

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Produção e imobilização de lipases produzidas pelo fungo  
endofítico *Cercospora kikuchii* para aplicações biotecnológicas**

Tales Alexandre da Costa e Silva

Ribeirão Preto  
2014

## RESUMO

**COSTA-SILVA, T. A. Produção e imobilização de lipases produzidas pelo fungo endofítico *Cercospora kikuchii* para aplicações biotecnológicas.** 2014. 231f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

O objetivo desse trabalho foi avaliar estratégias de imobilização de lipases produzidas pelo fungo endofítico *Cercospora kikuchii* através do uso de suportes não convencionais (subprodutos agroindustriais e quitosana). Investigou-se o uso de equipamentos de secagem (estufa, leito de jorro, leito fluidizado, liofilizador e “spray dryer”) para desidratação dos derivados imobilizados obtidos. A imobilização por ligação covalente, usando glutaraldeído, epicloridrina e metaperiodato de sódio como agentes ligantes, apresentou valores para retenção da atividade enzimática superiores à imobilização por adsorção e encapsulação. Nos ensaios de imobilização utilizando glutaraldeído e secagem em leito de jorro, os melhores valores obtidos foram para a celulose microcristalina com retenção da atividade enzimática de 179,1%, seguido da casca de arroz 173,9%. A palha de milho foi o melhor suporte na imobilização covalente e secagem em estufa, com retenção de mais de 100% da atividade enzimática inicial. Na secagem por liofilização houve destaque para a casca de arroz (163,6%) seguida de palha de milho (157,2%) e cana de açúcar (154,6%). Utilizando quitosana como suporte e secagem em leito fluidizado, o valor para a retenção da atividade enzimática foi de 93,9% empregando-se o glutaraldeído como agente ligante. Na secagem do sistema quitosana-lipase em estufa a retenção da atividade enzimática foi de 68,2% e para secagem por liofilização esse valor foi superior a 80,0%. Realizou-se a caracterização dos materiais utilizados como suportes e estes apresentaram área superficial relativamente alta, elevada porosidade e estrutura constituída de macroporos. Estas características foram importantes por proporcionar a obtenção da enzima imobilizada com alta retenção da atividade catalítica. Alguns parâmetros bioquímicos e cinéticos da lipase na forma livre foram diferentes da lipase imobilizada. A alteração mais evidente foi a afinidade ao substrato ( $K_m$ ), que se mostrou dependente do protocolo de imobilização utilizado. Avaliou-se o potencial de aplicação biotecnológica dos derivados imobilizados que apresentaram maior retenção da atividade enzimática. Para a lipase imobilizada em casca de arroz o rendimento de transesterificação (produção de biodiesel) foi superior a 96,0% após 72 horas de reação enquanto que para as microesferas de quitosana esse valor foi atingido após 120 horas. Os produtos obtidos da transesterificação do óleo de coco estão de acordo com a especificação da Agência Nacional de Petróleo (ANP). Na avaliação da atividade de esterificação, a máxima concentração de butirato de butila foi obtida após 6 horas de reação, correspondendo a uma taxa de conversão de aproximadamente 99,0%, quando utilizou-se quitosana como suporte. Para o uso da casca de arroz, a máxima concentração de butirato de butila foi obtida também após 6 horas de reação, correspondendo a uma taxa de conversão de 92,5%. Este trabalho demonstrou que suportes de baixo custo permitiram a obtenção de derivados imobilizados com características semelhantes àqueles obtidos com o uso de polímeros sintéticos, os quais apresentaram excelente potencial para síntese de biodiesel e de butirato butila.

Palavras-chave: Lipase; Imobilização de enzimas, Secagem, Subprodutos agroindustriais, Quitosana.

