



Exacta

ISSN: 1678-5428

exacta@uninove.br

Universidade Nove de Julho
Brasil

Pedrozo Tavares, Ladiel Luiz; Elesbão do Nascimento, Aline; Okada, Kaoru; Alves da Silva, Carlos
Alberto

Seleção de diferentes meios para produção de lipase a partir de *Bacillus licheniformis* (UCP 1014)

Exacta, vol. 9, núm. 3, 2011, pp. 309-316

Universidade Nove de Julho
São Paulo, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81021140003>

- Como citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Seleção de diferentes meios para produção de lipase a partir de *Bacillus licheniformis* (UCP 1014)

Selection of different media for production of lipase from Bacillus licheniformis (UCP 1014)

Ladiel Luiz Pedrozo Tavares

Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais –
Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP.
Recife, PE [Brasil]
ladiell@hotmail.com

Aline Elesbão do Nascimento

Professora Adjunta II – Curso de Licenciatura em Ciências
Biológicas e Pesquisadora do Núcleo de Pesquisas em
Ciências Ambientais (NPCIAMB) – Universidade Católica de
Pernambuco – UNICAP.
Recife, PE [Brasil]
elesbao@unicap.br

Kaoru Okada

Professora Adjunta II - Curso de Licenciatura em Ciências
Biológicas e Pesquisadora do Núcleo de Pesquisas em
Ciências Ambientais (NPCIAMB) – Universidade Católica de
Pernambuco – UNICAP.
kao@unicap.br

Carlos Alberto Alves da Silva

Professor Adjunto II – cursos de Engenharias Ambiental e
Química e Pesquisador do Núcleo de Pesquisas em Ciências
Ambientais (NPCIAMB) – Universidade Católica de
Pernambuco – UNICAP.
Recife, PE [Brasil]
calves@unicap.br

Resumo

A elaboração de meios de cultura alternativos para a produção de enzimas microbianas têm sido bastante explorada nas últimas décadas. As lipases microbianas são enzimas extracelulares produzidas em processos fermentativos, o que favorece sua extração, isolamento e purificação. *Bacillus* são bactérias Gram-positivas, saprófitas, de grande importância em vários setores industriais. Neste trabalho, foram testados três meios de produção utilizando o *B. licheniformis* (UCP 1014), denominados de meios A, B e C. A cinética de produção da enzima ocorreu em *shaker* orbital a 150 rpm, 37 °C, durante 96 horas. As amostras coletadas foram submetidas à construção da curva de crescimento, determinação do pH e da atividade lipolítica. Os resultados indicaram um melhor crescimento no meio C apresentando uma atividade de 256 U/mL, enquanto que os meios A e B apresentaram valores de 170 e 153 U/mL, respectivamente. Os resultados demonstraram que o meio C apresentou maior produção enzimática nos ensaios realizados.

Palavras-chave: *Bacillus licheniformis*. Lipase. Produção enzimática.

Abstract

Development of alternative culture media for microbial enzyme production have been widely exploited in recent decades. The microbial lipases are extracellular enzymes produced in fermentation processes, which favors its extraction, isolation and purification. *Bacillus* are Gram-positive bacteria, saprophytes, of great importance in various industrial sectors. In this study, we tested three methods of production using *B. licheniformis* (UCP 1014) media called A, B and C. The kinetics of enzyme production occurred in orbital shaker at 150 rpm, 37 °C, for 96 hours. The collected samples were subjected to the construction of the growth curve, determination of pH and lipolytic activity. The results indicated a better growth in the middle C showing an activity of 256 U/mL, while the means A and B had values of 170 and 153 U/mL, respectively. The results showed that the middle C presented higher enzyme production in the tests.

Key words: *Bacillus licheniformis*. Enzyme production. Lipase.



1 Introdução

As enzimas de fontes microbianas recebem uma particular atenção no mercado mundial de bioprodutos devido a sua atual e potencial aplicação na indústria, principalmente na de detergentes, óleos e gorduras, fábrica de laticínios e nas indústrias farmacêuticas. As principais utilizações das lipases industriais são em aditivos para lavagem, detergentes, indústrias alimentícias (preparação de substitutos do chocolate amargo e produção de sabores especiais). Além disso, tem sido bastante utilizada na fabricação de cosméticos (bronzamento), em tratamentos de esgotos, e em diversas reações de transesterificação de triglicerídeos (PATEL, 2002; PIZARRO; PARK, 2003; CASTRO et al., 2004; HASAN et al., 2006; TREICHEL et al., 2010).

