

Avanços em caracterização bioquímica de lipases microbianas: uma revisão

Advances in biochemical characterization of microbial lipases: a review

Avances en la caracterización bioquímica de las lipasas microbianas: una revisión

Recebido: 22/02/2020 | Revisado: 02/03/2020 | Aceito: 16/03/2020 | Publicado: 19/03/2020

Julio Pansiere Zavarise

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0394-3149>

Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

E-mail: juliopz2011@gmail.com

Laura Marina Pinotti

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5012-6811>

Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

E-mail: pinotti2008@hotmail.com

Resumo

As lipases são catalisadores que possuem grande potencial para aplicações industriais (recentes ou consolidadas) que incluem a área alimentícia, farmacêutica, couros, biorremediação de óleos e gorduras e produção de biodiesel. Nesse contexto, as lipases microbianas apresentam características atraentes e se destacam como a principal fonte dessas enzimas. Dentre os microrganismos mais promissores é possível apontar os fungos filamentosos como exímios produtores de lipases, visto que muitos estudos sobre essas lipases e suas características vêm sendo realizados. Considerando a necessidade de identificar possíveis tendências e lacunas em estudos sobre as características bioquímicas de lipases produzidas por fungos filamentosos este trabalho objetivou contribuir para o conhecimento por meio de uma revisão da literatura acerca da caracterização bioquímica de lipases produzidas pelos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* visando ser empregada como uma fonte abrangente de informações para os pesquisadores da área. Empregou-se como fonte de pesquisa os bancos de dados *Web of Science*, *ScienceDirect* e *Google Acadêmico*, buscando-se por artigos originais publicados de 2010-atual, nos idiomas inglês ou português e com as palavras-chave definidas em consonância com o tema principal deste estudo e possíveis áreas correlatas. Os resultados encontrados indicaram que o gênero *Aspergillus* é o mais estudado nos trabalhos de caracterização bioquímica de lipases e que possivelmente há uma lacuna de pesquisas para a caracterização bioquímica de lipases produzidas pelo gênero *Trichoderma* e de lipases intracelulares, indicando um nicho de pesquisas com potencial a ser explorado. As áreas de aplicações das lipases caracterizadas mais frequentemente citadas pelos autores dos estudos analisados são a formulação de detergentes, produção de biocombustíveis e biorremediação/tratamento de efluentes industriais, indicando que estas áreas poderão ser priorizadas em pesquisas futuras. Conclui-se que por mais que a revisão sistemática da literatura realizada forneça uma gama de conhecimentos úteis para pesquisadores é preciso ter cautela, pois, os resultados encontrados podem não levar em conta artigos que não se encontram indexados nas bases de dados consultadas.

Palavras-chave: Fungos filamentosos; Enzimas; Lipases fúngicas.

Abstract

Lipases are catalysts that have great potential for industrial applications (recent or consolidated) that include the food, pharmaceutical, leather, bioremediation area of oils and fats and biodiesel production. In this context, microbial lipases have attractive characteristics and stand out as the main source of these enzymes. Among the most promising microorganisms it is possible to point out filamentous fungi as excellent producers of lipases, since many studies on these lipases and their characteristics have been carried out. Considering the need to identify possible trends and gaps in studies on the biochemical characteristics of lipases produced by filamentous fungi this work aimed to contribute to knowledge through a literature review about the biochemical characterization of lipases produced by the genera *Aspergillus*, *Penicillium* and *Trichoderma* aiming to be employed as a source comprehensive information for researchers in the area. The *Databases Web of Science*, *ScienceDirect* and *Google Scholar* were used as a source, seeking original articles published from 2010-current, in English or Portuguese languages and with the keywords defined in line with the main theme of this study and possible related areas. The results indicated that the genus *Aspergillus* is the most studied in the biochemical characterization studies of lipases and that there is possibly a research gap for the biochemical characterization of lipases produced by the genus *Trichoderma* and intracellular lipases, indicating a niche of research with potential to be explored. The areas of lipase applications most frequently cited by the authors of the studies analyzed are the formulation of detergents, production of biofuels and bioremediation/treatment of industrial effluents, indicating that these areas may be prioritized in future research. It is concluded that for more than the systematic review of the literature performed provides a range of useful knowledge for researchers it is necessary to be careful, because the results found may not take into account articles that are not indexed in the databases consulted.

Keywords: Filamentous fungi; Enzymes; Fungal lipases.

Resumen

Las lipasas son catalizadores que tienen un gran potencial para aplicaciones industriales (recientes o consolidadas) que incluyen alimentos, productos farmacéuticos, cuero, biorremediación de aceites y grasas y producción de biodiesel. En este contexto, las lipasas microbianas tienen características atractivas y se destacan como la principal fuente de estas enzimas. Entre los microorganismos más prometedores, es posible señalar a los hongos filamentosos como excelentes productores de lipasas, ya que se han realizado muchos estudios sobre estas lipasas y sus características. Teniendo en cuenta la necesidad de identificar posibles tendencias y lagunas en los estudios sobre las características bioquímicas de las lipasas producidas por hongos filamentosos, este trabajo tuvo como objetivo contribuir al conocimiento a través de una revisión bibliográfica sobre la caracterización bioquímica de las lipasas producidas por los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Trichoderma* con el objetivo ser utilizado como una fuente integral de información para investigadores en el campo. Las bases de datos de *Web of Science*, *ScienceDirect* y *Google Scholar* se utilizaron como fuente de investigación, buscando artículos originales publicados desde 2010 hasta la actualidad, en inglés o portugués y con las palabras clave definidas en línea con el tema principal. de este estudio y posibles áreas relacionadas. Los resultados encontrados indican que el género *Aspergillus* es el más estudiado en el trabajo de caracterización bioquímica de lipasas y que posiblemente existe una brecha en la investigación para la caracterización bioquímica de lipasas producidas por el género *Trichoderma* y las lipasas intracelulares, lo que indica un nicho de investigación con potencial para ser explorado Las áreas de aplicación de las lipasas caracterizadas más frecuentemente citadas por los autores de los estudios analizados son la formulación de detergentes, la producción de biocombustibles y la bioremediación / tratamiento de efluentes industriales, lo

que indica que estas áreas pueden ser priorizadas en futuras investigaciones. Se concluye que a pesar de que la revisión sistemática de la literatura realizada proporciona una variedad de conocimientos útiles para los investigadores, es necesario tener precaución, ya que los resultados encontrados pueden no tener en cuenta los artículos que no están indexados en las bases de datos consultadas.

Palabras llave: hongos filamentosos; Enzimas Lipasas fúngicas.

1. Introdução

As lipases são enzimas que catalisam reações de hidrólise e/ou síntese de acilgliceróis de cadeia longa e podem ser produzidas por mamíferos, plantas, fungos e bactérias. Entre todas as enzimas conhecidas, as lipases têm concentrado a atenção pela aplicabilidade em uma série de transformações orgânicas. Por mais que estas mesmas possam ser obtidas a partir de diversas fontes, como mencionado, sabe-se que as lipases de origem microbiana possuem particular importância industrial e representam a classe mais utilizada de biocatalisadores em aplicações biotecnológicas. Dentre os microrganismos reconhecidos como bons produtores de enzimas lipolíticas os fungos apresentam um grande potencial a ser explorado (Melani, Tambourgi & Silveira, 2019; Priji et al. , 2016; Bharathi & Rajalakshmi, 2019; Javed et al., 2018).

