
HONGOS Y LEVADURAS: FÁBRICAS DE LIPASAS

RICARDO MARTÍNEZ-CORONA, CARLOS CORTES-PENAGOS,
LUIS ALBERTO MADRIGAL-PÉREZ Y JUAN CARLOS
GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ

RESUMEN

Las lipasas son enzimas capaces de catalizar reacciones de hidrólisis de triglicéridos; son usadas en numerosos procesos dentro de la industria alimenticia, energética, farmacéutica, etc. Ante la necesidad de cumplir con la demanda comercial e industrial actual de este tipo de enzimas en diversos procesos, se han desarrollado diferentes estrategias de estudio de las mismas y sus aplicaciones. Debido a que la mayoría de las especies bacterianas usadas para la producción de lipasas son patógenas, se han realizado esfuerzos para encontrar

sistemas alternativos que sean seguros para los diversos procesos en los que se ven envueltas este tipo de enzimas. Así, las lipasas provenientes de hongos y levaduras han adquirido un alto foco de atención. En este trabajo se pretende mencionar las características generales y de producción de lipasas de diversos microorganismos fúngicos que han sido estudiados últimamente, a fin de determinar dichas alternativas para los procesos biotecnológicos industriales que demandan este tipo de enzimas.

Introducción

Las lipasas son hidrolasas de serina definidas como triacilglicerol acilhidrolasas (E.C. 3.1.1.3), capaces de hidrolizar ésteres carboxílicos de acilglicerol de cadena larga, con cadenas mayores a 10 átomos de carbono, lo que las distingue de las estereasas (Casas-Godoy *et al.*, 2012). La variedad de reacciones que catalizan las ha hecho candidatas ideales para diversas aplicaciones industriales. Después de las proteasas y las amilasas, las lipasas son

consideradas como el tercer grupo en volumen de ventas, con un valor de billones de dólares anuales (Kempka *et al.*, 2008). A pesar de que las lipasas son producidas por la mayoría de los organismos vivos, cobra relevancia el uso de microorganismos para su síntesis por las ventajas que presentan sus enzimas: 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). En esta revisión se mencionarán los avances que se han tenido en los últimos años, así como las tendencias en el estudio de las lipasas fúngicas, las que se posicionan por encima del uso de lipasas bacterianas por ser reconocidas como seguras. En primera instancia se describirán las características generales de las lipasas y se mencionará la importancia de las mismas en diversas áreas industriales. Posteriormente, se mencionarán las lipasas conocidas y estudiadas de origen fúngico, a fin de conocer sus propiedades y características generales. Finalmente, se discutirán las últimas

PALABRAS CLAVE / Hongos / Levaduras / Lipasas /

Recibido: 01/03/2019. Modificado: 12/07/2019. Aceptado:15/07/2019.

Ricardo Martínez-Corona. Estudiante de doctorado en Ciencias Biológicas en Biotecnología de Alimentos, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (Umich), México. Profesor, Instituto Tecnológico de Morelia, México.

Carlos Cortés-Penagos. Doctor en Ciencias en Biología Celular, CINVESTAV-IPN, México. Profesor Investigador, Umich, México.

Luis Alberto Madrigal-Pérez. Doctor en Ciencias de los Alimentos, Universidad Autónoma de Querétaro, México. Profesor Investigador, Instituto Tecnológico Superior Ciudad Hidalgo, México.

Juan Carlos González-Hernández (Autor de correspondencia). Doctor en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Profesor Investigador, Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Morelia, México. Dirección: Ingeniería Bioquímica, Tecnológico Nacional de México / I.T. Morelia. Av. Tecnológico 1500, Col. Lomas de Santiaguito, Morelia, Michoacán. C.P. 58120. México. e-mail: jcgonzal@itmorelia.edu.mx

tendencias del estudio y aprovechamiento de las lipasas de origen fúngico.

Lipasas: Panorama General

La característica diferencial de las lipasas con respecto a otras enzimas que también pueden hidrolizar ésteres, como las esterasas, es la necesidad de una interfase orgánico-acuosa para dicha función catalítica (Hasan *et al.*, 2009). 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 y reacciones de transesterificación. Las lipasas tienen diferentes tipos de selectividad: a) quimioselectividad, b) regioselectividad y c) enantioselectividad (Colla *et al.*, 2010).

Las lipasas tienen un plegamiento α/β característico de las enzimas hidrolíticas (Jaeger *et al.*, 1999). La triada catalítica se encuentra altamente conservada, conformada por tres aminoácidos: serina, aspartato o glutamato e histidina (Brady *et al.*, 1990). La serina forma parte del motivo consenso GX_1SX_2G . Otra característica importante en la estructura de la lipasa es la presencia de una brecha oxianiónica, encargada de estabilizar el intermediario de la reacción mediante puentes de hidrógeno (Pleiss *et al.*, 2000). Actualmente la base de datos LED (*Lipase Engineering Database*; <http://www.led.uni-stuttgart.de>; Fischer y Pleiss, 2003) clasifica a las lipasas en base a la conformación de su oxianión en tres grandes grupos: GGGX, GX y Y; además, se agrupan en 15 superfamilias y 32 familias homólogas.

Importancia de las lipasas

Las lipasas realizan diferentes funciones fisiológicas. En eucariotas, son componentes clave del metabolismo de lípidos y lipoproteínas, por lo que son producidas en el sistema digestivo (Reis *et al.*, 2009). Los campos de aplicación de las lipasas han sido en la industria oleoquímica, manufactura de detergentes y en la industria alimenticia, principalmente. Son usadas como aditivos alimentarios en la modificación del sabor, síntesis de ésteres con actividad antioxidante, hidrólisis de grasas para la fabricación de detergentes, tratamiento de aguas residuales para la degradación y remoción de sustratos grasos, eliminación de lípidos y aceites en la industria cosmética y farmacéutica (Burkert *et al.*, 2004). Su propiedad de enantioselectividad ha permitido aumentar su demanda para métodos eficientes para la síntesis industrial de

enantiómeros puros de antiinflamatorios como el ibuprofeno (Sharma *et al.*, 2001). Siendo usados como biosensores, permiten la liberación de glicerol que puede ser medido para diagnosticar algunos padecimientos de pacientes con problemas cardiovasculares y para determinar los niveles de triglicéridos a partir de la hidrólisis de los mismos (Verma *et al.*, 2012). Las lipasas han sido utilizadas como primer paso en la descomposición de lípidos de desperdicios de comida, para la producción de biometano (Meng *et al.*, 2015). Además, se ha propuesto su uso como biocatalizadores en la producción de biodiesel, cuya síntesis catalítica actual por transesterificación genera altos niveles de agua alcalinizada (Aguieiras *et al.*, 2015).