As lipases (E.C.3.1.1.3, triacilglicerol acilhidrolases) são enzimas que ocupam um lugar de destaque entre os biocatalisadores, e têm muitas aplicações, motivo esse que faz crescer significativamente sua participação no mercado mundial de enzimas industriais. Futuramente, essa classe enzimática terá importância industrial e comercial comparável às das peptidases, cuja venda entre as enzimas industriais, alcança de 25% a 40% (SAXENA, et al., 2003; HASAN et al., 2006; FREIRE; CASTILHO, 2008; CAI et al., 2009; BARROS, FLEURI, MACEDO, 2010; GHASEMI et al., 2011).

O potencial biotecnológico das lipases está relacionado ao fato de que essas enzimas catalisam não apenas as reações de hidrólise, mas também as reações de esterificação e transesterificação, e mantêm sua estrutura química e atividade em diferentes solventes orgânicos, e, muitas vezes, não requerem a presença de cofatores, catalisam diversas reações em baixa temperatura e pressão, possuem uma larga especificidade pelo substrato e exibem alta enantiosseletividade (ELIBOL; OZER, 2002;

CARVALHO et al., 2003; SAXENA et al., 2003; BURKERT et al., 2004; CASTRO et al., 2004; TAN et al., 2004; CONTESINI et al., 2010; REIS et al., 2009; AÇIKEL, et al., 2010.

As lipases podem ser comumente encontradas na natureza e são obtidas a partir de fontes animais, vegetais e microbianas. Numerosas espécies de bactérias, leveduras e fungos filamentosos são produtoras dessas enzimas. (CASTRO et al., 2004; CIHANGIR; SARIKAYA, 2004; COLEN, 2006; HASAN et al., 2006; VARGAS et al., 2008; CONTESINI et al., 2010; AÇIKEL et al., 2010.

A produção das lipases de origem microbiana apresenta uma série de vantagens que as de origem vegetal e animal. Tal fato pode ser justificado pela enorme variedade de micro-organismos existentes, também através da possibilidade de manipulação genética desses organismos e pelo rápido crescimento dos micro-organismos na formulação de meios alternativos de baixo custo (BORNSCHEUER, 2002; SCHALLMEY et al., 2004; COLEN, 2006; HASAN et al., 2006; ZHAO et al., 2010).

O gênero *Bacillus* é atualmente considerado como um dos maiores produtores de substâncias biotecnológicas, apresentando diversas espécies encontradas na natureza, e algumas como participantes da biota intestinal humana e animal (JAEGER et al., 1994; LOGAN; DE VOUS, 1998; JORGENSEN et al., 2000; FENG et al., 2001; CHANTAWANNAKUL et al., 2002; DEMAÏN; ADRIO, 2008; DUTTA; RAY, 2009; SHARIFF et al., 2011).

Dentre as várias espécies de *Bacillus* adequadas para a produção de endósporos e enzimas, destaca-se o *B. licheniformis*, uma bactéria não patogênica, amplamente distribuída na natureza, encontrada principalmente associada em plantas e no solo, e em materiais próximos a esse local, pela alta resistência de seus endósporos que são disseminados com a poeira para diversos locais

(CASULA; CUTTING, 2002; VEITH et al., 2004; SELVA MOHAN et al., 2008; RIAZ et al., 2010; MOHAMMAD SADEGHI et al., 2010).

Neste estudo, objetivo-se verificar a seleção e a produção de lipase por *Bacillus licheniformis* (UCP 1014) em diferentes meios selecionados.

2 Material e métodos

2.1 Micro-organismo

Foi utilizado *Bacillus licheniformis* (UCP 1014), isolado de uma região contaminada por petróleo no porto da cidade do Recife, Pernambuco. A amostra foi identificada e catalogada no Banco de Culturas da Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), localizado no Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais (NPCIAMB). A cultura foi mantida em meio Ágar Nutritivo (AN), contendo (g.L⁻¹): Peptona 10 g; Extrato de carne 3,0 g; NaCl 5,0 g; Agar 20,0 g (pH 7,0).

2.2 Seleção de meios de produção de lipase

Foram testados três meios de produção de lipase, denominados: meio de produção A (g.L⁻¹): peptona 5,0 g, NaNO₃ 0,5 g, MgSO₄ 0,1 g, óleo de soja* 10 mL, água destilada 1000 mL (pH 6,5); meio de produção B (g.L⁻¹): peptona 10 g, NaCl 0,5 g, CaCl₂. 2H₂O 0,01 g, Tween 20* 10 mL, água destilada 1000 mL (pH 6,0) e meio de produção C (g.L⁻¹): glicose 10 g, extrato de levedura 5 g, peptona 20 g, NaNO₃ 0,1 g, KH₂PO₄ 0,1 g, MgSO₄. 7H₂O 0,5g, óleo de oliva* 10 mL, água destilada 1000 mL (pH 6,5).