Devido a ubiquidade dos fungos nos mais diferentes *habitats* é sabido que estes microrganismos são capazes de produzir muitas enzimas para viabilizar sua existência a partir de uma ampla variedade de substratos. Entre as enzimas produzidas por fungos, as lipases são visadas por serem versáteis. De forma geral, observa-se que os estudos voltados a produção de lipases fúngicas que empregaram fungos filamentosos mostraram resultados muito promissores, sendo os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizomucor*, *Thermomyces* mais amplamente estudados. O principal benefício das lipases de fungos filamentosos é a sua natureza extracelular, o que diminui consideravelmente o custo total de processos biocatalisados por essas enzimas e as torna mais interessantes, sob o ponto de vista industrial, do que lipases bacterianas (Zavarise & Pinotti, 2019; Kumar et al. , 2016; Melani, Tambourgi & Silveira, 2019; Treichel et al., 2010).

Dada a grande especificidade, versatilidade e propriedades seletivas apresentadas pelas lipases estas enzimas estão se tornando cada vez mais significativas em várias aplicações industriais. Algumas das aplicações das enzimas lipolíticas podem ser vistas na área farmacêutica, na síntese de produtos químicos finos e de oleoquímicos, nas indústrias alimentícia, de couro, cosméticos, detergentes, no desenvolvimento de *flavors*, de fragrâncias, no pré-tratamento de águas residuais ricas em lipídios, na bioremediação de solos contaminados

por óleos/gorduras e na síntese de biodiesel (Priji *et al.*, 2016; Melani, Tambourgi e Silveira, 2019; Lanka & Latha, 2015; Ramos-Sánchez *et al.*, 2015; Javed *et al.*, 2018; Sharma, Sharma e Saxena, 2016).

As propriedades das lipases, tais como atividade catalítica sobre uma ampla faixa de temperatura e pH, especificidade para o substrato, gama de substratos diversificada e quimio-, regio- e enantio-seletividade, posicionam essas enzimas como os biocatalisadores com maior potencial a ser explorado no presente e no futuro. Considerando o fato de que os processos industriais biocatalisados atuais exigem enzimas com características únicas e alto desempenho e que lipases produzidas por diferentes microrganismos podem apresentar características distintas observa-se que existem múltiplos esforços de pesquisadores e de indústrias pelo *screening* por novas lipases, com propriedades desejáveis (Mehta, Bodh & Gupta, 2017; Priji *et al.*, 2016; Farrokh, Yakhchali & Asghar Karkhane, 2014).

Em geral, é discutido na literatura que as propriedades das lipases que precisam ser melhoradas são a estabilidade (catalítica, térmica e na presença de solventes orgânicos) e o *turnover* sob as condições de aplicação. Como soluções são apontadas a engenharia genética e o desenho racional de lipases, sendo que esta última ainda permanece em grande parte inexplorada, mas tem a capacidade para melhorar a termoestabilidade enzimática de lipases, aumentar sua tolerância aos solventes e aumentar sua eficiência catalítica. Ademais, se mostra necessário elucidar o mecanismo de reação, regulação e controle da atividade catalítica das lipases para atender às necessidades futuras e atingir o nível previsto de demanda comercial (Javed *et al.*, 2018; Kumar *et al.*, 2016; Priji *et al.*, 2016; Lai *et al.*, 2019).

Muitos genes de lipases com características únicas ainda são desconhecidos e precisam ser explorados. No entanto, a compreensão mais aprofundada das propriedades de diferentes lipases ainda requer uma maior contribuição de pesquisas voltadas para a caracterização e identificação das lipases já reconhecidas e estudadas (Shelatkar, Padalia & Student, 2016; Kumar *et al.*, 2016; Kirana *et al.*, 2016).

Diante disso, o objetivo do presente trabalho é contribuir para o conhecimento acerca das publicações recentes de caracterização bioquímica de lipases de fungos filamentosos produzidas pelos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma*, através de uma revisão crítica da literatura recente. Essa revisão poderá servir como uma fonte abrangente de informações mais recentes para os pesquisadores que trabalham em pesquisas sobre caracterização bioquímica de lipases e possibilitará possivelmente identificar lacunas nesta área que podem vir a ser priorizadas em pesquisas futuras, considerando a crescente importância das lipases na indústria e o imenso potencial de aplicação em diversas áreas estratégicas, como a

área energética e de tratamento de efluentes industriais.

2. Metodologia

2.1. Seleção de trabalhos para o portfólio

A obtenção de trabalhos recentes se dará através de consultas a bases de dados que indexam periódicos de grande relevância para o meio acadêmico e científico. Nesse contexto, os trabalhos foram selecionados considerando-se que uma revisão sistemática requer uma questão clara, critérios bem definidos e uma conclusão que forneça novas informações com base no conteúdo garimpado (Gomes & Caminha, 2014).

A fim de selecionar uma parcela representativa dos trabalhos publicados na literatura recente, foram empregados três banco de dados distintos: *Web of Science*, ScienceDirect e Google Acadêmico, como fonte de trabalhos. As informações disponíveis nas bases de dados referidas incluem título, autores, resumos e o texto completo, quando disponível. Tendo em vista as atuais taxas de publicações científicas o manejo eficaz desse grupo de conhecimentos é uma habilidade desejável para todos os pesquisadores, visando, principalmente, discutir a experiência individual e os resultados correlacionados com a base de conhecimento publicada da ciência (Tober, 2011).

2.2. Refinamento do portfólio

Inicialmente, os artigos foram selecionados empregando os critérios de data de publicação(2010-atual), tipo de trabalho(somente artigos originais), idioma de publicação (somente inglês ou português) e palavras-chave. As palavras-chave foram definidas de acordo com o tema principal deste estudo e possíveis áreas correlatas (Benedito, Porto & Freitas, 2019). As palavras inseridas, em inglês e em português, foram “lipases”, “biochemical characterization”, “caracterização bioquímica”, “Aspergillus”, “Penicillium” e “Trichoderma”, empregando os operadores booleanos ‘AND’ e ‘OR’ para refinar os resultados das pesquisas e direcionar a pesquisa para obter resultados considerados relevantes neste trabalho. A inserção do operador ‘OR’ visou abranger artigos que utilizam termos diferentes para se referir a um mesmo tipo de processo, produto ou parâmetro (Margon, Pinotti, & Freitas, 2018).

