

CARACTERIZACIÓN DE HONGOS PRODUCTORES DE ENZIMAS LIPASAS

CHARACTERIZATION OF FUNGI THAT PRODUCE LIPASE ENZYMES

Amaya Mejía, Orlis José; Díaz Morales, Arnold

Orlis José Amaya Mejía

Orlisjamaya@uniguajira.edu.co

Universidad de La Guajira, Colombia

Arnold Díaz Morales aediazm@uniguajira.edu.co

Universidad de La Guajira, Colombia

Ciencia e Ingeniería

Universidad de La Guajira, Colombia

ISSN-e: 2389-9484

Periodicidad: Semestral

vol. 9, núm. 1, e6708445, 2022

revistas@uniguajira.edu.co

Recepción: 30 Noviembre 2021

Aprobación: 20 Marzo 2022

URL: <http://portal.amelica.org/amei/journal/690/6903618004/>

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.6708445>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional.

Resumen: Los hongos son organismos abundantes y ampliamente distribuidos en la naturaleza, son responsables de ciclos naturales de recambio de nutrientes; su crecimiento y procesos metabólicos pueden ser usados para beneficio humano y ecológico en la síntesis de una variedad de moléculas con propiedades químico-biológicas interesantes. El presente artículo de revisión presenta un análisis sobre los principales hongos productores de enzimas lipasas, teniendo como objetivo principal caracterizar los microorganismos que tienen la capacidad de producir lipasas para usos biotecnológicos determinando así la actividad y productividad lipolítica de estas enzimas; por lo que se revisaron literaturas de diferentes autores donde afirman que el género *Aspergillus sp* es uno de los mejores productores de este tipo de enzima, siendo estos catalizadores biológicos muy útiles en procesos biotecnológicos, ocupando la gran mayoría del mercado mundial de enzimas.

Palabras clave: Hongos lipolíticos, biosíntesis, aislamiento, materia orgánica.

Abstract: Fungi are abundant and widely distributed organisms in nature, they are responsible for natural cycles of nutrient replacement; its growth and metabolic processes can be used for human and ecological benefit in the synthesis of a variety of molecules with interesting chemical-biological properties. This review article presents an analysis of the main fungi that produce lipase enzymes, with the main objective of characterizing the microorganisms that have the capacity to produce lipases for biotechnological uses, thus determining the lipolytic activity and productivity of these enzymes; Therefore, literature from different authors is reviewed, stating that the genus *Aspergillus sp* is one of the best producers of this type of enzyme, these biological catalysts being very useful in biotechnological processes, occupying the vast majority of the world market for enzymes.

Keywords: Lipolytic fungi, biosynthesis, isolation, organic matter.

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas presentan características ecológicas que constituyen el hábitat de diversos microorganismos, que para nutrirse secretan enzimas que degradan nutrientes presentes en el medio, entre ellas las lipasas.

Las enzimas lipasas fueron descritas siglos atrás, sin embargo, solo hasta décadas recientes varios investigadores han descubierto nuevas propiedades y aplicaciones de estas enzimas. Es notorio el impacto que han venido presentando las lipasas en la producción de fármacos más selectivos y efectivos, con efectos secundarios menores y en la obtención de pesticidas de menor toxicidad, todo ello mediante la síntesis de compuestos ópticamente puros y la resolución de mezclas racémicas (Fjerbaek *et al.*, 2009).

Las lipasas tienen la capacidad de hidrolizar triglicéridos a ácidos grasos y glicerol de cadenas largas de hasta 10 átomos de carbono. Muchas de estas enzimas intervienen también en la catálisis de reacciones de transesterificación e hidrólisis enantioselectivas, esto ha hecho que las lipasas se conviertan en candidatas ideales para diversas aplicaciones industriales, constituyendo la tercera categoría más importante de las enzimas, después de las carbohidrasas y proteasas (Kavitha, 2016).

