, ENQI L, HUIGANG S, SHIRONG T, DAWEI X, XIANYAO Y, ET AL., INVENTORS; METHOD FOR PREPARING COMPLEX ENZYME PREPARATION OF HEAT-RESISTANT FERULIC ACID ESTERASE AND CELLULOSE THROUGH LIQUID FERMENTATION OF TRICHODERMA ATROVIRIDE BY VIRTUE OF TRIANGULAR FLASK2015.

67. SOUSA MVD, RICART CAO, FILHO EXF, VALE LHFD, INVENTORS; MEIO DE CULTURA PARA AUMENTAR A PRODUÇÃO DE ENZIMAS POR MICRO-ORGANISMOS; PROCESSO E SEU USO PARA AUMENTAR A PRODUÇÃO DE ENZIMAS QUE DEGRADAM POLISSACARÍDEOS DE BOMASSA2012.

68. CHAABANE FB, MONOT F, INVENTORS; PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ENZIMAS CELULOLÍTICAS E HEMICELULOLÍTICAS MELHORADO2011.

69. CHAABANE FB, COHEN C, INVENTORS; MÉTODO DE PRODUÇÃO DE ENZIMAS CELULOLÍTICAS E/OU HEMICELULOLÍTICAS POR MEIO DE UM MICRO-ORGANISMO CELULOLÍTICO EM UM BIORREATOR AGITADO E AERADO2011.

70. BON EPDS, GOTTSCHALK LMF, FERRARA MA, ELEUTHERIO ECA, PEREIRA MD, FILHO EXF, ET AL., INVENTORS; COMPOSIÇÃO DE ENZIMAS, USO DA COMPOSIÇÃO NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE MATERIAL LIGNOCELULÓSICO, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ENZIMAS QUE DEGRADAM A FRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS DA BIOMASSA, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ÁLCOOL UTILIZANDO A COMPOSIÇÃO DE ENZIMA2007.

71. FENGWU B, HONGJIN S, XINQING Z, INVENTORS; TRICHODERMAVIRIDE USED FOR PRODUCING CELLULOSE DEGRADING ENZYME AND ITS APPLICATION IN URBAN LANDSCAPING WASTE DEGRADATION2011.

72. AJAH C, МАПШАЛЛ ФН, ПЕТЕРСОХ ХН, MARSHALL FN, PETERSON KN, ALAN SE, INVENTORS; STRAIN PENICILLIUM FUNICULOSUM PRODUCING ENZYME COMPLEX SUCH AS CELLULASE, ENDO-1,4-BETA-XYLANASE, CELLOBIOHYDROLASE, BETA- GLUCOSIDASE, ENDO-1,3(4)-BETA-GLUCANASE, FERULOYLESTERASE2005.

73. HUI L, YANG L, YANNAN S, CAIXIA W, ZHOU W, ZHENGLIAN X, ET AL., INVENTORS; BACILLUS LICHENIFORMIS PRODUCING MULTIPLE ENZYME SYSTEMS, AND PREPARATION METHOD AND APPLICATION THEREOF2013.

74. YONGMING H, HAIQING L, HONGBING L, JIYUN Y, JINJIE Z. WHEAT RATION ENZYME CONTAINING NEUTRAL PROTEASE AND PREPARATION METHOD THEREOF. 2013.

75. JIAN T, INVENTOR; STRAIN WITH HIGH CELLULOSE ENZYME ACTIVITY AND APPLICATION AND OBTAINING METHODS THEREOF2015.

76. GERHARDT M, HEINE C, RINGPFEIL M, WOLF M, INVENTORS; ENZYME COMPLEX WITH XYLANASE AND CELLULASE ACTIVITY, USEFUL E.G. IN FOOD INDUSTRY, BY FERMENTING TRICHODERMA STRAIN USING SOYA GROATS OR SOLUBLE MAIZE PROTEIN AS SUBSTRATE-INDUCER TO GIVE HIGH XYLANASE ACTIVITY2004.