*O óleo de soja, Tween 20 e óleo de oliva foram esterilizados por vapor fluente.

2.3 Pré-inóculo

A amostra de *B. licheniformis*, mantida no meio Ágar Nutritivo (AN), foi transferida para

Erlenmeyers de 1000 mL de capacidade, contendo 450 mL de meio caldo nutritivo, 37 °C, 150 rpm, durante aproximadamente 12 horas.

2.4 Curva de crescimento

Após o período de crescimento do pré-inóculo, foram transferidos 10% de volume com a cultura crescida para os meios de produção denominados de A, B e C para os ensaios de produção da lipase. O crescimento ocorreu em *shaker* orbital, em 150 rpm, a 37°C, durante 96 horas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. As amostras coletadas a cada 4 horas durante os ensaios de produção foram submetidas à determinação do pH e à da curva de crescimento dos micro-organismos em diferentes meios de produção.

2.5 Detecção da atividade lipolítica

Ao término dos ensaios de produção, todas as amostras foram centrifugadas e nos sobrenadantes foi determinada a atividade lipolítica pela metodologia descrita por Soares et al. (1999). O substrato contendo óleo de oliva foi emulsionado com goma arábica (7%) na proporção de 50:50. A reação enzimática foi realizada por meio de 5 mL de substrato, 2 mL de solução tampão fosfato de sódio (0,1 M, pH 7,0) e 1 mL de solução enzimática. A temperatura da reação foi mantida a 37 °C em banho termostático, por 5 minutos, agitação constante (82 rpm). A reação foi interrompida pela adição de 2 mL de uma solução de acetona, etanol e água (1:1:1). Os ácidos graxos liberados foram titulados com solução padronizada de KOH 0,04 N, utilizando-se fenolftaleína como indicador. Uma unidade de atividade é definida como a quantidade de enzima que libera em 1 µmol de ácido graxo por minuto de reação, nas condições do ensaio. As atividades foram expressas em U/mL, sendo 1 U/mL = 1 µmoles/mL. min.

2.6 Cálculo da atividade enzimática

A atividade enzimática de lipase foi calculada por meio da Equação 1, a seguir, apresentada em Soares, et al. (1999).

$$\text{Atividade lipolítica (U/mL)} = \frac{(V_a - V_b) \cdot N \cdot 1000}{t \cdot V_c} \quad (1)$$

em que: AE é a atividade lipolítica (U/mL); V_a é o volume da amostra titulada (mL); V_b é o volume do branco titulado (mL); V_c é o volume da amostra utilizada na reação (mL); N é a normalidade da solução de KOH (mol/L); t é o tempo de reação em minutos (SOARES, et al., 1999).

3 Resultados e discussão

Neste estudo, foram realizados ensaios para determinação do perfil de crescimento e produção de lipase por *B. licheniformis* (UCP 1014) em três diferentes meios, contendo diferentes fontes de carbono e nitrogênio. Na Figura 1, estão descritos os resultados obtidos nos ensaios realizados com os três meios de produção.

Verifica-se um melhor crescimento de *B. licheniformis* no meio denominado C, que apresenta em

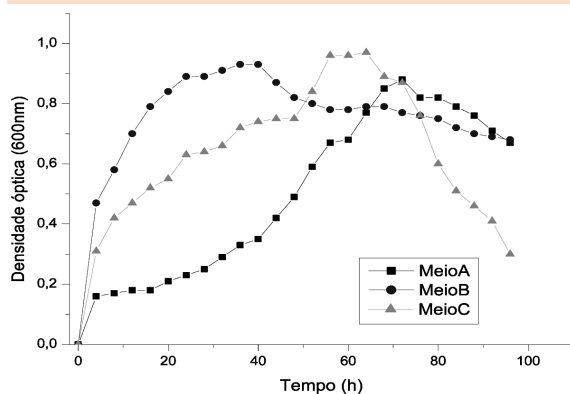


Figura 1: Crescimento por *B. licheniformis* em diferentes meios de produção, 150 rpm, 37 °C, 96 horas

sua composição glicose e óleo de oliva como indutor. Esse meio apresentou valores de crescimento rápido até 24 horas de incubação, atingido seu auge numa fase estacionária entre 56 e 64 horas, posteriormente, ocorreu uma fase de declínio marcante não observada nos outros meios. O meio B apresentou um crescimento constante, atingido seu auge em 40 horas de incubação, a partir daí houve um decréscimo lento nos valores até o final da fermentação. Já o meio A, contendo óleo de soja, o crescimento ocorreu de forma lenta e tardia até 40 horas da incubação, atingindo seu auge a partir de 72 horas.