Estas enzimas de carácter hidrolítico se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y están presentes en muchos procesos metabólicos degradativos de algunas plantas y animales; Aunque son producidas de forma natural por muchos organismos vivos a partir de los cuales se obtiene usualmente para fines comerciales; cobran gran importancia el uso de microorganismos para su síntesis por las ventajas que presentan: catalizan una gran variedad de reacciones, tienen altos rendimientos, relativa facilidad de manipulación genética, son estructuralmente estables en solventes orgánicos, son independientes de cofactores, catalizan reacciones utilizando una amplia variedad de sustratos y tienen una alta enantioselectividad (Tan *et al.*, 2015), un ejemplo típico lo son las lipasas producidas por los hongos *Aspergillus niger* y *A. fumigatus*. (Lukovi *et al.*, 2015)

Las lipasas bioquímicamente; son hidrolasas que actúan sobre sustratos emulsificados insolubles en agua (González *et al.*, 2010). Las lipasas catalizan una amplia variedad de reacciones, como la hidrólisis parcial o total de triacilglicéridos y reacciones de síntesis que se clasifican en dos grandes grupos: reacciones de esterificación, proceso en el cual se sintetiza un éster por la unión de un ácido graso y un alcohol y reacciones de transesterificación que comprende las reacciones de interesterificación, acidólisis, alcoholólisis y aminólisis. Además de poseer diferentes tipos de selectividad: quimioselectividad, regioselectividad y enantioselectividad. Estas poseen características únicas como la especificidad de sustrato, especificidad regional y selectividad quiral (Colla *et al.*, 2010; Hasan *et al.*, 2009; Damaso *et al.*, 2013).

Estas enzimas tienen la capacidad de catalizar si se encuentran en condiciones adecuadas, tanto reacciones de hidrólisis como de síntesis; se ha demostrado que las enzimas lipasas obtenidas de microorganismos tienen diversas aplicaciones potenciales lo que ha generado un impacto en investigadores que se encuentren en este campo. Estos microorganismos se encuentran en diversas formas de vida en el ambiente, presentando como característica principal la producción de

enzimas, no obstante, estos aún no han sido bien estudiados, por lo cual esta investigación se ve orientada en la búsqueda de microorganismos productores de lipasas (Burkert *et al.*, 2004).

En tendencias más recientes sobre microorganismos que secretan enzimas lipolíticas al medio en el que estén presentes, se encuentran diversos estudios de los cuales se ha reportado la actividad enzimática de diversas enzimas producidas por estos, se encuentran diversos tipos de microorganismos como los hongos filamentosos pertenecientes al género *Aspergillus* los cuales han sido reportados como mejores productores de lipasas (Yadav *et al.*, 1998). La producción de lipasas depende de factores ambientales, como temperatura o pH, así como de la composición del medio de fermentación: fuente de carbono mixta (compuesta por un carbohidrato y un lípido), nitrógeno y concentración de sales inorgánicas, pudiendo estos factores alterar la reactividad de la enzima. Además, otro aspecto general es que la síntesis de lipasas se ve favorecida en condiciones aerobias (Alarcón, 2008).

Esta revisión se centra en la búsqueda de hongos que tienen la capacidad de secretar lipasas en medios ricos en grasas, con miras a su uso como biocatalizadores industriales, así como las tendencias en el estudio de lipasas de origen fúngico. En primera instancia se realizará una descripción de las generalidades de los hongos, así como su importancia en diversas áreas industriales, luego se mencionarán los principales microorganismos conocidos y estudiados como buenos productores de enzimas lipasas con el fin de conocer sus principales características generales; y por último se estudiarán las tendencias y aprovechamiento de las lipasas de origen fúngico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo de este artículo, mediante el análisis documental, se realizó una revisión bibliográfica sobre el tema en las bases de datos Latindex, Researchgate, SciELO y Scopus, en las cuales se encontraron 40 documentos que tratan sobre los hongos que tienen la capacidad de producir enzimas lipasas para la degradación de ácidos grasos y las importancias biotecnológicas que tienen estas enzimas en la industria. En donde se utilizaron 35 referencias para el desarrollo del artículo, 19 de los últimos 10 años.