2.3. Organização de dados e realização de análises

Em seguida, os resumos dos artigos selecionados foram lidos a fim de verificar a

adequação do trabalho ao objetivo da pesquisa, excluindo-se nessa etapa artigos que não incluíssem ensaios de caracterização bioquímica de lipases. A caracterização bioquímica de lipases neste trabalho foi considerada como a determinação dos pH e Temperatura ótimos de lipases e/ou etapas de obtenção de constantes cinéticas, especificamente relacionados a constante de Michaelis-Mentem (Km) e a Velocidade Máxima de reação (V_{máx}) da atividade de lipases sobre determinados substratos.

Por fim foi realizada a leitura completa dos artigos restantes e os dados obtidos referentes a caracterização bioquímica de lipases foram organizados em tabelas (Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3), e posteriormente discutidos. Com o intuito de identificar as aplicações das lipases em cada estudo e mapear possíveis áreas estratégicas e lacunas de pesquisas uma subsequente análise qualitativa dos trabalhos foi realizada.

3. Resultados e Discussão

3.1. Análise Quantitativa

Na tabela 1 são mostrados os microrganismos pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* que foram identificados como produtores de lipases na literatura selecionada, bem como os processos de fermentação empregados na produção estudada e os tipos de lipases produzidas.

Tabela 1. Fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* identificados como produtores de lipases em pesquisas recentes (2010 em diante)

| Microrganismo | Referência | Classificação das lipases | Fermentação |
|--------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------|
| <i>Aspergillus awamori</i> (HB-03) | Xia <i>et al.</i> , 2011 | Extracelular | FS |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | Mehta, Grover & Gupta, 2018 | Extracelular | FS |
| <i>Aspergillus japonicas</i> | Bharti <i>et al.</i> , 2013 | Extracelular | FS |
| <i>Aspergillus japonicus</i> LAB01 | Souza <i>et al.</i> , 2014 | Extracelular e Intracelular | FS |
| <i>Aspergillus niger</i> | Santos <i>et al.</i> , 2014 | Extracelular e Imobilizada | FES |
| <i>Aspergillus niger</i> | Liu <i>et al.</i> , 2010 | Lipases ligadas ao micélio | FS |
| <i>Aspergillus niger</i> (AN0512) | Liu <i>et al.</i> , 2015 | Extracelular | FS |
| <i>Aspergillus niger</i> (ATCC 1015) | Osho, Akpan & Adio, 2015 | Extracelular | FES |
| <i>Aspergillus niger</i> (F0215) | Cong <i>et al.</i> , 2019 | Extracelular | FS |
| <i>Aspergillus niger</i> (IOC 3677) | Santos <i>et al.</i> , 2017 | Extracelular e Imobilizada | FES |

| | | | |
|---|---------------------------------|-----------------------------|----------|
| <i>Aspergillus niger</i> (MYA 135) | Romero <i>et al.</i> , 2011 | Extracelular | FS |
| <i>Aspergillus niger</i> (NICM 1207) | Zhang <i>et al.</i> , 2019 | Extracelular | FS |
| <i>Aspergillus niger</i> C | Lima <i>et al.</i> , 2019 | Extracelular | FS |
| <i>Aspergillus oryzae</i> (CJLU-31) | Zhou <i>et al.</i> , 2012 | Extracelular | FS |
| <i>Aspergillus</i> sp. (DPUA 1727) | Tacin <i>et al.</i> , 2019 | Extracelular | FS |
| <i>Aspergillus tamaritii</i> (MTCC 5152) | Dayanandan <i>et al.</i> , 2013 | Extracelular | FES |
| <i>Aspergillus terreus</i> | Mahmoud <i>et al.</i> , 2015 | Extracelular | FS |
| <i>Aspergillus westerdijkiae</i> | Castro <i>et al.</i> , 2017 | Intracelular | FS |
| <i>Penicillium verrucosum</i> | Menoncim <i>et al.</i> , 2010 | Extracelular | FES |
| <i>Penicillium citrinum</i> (URM 4216) | Lima <i>et al.</i> , 2019 | Lipases ligadas ao micélio | FS |
| <i>Penicillium crustosum</i> | Rigo <i>et al.</i> , 2010 | Extracelular | FES |
| <i>Penicillium italicum</i> (AT4421), <i>Penicillium janthinellum</i> (CCT3162), <i>Penicillium purpurogenum</i> (AT2008) | Marotti <i>et al.</i> , 2017 | Intracelular e Extracelular | FS |
| <i>Penicillium notatum</i> | Rehman <i>et al.</i> , 2017 | Extracelular imobilizada | FES |
| <i>Penicillium notatum</i> | Rehman <i>et al.</i> , 2016 | Extracelular | FES |
| <i>Penicillium</i> sp. DS-39 (DSM 23773) | Dheeman <i>et al.</i> , 2011 | Extracelular | FS |
| <i>Trichoderma atroviride</i> 676 (IOC 4503) | Marques <i>et al.</i> , 2014 | Extracelular | FS |
| <i>Trichoderma harzianum</i> | Toscano <i>et al.</i> , 2013 | Extracelular | FS e FES |
| <i>Trichoderma harzianum</i> (IDM14D) | Ülker <i>et al.</i> , 2010 | Extracelular | FS |
| <i>Trichoderma lentiforme</i> (ACCC30425) | Wang <i>et al.</i> , 2018 | Extracelular | FS |
| <i>Trichoderma reesei</i> | Zhang, 2015 | NR | NR |
| <i>Trichoderma harzianum</i> | Coradi <i>et al.</i> , 2012 | Extracelular | FS e FES |

Nota: NR=Não relatado, FS=Fermentação Submersa e FES=Fermentação em Estado Sólido

Fonte: Elaborado pelo autor (2020)

Na tabela 1 é possível observar que a maioria dos fungos filamentosos estudados pertence ao gênero *Aspergillus*, sendo possível ainda identificar que a espécie *Aspergillus niger* concentra o maior número (9 dos 31 trabalhos aqui analisados) de pesquisas em relação a todos

os demais microrganismos considerados neste estudo. O gênero *Trichoderma* apresenta menor expressividade nas pesquisas analisadas e isso pode indicar que existe uma lacuna nas pesquisas envolvendo microrganismos do gênero *Trichoderma* na produção de lipases por fungos filamentosos na literatura recente.

Em relação ao tipo de lipase identificada sabe-se que é possível distinguir estas enzimas em duas classes principais: as lipases extracelulares e lipases intracelulares. Essa classificação leva em consideração o fato de que as lipases extracelulares são secretadas diretamente no meio de produção, enquanto as lipases intracelulares se encontram armazenadas na estrutura celular do microrganismo produtor e podem necessitar de etapas posteriores de separação e isolamento e ruptura das células. Na tabela 1, é possível observar que a grande maioria das lipases identificadas são extracelulares, o que vem de encontro com o que é afirmado na literatura acerca da natureza extracelular de lipases produzidas por fungos filamentosos (Geoffry & Achur, 2018; Mehta, Bodh & Gupta, 2017; Treichel *et al.*, 2010).