A determinação do pH das diferentes amostras coletadas está descrita na Figura 2. Verificou-se que durante as primeiras horas de produção enzimática, os valores do pH do meio A, aumentaram atingindo a neutralidade, apresentando pequenas variações até chegar a atingir no final valores acima de 8,0. Enquanto o meio C, apresentou decréscimo a partir das primeiras horas, chegando a atingir valores de pH na faixa de 5,8, e com 16 horas houve um aumento brusco dos valores atingindo a neutralidade. Os resultados mostram que os valores de pH do meio C (variando entre 5,8 e 7,5) sofreram maiores alterações se comparados com os meios A e B.

Variações bruscas dos valores de pH indicam consumo dos substratos no meio. Esse fato foi evidenciado na curva de pH do meio C, contendo glicose como principal fonte de carbono. Banerjee

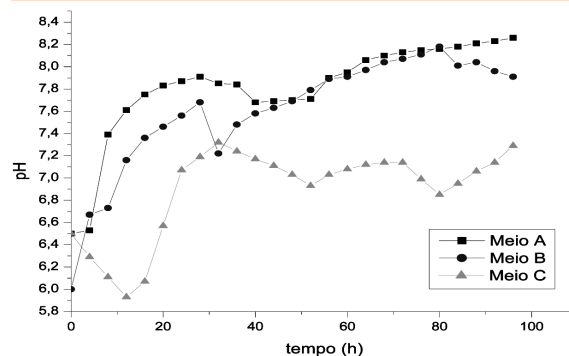


Figura 2: Variação do pH em diferentes meios de produção de lipase utilizando o *B. licheniformis*, 150 rpm, 37 °C, 96 horas

et al. (1985); Selva Mohan et al. (2008) relataram que alguns micro-organismos apresentam atividades mais elevadas, quando cultivadas em meio contendo glicose.

O pH inicial do meio de crescimento é importante para a produção de lipase (RATHI et al., 2001). Já Ertugrul et al. (2007) referiram que a utilização de meios com um pH inicial moderadamente ácido (6,0 – 6,5), e otimizam a produção de lipase em amostras de *Bacillus sp.*

Segundo Adams e Brawley (1981) e Kaimi et al. (1998), os valores ótimos de pH para a produção de lipase bacteriana, variam entre 6,5 e 8,5. Diversos autores relatam que o pH neutro é geralmente definido como ótimo para a atividade lipolítica (KAMINI et al., 1998; ABBAS et al., 2002); FADIOGLU; ERKMEN, 2002; BURKERT, 2004; TAN et al., 2004).

Utilizando a metodologia de Soares et al. (1999), avaliou-se a atividade lipolítica dos meios utilizados (Tabela 1 e Figura 3), e constatou-se a maior atividade no meio C equivalente a 255,5 (U/mL), com 56 horas, pH 7,03. Em comparação com o meio A, 170 (U/mL), em 96 horas, pH 8,2, enquanto o B apresentou uma atividade de 153 (U/mL) com 84 horas, pH 8,0. Feitosa (2009) em seu trabalho com bactéria isolada de solo com histórico de contato com petróleo obteve uma atividade lipolítica máxima de 4617 U/mL, a 37 °C, no pH 7,0, em 120 h de fermentação.

Kanwar et al. (2002) alcançaram uma atividade lipolítica de 25 U/mL, a 34 °C e pH 8,0, utilizando como fonte de enzimas lipolíticas, a bactéria *Pseudomonas G6*, isoladas de solo contaminado com petróleo.