HONGOS EN LA NATURALEZA

Los hongos son un grupo muy diverso de organismos (se han descrito aproximadamente 120.000 especies aceptadas, pero se estima que pueden existir entre 2.2 a 3.8 millones de especies (Hawksworth, 2017) que presentan una amplia distribución en la naturaleza, contribuyendo a la descomposición de la materia orgánica y participando en los ciclos biológicos (Aguirre, 2014).

MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE ENZIMAS LIPASAS

El uso de microorganismos con la capacidad de sintetizar enzimas con propiedades únicas es de gran importancia para procesos más diversos en donde su aplicación es efectiva. Desde 1901 se ha estudiado la presencia de lipasas en los microorganismos *Bacillus prodigiosus*, *B. pyocyaneus* y *B. fluorescens*. Sin embargo, su habilidad como catalizadoras de la hidrólisis y sintetizadoras de ésteres ha sido descubierta desde hace unos 70 años aproximadamente. (Ma *et al.*, 2019).

Vyas & Chhabra (2017), aislaron una levadura oleoginosa identificada como *Cystobasidium oligophagum* (JRC1) de desperdicio celulósico; además de su actividad lipásica (2,88 UI/mg), la levadura demostró tener actividad endoglucanasa, exoglucanasa y β -glucosidasa. En otro estudio más reciente, Sahay & Chouhan (2018) reportaron dos lipasas con actividades a baja temperatura y con actividad metaloenzimática, provenientes de los hongos *Penicillium canesense* y *Pseudogymnoascus roseus*.

Los microorganismos con un alto potencial para producir lipasas se encuentran en diferentes hábitats, principalmente en desechos o residuos de aceites vegetales empleados en la elaboración de frituras, industrias de productos lácteos, suelos contaminados con aceites y alimentos deteriorados. Lo anterior indica que el mismo ambiente natural nos ofrece un amplio potencial para aislar nuevas fuentes de lipasas con propiedades novedosas. Las lipasas que se utilizan con fines de síntesis de productos o compuestos de interés en la actualidad, corresponden a aquellas que son más conocidas, provenientes de microorganismos de los géneros *Aspergillus sp*, *Candida sp*, *Penicillium sp*, *Rhizomucor*, *Rizophus*, *Thermomyces* y *Yarrowia* (Singh & Mukhopadhyay 2012; Gupta *et al.*, 2015) por su capacidad para producir lipasas extracelulares, que facilitan la recuperación de estas enzimas a partir del medio de cultivo (Ertugru *et al.*, 2007).

PRINCIPALES HONGOS PRODUCTORES DE LIPASAS

Existe un gran número de microorganismos productores de lipasa, pero solo unas pocas especies de hongos han sido evaluadas para su producción. Se han estudiado diferentes especies de los mohos como *Aspergillus sp* y *Penicillium sp* para la producción de lipasas extracelulares en medios de cultivo sólidos y líquidos utilizando como agente inductor aceite de oliva.

La primera lipasa obtenida de origen fúngico fue de la especie *Rhizomucor miehei* expresada en *Aspergillus oryzae*, su estructura estaba conformada por un polipéptido sencillo de 269 residuos de aminoácidos, con un sitio catalítico formado por Ser144, His257 y Asp203, y la presencia de tres puentes disulfuro (Brady *et al.*, 1990). Los hongos filamentosos que pertenecen al género *Aspergillus* se encuentran reportados como mejores productores de lipasas. Yadav *et al.*, (1998) hicieron un estudio de 40 cepas fúngicas para evaluar la producción extracelular de lipasas usando como sustrato aceite de oliva; reportando como mejores productoras las especies del género *Aspergillus*. *A. alliaceus*, *A. candidus*, *A. carneus*, *A. fischeri*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. parasiticus*, *A. sundarbanii*, *A. terreus* y *A. versicolor*; así mismo, las especies del género

Penicillium fueron: *P. aurantiogriseum*, *P. brevicompactum*, *P. camembert*, *P. chrysogenum*, *P. corymbiferum*, *P. crustosum*, *P. egyptiacum*, *P. expansum* y *P. spiculisporum*.