Dentre as lipases intracelulares tem-se as lipases ligadas ao micélio, estudadas no trabalho de Marotti *et al.* (2017), Lima *et al.* (2019) e Liu *et al.* (2010), definidas como as lipases que se encontram associadas a biomassa fúngica e que podem ser utilizadas como biocatalisador de forma direta, eliminando parcialmente etapas complexas de purificação, isolamento e imobilização, que são custosas. Entretanto, sabe-se ainda que a utilização de lipases ligadas ao micélio é limitada a processos industriais que não exigem enzimas extremamente purificadas, como a indústria de biocombustíveis e o pré-tratamento de efluentes industriais. O baixo número de pesquisas (relativo ao total de pesquisas consideradas) que fizeram o uso de lipases intracelulares e especialmente de lipases ligadas ao micélio, visto na Tabela 1, indica que ainda há uma defasagem nas pesquisas de caracterização bioquímicas de lipases que não sejam extracelulares demonstrando que este pode ser um nicho no qual as pesquisas futuras podem se estabelecer no futuro.

Quanto a via de produção das lipases microbianas é possível identificar dois tipos de fermentação, entendido aqui como o processo biotecnológico realizado para a obtenção de lipases. Os dois tipos considerados neste estudo foram a Fermentação em Estado Sólido (FES) e a Fermentação Submersa (FS). A diferença primordial entre ambas as formas de fermentação é a presença de água livre na FS. Nota-se que a grande maioria (cerca de 70% dos trabalhos analisados) empregou a FS de forma preferencial em relação a FES. A FS oferece algumas vantagens em relação a FES, como a facilidade de controle de variáveis e maiores taxas de transferência de massa e calor, porém é preciso ressaltar que o emprego de resíduos

agroindustriais na fermentação em estado sólido pode diminuir drasticamente os custos globais do processo de produção de lipases (Pandey *et al.*, 2000; Liu & Kokare, 2017).

Abaixo, na Tabela 2, são mostrados os parâmetros ótimos (pH ótimo e Temperatura ótima) para as lipases descritas nos trabalhos analisados neste estudo. Os parâmetros ótimos se referem às condições em que a atividade enzimática da lipase é mais elevada em comparação com as demais condições estudadas, considerando que os demais fatores que influenciam na atividade foram mantidos constantes durante as análises.

Tabela 2. Parâmetros ótimos (pH ótimo e Temperatura ótima) das lipases estudadas nos trabalhos analisados

| Microrganismo | Método de Atividade | pH ótimo | Temperatura ótima | Referência |
|---|----------------------------|-----------------|--------------------------|---------------------------------|
| <i>Aspergillus japonicus</i> | Colorimétrico | 7.3 | 40°C | Bharti <i>et al.</i> , 2013 |
| <i>Aspergillus awamori</i> (HB-03) | Colorimétrico | 8.5 | 40°C | Xia <i>et al.</i> , 2011 |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | Colorimétrico | 9.0 | 40°C | Mehta, Grover & Gupta, 2018 |
| <i>Aspergillus japonicus</i> (LAB01) | Colorimétrico | 8.5 | 45°C | Souza <i>et al.</i> , 2014 |
| <i>Aspergillus niger</i> | Colorimétrico | 7.0 | 45°C | Santos <i>et al.</i> , 2014 |
| <i>Aspergillus niger</i> (AN0512) | Colorimétrico | 5.0 | 50°C | Liu <i>et al.</i> , 2015 |
| <i>Aspergillus niger</i> (ATCC 1015) | Titrimétrico | 7.0 | 45°C | Osho, Akpan & Adio, 2015 |
| <i>Aspergillus niger</i> (F0215) | Colorimétrico | 6.5 | 20°C | Cong <i>et al.</i> , 2019 |
| <i>Aspergillus niger</i> (imobilizada) | Titrimétrico | 11.0 | 50°C | Santos <i>et al.</i> , 2014 |
| <i>Aspergillus niger</i> (IOC 3677) (imobilizada) | Titrimétrico | 2.0 | 55°C | Santos <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Aspergillus niger</i> (IOC 3677) (livre) | Titrimétrico | 5.0 | 55°C | Santos <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Aspergillus niger</i> (livre) | Titrimétrico | 4.0 | 37°C | Santos <i>et al.</i> , 2014 |
| <i>Aspergillus niger</i> (MYA 135) | Colorimétrico | 7.0 | 37°C | Romero <i>et al.</i> , 2011 |
| <i>Aspergillus niger</i> (NICM 1207) | Titrimétrico | 2.5 | 40°C. | Zhang <i>et al.</i> , 2019 |
| <i>Aspergillus niger</i> C | Titrimétrico | 5.0-6.0 | 55°C | Lima <i>et al.</i> , 2019 |
| <i>Aspergillus oryzae</i> (CJLU-31) | Colorimétrico | 4.0 | 40°C | Zhou <i>et al.</i> , 2012 |
| <i>Aspergillus sp.</i> (DPUA 1727) | Colorimétrico | 7.5 | 45°C | Tacin <i>et al.</i> , 2019 |
| <i>Aspergillus tamaritii</i> (MTCC 5152) | Colorimétrico | 7.0 | 50°C | Dayanandan <i>et al.</i> , 2013 |

| | | | | |
|---|---------------|---------|---------|-------------------------------|
| <i>Aspergillus terreus</i> | Colorimétrico | 7-9 | 30-45°C | Mahmoud <i>et al.</i> , 2015 |
| <i>Aspergillus westerdijkiae</i> | Colorimétrico | 7.0–8.0 | 40°C | Castro <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Penicillium verrucosum</i> | Titrimétrico | 8.5 | 42 °C | Menoncim <i>et al.</i> , 2010 |
| <i>Penicillium purpurogenum</i> (AT2008) | Titrimétrico | 7.0 | 40-45°C | Marotti <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Penicillium citrinum</i> (URM 4216) | Titrimétrico | 8.0 | 45°C | Lima <i>et al.</i> , 2019 |
| <i>Penicillium crustosum</i> | Titrimétrico | 9–10 | 37°C | Rigo <i>et al.</i> , 2010 |
| <i>Penicillium italicum</i> (AT4421) | Titrimétrico | 7.0 | 40°C | Marotti <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Penicillium janthinellum</i> (CCT3162) | Titrimétrico | 7.0 | 40-45°C | Marotti <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Penicillium notatum</i> | Colorimétrico | 9.5 | 40°C | Rehman <i>et al.</i> , 2016 |
| <i>Penicillium notatum</i> (imobilizada) | Colorimétrico | 8.5 | 60°C | Rehman <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Penicillium notatum</i> (livre) | Colorimétrico | 8.5 | 40°C | Rehman <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Penicillium sp. DS-39</i> (DSM 23773) | Colorimétrico | 5.5 | 45°C | Dheeman <i>et al.</i> , 2011 |
| <i>Trichoderma atroviride</i> 676 (IOC 4503) | Colorimétrico | 8.0 | 35°C | Marques <i>et al.</i> , 2014 |
| <i>Trichoderma harzianum</i> | Colorimétrico | 8.0 | 40 °C | Toscano <i>et al.</i> , 2013 |
| <i>Trichoderma harzianum</i> (IDM14D) | Colorimétrico | 8.5 | 40°C | Ülker <i>et al.</i> , 2010 |
| <i>Trichoderma lentiforme</i> (ACCC30425) | Titrimétrico | 9.5 | 50°C | Wang <i>et al.</i> , 2018 |
| <i>Trichoderma reesei</i> | Titrimétrico | 9.5 | 60°C | Zhang, 2015 |