Lipasas de origen fúngico

Los microorganismos con una alta capacidad para producir lipasas pueden ser encontrados 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. 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).

Lipasas de levaduras

Lipasas de Candida rugosa: *C. rugosa* es una levadura no esporogénica, unicelular y no patógena, reconocida como GRAS. Se han detectado más de siete genes que codifican para lipasas en *C. rugosa*, denominadas LIP1 a LIP7 (Ferrer *et al.*, 2009). Cada gen de las lipasas de esta levadura codifica para una cadena de aminoácidos de 534 residuos, con masas moleculares de ~60kDa. LIP2 tiene una identidad de secuencia con LIP1 del 79,4%, y de 82,2% con LIP3. Las estructuras de las lipasas LIP1 y LIP3 son muy similares entre sí, con el sitio activo en las posiciones Ser209, His449 y Glu341 (Ferrer *et al.*, 2001). En el caso específico de la enzima LIP2 purificada, el sitio activo está conformado por la triada Ser209, Glu341 e His449 (Mancheño *et al.*, 2003). Las proteínas tienen hasta tres puntos de glicosilación, temperatura óptima entre 30 y 40°C y, pH óptimo cercano a la neutralidad (Brocca *et al.*, 1998; Akoh *et al.*, 2004).

Lipasas de Candida antarctica. *C. antarctica* sintetiza dos lipasas, denominadas CALA y CALB, de masas moleculares 45 y 33kDa, respectivamente. CALA tiene una triada catalítica compuesta por Ser184, Asp334 e His366 (Ericsson *et al.*, 2008); esta lipasa es capaz de catalizar la hidrólisis en la posición sn2 (Solymer *et al.*, 2002; Ericsson *et al.*, 2008). CALB, por su parte, tiene una triada catalítica de Ser105, Asp187 e His224, en conformación abierta con entrada restringida al sitio activo (Uppenberg *et al.*, 1994).

Lipasas de Yarrowia lipolytica. *Y. lipolytica* es una levadura no-convencional ascomiceta que posee 16 genes parálogos codificantes para lipasas, pero solo tres isoenzimas han sido caracterizadas: Lip2p, Lip7p y Lip8p. La expresión de los genes que codifican para lipasas en *Y. lipolytica* depende del ácido graso usado como fuente de carbono (Fickers *et al.*, 2011). La lipasa Lip2p es una proteína madura de 301 aminoácidos, ligada a la pared celular que contiene dos puntos diferentes glucosilados de manosa (Jolivet *et al.*, 2007); su sitio catalítico se caracteriza por una serina en la posición Ser162 de la secuencia GHSLG, y completan la triada catalítica los residuos Asp230 e His289. El pH óptimo de Lip2p se encuentra entre 6 y 7,5, mientras su temperatura óptima está entre 37 y 40°C. Las lipasas Lip7p y Lip8p se encuentran principalmente asociadas a pared celular y tienen un motivo del tipo GHSLG, con la serina catalítica en la posición Ser220 (Fickers *et al.*, 2011).

Lipasas de hongos filamentosos

La primera estructura obtenida de una lipasa fúngica fue la de *Rhizomucor miehei* (antes *Mucor miehei*), expresada en *Aspergillus oryzae*, un polipéptido sencillo de 269 residuos de aminoácidos, con un sitio catalítico conformado por Ser144, His257 y Asp203, y la presencia de tres puentes disulfuro (Brady *et al.*, 1990). A continuación se mencionan algunas características importantes de las lipasas y los organismos implicados en su síntesis de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*.

Lipasas de Aspergillus y Penicillium. Los hongos filamentosos pertenecientes al género *Aspergillus* han sido reportados como los mejores productores de lipasas. Yadav *et al.* (1998) hicieron un screening de 40 cepas fúngicas para la producción extracelular de lipasas usando como sustrato aceite de oliva. Las 11 mejores productoras del género *Aspergillus* fueron *A. alliaceus*, *A. candidus*, *A. cameus*, *A. fischeri*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A.*

parasiticus, *A. sundarbanii*, *A. terreus* y *A. versicolor*; por otro lado, las 9 mejores de *Penicillium* fueron *P. aurantiogriseum*, *P. brevicompactum*, *P. camembert*, *P. chrysogenum*, *P. corymbiferum*, *P. crustosum*, *P. egyptiacum*, *P. expansum* y *P. spiculisporum*. Coca *et al.* (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). Una alta actividad lipásica (40 U/g) se ha reportado por el hongo *P. verrucosum*, cuya enzima tiene temperatura óptima fue de 27,5°C y pH 7, cuando se usó salvado seco como inductor (Kempka *et al.*, 2008).

Discusión: Tendencias Actuales

El continuo desarrollo de nuevos productos y las nacientes necesidades han provocado un amplio estudio de las lipasas provenientes de diferentes organismos. Se pueden mencionar varios ejes en los que se ha enfocado el estudio de las lipasas últimamente: 1) el aprovechamiento de diversos residuos agroindustriales para la inducción de la síntesis de lipasas por hongos y levaduras; 2) la búsqueda de nuevos organismos que sintetizen este tipo de enzimas; 3) la modificación y optimización de los genes implicados en la síntesis de lipasas, así como su expresión heteróloga en organismos competentes, que pueda traer una mayor producción que el organismo natural y que, además, la enzima presente características específicas y mejoradas; y 4) implicación de las lipasas ya conocidas en la obtención de compuestos específicos a través de reacciones de transesterificación e interesterificación.