Coca y colaboradores (2001) reportaron como buenos productores de lipasas a *Aspergillus niger*, con una actividad de 0,26 U/ml (pH 6 y 40°C) y *A. fumigatus*, con actividad lipásica de 0,21 U/ml (pH 7 y 80°C). Se ha reportado, además, que la lipasa de *A. carneus* tiene una alta tolerancia y estabilidad de pH y temperatura, regioespecificidad 1, 3, estabilidad en medios acuosos y no acuosos, y habilidad de esterificación y transesterificación, con una actividad lipásica de 12,7 U/ml (Kaushik *et al.*, 2006). También se ha estudiado la producción enzimática del hongo *P. verrucosum* a temperaturas óptimas de 27,5°C y pH 7.0, usando como inductor salvado seco, presentando una alta actividad lipásica de 40 U/g (Kempka *et al.*, 2008).

Trujillo (2006) evaluó la actividad lipolítica de diversos hongos en diferentes sustratos, presentando el moho *Aspergillus* mayor actividad y productividad lipolítica con oleína de palma, para un mismo sustrato. También reportaron una nueva especie de moho con un alto potencial como productor de lipasa *Verticillium tingalences* (moho blanco). En estudios más recientes, Castro *et al.*, (2017) aislaron una cepa de *Aspergillus westerdijkiae* de aceite de cocina residual que fue usada para la producción de lipasas, la enzima obtenida tiene una actividad de 52 U/g de micelio, con una temperatura óptima de 40°C y pH óptimo entre 7 y 8.

La producción de lipasas depende de factores ambientales, como temperatura o pH, así como de la composición del medio de fermentación: fuente de carbono mixta (compuesta por un carbohidrato y un lípido), nitrógeno y concentración de sales inorgánicas, pudiendo estos factores alterar la reactividad de la enzima. Además, la síntesis de lipasas se ve favorecida en condiciones aerobias (Alarcón, 2008). Al igual la síntesis de lipasas es realizada en presencia de inductores lipídicos; estas moléculas están presentes en los residuos agroindustriales; el hongo *Y. lipolytica* fue usado para la producción de lipasas inducidas por desechos agroindustriales, tales como salvado de cebada, nuez triturada y aceite de girasol, (Domínguez *et al.*, 2003) y, recientemente Pereira *et al.*, (2019) usaron semilla y cáscara de mango como inductores lipídicos.

ENZIMAS LIPOLÍTICAS

Los procesos en donde intervienen enzimas se han venido utilizando desde civilizaciones más antiguas. Hasta la fecha se conocen alrededor de 4000 tipos de enzimas diferentes con especificidades únicas (Hanna *et al.*, 2019); las enzimas desempeñan funciones en variables condiciones dependiendo únicamente del organismo del que provienen y de su función primordial. En la mayoría de los casos el sustrato es de origen específico dando como resultado un único producto de cada enzima (Aravidan, 2017).

Las uso de enzimas de origen microbiano se han empleado desde el periodo neolítico en procesos de fermentación como: fabricación del queso, pan, cerveza, vino entre otros (Akoh *et al.*, 2014); aunque este tipo de producciones en donde intervienen enzimas data desde el siglo XIX, fecha en donde las enzimas

lipolíticas comenzaron a generar gran importancia en la industria farmacéutica, alimentaria, química y otras (Burt *et al.*, 2003).