Após a 56ª hora houve um decréscimo na atividade enzimática do meio C. Segundo Sanchez e Demain (2002), a redução na produção de lipase, após o longo período de fermentação, pode ser devido à inativação da enzima por proteases extracelulares, o que é observado para outros micro-organismos

Tabela 1: Atividade lipolítica do *Bacillus licheniformis* (UCP 1014) detectada nos meios A, B e C

Tempo (h)	Meio A (U/mL)	Meio B (U/mL)	Meio C (U/mL)
4	40	33,3	45
8	75	63,6	80
12	87,8	104	181
24	20	85	181
28	20	70	133
32	126	55	105
36	90	48	189,5
48	65	30	157,5
52	129	120	157,5
56	129	120	256
60	98	125	219
72	115	123	158
76	133	119	112,5
80	140	126	164
84	145	153	130
96	170	140	159

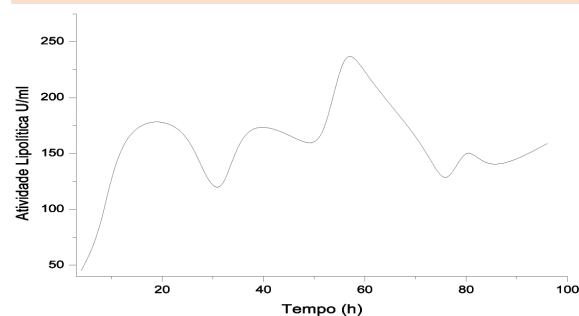


Figura 3: Determinação da atividade lipolítica no meio C de produção de lipase utilizando o *B. licheniformis*, 150 rpm, 37 °C, 96 horas

produtores de lipase. Esse fato pode ser decorrente da secreção de proteínas no fim da fase logarítmica, investigado no trabalho de Dheeman et al. (2010), levando assim a uma diminuição na atividade da lipase produzida pelo micro-organismo.

Um dos fatores mais importantes para a expressão da atividade da lipase é a fonte de carbono, porque lipases são enzimas induzíveis e elas geralmente são produzidas na presença de lipídios. O óleo de oliva, presente no meio C, é uma fonte de carbono adequada e tem efeito significativo para induzir a produção de lipase (SUGIHARA et al., 1991; WANG et al., 1995; SHAFEI; ELSALAM-ABD, 2005; ARAVINDAN et al., 2007).



De acordo com Dheeman, Frias e Henehan (2010), o aumento da produção de lipase, pode estar relacionado com a quantidade de ácidos graxos poli-insaturados presente nos óleos naturais, em que o óleo de oliva, utilizado no meio C, apresenta 71% de ácido oleico e 10% de ácido linoleico. Para Zhen-qian e Chun-yun (2009), o óleo de oliva contém 89% de ácidos graxos insaturados, e, em seus estudos, relataram o aumento de 4,07% na atividade da lipase na presença do mesmo óleo.

Os experimentos realizados com o meio C, que continha em sua composição óleo de oliva a 1% (v/v), influenciaram uma maior produção de lipase, quando comparado aos meios A e B testados. Adinarayana et al. (2004) descreveram que a incorporação desse mesmo óleo, e na mesma proporção na composição do meio utilizado, resultou em uma produção da lipase mais elevada.

Entre as fontes de nitrogênio, o extrato de levedura, também presente no meio C, demonstra ser um substrato adequado para produção de lipases e esterases. Kim et al. (1994), em seus trabalhos, obtiveram tal produção, utilizando extrato de levedura como fonte de nitrogênio. Mahanta et al. (2008) concluíram que a presença de fontes de nitrogênio no meio podem contribuir para uma melhor produção de lipase microbiana, em ensaios envolvendo meios contendo torta de *Jatropha curcas* (pinhão manso) por *Pseudomonas aeruginosa*, suplementados com NaNO_3 .

Outro fator que pode ter induzido uma maior atividade lipolítica no meio C foi provavelmente a presença de sais de potássio e magnésio. Castiglioni (2009) descreveu que o potássio e o magnésio são compostos de grande importância para o metabolismo de micro-organismos, pois dependendo de sua concentração podem atuar favorecendo ou inibindo determinadas rotas metabólicas. Já Airawa (1981) relatou que a presença do magnésio na composição de meios de produção é essencial, pois ele é um cofator enzimático essencial para o cres-

cimento dos micro-organismos, mas sua presença em excesso pode provocar algumas interferências na absorção de cálcio e potássio. Esse íon também atua na estabilização de ribossomas e membranas, já o potássio atua como regulador osmótico necessário à atividade enzimática e à síntese proteica, sendo também um nutriente essencial ao metabolismo microbiano.

Todos os ensaios de produção da lipase por *Bacillus licheniformis* (UCP 1014) foram conduzidos na temperatura de 37 °C, pois a temperatura de produção é um dos fatores considerados essenciais para produzir enzimas. Esse dado é ratificado nos trabalhos de Walavalkar e Bapat (2002), no qual micro-organismos utilizados nos ensaios foram isolados e apresentaram uma maior atividade da enzima a 37 °C, quando comparados a outros micro-organismos isolados e testados nas temperaturas de 27 °C e 47 °C. Para Burkert (2003), a temperatura de 37 °C é definida como ótima para a produção de enzimas lipolíticas por *Geotrichum candidum* NRRL-Y552, no seu estudo para a otimização da produção de lipases.