Sustratos inductores para la síntesis de lipasas

Las lipasas son sintetizadas en presencia de inductores lipídicos; estas moléculas están presentes en los residuos agroindustriales, cuyos efectos contaminantes se prevé reducir (Treichel *et al.*, 2010). El agente inductor usado en la síntesis de lipasas ha sido por excelencia el aceite de oliva. La máxima actividad lipásica detectada usando este agente inductor se ha alcanzado usando *A. niger* y *A. fumigatus* (Coca *et al.*, 1999). El hongo *Y. lipolytica* ha sido 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, semilla y cáscara de mango (Pereira *et al.*, 2019). Kempka *et al.* (2008) reportaron como mejor sustrato a la harina de soya entre diversos sustratos, incluyendo melaza de caña de azúcar, levadura hidrolizada, licor de maíz fermentado, extracto de levadura, aceite de soya, aceite de ricino, aceite de maíz, aceite de oliva y peptona. Otros sustratos reportados para la producción de lipasas son bagazo de caña de azúcar, salvado de trigo y salvado de arroz, además de aceites residuales de mostaza, maní y coco, aguas residuales, licor de maíz, banana, melón, sandía, cáscara de lenteja, aceite de sésamo, peptona, tributirina, ácido cítrico, glucosa, etc. (Treichel *et al.*, 2010; Bhosale *et al.*, 2012). Ilmi *et al.* (2017) propusieron el uso del aceite obtenido por presión mecánica de la planta tropical *Jatropha curcas* L, logrando la inducción de lipasas en *A. niger* 6516 y *R. miehei* CBS 260,62. Oliveira *et al.* (2017), por su parte, utilizaron varios residuos agroindustriales: torta de aceite de andiroba, de cupuasu, aceite de canola, de macauba y de semilla de palma, harina de soja, torta de aceite de café verde y de sésamo. El aceite de palma también se ha utilizado para optimizar la producción de la lipasa halófila de *F. solani* NFFCCL 4084, alcanzando un incremento de 3,2 veces su actividad, siendo de 7,8 U/ml (Geoffry y Achur, 2018). Xiaoyan *et al.* (2017) propusieron el uso de aceite de cocina residual para evaluar la coproducción de eritrol y lipasas utilizando a *Y. lipolytica* M53, obteniendo la mayor actividad lipásica de 12,7 U/ml.

Además de la búsqueda del aprovechamiento de residuos agroindustriales para la producción sustentable de lipasas, otros estudios se han centrado en reconocer otros hongos y levaduras productores de lipasas. Para ser usada en la producción de biodiesel, se aisló una levadura de lodos provenientes de petróleo, *Cryptococcus diffluens* D44, cuya lipasa es alcalina y termoestable, con pH y temperatura óptimos de 9 y 45°C, respectivamente (Yilmaz y Sayar, 2015). Alhelli *et al.*, (2016) obtuvieron una lipasa alcalina extracelular de *Penicillium candidum* (PCA 1/TT031) en medio sólido. Una cepa de *Aspergillus westerdijkiae*, aislada de aceite de cocina residual, ha sido 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 (Castro *et al.*, 2017). La lipasa del hongo termófilo *Malbranchea cinnamomea* ha sido expresada en *P. pastoris* con el fin

de determinar sus propiedades; la actividad lipásica obtenida fue de 4304 U/ml, a pH de 7,5 y temperatura de 40°C (Duan *et al.*, 2019). La síntesis de lipasas a partir de *Penicillium* spp. sección *Gracilenta* CBMAI 1583 fue inducida con aceite de olvida, y estas mostraron una actividad de 1,62 U/ml, a un pH de 4 y 70°C, siendo estable en presencia de cationes metálicos y de solventes orgánicos como el hexano, trimetilpentano, acetona, entre otros (Turati *et al.*, 2019).

Ha adquirido relevancia el uso de microorganismos que son capaces de sintetizar enzimas con propiedades únicas, ya que les puede conferir su uso en procesos más diversos. En este sentido, Vyas y Chhabra (2016) aislaron una levadura oleoginosa identificada como *Cystobasidium oligophagum* (JRC1) de desperdicio celulósico; además de su actividad lipásica (2,88 U/mg), la levadura demostró tener actividad endoglucanasa, exoglucanasa y β -glucosidasa. En otro estudio, Sahay y Chouhan (2018) reportaron dos lipasas con actividades a baja temperatura y con actividad metaloenzimática, provenientes de los hongos *Penicillium canesense* y *Pseudogymnoascus roseus*.

Expresión heteróloga de lipasas.

La expresión heteróloga ha sido una herramienta muy utilizada que ha permitido vencer algunos de los obstáculos que representa la síntesis natural de las lipasas, como lo son la no reproducibilidad, los bajos rendimientos de producción y la dificultad de purificación de las mismas (Borrelli y Trono, 2015). *Pichia pastoris* ha sido el sistema más usado para la expresión heteróloga de diversas proteínas comercialmente relevantes de organismos eucariotes. La principal característica de esta levadura es que puede utilizar el metanol como única fuente de carbono y energía, basado en la regulación de la enzima alcohol oxidasa (AOX), bajo acción del promotor P_{AOX1} (Alarcón, 2008). Las lipasas LIP1 (Brocca *et al.*, 1998), LIP2 (Ferrer *et al.*, 2009) y LIP3 (Chang *et al.*, 2006) de *C. rugosa*, y las lipasas de *C. antarctica* (Kwon *et al.*, 2011), han sido expresadas bajo regulación de este promotor. Por otro lado, la lipasa de *F. solani* ha sido expresada en *P. pastoris*, manifestando una alta actividad de 100 U/mL (Jalouli *et al.*, 2016). A su vez, una lipasa termoalcalina proveniente de *Talaromyces thermophilus* fue expresada en el mismo sistema heterólogo, detectándose una enzima de 39kDa, con un pico de máxima actividad de pH 9,5 y temperatura de 60°C (Zhang *et al.*, 2015). En ocasiones se ha hecho uso de organismos reconocidos como productores

de lipasas para expresar enzimas de este tipo. Tal es el caso de la lipasa de *Rhizopus oryzae* (ROL), que fue expresada en *Y. lipolytica* bajo acción del promotor inducible P_{XPR2}; la enzima recombinante tuvo una actividad de 7,6 U/ml y pH óptimo de 7,5 pero la característica sobresaliente fue su alta termoestabilidad a 55°C (Yuzbashev *et al.*, 2012). Recientemente, la lipasa Lip8p de *Y. lipolytica* fue clonada y expresada en células de insecto Sf9, mediante un sistema de expresión de baculovirus; la enzima mostró una actividad específica de 1102,9 U/mg en ácido oleico, a pH 7,5 y 17°C (Li *et al.*, 2019b). El mismo sistema ha sido utilizado para la expresión de la lipasa regioselectiva sn-1(3) de *Cordyceps militaris* (Park *et al.*, 2018).