Norsker y col. en 2015 realizaron estudios dando a conocer que las enzimas lipolíticas son un grupo de enzimas ampliamente distribuidas en la naturaleza, encontrándose tanto en animales y plantas como en microorganismos. A diferencia de su naturaleza, las enzimas presentan una actividad en común, estas catalizan la hidrólisis de enlaces ésteres que se encuentran formados por un ácido y un alcohol (Norsker *et al.*, 2015).

Las enzimas lipolíticas se dividen en dos grandes grupos: las lipasas (E.C. 3.1.1.3.) y las fosfolipasas (E.C. 3.1.x.x respectivamente) que son provenientes de diferentes fuentes de origen natural (Ortiz *et al.*, 2014). Las enzimas lipasas tienen la función de hidrolizar triglicéridos para generar diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos y glicerol. Estas se encuentran con mayor distribución en el reino animal, vegetal y en estudios recientes en los organismos unicelulares más simples (Meher *et al.*, 2016).

Sin embargo, el interés en el estudio de las lipasas se ha incrementado recientemente a causa de su capacidad de trabajar en disolventes orgánicos, realizando reacciones de síntesis entre alcoholes y ácidos y produciendo ésteres.

APLICACIONES BIOTECNOLÓGICA DE LAS LIPASAS MICROBIANAS

Hoy en día los procesos desarrollados en la industria que son catalizados por enzimas son mucho más numerosos, presentando una serie de ventajas frente a los catalizadores no biológicos convencionales. Las aplicaciones biotecnológicas con interés industrial de las lipasas están íntimamente ligadas a los distintos tipos de reacciones que son capaces de llevar a cabo, así# pues, se tienen dos amplias posibilidades: reacciones de hidrólisis y de síntesis (Sánchez, 1998; García, 2005; Sharma *et al.*, 2011).

Entre las aplicaciones están el tratamiento de aguas residuales (acelerando la degradación de los desechos grasos), el procesamiento de grasas y aceites, aditivos para detergentes y formulaciones desengrasantes, procesamiento de alimentos (desarrollo de aromas característicos de productos lácteos, chocolate y repostería), síntesis de productos químicos y farmacéuticos finos (enantiopuros), fabricación de papel, agro-químicos y producción de cosméticos y biodiesel (obtención de ésteres de cadena corta y media) (Sharma *et al.*, 2001; Jaeger & Eggert, 2002; Hasan *et al.*, 2006; Singh y Mukhopadhyay, 2012; Thakur, 2012).

CONCLUSION

Las revisiones bibliográficas consultadas permitieron el abordaje del conocimiento que se tiene hasta el momento sobre los principales hongos con la capacidad de producir enzimas lipasas extracelulares, y posteriormente el aprovechamiento de esta enzima en el área industrial.

Los hongos del género *Aspergillus sp* se encuentran clasificados como mejores productores de lipasas extracelulares, logrando una alta capacidad biodegradativa bajo condiciones controladas en el estudio; así mismo, las diferencias de actividad

lipolítica, están relacionadas a la capacidad de producción de lipasas y a la especificidad de utilización de ácidos grasos libres por cada género fúngico.