4 Conclusões

Diante dos resultados obtidos, foi possível concluir que

- O *Bacillus licheniformis* possui capacidade para produção de lipase, utilizando diferentes meios de produção, constituindo-se assim uma alternativa promissora para os estudos relacionados à produção de lipases microbianas.
- A implementação na composição dos meios de óleos naturais, como o óleo de soja e o de oliva, aumentam a atividade da produção de lipase no micro-organismo testado.
- O óleo de oliva, utilizado como fonte de carbono no meio C, impulsionou a produção de

lipase pelo micro-organismo, favorecendo assim uma melhor produção lipolítica, e se tornando uma alternativa viável para a produção de substâncias de interesse econômico.

Referências

- ABBAS, H. et al. Isolation and characterization of an extracellular lipase from *Mucor* strain isolated from palm fruit. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 31, n. 7, p. 968-978, 2002.
- AÇIKEL, U.; ERAN, M.; AÇIKEL, Y.S. Optimization of critical medium components using response surface methodology for lipase production by *Rhizopus delemar*. *Food Bioprod. Proc.*, v. 8, p. 31-39, 2010.
- ADAMS, D. M.; BRAWLEY, T. G. Factors influencing the activity of a heat-resistant lipase of *Pseudomonas*. *Journal of Food Science*, v. 46, n. 3, p. 677-680, 1981.
- ADINARAYANA, K. et al. Optimization of process parameters for production of lipase in solid state fermentation by newly isolated *Aspergillus* sp. *Indian Journal of Biotechnology*, v. 3, p. 65-69, 2004.
- AIRAWA, J. R. Magnesium: its biological significance. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, 1981. 300 p.
- ARAVINDAN, R. et al. Statistical evaluation of medium components by Plackett-Burman experimental design and kinetic modeling of lipase production by *Pseudomonas fluorescens*. *Indian Journal Biotechnology*, v. 6, p. 469-478, 2007.
- BANERJEE, M.; SENGPUTA, I.; MAJUMDAR, S.K. Lipase Production by *Hansenula anomala* var. *Schnegii*. *Journal Food Science Technology*, v. 22, n. 1, p. 37-139, 1985.
- BARROS, M.; FLEURI, L.F.; MACEDO, G.A. Seed lipases: Sources, applications and properties – A review. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 27, n. 1, p. 15-29, 2010.
- BORNSCHEUER, U. T. Methods to Increase Lipases and Esterases. *Currents Opinions Biotechnology*, v. 13, p. 543-547, 2002.
- BURKERT, J. F. M.; MAUGERI, F.; RODRIGUES, M. I. Optimization of extracellular lipase production by *Geotrichum* sp. using factorial design. *Bioresource Technology*, v. 91, n. 1, p. 77-84, 2004.
- CAI, Y. J. et al. Purification and partial characterization of two new cold-adapted lipases from mesophilic *Geotrichum* sp. SYBC WU-3. *Process Biochemistry*, v. 44, p. 786-790, 2009.
- CARVALHO, P. O. et al. Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. *Química Nova*, v. 26, p. 75-80, 2003.
- CASTIGLIONI, G. L. Estudo da produção e utilização de lipase de *Burkholderia cepacia* na síntese enzimática de biodiesel. Tese (doutorado em Engenharia de alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, p. 152, Campinas, 2009.