Otras estrategias sobresalientes se han seguido para aprovechar al máximo las características y propiedades de las lipasas. Ejemplo de ello ha sido el expresar heterológicamente la lipasa ligada a la superficie celular del sistema de expresión, importante en el desarrollo de biosensores, vacunas y anticuerpos; por ejemplo, Yamada *et al.* (2016) expresaron la lipasa BTL2 de *Geobacillus thermocatenulatus* en la superficie de la levadura *P. pastoris*. Algunos otros estudios se han enfocado en la modificación molecular de la estructura de las lipasas para mejorar sus propiedades. En el estudio realizado por Skjold-Jørgensen *et al.* (2016) se obtuvo una lipasa mutante de *Thermomyces lanuginosus* con la capacidad de controlar la cubierta sobre el sitio activo. Zheng *et al.* (2016) modificaron la lipasa proveniente de la misma especie de hongo por mutación de sitio, obteniendo dos mutantes con alta capacidad de la resolución del ácido 2-carboxietil-3-ciano-5-metilhexanoico etil éster. Zhou *et al.* (2017) introdujeron la presencia de un tag de poliamina a la lipasa B de *C. antarctica* (CALB), con el fin de facilitar su expresión en *E. coli* y dirigirlo en un solo paso para su inmovilización. La lipasa ácida de *A. niger* fue expresada heterológicamente en *P. pastoris* con la fusión de tres modificadores, ayudando a alcanzar una actividad de 40 U/ml a un pH óptimo de 2.5 (Zhang *et al.*, 2019). Por otro lado, se han creado mutantes de la lipasa Lip2 de *Y. lipolytica* con una mayor cantidad de puentes disulfuro (específicamente 4, 5 y 6), lo que ha permitido mejorar la termoestabilidad de la enzima (Li *et al.* 2019a).

Uso de lipasas fúngicas para la producción de compuestos de interés comercial

Una de las características más relevante de las lipasas es la de su

capacidad para catalizar reacciones de interesterificación y transesterificación, principalmente en presencia de solventes orgánicos y baja actividad de agua. Esta propiedad ha sido explotada a nivel industrial para la producción de diversos compuestos en diferentes áreas. En estudios recientes se ha propuesto el uso de las lipasas para la síntesis de otros compuestos que pueden resultar ser interesantes a nivel industrial. Un recuento de los avances de ejemplos representativos en el último par de años, se muestra en la Tabla I. Son varias las conclusiones que se pueden obtener a partir de dicha información: 1) 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*, *Candida*, *Penicillium*, *Rhizomucor*, *Rizophus*, *Thermomyces* y *Yarrowia*. Sería interesante ver en próximos años el uso de lipasas aisladas recientemente o provenientes de otros hongos y levaduras que puedan tener la capacidad de catalizar la obtención de otro tipo de compuestos, siendo pocos autores los que lo proponen de esta manera. 2) Muchos de los compuestos reportados últimamente, obtenidos a partir de reacciones que implican el uso de las lipasas fúngicas, corresponden a ésteres de cadena corta que son usados normalmente en la industria alimenticia, ya que proporcionan ciertos aromas y/o sabores. Asimismo, se ha hecho una búsqueda de lipasas que son específicas y capaces de actuar sobre ácidos grasos poliinsaturados del tipo DHA y EPA, vitales para la obtención de productos más nutritivos, debido a los grandes beneficios que estos conllevan en la dieta diaria. En otros casos, se ha hecho uso de la facultad de algunas lipasas para la resolución de mezclas racémicas, de vital importancia en la industria farmacéutica. Además, el uso de las lipasas para la obtención de biodiesel ha continuado a través de la optimización de los procesos y reacciones implicadas, a fin de mejorar rendimientos. 3) La mayoría de los estudios realizados últimamente respecto a las lipasas utilizan algún sistema de inmovilización de las mismas. Los sistemas utilizados y los métodos de inmovilización reportados son muy variados, pero en la mayoría de los casos se logra mejorar los rendimientos de conversión y la eficiencia de las enzimas. Mayor información de los avances de la inmovilización de lipasas se puede revisar en Pereira *et al.* (2017).

Conclusiones

Las interesantes características y variadas propiedades que

presentan las lipasas de origen fúngico les han conferido una amplia importancia industrial y comercial, siendo uno de los grupos de enzimas más utilizados actualmente. Las lipasas no solo son herramientas biotecnológicas prometedoras, sino también son ya una realidad. Este hecho se manifiesta en la gran cantidad de estudios reportados en los diferentes ámbitos mencionados en este escrito. Nuevas alternativas de uso de las lipasas irán surgiendo poco a poco y probablemente desplazarán a las usadas comercialmente en la actualidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen los donativos parciales de la Convocatoria de Apoyo a Proyectos de Investigación Científica, Aplicada, Desarrollo Tecnológico e Innovación 2016, 2017, 2018 del Tecnológico Nacional de México, proyectos Nos. 5781.16-P, 6131.17-P y 6525.18-P; los donativos parciales al Laboratorio Nacional SEDEAM del Instituto Tecnológico de Morelia por el apoyo académico de los investigadores y estudiantes en tesis aplicadas a la empresa; así como la participación del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) a través del soporte financiero otorgado por la Beca 253782.

REFERENCIAS

- Abed SM, Zou X, Ali AH, Jin Q (2017) Synthesis of 1,3-dioleoyl-2-arachidonoyl-glycerol-rich structured lipids by lipase-catalyzed acidolysis of microbial oil from *Mortierella alpina*. *Bioresour. Technol.* 243: 448-453.
- Aguieiras ECG, Cavalcanti-Oliveira ED, Freire DMG (2015) Current status and new developments of biodiesel production using fungal lipases. *Fuel* 159: 52-67.
- Aguieiras ECG, Papadaki A, Mallouchos A, Mandala I, Sousa H, Freire DMG, Koutinas AA (2019) Enzymatic synthesis of bio-based wax esters from palm and soybean fatty acids using crude lipases produced on agricultural residues. *Indust. Crops Prod.* 119: 11419.
- Akoh CC, Lee GC, Shaw JF (2004) Protein engineering and applications of *Candida rugosa* lipase isoforms. *Lipids* 39: 513-526.
- Alarcón VMR (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. 201 pp.
- Alhelli AM, Yazid M, Manap A, Mohammed AS, Mirhosseini SH, Suliman E, Shad Z, Mohammed NK, Hussin ASM (2016) Use of response surface methodology for partitioning, one-step purification of alkaline extracellular lipase from *Penicillium candidum* (PCA 1/ TT031). *J. Chromatogr. B* 1039: 66-73.
- Arcens D, Grau E, Grelier S, Cramail H, Peruch F (2018) 6-O-glucose palmitate synthesis