LITERATURA CITADA

- Aguirre-Acosta, E, Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J., Valenzuela, R. (2014). Biodiversidad de hongos en México, Revista Mexicana de Biodiversidad, vol. 85, pp. 76–81.
- Akoh, C., Lee, C., Liaw, C., Huang, H., Shaw, F. (2014). GDSL family of serine esterase/lipase. Rev. Program Lipids. 43(13), 534-52.
- Alarcón, M. R. (2008). Producción de la Lipasa LIP2 de *Candida rugosa* en el Sistema *Pichia pastoris*: Caracterización y Aplicación en Reacciones de Síntesis. Tesis. Universidad Autónoma de Barcelona, España, pp. 201.
- Aravindan, R. (2017). Lipase applications in food industry. Indian Journal of Biotechnology. 6(4), 141-58.
- Brady, L., Brzozowski, A. M., Derewenda, Z. S., Dodson, E., Dodson, G., Tolley, S., Turkenburg, J. P., Christiansen, L., Huge-Jensen, B., Norskov, L., Thim, L., Menge, U. (1990). A serine protease triad forms the catalytic centre of a triacylglycerol lipase. Nature. Vol. 343, pp. 767-770.
- Burkert, F. M., Maugeri, F., Rodrigues, M. (2004). Optimization of extracellular space lipase production by *Geotrichum* sp. using factorial design. Bioresour. Technol, vol. 91, pp. 77-84.
- Burt, S. A., Reinders, R. D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. Rev. Lett Applied Microbiology. 36(39), 157-62.
- Castro, F. F., Ponchio, A. B., Nassur, C. B., Parra, I. (2017). Mycelium-bound lipase from a locally isolated strain of *Aspergillus westerdijkiae*. Biocatal. Agric. Biotechnol, Vol. 10, pp. 321-328.
- Coca, J., Hernández, O., Berrio, R., Martínez, S., Díaz, E., Dustet, J.C. (2001). Producción y caracterización de *Aspergillus niger* y *A. fumigatus*. Biotecnol. Aplic, vol. 18, pp. 216-220.
- Colla, L.M., Rizzardi, J., Pinto, M.H., Reinehr, C.O., Bertolin, T.E., Vieira, J.A. (2010). Simultaneous production of lipases and biosurfactants by submerged and solid-state bioprocesses. Bioresour. Technol, vol. 10, pp. 8308-8314.
- Crespo-Erchiga, V. (2008). Generalidades sobre los hongos. Dermatomicosis: saprofitias y dermatofitosis. Piel, vol. 23 (7), pp. 389–396.
- Damaso, M.C., Salum, F.C., Terzi, S.D., Couri, S. (2013). Assay Methods for Lipase Activity. Methods to Determine Enzymatic Activity, (Bentham.). Rio de Janeiro.
- Domínguez, A., Costas, M., Longo, M.A., Sanromán, A. (2003). A novel application of solid state culture: Production of lipases by *Yarrowia lipolytica*. Biotechnol. Lett, vol. 25, pp. 1225-1229.
- Ertugrul, S., Donmez, G., Takac, S. (2007). Isolation of lipase producing *Bacillus* sp. From olive mill wastewater and improving its enzyme activity. J Hazard Mater. Nov 19; 149 (3): 720 – 724
- Fjerbaek, L., Christensen, K.V., Norddahl, B. (2009). A review of the current state of biodiesel production using enzyme transesterification. J Bio and Bioeng.
- García-Román, M. (2005). Hidrólisis enzimática de triglicéridos en emulsiones o/w. Aplicación a formulaciones detergentes. Universidad de Granada. España.