Fonte: Elaborado pelo autor (2020)

Nota-se na Tabela 2 que os métodos de atividade lipásica foram classificados em dois grupos: os métodos colorimétricos e os métodos titrimétricos. Nesse estudo, os métodos colorimétricos foram considerados como aqueles que empregaram espectrofotometria para quantificar a atividade de lipases a partir de substratos cromóforos, geralmente sendo empregados ésteres comerciais com cadeias de 2 até 16 carbonos, e enquanto os métodos titrimétricos, são tidos aqueles que fizeram uso de titulação para mensurar a atividade lipásica por meio de quantificação dos ácidos graxos livres liberados durante a hidrólise catalítica de óleos vegetais, geralmente azeite de oliva. Na Tabela 2 observa-se que os métodos colorimétricos foram utilizados mais vezes do que os métodos titrimétricos nos ensaios de determinação de atividade de lipases.

Quanto ao pH ótimo tem-se uma variação do pH 4.0-10.0, de forma que aproximadamente 41% dos estudos analisados encontraram o pH ótimo próximo a região da neutralidade, de 6.5-7.5. Tal fato é explicado considerando-se que as enzimas apresentam uma variação brusca de atividade quando submetidas a valores de pH extremos e o pH neutro (7.0) é mais próximo da condição fisiológica dos microrganismos considerados, no caso para os fungos filamentosos.

Em relação a temperatura ótima, observou-se uma variação de 35°C-60°C, o que vai de encontro com a literatura que aponta que as condições que permitem uma máxima taxa de atividade metabólica para lipases de fungos filamentosos, em geral, está situada abaixo de 70°C (Geoffry & Achur, 2018; Mehta, Bodh & Gupta, 2017). Os dados obtidos se concentram em torno de 37°C a 40°C, equivalendo a cerca de 51% dos trabalhos elencados. É sabido que a temperatura influencia a taxa de reação enzimática, a baixas temperaturas a energia cinética no sistema é menor não favorecendo a formação do complexo de enzima-substrato. Por outro lado, em altas temperaturas a taxa de reação aumenta e pode haver uma diminuição na taxa de formação do produto ou desnaturação causada pela perda da estrutura terciária da enzima (Gomes *et al.*, 2006).

Abaixo na Tabela 3 são mostrados os parâmetros bioquímicos (K_m e $V_{máx}$) obtidos dos trabalhos analisados para as lipases produzidas pelos fungos filamentosos considerados neste trabalho.

Tabela 3. Parâmetros bioquímicos (K_m e $V_{máx}$) das lipases obtidos dos estudos considerados no presente trabalho

| Microrganismo | Substrato | K_m | $V_{máx}$ | Referência |
|---|------------------|----------------------------------|--|------------------------------|
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | p-NPB | 9,89mM | 10,42 μ mol.min ⁻¹ .mg ⁻¹ | Mehta, Grover & Gupta, 2018 |
| <i>Aspergillus japonicus</i> (LAB01) | p-NPP | 0,13mM | 12,58 μ M.min ⁻¹ | Souza <i>et al.</i> , 2014 |
| <i>Aspergillus niger</i> (AN0512) | p-NPB | 0,094mM | 0,5mM.min ⁻¹ | Liu <i>et al.</i> , 2015 |
| <i>Aspergillus niger</i> (F0215) | p-NPC | 26,7mM | 129,9mmol.L ⁻¹ .h ⁻¹ | Cong <i>et al.</i> , 2019 |
| <i>Aspergillus niger</i> (imobilizada) | Azeite de Oliva | 170mM | 0,0216mM.min ⁻¹ | Santos <i>et al.</i> , 2014 |
| <i>Aspergillus niger</i> (IOC 3677) (imobilizada) | Azeite de Oliva | 115mM | 714U.mg ⁻¹ | Santos <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Aspergillus niger</i> (IOC 3677) (livre) | Azeite de Oliva | 77mM | 1250U.mg ⁻¹ | Santos <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Aspergillus niger</i> (livre) | Azeite de Oliva | 117mM | 0,0276mM.min ⁻¹ | Santos <i>et al.</i> , 2014 |
| <i>Aspergillus niger</i> (MYA 135) | p-NPP | 2,81mM | 0,025 μ mol.mL ⁻¹ .min ⁻¹ | Romero <i>et al.</i> , 2011 |
| <i>Aspergillus niger</i> (MYA 135) | p-NPS | 0,99mM | 0,010 μ mol.mL ⁻¹ .min ⁻¹ | Romero <i>et al.</i> , 2011 |
| <i>Aspergillus oryzae</i> (CJLU-31) | Azeite de Oliva | 0,11mM | 0,41mM.min ⁻¹ | Zhou <i>et al.</i> , 2012 |
| <i>Penicillium purpurogenum</i> (AT2008) | Azeite de Oliva | 141,4mM | 493,8 μ mol.min ⁻¹ | Marotti <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Penicillium citrinum</i> (URM 4216) | Óleo de soja | 136,51 μ M.min ⁻¹ | 267,33 μ mol.g ⁻¹ .min ⁻¹ | Lima <i>et al.</i> , 2019 |
| <i>Penicillium italicum</i> (AT4421) | Azeite de Oliva | 151,3mM | 539,1 μ mol.min ⁻¹ | Marotti <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Penicillium janthinellum</i> (CCT3162) | Azeite de Oliva | 123,6mM | 387,6 μ mol.min ⁻¹ | Marotti <i>et al.</i> , 2017 |
| <i>Penicillium notatum</i> | p-NPP | 3,33mM | 232,6 μ mol. mL ⁻¹ .min ⁻¹ | Rehman <i>et al.</i> , 2016 |
| <i>Trichoderma harzianum</i> | p-NPP | 6,59mM | 7,62 U.mL ⁻¹ | Toscano <i>et al.</i> , 2013 |
| <i>Trichoderma harzianum</i> (IDM14D) | p-NPB | 7,15mM | 7,067mM.min ⁻¹ | Ülker <i>et al.</i> , 2010 |

| | | | | |
|--|-------|----------------|--|--------------------------------|
| <i>Trichoderma lentiforme</i> (ACCC30425) | p-NPP | 4,22mM | 12,2 μ mol.min ⁻¹ .mg ⁻¹ | Wang <i>et al.</i> , 2018 |
| <i>Trichoderma sp.</i> (FCLA 501) (<i>Trichoderma harzianum</i>) | p-NPP | 0,6535mmo l | 1,892 U.mL ⁻¹ | Coradi <i>et al.</i> , 2013 |

Nota: p-NPB=paranitrofenolbutirato, p-NPP=paranitrofenolpalmitato, p-NPC=paranitrofenolcaprilato, p-NPS= paranitrofenolestereato, M=mol.L⁻¹.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020)

Sobre os valores de K_m e $V_{m\acute{a}x}$ apresentados na Tabela 3 é possível afirmar que os métodos que empregam substratos cromóforos são vistos em maioria (maior que 60% dos trabalhos considerados) em relação os métodos que empregam substratos naturais como o azeite de oliva e óleo de soja por exemplo. Os valores de K_m e $V_{m\acute{a}x}$ se relacionam pelo fato de que K_m representa a concentração de substrato no qual a velocidade de reação atinge metade da velocidade máxima de reação ($V_{m\acute{a}x}$). O conhecimento desses parâmetros cinéticos para cada lipase é importante, considerando que o processo de escolha de enzima para aplicações industriais pode considerar a eficiência catalítica (dada como $V_{m\acute{a}x}/K_m$) destas em relação a uma mesma concentração de substrato inicial afim de selecionar a enzima mais adequada para uma determinada aplicação (Fullbrook, 1996).