USO DE LIPASAS FÚNGICAS PARA LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS DE INTERÉS EN LOS ÚLTIMOS AÑOS

Origen de la lipasa	Aplicación propuesta	Rendimiento	Referencia
<i>Aspergillus ibericus</i>	Síntesis de butil decanoato a partir de ácido decanoico y butanol.	100% ²	Oliveira <i>et al.</i> (2017)
<i>A. nomius</i> ST57	Inmovilización de la célula completa para la síntesis de ésteres metílicos de ácidos grasos a partir de aceite de palma en dos pasos.	94,77% ²	Rakchai <i>et al.</i> (2016)
<i>A. westerdijkiae</i>	Síntesis de etil oleato a partir ácido oleico y etanol.	35% ¹	Castro <i>et al.</i> (2017)
<i>Candida antarctica</i> (CALA)	Concentración de grasos poliinsaturados n-3 por etanolisis en aceites de baja calidad.	92% ²	He <i>et al.</i> (2017)
<i>C. antarctica</i> (CALB)	Inmovilización covalente de la enzima en nanopartículas magnéticas de óxido férrico para la síntesis de biodiesel.	100% ²	Reza <i>et al.</i> (2017)
	Transesterificación entre bixina y sorbitol para la síntesis de ésteres de sorbitol de norbixina.	50% ¹	Jahangiri <i>et al.</i> (2018)
	Síntesis de pentaeritritol monoricinoleato a partir de ácido ricinoleico y pentaeritritol, con enzima inmovilizada en adsorbente hidrofóbico.	93% ²	Yadav <i>et al.</i> (2019)
	Síntesis de 6-O-glucosa palmitato en acetonitrilo.	100% ²	Arcens <i>et al.</i> (2018)
	Obtención de dietilhexil adipato, a partir de ácido adípico y etilhexano.	100% ²	Kim <i>et al.</i> (2019)
	Síntesis de ésteres de ácidos grasos de lactosa usando solventes orgánicos (hexano y acetonitrilo los más efectivos).	77 y 93% ²	Enayati <i>et al.</i> (2018)
<i>C. antarctica</i> (CALB) y <i>R. miehei</i> (RML)	Resolución de mezcla racémica para la síntesis de la forma activa del 1-metil-3-fenilpropilamina, (precursor del antihipertensivo labetalol).	-	Sanfilippo <i>et al.</i> (2018)
	Uso de nanopartículas de ambas lipasas compuestas por fitantriol y polisorbato 80, como sistema bioresponsivo para tratar infecciones fúngicas.	-	Poletto <i>et al.</i> (2016)
	Transesterificación de aceite de palma con metanol para la producción de metil ésteres de ácidos grasos, usando las lipasas simultáneamente inmovilizadas en gel de sílica epoxi.	78,3% ²	Shahedi <i>et al.</i> (2019)
<i>C. parapsilosis</i> (CPLIP2)	Síntesis de metil ésteres de ácidos grasos por a partir de aceite de jatrofa usando enzima inmovilizada en las resinas Accurel MP1000 y Lewatit VP OC 1600.	80,5% ² y 93,8% ²	Rodrigues <i>et al.</i> (2016)
<i>C. rugosa</i> (CRL)	Síntesis de oleil oleato por esterificación de ácido oleico con alcohol oleílico usando la enzima inmovilizada en una resina libre de solventes.	92,6% ¹	Bi <i>et al.</i> (2016)
	Síntesis de hexil octoato a partir de isoctano en solvente orgánico a partir de lipasa activada por alta presión hidrostática.	53% ¹	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>Rhizomucor miehei</i> (RML)	Síntesis de ergosterol linolenato usando la lipasa 99-125, mejorando las propiedades fisicoquímicas del ergosterol.	92% ²	He <i>et al.</i> (2019)
	Síntesis de 1,3-dioleil-2-araquidonilglicerol lípidos a partir de aceites microbianos de <i>Mortierella alpina</i> y ácido oleico.	84% ²	Abed <i>et al.</i> (2017)
<i>R. oryzae</i>	Síntesis de ésteres de cera utilizando ácidos grasos destilados del aceite de palma y de soja.	80% ¹	Aguieiras <i>et al.</i> (2019)
	Síntesis de etil butirato por una lipasa recombinante inmovilizada en Octadecil-Sepabeads.	0,118mmol/h	Guillén <i>et al.</i> (2017)
<i>R. variabilis</i>	Síntesis de quercetina ferulato a partir de quercetina y ácido ferúlico.	93,2% ²	Kumar <i>et al.</i> (2016)
	Síntesis de ester butil caprilato y 1-butil oleato, usados como aditivos del diésel.	58,2 y 59,3% ²	Bancerz <i>et al.</i> (2018)
<i>Schizochytrium</i> S31	Determinar una lipasa con alta selectividad para hidrolizar DHA y EPA, a fin de concentrar los mismos en aceites nutritivos.	39 U/g	Byreddy <i>et al.</i> (2016)
<i>Thermomyces lanuginosus</i> (TLL)	Síntesis de butil butirato a partir de butanol y ácido butírico con enzima inmovilizada en ImmoBead 150.	84% ²	Matte <i>et al.</i> (2016)
	Obtención de una doble mutante tolerante a metanol para la síntesis de biodiesel.	81% ¹	Tian <i>et al.</i> (2017)
	Síntesis de etil ésteres de ácidos grasos ricos en omega-3 de aceite de chía con lipasa inmovilizada en Sepabeads C-18 modificada con polietilenglicol.	100% ²	Castejón <i>et al.</i> (2019)
<i>Penicillium notatum</i>	Inmovilización de la lipasa en polímeros de silicón y recubiertos por fibras.	1,19 U/g	Rehman <i>et al.</i> (2017)
<i>Yarrowia lipolytica</i> (Lip2p)	Producción de ésteres de fitoesterol a partir de la lipasa inmovilizada en diferentes soportes inorgánicos (zelita).	253,3 U/g de soporte	Caixia <i>et al.</i> (2016)

¹Porcentaje de eficiencia, ² porcentaje de conversión.

with lipase: Investigation of some key parameters. *Mol. Catal.* 460: 63-68.
Bancerz R, Osińska-Jaroszuk M, Jaszek M, Sulej J, Wiater A, Matuszewska A, Rogalski j (2018) Fungal polysaccharides as a water-adsorbing material in esters production with

the use of lipase from *Rhizomucor variabilis*. *Int. J. Biol. Macromol.* 118: 957-964.
Bhosale HJ, Kadam TA, Sukalkar SR, Adekar SD (2012) Lipase Production from *Bacillus* sp Using Soybean Oil Cake as Substrate. *Int. J. Pharm. Biol. Res.* 3: 213-218.

Bi Y, Yu M, Zhou H, Zhou H, Wei P (2016) Biosynthesis of oleyl oleate in solvent-free system by *Candida rugosa* lipase (CRL) immobilized in macroporous resin with cross-linking of aldehyde-dextran. *J. Mol. Catal. B, Enzym* 133: 1-5.