- González, J., Hernández, J., Rodríguez-Martínez, A.D. (2010). Las lipasas: enzimas con potencial para el desarrollo de biocatalizadores inmovilizados por adsorción interfacial. *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 12, pp. 124-140.
- Gupta, R., Kumari, A., Syal, P., Singh, Y. (2015). Molecular and functional diversity of yeast and fungal lipases: their role in biotechnology and cellular physiology. *Prog. Lipid Res*, vol. 57, pp. 40-54.
- Hasan, F., Shah, A.A., Hameed, A. (2006). Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 39(2), pp. 235-251.
- Hasan, F., Shah, A.A., Hameed, A. (2009). Methods for detection and characterization of lipases: A comprehensive review. *Biotechnol. Adv*, vol. 27, pp. 782-798.
- Hawksworth, D.L. (2017). The magnitude of fungal diversity: the 2.2 a 3.8 million species estimate revisited. *Mycol. Res*, vol. 105, pp. 1422-1432.
- Jaeger, K.E., Eggert, T. (2002). Lipases for biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*.
- Kaushik, R., Saran, S., Isar, J., Saxena, R.K. (2006). Statistical optimization of medium components and growth conditions by response surface methodology to enhance lipase production by *Aspergillus carneus*. *J. Mol. Catal. B Enzym*, vol. 40, pp. 121-126.
- Kavitha, M. (2016). Cold active lipases an update. *Frontiers in Life Science*, vol. 9(3), pp. 226- 238.
- Kempka, A.P., Lipke, N.L., Da-Luz P.T., Menoncin, S., Treichel, H., Freire, M.G., Di-Luccio, M., De Oliveira, D. (2008). Response surface method to optimize the production and characterization of lipase from *Penicillium verrucosum* in solid-state fermentation, *Bioproc. Biosyst. Eng*, vol. 31, pp. 119-125.
- Lukovi, N., Knežević, Z., Bezbradica, D. (2015). Biodiesel Fuel Production by Enzymatic Transesterification of Oils: Recent Trends, Challenges and Future, Perspectives and Alternative. *Fuel*. 36 (4), 10-23.
- Ma, F., Hanna, M. A. (2019). Biodiesel production: a review 1. *J Bio Tech*. 70(15), 15-40.
- Norsker, N. H., Barbosa, M. H., Vermuë-Wijffels, R. H. (2015). Microalgal production a close looks at the economics. *Rev. Biotechnology Advances*. 29(1), 24-7.
- Ortiz, P.S., Camacho, R.M., Mateos, J.C., Torres, A.A., Rodríguez, J.A. (2014). Búsqueda de enzimas lipolíticas de interés biotecnológico en actinomicetos del desierto de sonora, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.
- Pereira, A. da, S., Fontes-Sant'Ana, G.C., Amaral, F.F. (2019). Mango agro-industrial wastes for lipase production from *Yarrowia lipolytica* and the potential of the fermented solid as a biocatalyst. *Food Bioprod. Proc*, vol. 115, pp. 68-77.
- Rodríguez-Sauceda, E. N. (2016). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Rev Soc Cult y Des Sust. Ra Ximhai*. 7(1), 153-70.
- Sahay, S., Chouhan, D. (2018). Study on the potential of cold-active lipases from psychrotrophic fungi for detergent formulation. *J. Genet. Eng. Biotechnol*, vol. 16, pp. 319-325.
- Sánchez-Ferrer, A. (1998). Recuperación, purificación y caracterización de lipasas producidas por *Candida rugosa*, aplicación a la resolución de compuestos quirales y diseño del reactor enzimático, Universidad Autónoma de Barcelona.
- Sharma, D., Sharma, B., Shukla, A.K. (2011). Biotechnological approach of microbial lipase: A review. *Biotechnology*.

- Sharma, R.C., Yusuf, C.U., Banerjee, U.C. (2001) Production, Purification, Characterization, and Applications of Lipases. *Biotechnology advances*.
- Singh, A.K., Mukhopadhyay, M. (2012). Overview of fungal lipase: A review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*.
- Tan, C.H., Show, P.L., Ooi, C.W., Ng, E.P., Lan, C.W., Ling, T.C. (2015). Novel lipase purification methods-a review of the latest developments. *Biotechnol. J*, vol. 10, pp. 3144.
- Thakur, S. (2012). Lipases, Its sources, Properties and Applications: A Review. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, vol. 3, pp. 1-29.
- Trujillo, R. (2006). Aislamiento de hongos productores de lipasas, empleando aceite crudo de palma y determinacion de la productividad lipolítica. Tingo María, Perú.
- Vyas, S., Chhabra, M. (2016). Isolation, identification and characterization of *Cystobasidium oligophagum* JRC1: A cellulase and lipase producing oleaginous yeast. *Bioresour. Technol*, vol. 223, pp. 250-258.
- Yadav, R.P., Saxena, R.K., Gupta, R., Davidson, S. (1998). Lipase production by *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Folia Microbiol*, vol. 43, pp. 373-378.