- CASTRO, H. F. et al. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. *Química Nova*, v. 27, n. 1, p. 146-156, 2004.
- CASULA, G.; CUTTING, S. M. *Bacillus* probiotics: spore germination in the gastrointestinal tract. *Applied Environmental Microbiology*, v. 68, p. 2344-2352, 2002.
- CHANTAWANNAKUL, P. et al. Characterization of Proteases of *Bacillus subtilis* strain 38 isolated from Traditionally Fermented Soybean in Northern Thailand. *Science Asia*, v. 28, p. 241-245, 2002.
- CIHANGIR, N.; SARIKAYA, E. Investigation of lipase producing by a new isolate of *Aspergillus* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 20, p. 193-197, 2004.
- COLEN, G.; JUNQUEIRA, R. G.; MORAES-SANTOS, T. Isolation and screening of alkaline lipase-producing fungi from Brazilian savanna soil. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v. 22, p. 881-885, 2006.
- CONTESINI, F. J. et al. *Aspergillus* sp. lipase: Potential biocatalyst for industrial use. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 67, n. 3-4, p. 163-170, 2010.
- DEMAIN, A. L.; ADRIO, J. L. Strain improvement for production of pharmaceuticals and other microbial metabolites by fermentation. *Progress Drug Research*, v. 65, n. 251, p. 253-289, 2008.
- DHEEMAN, D. S.; FRIAS, J. M.; HENEHAN, G. T. M. Influence of cultivation conditions on the production of thermostable extracellular lipase from *Amycolatopsis mediterranei* DSM 43304. *Journal of Indian Microbiology and Biotechnology*, v. 37, p. 1-17, 2010.
- DUTTA, S.; RAY, L. Production and characterization of an alkaline thermostable crude lipase from an isolated strain of *Bacillus cereus* C7. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 159, n. 1, p. 142-154, 2009.
- ELIBOL, M.; OZER, D. Response surface analysis of lipase production by freely suspended *Rhizopus arrhizus*. *Process Biochemistry*, v. 38, p. 367-372, 2002.
- ERTUGRUL, S.; DONMEZ, G.; TAKAC, S. S. Isolation of lipase producing *Bacillus* sp. from olive mill wastewater and improving its enzyme activity. *Journal Hazard Mater*, v. 149, p. 720-724, 2007.
- FADIOGLU, S.; ERKMEN, O. Effects of carbon and nitrogen sources on lipase production by *Candida rugosa*. *Turkian Journal of Engineering Environmental Science*, v. 26, p. 249-254, 2002.
- FEITOSA, I. G. *Produção de enzima lipolíticas utilizando bactéria isolada de solo com histórico de contato com petróleo em fermentação submersa*. 102 p., 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) – Universidade Tiradentes – UNIT, Sergipe, 2009.
- FENG, Y. Y. et al. Fermentation of Starch for Enhanced Alkaline Protease Production by Constructing an Alkalophilic *Bacillus pumilus* Strain. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 57, p. 153-160, 2001.
- FREIRE, G. D. M.; CASTILHO, F. L. Lipases em biocatálise. In: Bon. et al. (org). *Enzimas em biotecnologia: produção, aplicação e mercado*. Rio de Janeiro, Interciência, 300 p., 2008.
- GHASEMI, Y. et al. Isolation and characterization of some moderately halophilic bacteria with lipase activity. *Microbiology*, v. 80, n. 4, p. 483-487, 2011.
- HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 39, p. 235-251, 2006.