- Borrelli GM, Trono D (2015) Recombinant lipases and phospholipases and their use as biocatalysts for industrial applications. *Int. J. Mol. Sci.* 16: 20774-20840.
- Brady L, Brzozowski AM, Derewenda ZS, Dodson E, Dodson G, Tolley S, Turkenburg JP, Christiansen L, Høge-Jensen B, Nørskov L, Thim L, Menge U (1990) A serine protease triad forms the catalytic centre of a triacylglycerol lipase. *Nature* 343: 767-770.
- Brocca S, Schmidt-Dannert C, Lotti M, Alberghina L, Schmid RD (1998) Design, total synthesis, and functional overexpression of the *Candida rugosa* lip1 gene coding for a major industrial lipase. *Protein Sci.* 7: 1415-1422.
- Burkert JFM, Mauger F, Rodrigues M (2004) Optimization of extracellular space lipase production by *Geotrichum* sp. using factorial design. *Bioresour. Technol.* 91: 77-84.
- Byreddy AR, Rao NM, Barrow CJ, Puri M (2016) Tween 80 influences the production of intracellular lipase by *Schizochytrium* S31 in a stirred tank reactor. *Proc. Biochem.* 53: 30-35.
- Caixa A, Nan C, Chen G, Biqiang X, Tan T (2016) Immobilization of *Yarrowia lipolytica* lipase Ylip 2 for the biocatalytic synthesis of phytosterol ester in a water activity controlled reactor. *Coll. Surf. B Biointerf.* 146: 490-497.
- Casas-Godoy L, Duquesne S, Bordes F, Sandoval G, Marty A (2012) Lipases: An overview. En Sandoval G (Ed.) *Lipases and Phospholipases: Methods and Protocols. Springer Protocols* 861: 3-30.
- Castejón N, Moreno-Pérez S, Abreu Silveira E, Fernández Lorente G, Guisán JM, Señoráns FJ (2019) Synthesis of omega-3 ethyl esters from chia oil catalyzed by polyethylene glycol-modified lipases with improved stability. *Food Chem.* 271: 433-439.
- Castro FF, Ponchio AB, Nassur CB, Parra I (2017) Mycelium-bound lipase from a locally isolated strain of *Aspergillus westerdijkiae*. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 10: 321-328.
- Chang SW, Lee GC, Shaw JF (2006) Efficient production of active recombinant *Candida rugosa* LIP3 lipase in *Pichia pastoris* and biochemical characterization of the purified enzyme. *J. Agric. Food Chem.* 54: 5831-5838.
- Chen G, Du H, Jiang B, Miao M, Feng B (2017) Activity of *Candida rugosa* lipase for synthesis of hexyl octoate under high hydrostatic pressure and the mechanism of this reaction. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 133: S439-S444.
- Coca J, Hernández O, Berrio R, Martínez S, Díaz E, Dustet JC (2001) Producción y caracterización de *Aspergillus niger* y *A. fumigatus*. *Biotechnol. Aplic.* 18: 216-220.
- Colla LM, Rizzardi J, Pinto MH, Reinehr CO, Bertolin TE, Vieira CJA (2010) Simultaneous production of lipases and biosurfactants by submerged and solid-state bioprocesses. *Bioresour. Technol.* 101: 8308-8314.
- Dominguez A, Costas M, Longo MA, Sanromán A (2003) A novel application of solid state culture: Production of lipases by *Yarrowia lipolytica*. *Biotechnol. Lett.* 25: 1225-1229.
- Duan X, Xiang M, Wang L, Yan Q, Yang S, Jiang Z (2019) Biochemical characterization of a novel lipase from *Malbranchea cinnamomea* suitable for production of lipolyzed milkfat flavor and biodegradation of phthalate esters. *Food Chem.* 297: 124925.
- Enayati M, Gong Y, Goddard JM, Abbaspourad A (2018) Synthesis and characterization of lactose fatty acid ester biosurfactants using free and immobilized lipases in organic solvents. *Food Chem.* 266: 508-513.
- Ericsson DJ, Kasrayan A, Johansson P, Bergfors T, Sandström AG, Bäckvall J, Mowbray SL (2008) X-ray structure of *Candida antarctica* lipase a shows a novel lid structure and a likely mode of interfacial activation. *J. Mol. Biol.* 376: 109-119.
- Ferrer P, Alarcón M, Ramón R, Dolores BM, Valero F (2009) Recombinant *Candida rugosa* LIP2 expression in *Pichia pastoris* under the control of the AOX1 promoter. *Biochem. Eng. J.* 46: 271-277.
- Ferrer P, Montesinos JL, Valero F, Solà C (2001) Production of native and recombinant lipases by *Candida rugosa*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 95: 221-255.
- Fickers P, Marty A, Nicaud JM (2011) The lipases from *Yarrowia lipolytica*: Genetics, production, regulation, biochemical characterization and biotechnological applications. *Biotechnol. Adv.* 29: 632-644.
- Fischer M, Pleiss J (2003) The Lipase Engineering Database: a navigation and analysis tool for protein families. *Nucl. Ac. Res.* 31: 319-321.
- Geoffroy K, Achur RN (2018) Optimization of novel halophilic lipase production by *Fusarium solani* strain NFCCCL 4084 using palm oil mill effluent. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 16: 327-334.
- Guillén M, Benaiges MD, Valero F (2017) Improved ethyl butyrate synthesis catalyzed by an immobilized recombinant *Rhizopus oryzae* lipase: A comprehensive statistical study by production, reaction rate and yield analysis. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 133: S371-S376.
- Hasan F, Shah AA, Hameed A (2009) Methods for detection and characterization of lipases: A comprehensive review. *Biotechnol. Adv.* 27: 782-798.
- He WS, Li L, Zhao J, Xu H, Rui J, Cui D, Li H, Zhang H, Liu X (2018) *Candida* sp. 99-125 lipase-catalyzed synthesis of ergosterol linolenate and its characterization. *Food Chem.* 280: 286-293.
- He Y, Li J, Kodali S, Chen B, Guo Z (2017) Rationale behind the near-ideal catalysis of *Candida antarctica* lipase A (CAL-A) for highly concentrating x-3 polyunsaturated fatty acids into monoacylglycerols. *Food Chem.* 219: 230-239.
- Ilmi M, Hidayat C, Hastuti P, Heeres HJ, Maarel MJEC Van Der (2017) Utilisation of *Jatropha* press cake as substrate in biomass and lipase production from *Aspergillus niger* 6516 and *Rhizomucor miehei* CBS. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 9: 103-107.
- Jaeger KE, Reetz MT (1998) Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. *Trends Biotechnol.* 16: 396-403.
- Jahangiri A, Møller AH, Danielsen M, Madsen B, Joernsgaard B, Vaerbak S, Adlercreutz P, Dalsgaard TK (2018) Hydrophilization of bi-xin by lipase-catalyzed transesterification with sorbitol. *Food Chem.* 268: 203-209.
- Jalouli R, Parsiegla G, Carrière F, Gargouri Y, Bezzine S (2016) Efficient heterologous expression of *Fusarium solani* lipase, FSL2, in *Pichia pastoris*, functional characterization of the recombinant enzyme and molecular modeling. *Int. J. Biol. Macromol.* 94: 61-71.
- Jolivet P, Bordes F, Fudalej F, Cancino M, Vignaud C, Dossat V, Burghoffer C, Marty A, Chardot T, Nicaud JM (2007) Analysis of *Yarrowia lipolytica* extracellular lipase Lip2p glycosylation. *FEMS Yeast Res.* 7: 1317-1327.
- Kaushik R, Saran S, Isar J, Saxena RK (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.* 40: 121-126.
- Kempka AP, Lipke NL, Da Luz FPT, Menoncin S, Treichel H, Freire DMG, 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.* 31: 119-125.
- Kim H, Kim T, Choi N, Kim BH, Oh SW, Kim IH (2019) Synthesis of diethylhexyl adipate by *Candida antarctica* lipase-catalyzed esterification. *Proc. Biochem.* 78: 58-62.
- Kumar V, Jahan F, Mahajan R V, Saxena RK (2016) Efficient regioselective acylation of quercetin using *Rhizopus oryzae* lipase and its potential as antioxidant. *Bioresour. Technol.* 218: 12461248.
- Kwon MA, Kim HS, Hahm DH, Song JK (2011) Synthesis activity-based zymography for detection of lipases and esterases. *Biotechnol. Lett.* 33: 741-746.
- Li L, Zhang S, Wu W, Guan W, Deng Z, Qiao H (2019a) Enhancing thermostability of *Yarrowia lipolytica* lipase 2 through engineering multiple disulfide bonds and mitigating reduced lipase production associated with disulfide bonds. *Enz. Microb. Technol.* 126: 41-49.
- Li T, Zhang W, Hao J, Sun M, Lin SX (2019b) Cold-active extracellular lipase: Expression in Sf9 insect cells, purification, and catalysis. *Biotechnol. Rep.* 21: e00295.
- Mancheño JM, Pernas MA, Martínez MJ, Ochoa B, Rúa ML, Hermoso J (2003) Structural insights into the lipase/esterase behavior in the *Candida rugosa* lipases family: Crystal structure of the lipase 2 isoenzyme at 1.97 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 332: 1059-1069.
- Matte CR, Bordinhão C, Poppe JK, Rodrigues RC, Hertz PF, Ayub MAZ (2016) Synthesis of butyl butyrate in batch and continuous enzymatic reactors using *Thermomyces lanuginosus* lipase immobilized in Immobead 150. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 127: 67-75.
- Meng Y, Li S, Yuan H, Zou D, Liu Y, Zhu B, Li X (2015) Effect of lipase addition on hydrolysis and biomethane production of Chinese food waste. *Bioresour. Technol.* 179: 452-459.
- Oliveira F, Souza CE, Peclat VROL, Salgado JM, Ribeiro BD, Coelho MAZ, Venancio A, Belo I (2017) Optimization of lipase production by *Aspergillus ibericus* from oil cakes and its application in esterification reactions. *Food Bioprod. Proc.* 102: 268-277.
- Park JH, Park KM, Chang Y, Park JY, Han J, Chang PS (2017) Cloning and protein expression of the sn-1(3) regioselective lipase from *Cordyceps militaris*. *Enz. Microb. Technol.* 119: 30-36.
- Pereira A da S, Fontes-Sant'Ana GC, Amaral PFF (2019) Mango agro-industrial wastes for lipase production from *Yarrowia lipolytica*