3.2. Análise qualitativa

Após a análise qualitativa dos artigos selecionados foram elencadas três áreas de aplicações industriais de lipases que foram identificadas com maior frequência pelos autores sendo elas: Detergentes, Biocombustíveis e Biorremediação/Tratamento de efluentes industriais.

3.2.1 Detergentes

Ülker *et al.*, 2010 estudaram a lipase extracelular produzida pelo fungo filamentosso *Trichoderma harzanium* via FS e relataram que a mesma apresentou alta estabilidade térmica a temperatura ambiente (30°C-40°C) e estabilidade sobre ampla variação de pH, propriedades estas que segundo os autores tornam essas lipases atraentes para serem utilizadas em detergentes.

Marques *et al.* (2014) estudaram a produção por cultivo submerso de lipases extracelulares por *Trichoderma atroviride* 676. Segundo os autores, considerando as

propriedades gerais das lipase estudada (lipase alcalina com adaptabilidade a baixas temperaturas e forte tolerância a surfactantes) a mesma tem potencial para ser empregada em diferentes aplicações biotecnológicas, como síntese de solventes orgânicos e na formulações de detergentes.

3.2.2 Biocombustíveis

Marotti et al. (2017) descreveram a aplicação de lipases ligadas ao micélio na forma livre (biomassa com elevada atividade hidrolítica) do gênero *Penicillium*, na hidrólise de óleos vegetais, obtendo 77% como o grau de rendimento máximo para o óleo de canola. Os autores descrevem que uma aplicação potencial das lipases estudadas inclui a sua utilização em reações de hidro esterificação para produção de biocombustíveis utilizando matérias-primas de baixa qualidade (óleo de cozinha usado, espuma de caixa de gordura e óleos vegetais não convencionais), considerando que tais materiais de partida podem contribuir para a redução do custo global dos processos de produção enzimática de biocombustíveis.

Bharti *et al.*(2013) pesquisaram a lipases produzida pelo microrganismo *Aspergillus japonicas* e identificaram que ela possui uma alta temperatura ótima (40 °C) e ainda apresenta uma alta estabilidade em solventes hidrofóbicos, o que a torna uma alternativa interessante para reações de transesterificação de ésteres em meios orgânicos, como é o caso da produção de biodiesel a partir de óleos vegetais. Castro *et al.* (2017) estudaram uma nova lipase ligada ao micélio de uma cepa isolada local de *Aspergillus westerdijkiae* e conforme os autores, as propriedades das lipases naturalmente imobilizadas estudadas tornam essas lipases uma alternativa barata e, portanto, vantajosa para a produção de biodiesel.

3.2.3 Biorremediação/Tratamento de efluentes industriais

Mahmoud *et al.*(2015) isolaram a partir de um solo contaminado com querosene um fungo filamentoso identificado como *Aspergillus terreus* e obtiveram uma alta produção de lipases extracelulares via FS. Com base nos resultados obtidos pelos autores os mesmos definem que os microrganismos isolados de solos contaminados com hidrocarbonetos, assim como o *A. terreus*, podem ser promissores para processos de biorremediação de solos contaminados.

Dheeman *et al.* (2011) estudaram uma lipase extracelular de *Pencillium sp*, DS-39 que mostrou uma incomum termoestabilidade, uma ampla faixa de substrato com especificidade distinta para triacilgliceróis de cadeias longas insaturadas e ainda se mostrou estável na

presença de solventes hidrofóbicos não polares. Consoante os autores essas características tornam a lipase estudada adequada para aplicações potenciais em biocatálise não-aquosa, como na biodegradação de derramamentos de petróleo no meio ambiente.

4. Conclusão

É possível concluir com base nos resultados apresentados que a revisão sistemática da literatura pode fornecer uma miríade de informações úteis para pesquisadores acerca de estudos já publicados sobre uma determinada área do conhecimento. Entretanto, embora que as amplitudes das bases de dados empregadas nesta pesquisa sejam elevadas é preciso ter cautela em relação aos resultados obtido, uma vez que alguns artigos que atendessem aos critérios descritos na metodologia deste trabalho podem ter sido excluídos por não se encontrarem indexados nas bases de dados consultadas. No caso da caracterização bioquímica de lipases produzidas pelos fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* na literatura recente (2010-atual) notou-se que há uma maior quantidade de estudos voltados para a caracterização de lipases produzidas pelo gênero *Aspergillus*, com o microrganismo *Aspergillus niger* figurando como o mais estudado dentre todos os analisados. Notou-se ainda que possivelmente há uma lacuna de estudos sobre a caracterização de lipases produzidas pelo gênero *Trichoderma* e de lipases intracelulares e ainda, de estudos sobre determinação de parâmetros cinéticos (K_m e $V_{máx}$) para substratos naturais, indicando alguns nichos onde as pesquisas futuras podem se concentrar futuramente. As áreas de aplicações potenciais são inúmeras e diversas, porém foi encontrado que as três áreas mais citadas nos estudos analisados são a formulação de detergentes, produção de biocombustíveis e biorremediação/tratamento de efluentes industriais, indicando que essas áreas poderão ser priorizadas em pesquisas futuras, visto a sua recorrência em pesquisas recentes. Como sugestão para trabalhos futuros sugere-se realizar uma revisão da literatura acerca de parâmetros de estabilidade térmica para lipases produzidas por fungos filamentosos.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Referências