- JAEGER, K. E. et al. Bacterial lipases. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 15, p. 29-63, 1994.
- JORGENSEN, P. L. et al. Cloning and Sequencing of in Alkaline Protease Gene from *Bacillus lentus* and Amplification of the Gene on the *B. lentus* Chromosome by an Improved Technique. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, p. 825-827, 2000.
- KAIMI, N. R.; MALA, J. G. S.; PUVANAKRISHNAN, R. Lipase production from *Aspergillus niger* by solid-state fermentation using gingelly oil cake. *Process Biochemistry*, v. 33, p. 505-511, 1998.
- KAMINI, N. R.; MALA, J. G. S.; PUVANAKRISHNAN, R. Lipase production from *Aspergillus niger* by solid state fermentation using gingelly oil cake. *Process Biochemistry*, v. 33, p. 505-511, 1998.
- KANWAR, L.; GOGOI, B. K.; GOSWAMI, P. Production of a *Pseudomonas* lipase in n-alkane substrate and its isolation using an improved ammonium sulfate precipitation technique. *Bioresource Technology*, v. 84, p. 207-211, 2002.
- KIM, H. et al. Occurrence of thermostable lipase in thermophilic *Bacillus* sp. strain 398. *Bioscience, Biotechnology and Biochemical*, v. 58, p. 961-962, 1994.
- LOGAN, N. A. ; DE VOUS, P. *Bacillus* et Industrie, *Bulletin de la Société Française de Microbiologie*, v. 13, p. 130-136, 1998.
- MAHANTA, N.; GUPTA, A.; KHARE, S. K. Production of protease by solvent tolerant *Pseudomonas aeruginosa* PseA in solid-state fermentation using *Jatropha curcas* seed cake as substrate. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 1729-1735, 2008.
- MOHAMMAD SADEGHI, H. M. et al. Molecular detection of lipase A gene in putative *Bacillus subtilis* strains isolated from soil. *Iranian Journal of Biotechnology*, v. 8, n. 1, p. 46-49, 2010.
- PATEL, R. N. Microbial/enzymatic synthesis of chiral intermediates for pharmaceuticals. *Enzyme and microbial technology*, v. 31, n. 6, p. 804-826, 2002.
- PIZARRO, L.; PARK EY, AV. Lipase-catalyzed production of biodiesel fuel from vegetable oils contained in waste activated bleaching earth. *Process Biochemistry*, v. 38, p. 1077-1082, 2003.
- RATHI, P.; SAXENA, R. K.; GUPTA, R. A novel alkaline lipase from *Burkholderia cepacia* for detergent formulation. *Process Biochemistry*, v. 37, p. 187-192, 2001.
- REIS, P. et al. Lipases at interfaces: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 147-148, p. 237-250, 2009.
- RIAZ, M. et al. Characterization of lipase produced by *Bacillus* sp. FH5 in immobilized and free state. *Annals of Microbiology*, v. 60, p.169-175, 2010.
- SANCHEZ, S.; DEMAİN, A. L. Metabolic regulation of fermentation processes. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 31, p. 895-906, 2002.
- SAXENA, R. K. et al. Purification strategies for microbial lipases. *Journal of Microbiological Methods*, v. 52, p.1-18, 2003.
- SCHALLMEY, M.; SINGH, A.; WARD, O. P. Developments in the use of *Bacillus* species for Industrial Production. *Canadian Journal Microbiology*, v. 50, p. 1-17, 2004.
- SELVA MOHAN, T; PALAVESAM, A.; IMMANVEL, G. Isolation and characterization of lipase-producing *Bacillus* strains from oil mill waste. *African Journal of Biotechnology*, v. 7, n. 15, p. 2728-2735, 2008.
- SHAFEI, M.S.; ABD-ELSALAM, I. S. Role of some fermentation parameters affecting lipase production by *Fusarium solani*. *Acta Pharmacia Turcica*, v. 47, p. 209-223, 2005.
- SHARIFF, F. M. et al. A newly isolated thermostable lipase from *Bacillus* sp. *International Journal of Molecular Science*, v. 12, p. 2917-2934, 2011.
- SOARES, C. M. F.; CASTRO, H. F.; MORAES, F. F.; ZANIN, G. M. Characterization and utilization of *Candida rugosa* lipase immobilized on controlled pore silica. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 77-79, p. 745-757, 1999.
- SUGIHARA, A. et al. Purification and characterization of a novel thermostable lipase from *Bacillus* sp. *Journal of Biochemistry*, v. 109, p. 211-216, 1991.
- TAN, T. et al. Optimization of culture conditions and properties of lipase from *Penicillium camembertii* Thom PG-3. *Process Biochemistry*, v. 39, p.1495-1502, 2004.
- TREICHEL, H. et al. A review on microbial lipases production. *Food Bioprocess Technology*, v. 3, p. 182-196, 2010.
- VARGAS, G. D. L. P. et al. Optimization of lipase production by *Penicillium simplicissimum* in soybean meal. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, n. 83, p. 47-54, 2008.
- VEITH, B. et al. The complete genome sequence of *Bacillus licheniformis* an organism with great industrial potential. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, v. 7, n. 4, p. 204-211, 2004.
- WALAVALKAR, G.S. e BAPAL M.M. *Staphylococcus warneri* BW 94 A new source of lipase. *Indian Journal Experimental Biology*, v. 40, p. 1280-1284, 2002.
- WANG, Y. et al. Thermostable alkaline lipase from a newly isolated thermophilic *Bacillus* strain A30-1 (ATCC 53841). *Journal of Fermentation and Bioengineering*, v. 79, p. 433-438, 1995.
- ZHAO, L. L.; CHEN, X. X.; XU, J. H. Strain improvement of *Serratia marcescens* ECU1010 and medium cost reduction for economic production of lipase. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, n. 26, p. 537-543, 2010.
- ZHEN-QIAN, Z.; CHUN-YUN, G. Screening for lipase-producing *Enterobacter agglomerans* for biodiesel catalyzation. *African Journal of Biotechnology*, v. 8, p.1273-1279, 2009.

Recebido em 6 set. 2011 / aprovado em 18 nov. 2011

Para referenciar este texto

TAVARES, L. L. P. et al. Seleção de diferentes meios para produção de lipase a partir de *Bacillus licheniformis* (UCP 1014). *Exacta*, São Paulo, v. 9, n. 3, p. 309-316, 2011.