- and the potential of the fermented solid as a biocatalyst. *Food Bioprod. Proc.* 115: 68-77.
- Pereira E, Andrade E, Fernandez-lafuente R, Maria D, Freire G (2017) Support engineering: relation between development of new supports for immobilization of lipases and their applications. *Biotechnol. Res. Innov.* 1: 26-34.
- Plüss J, Fischer M, Peiker M, Thiele C, Schmid RD (2000) Lipase engineering database: Understanding and exploiting sequence-structure-function relationships. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 10: 491-508.
- Poletto FS, Lima FS, Lundberg D, Nylander T, Loh W (2016) Tailoring the internal structure of liquid crystalline nanoparticles responsive to fungal lipases: A potential platform for sustained drug release. *Coll. Surf. B Biointerf.* 147: 210-216.
- Rakchai N, H-kittikun A, Zimmermann W (2016) The production of immobilized whole-cell lipase from *Aspergillus nomius* ST57 and the enhancement of the synthesis of fatty acid methyl esters using a two-step reaction. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 133: S128-S136.
- Rehman S, Wang P, Bhatti HN, Bilal M, Asgher M (2017) Improved catalytic properties of *Penicillium notatum* lipase immobilized in nanoscale silicone polymeric films. *Int. J. Biol. Macromol.* 97: 279-286.
- Reis P, Holmberg K, Watzke H, Leser ME, Miller R (2009) Lipases at interfaces: A review. *Adv. Coll. Interf. Sci.* 147: 237-250.
- Reza M, Mohammadi J, Peyda M (2017) Covalent immobilization of *Candida antarctica* lipase on core-shell magnetic nanoparticles for production of biodiesel from waste cooking oil. *Renew. Energy* 101: 593-602.
- Rodrigues S, Perrier V, Lecomte J, Dubreucq E, Ferreira-Dias S (2016) Biodiesel production from crude jatropha oil catalyzed by immobilized lipase/acyltransferase from *Candida parapsilosis* in aqueous medium. *Bioresour. Technol.* 218: 1224-1229.
- Sahay S, Chouhan D (2018) Study on the potential of cold-active lipases from psychrotrophic fungi for detergent formulation. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 16: 319-325.
- Sanfilippo C, Paternò AA, Patti A (2017) Resolution of racemic amines via lipase-catalyzed benzylation: Chemoenzymatic synthesis of the pharmacologically active isomers of labetalol. *Mol. Catal.* 449: 79-84.
- Shahedi M, Yousefi M, Habibi Z, Mohammadi M, As'habi MA (2019) Co-immobilization of *Rhizomucor miehei* lipase and *Candida antarctica* lipase B and optimization of biocatalytic biodiesel production from palm oil using response surface methodology. *Renew. Energy* 141: 847-857.
- Sharma R, Chisti Y, Banerjee UC, Chand U (2001) Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnol. Adv.* 19: 627-662.
- Skjold-Jørgensen J, Vind J, Moroz O V, Blagova E, Bhatia VK, Svendsen A, Wilson KS, Bjerrum MJ (2016) Controlled lid-opening in *Thermomyces lanuginosus* lipase- an engineered switch for studying lipase function. *BBA-Prot. Proteom.* 1865: 20-27.
- Solymar M, Fulop F, Kanerva LT (2002) *Candida antarctica* lipase A -a powerful catalyst for the resolution of heteroaromatic b-amino esters. *Tetrahedron: Asymm.* 13: 2383-2388.
- Tan CH, Show PL, Ooi CW, Ng EP, Lan JCW, Ling TC (2015) Novel lipase purification methods -a review of the latest developments. *Biotechnol. J.* 10: 3144.
- Tian K, Tai K, Jian B, Chua W, Li Z (2017) Directed evolution of *Thermomyces lanuginosus* lipase to enhance methanol tolerance for efficient production of biodiesel from waste grease. *Bioresour. Technol.* 245: 1491-1497.
- Treichel H, de Oliveira D, Mazutti M a., Di Luccio M, Oliveira JV (2010) A review on microbial lipases production. *Food Bioproc. Technol.* 3: 182-196.
- Turati DFM, Almeida AF, Terrone CC, Nascimento JMF, Terrasan CRF, Fernandez-Lorente G, Benevides CP, Guisan JM, Carmona EC (2019) Thermotolerant lipase from *Penicillium sp.* section *Gracilenta* CBMAI 1583: Effect of carbon sources on enzyme production, biochemical properties of crude and purified enzyme and substrate specificity. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 17: 15-24.
- Uppenberg J, Hansen MT, Patkar S, Jones T (1994) The sequence, crystal structure determination and refinement of two crystal forms of lipase B from *Candida antarctica*. *Structure* 2: 293-308.
- Verma N, Thakur S, Bhatt AK (2012) Microbial lipases: Industrial applications and properties (A review). *Int. Res. J. Biol. Sci.* 1: 88-92.
- Vyas S, Chhabra M (2016) Isolation, identification and characterization of *Cystobasidium oligophagum* JRC1: A cellulase and lipase producing oleaginous yeast. *Bioresour. Technol.* 223: 250-258.
- Xiaoyan L, Xinjun Y, Jinshun L, Jiaxing X, Jun X, Zhen W, Tong Z, Yuanfang D (2017) A cost-effective process for the coproduction of erythritol and lipase with *Yarrowia lipolytica* M53 from waste cooking oil. *Food Bioprod. Proc.* 103: 86-94.
- Yadav MG, Vadgama RN, Kavadia MR, Odaneth AA, Lali AM (2019) Production of Pentaerythritol Monoricinoleate (PEMR) by immobilized *Candida antarctica* lipase B. *Biotechnol. Rep.* 23: e00353.
- Yadav RP, Saxena RK, Gupta R, Davidson S (1998) Lipase production by *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Folia Microbiol.* 43: 373-378.
- Yamada R, Kimoto Y, Ogino H (2016) Combinatorial library strategy for strong overexpression of the lipase from *Geobacillus thermocatenulatus* on the cell surface of yeast *Pichia pastoris*. *Biochem. Eng. J.* 113: 7-11.
- Yilmaz DE, Sayar NA (2015) Organic solvent stable lipase from *Cryptococcus diffluens* D44 isolated from petroleum sludge. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 122: 72-79.
- Yuzbashev TV, Yuzbasheva EY, Vibornaya TV, Sobolevskaya TI, Laptev IA, Gavrikov AV, Sineoky SP (2012) Production of recombinant *Rhizopus oryzae* lipase by the yeast *Yarrowia lipolytica* results in increased enzymatic thermostability. *Prot. Expres. Purif.* 82: 83-89.
- Zhang X, Li X, Xia L (2015) Expression of a thermo-alkaline lipase gene from *Talaromyces thermophilus* in recombinant *Pichia pastoris*. *Biochem. Eng. J.* 103: 263-269.
- Zhang XF, Ai YH, Xu Y, Yu XW (2019) High-level expression of *Aspergillus niger* lipase in *Pichia pastoris*: Characterization and gastric digestion in vitro. *Food Chem.* 274: 305-313.
- Zheng R, Ruan L, Ma H, Tang X, Zheng Y (2016) Enhanced activity of *Thermomyces lanuginosus* lipase by site-saturation mutagenesis for efficient biosynthesis of chiral intermediate of pregabalin. *Biochem. Eng. J.* 113: 12-18.
- Zhou X, Han Y, Lv Z, Tian X, Li H, Xie P, Zheng L (2017) Simultaneously achieve soluble expression and biomimetic immobilization of *Candida antarctica* lipase B by introducing polyamine tags. *J. Biotechnol.* 249: 1-9.