- Benedito, V., Porto, P., & Freitas, R. (2019). Modeling the growth of microalgae: A bibliometric study. *Research, Society and Development*, 8(1), e681511. doi:<http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v8i1.511>
- Bharathi, D., & Rajalakshmi, G. (2019). Microbial lipases: An overview of screening, production and purification. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 101368. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101368>
- Bharti, M. K., Khokhar, D., Pandey, A. K., & Gaur, A. K. (2013). Purification and characterization of lipase from *Aspergillus japonicas*: a potent enzyme for biodiesel production. *National Academy Science Letters*, 36(2), pp.151-156. <https://doi.org/10.1007/s40009-013-0112-8>
- Bisht, D., Yadav, S. K., & Darmwal, N. S. (2013). An oxidant and organic solvent tolerant alkaline lipase by *P. aeruginosa* mutant: downstream processing and biochemical characterization. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(4), pp.1305-1314. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000400040>
- Castro, F. F., Pinheiro, A. B. P., Nassur, C. B., & Barbosa-Tessmann, I. P. (2017). Mycelium-bound lipase from a locally isolated strain of *Aspergillus westerdijkiae*. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 10, pp.321-328. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.04.009>
- Cong, S., Tian, K., Zhang, X., Lu, F., Singh, S., Prior, B., & Wang, Z. X. (2019). Synthesis of flavor esters by a novel lipase from *Aspergillus niger* in a soybean-solvent system. *3 Biotech*, 9(6), p.244. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1778-5>
- Coradi, G.V., Da Visitação, V.L., De Lima, E.A., Saito, L.Y.T., Palmieri, D.A., Takita, M.A., de Oliva Neto, P. & De Lima, V.M.G. (2013). Comparing submerged and solid-state fermentation of agro-industrial residues for the production and characterization of lipase by *Trichoderma harzianum*. *Annals of microbiology*, 63(2), pp.533-540. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0500-1>

Dayanandan, A., Rani, S., Shanmugavel, M., Gnanamani, A., & Rajakumar, G. S. (2013). Enhanced production of *Aspergillus tamarii* lipase for recovery of fat from tannery fleshings. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(4), pp.1089-1095. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000400010>

Dheeman, D. S., Antony-Babu, S., Frías, J. M., & Henehan, G. T. (2011). Purification and characterization of an extracellular lipase from a novel strain *Penicillium sp. DS-39* (DSM 23773). *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 72(3-4), pp.256-262. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2011.06.013>

Farrokh, P., Yakhchali, B., & Asghar Karkhane, A. (2014). Cloning and characterization of newly isolated lipase from *Enterobacter sp. Bn12*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(2), pp.677-687. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000200042>

Fullbrook, P. D. Practical applied kinetics. *Industrial enzymology*, v. 2, p. 483-540, 1996.

Geoffry, K., & Achur, R. N. (2018). Screening and production of lipase from fungal organisms. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 14, pp.241-253. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.03.009>

Gomes, F.M., De Paula, A.V., Silva, G.D.S., De Castro, H.F., 2006. Determinação das propriedades catalíticas em meio aquoso e orgânico da lipase de *Candida rugosa* imobilizada em celulignina quimicamente modificada por carbonildiimidazol. *Quim. Nova* 29, pp.710–718. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000400016>

Gomes, I. S., & de Oliveira Caminha, I. (2014). Guia para estudos de revisão sistemática: uma opção metodológica para as Ciências do Movimento Humano. *Movimento*, 20(1), pp. 395-411. <https://doi.org/10.22456/1982-8918.41542>

Javed, S., Azeem, F., Hussain, S., Rasul, I., Siddique, M. H., Riaz, M., & Nadeem, H. (2018). Bacterial lipases: A review on purification and characterization. *Progress in biophysics and molecular biology*, 132, pp.23-34. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2017.07.014>

Kirana, S., Arshada, Z., Nosheenb, S., Kamala, S., Gulzara, T., Majeeda, M. S., & Rafiquec, M. A. (2016). Microbial Lipases: Production and Applications: A Review. *Journal of biochemistry biotechnology and biomaterials*, 1(2), pp.7-20.

Kumar, A., Dhar, K., Kanwar, S. S., & Arora, P. K. (2016). Lipase catalysis in organic solvents: advantages and applications. *Biological Procedures Online*, 18(1), p.2. <https://doi.org/10.1186/s12575-016-0033-2>

Lai, O. M., Lee, Y. Y., Phuah, E. T., & Akoh, C. C. (2019). Lipase/esterase: Properties and Industrial Applications. In: *Reference Module in Food Science*. Elsevier, pp.158-167.

Lanka, S., & Latha, J. N. L. (2015). A short review on various screening methods to isolate potential lipase producers: lipases-the present and future enzymes of biotech industry. *Int. J. Biol. Chem*, 9, pp.207-219. doi:10.3923/ijbc.2015.207.219

Lima, L. G. R., Gonçalves, M. M. M., Couri, S., Melo, V. F., Sant'Ana, G. C. F., & Costa, A. C. A. D. (2019). Lipase Production by *Aspergillus niger C* by Submerged Fermentation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, p.62. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180113>

Lima, R. T., Alves, A. M., de Paula, A. V., de Castro, H. F., & Andrade, G. S. (2019). Mycelium-bound lipase from *Penicillium citrinum* as biocatalyst for the hydrolysis of vegetable oils. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, p.22, 101410. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101410>

Liu, G., Hu, S., Li, L., & Hou, Y. (2015). Purification and characterization of a lipase with high thermostability and polar organic solvent-tolerance from *Aspergillus niger AN0512*. *Lipids*, 50(11), pp.1155-1163. <https://doi.org/10.1007/s11745-015-4052-6>

Liu, W., Jia, B., Zhao, H., Xu, L., & Yan, Y. (2010). Preparation of a whole-cell biocatalyst of *Aspergillus niger* lipase and its practical properties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(19), pp.10426-10430. <https://doi.org/10.1021/jf1008555>

Liu, X., & Kokare, C. (2017). Microbial enzymes of use in industry. In *Biotechnology of microbial enzymes* (pp. 267-298). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803725-6.00011-X>

Mahmoud, G. A., Koutb, M. M., Morsy, F. M., & Bagy, M. M. (2015). Characterization of lipase enzyme produced by hydrocarbons utilizing fungus *Aspergillus terreus*. *European Journal of Biological Research*, 5(3), pp.70-77.

Margon, R., Pinotti, L., & Freitas, R. (2018). Enzymatic hydrolysis of eucalyptus biomass for bioethanol production: a bibliometric analysis. *Research, Society and Development*, 7(4), e1474301. doi:<http://dx.doi.org/10.17648/rsd-v7i4.301>.

Marotti, B. S., Cortez, D. V., Gonçalves, D. B., & Castro, H. F. D. (2017). Seleção de espécies do gênero *Penicillium* produtoras de lipase ligada ao micélio para aplicação em hidrólise de óleos vegetais. *Química Nova*, 40(4), pp.427-435. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170033>.

Marques, T. A., Baldo, C., Borsato, D., Buzato, J. B., & Celligoi, M. A. P. C. (2014). Production and partial characterization of a thermostable, alkaline and organic solvent tolerant lipase from *Trichoderma atroviride* 676. *Int J Sci Technol Res*, 3(5), pp.77-83.

Mehta, A., Bodh, U., & Gupta, R. (2017). Fungal lipases: a review. *Journal of Biotech Research*, 8.

Mehta, A., Grover, C., & Gupta, R. (2018). Purification of lipase from *Aspergillus fumigatus* using Octyl Sepharose column chromatography and its characterization. *Journal of basic microbiology*, 58(10), pp. 857-866. <https://doi.org/10.1002/jobm.201800129>

Melani, N. B., Tambourgi, E. B., & Silveira, E. (2019). Lipases: From Production to Applications. *Separation & Purification Reviews*, pp.1-16.

Menoncin, S., Domingues, N.M., Freire, D.M.G., Toniazzo, G., Cansian, R.L., Oliveira, J.V., Di Luccio, M., de Oliveira, D. and Treichel, H., 2010. Study of the extraction, concentration, and partial characterization of lipases obtained from *Penicillium verrucosum* using solid-state

fermentation of soybean bran. *Food and Bioprocess Technology*, 3(4), pp.537-544.
<https://doi.org/10.1007/s11947-008-0104-8>

Osho, M. B., Akpan, I., & Adio, O. Q. (2015). Screening, optimization and characterization of extracellular lipase of *Aspergillus niger* ATCC 1015. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 5(2), p.172. doi: 10.15414/jmbfs.2015.5.2.172-176

Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C. R., Soccol, V. T., Singh, D., & Mohan, R. (2000). Advances in microbial amylases. *Biotechnology and applied biochemistry*, 31, pp.135-152. doi: 10.1042/ba19990073

Priji, P., Sajith, S., Faisal, P. A., & Benjamin, S. (2016). MICROBIAL LIPASES– PROPERTIES AND APPLICATIONS. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6(2), p.799. doi: 10.15414/jmbfs.2016.6.2.799-807

Ramos-Sánchez, L. B., Cujilema-Quitio, M. C., Julian-Ricardo, M. C., Cordova, J., & Fickers, P. (2015). Fungal lipase production by solid-state fermentation. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, 5(2), p.1. doi:10.4172/2155-9821.1000203

Rehman, S., Bhatti, H. N., Bilal, M., Asgher, M., & Wang, P. (2017). Catalytic, kinetic and thermodynamic characteristics of an extracellular lipase from *Penicillium notatum*. *Catalysis Letters*, 147(1), pp.281-291. <https://doi.org/10.1007/s10562-016-1931-2>

Rigo, E., Ninow, J.L., Tsai, S.M., Durrer, A., Foltran, L.L., Remonato, D., Sychoski, M., Vardanega, R., de Oliveira, D., Treichel, H. and Di Luccio, M. (2012). Preliminary characterization of novel extra-cellular lipase from *Penicillium crustosum* under solid-state fermentation and its potential application for triglycerides hydrolysis. *Food and bioprocess technology*, 5(5), pp.1592-1600. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0436-z>

Romero, C. M., Pera, L. M., Loto, F., Vallejos, C., Castro, G., & Baigori, M. D. (2012). Purification of an organic solvent-tolerant lipase from *Aspergillus niger* MYA 135 and its application in ester synthesis. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 1(1), pp.25-31. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2011.08.013>

Santos, E. A. L., Lima, A. S., Soares, C. M. F., & de Aquino Santana, L. C. L. (2017). Lipase from *Aspergillus niger* obtained from mangaba residue fermentation: biochemical characterization of free and immobilized enzymes on a sol-gel matrix. *Acta Scientiarum. Technology*, 39(1), pp.1-8. doi: <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v39i1.29887>

Santos, R. C. A., de Araújo, K. B., Zubiolo, C., Soares, C. M. F., Lima, A. S., & de Aquino Santana, L. C. L. (2014). Microbial lipase obtained from the fermentation of pumpkin seeds: immobilization potential of hydrophobic matrices. *Acta Scientiarum. Technology*, 36(2), pp.193-201. Doi: [10.4025/actascitechnol.v36i2.18275](https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v36i2.18275)

Sharma, A. K., Sharma, V., & Saxena, J. (2016). A review on applications of microbial lipases. *Int J Biotech Trends Technol*, 19(1), pp.1-5.

Shelatkar, T., Padalia, U., & Student, P. (2016). Lipase: an overview and its industrial applications. *Int J Eng Sci*, 6(10), pp.2629-2631.

Souza, L. T. A., Oliveira, J. S., dos Santos, V. L., Regis, W. C., Santoro, M. M., & Resende, R. R. (2014). Lipolytic potential of *Aspergillus japonicus* LAB01: production, partial purification, and characterisation of an extracellular lipase. *BioMed research international*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/108913>

Tacin, M. V., Massi, F. P., Fungaro, M. H. P., Teixeira, M. F. S., de Paula, A. V., & de Carvalho Santos-Ebinuma, V. (2019). Biotechnological valorization of oils from agro-industrial wastes to produce lipase using *Aspergillus sp.* from Amazon. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, pp.369-378. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.013>

Tober, M. (2011). PubMed, ScienceDirect, Scopus or Google Scholar–Which is the best search engine for an effective literature research in laser medicine? *Medical Laser Application*, 26(3), pp.139-144. <https://doi.org/10.1016/j.mla.2011.05.006>

Toscano, L., Montero, G., Cervantes, L., Stoytcheva, M., Gochev, V., & Beltrán, M. (2013). Production and partial characterization of extracellular lipase from *Trichoderma harzianum* by solid-state fermentation. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 27(3), pp.3776-3781. <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2012.0140>

Treichel, H., de Oliveira, D., Mazutti, M. A., Di Luccio, M., & Oliveira, J. V. (2010). A review on microbial lipases production. *Food and bioprocess technology*, 3(2), pp.182-196. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0202-2>

Ülker, S., Özel, A., Çolak, A., & Karaoğlu, Ş. A. (2011). Isolation, production, and characterization of an extracellular lipase from *Trichoderma harzianum* isolated from soil. *Turkish Journal of Biology*, 35(5), pp.543-550.

Wang, Y., Ma, R., Li, S., Gong, M., Yao, B., Bai, Y., & Gu, J. (2018). An alkaline and surfactant-tolerant lipase from *Trichoderma lentiforme* ACCC30425 with high application potential in the detergent industry. *AMB Express*, 8(1), p.95. doi:10.3906/biy-1004-107

Xia, J. L., Huang, B., Nie, Z. Y., & Wang, W. (2011). Production and characterization of alkaline extracellular lipase from newly isolated strain *Aspergillus awamori* HB-03. *Journal of Central South University of Technology*, 18(5), p.1425. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0618-z>

Zavarise, J. P., & Pinotti, L. M. (2019). Progress in the production of fungal lipases by submerged fermentation. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 6(12). <https://dx.doi.org/10.22161/ijaers.612.38>

Zhang, X. F., Ai, Y. H., Xu, Y., & Yu, X. W. (2019). High-level expression of *Aspergillus niger* lipase in *Pichia pastoris*: Characterization and gastric digestion in vitro. *Food chemistry*, 274, pp.305-313. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.020>

Zhou, J., Chen, W. W., Jia, Z. B., Huang, G. R., Hong, Y., Tao, J. J., & Luo, X. B. (2012). Purification and characterization of lipase produced by *Aspergillus oryzae* CJLU-31 isolated from waste cooking oily soil. *Am J Food Technol*, 7(10), pp.596-608.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Julio Pansiere Zavarise–50%

Laura Marina Pinotti–50%