FUNGI AND YEASTS: LIPASE FACTORIES

Ricardo Martínez-Corona, Carlos Cortes-Penagos, Luis Alberto Madrigal-Pérez and Juan Carlos González-Hernández

SUMMARY

Lipases are enzymes with the capacity of catalyzing triglyceride hydrolysis reactions; they are used in many processes in the food industry, energy production, pharmaceutical catalysis, etc. Given the need to satisfy the current commercial and industrial demand of lipases, different strategies have been developed to study them and their applications. Because most of the bacterial species used for the production of lipases are pathogenic, efforts have been

made to find safe alternative systems that could be used the different processes in which lipases are involved. Thus, lipases from fungi and yeasts have won high attention. In this review we intend to cover the general and production characteristics of currently utilized lipases from various fungal microorganisms, in order to determine the existing alternatives for the industrial biotechnological processes that demand this type of enzymes.

FUNGOS E LEVEDURAS: FÁBRICAS DE LIPASES

Ricardo Martínez-Corona, Carlos Cortes-Penagos, Luis Alberto Madrigal-Pérez e Juan Carlos González-Hernández

RESUMO

As lipases são enzimas capazes de catalisar reações de hidrólise de triglicérides; são usadas em numerosos processos dentro da indústria alimentícia, energética, farmacêutica, etc. Diante da necessidade de cumprir com a demanda comercial e industrial atual de este tipo de enzimas em diversos processos, têm sido desenvolvidas diferentes estratégias de estudo de estas e de suas aplicações. Devido à maioria das espécies bacterianas, usadas para a produção de lipase, serem patogênicas, têm sido realizados esforços para encontrar sistemas

alternativos seguros para os diversos processos em que estão envolvidas este tipo de enzimas. Assim, as lipases provenientes de fungos e leveduras têm adquirido alto foco de atenção. Em este trabalho pretende-se mencionar as características gerais e de produção de lipases, provenientes de diversos microrganismos fúngicos, que foram estudados atualmente, com a finalidade de determinar estas alternativas para os processos biotecnológicos industriais que demandam este tipo de enzimas.