## *1. Introdução*

---

## 1. INTRODUÇÃO

Desde que o homem se organizou e passou a viver em sociedade, o uso das enzimas tornou-se uma prática constante, mesmo que de modo empírico, para produção de bebidas e alimentos. Somente com o desenvolvimento do interesse científico, estimulado pela ânsia do conhecimento, que ocorreu a identificação e caracterização dessas biomoléculas. Foram vários os cientistas que deram os passos iniciais para o esclarecimento da natureza das enzimas, destacando já naquela época o caráter inter e pluridisciplinar desse tipo de estudo. Trabalhos como o desenvolvimento do microscópio pelo holandês Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723), do fisiologista Wilhelm Friedrich Kühne (1837-1900) com sucos gástricos (tripsina) que digeriam proteínas e do pai da microbiologia Louis Pasteur (1822-1895) que identificou os microrganismos responsáveis pelas fermentações, tiveram forte peso para o desenvolvimento da enzimologia. Entretanto, até os trabalhos desses renomados cientistas acreditava-se, por exemplo, que as leveduras eram responsáveis pela fermentação do açúcar a álcool e que essa transformação era catalisada por fermentos, cuja ação dependia exclusivamente da existência de células vivas. Essa ideia mudou com o trabalho de Eduard Büchner (1860-1917) o qual mostrou que extratos fermentados eram capazes de transformar açúcar a álcool independentemente dos microrganismos produtores. Esse trabalho foi um marco para a bioquímica e abriu portas para outros cientistas isolarem diferentes enzimas e estudarem suas propriedades.

A partir dos estudos das enzimas, a enzimologia, foi possível chegar ao desenvolvimento da Tecnologia Enzimática. Um fato que exemplifica o elo existente entre a geração de conhecimento e sua aplicação tecnológica foi que a tripsina estudada por Kühne em 1876 foi utilizada por Otton Röhn em 1913 em formulação de biodetergentes.

A utilização de enzimas como catalisador evolui expressivamente nos últimos anos. Isso é uma decorrência direta do desafio imposto a nós de termos uma sociedade moderna baseada na combinação do desenvolvimento econômico e a preservação do meio ambiente. Assim a tecnologia enzimática pode caminhar de forma paralela com a bioeconomia, a qual se apresenta como uma economia ecológica e socialmente sustentável. Desta forma, a utilização da inovação, através do uso de tecnologias limpas, deve ser a ligação entre a economia e o meio

ambiente, diminuindo os impactos ambientais sem o comprometimento da competitividade das empresas. O Brasil é um dos países que mais pode se beneficiar com o desenvolvimento da tecnologia enzimática nacional. Isso se deve a enorme quantidade de matérias-primas renováveis que podem ser transformadas, por via enzimática, em produtos com alto valor agregado e úteis para setores estratégicos da economia.

A alta eficiência catalítica, alto grau de especificidade e a capacidade de acelerar reações químicas específicas sem a formação de subprodutos indesejáveis são aspectos que contribuem para o emprego acelerado destes biocatalisadores em vários ramos da indústria. Dentre as enzimas de interesse industrial, destacam-se as lipases que atuam tanto em processos de síntese como de hidrólise. Além disso, as lipases possuem especificidade comprovada, fornecendo produtos que não poderiam ser obtidos por processos químicos convencionais. Esta habilidade catalítica tem sido aplicada na modificação de óleos e gorduras, síntese de compostos orgânicos, em formulações de detergentes, procedimentos analíticos, tratamento de resíduos ricos em gordura, entre outras (SAXENA et al., 1999).

As lipases podem ser obtidas principalmente de glândulas de animais, de sementes, látex e tecidos vegetais. Entretanto, as lipases mais utilizadas industrialmente são em sua maioria de origem microbiana, com destaque para aquelas produzidas por leveduras.

A nova era da biocatálise, atualmente amparada pela biossustentabilidade coloca, sem dúvida, as lipases como biocatalisadores do futuro e a grande biodiversidade brasileira, principalmente de microrganismos, justifica a busca por novos produtores de enzimas com características especiais, que possam ser aplicadas nos segmentos industriais que necessitam dessa tecnologia. Este trabalho tem como foco a utilização de um fungo endofítico, *Cercospora kikuchii*, como produtor da enzima em estudo. É importante ressaltar, que até o presente momento, nosso grupo de pesquisa destaca-se como um dos poucos que utiliza microrganismo endofítico como fonte produtora de lipases.

O uso de enzimas tem muitas aplicações industriais sendo, no entanto, limitado por sua relativa instabilidade em solução, custos elevados de isolamento e purificação e a dificuldade técnico-econômica de recuperação para reutilização da

enzima ativa após término do processo catalítico. A imobilização de enzimas permite a reutilização em conversões repetidas e possibilita o desenvolvimento de processos tecnológicos contínuos. Logo, o uso de enzima imobilizada pode aumentar o volume de produção e reduzir o preço dos produtos.

Diante do que foi apresentado, este trabalho teve como objetivo geral o estudo da utilização de suportes não convencionais, dentre estes incluem-se subprodutos agroindustriais, para imobilizar lipases produzidas pelo fungo endofítico *Cercospora kikuchii*, investigando-se também a viabilidade de diferentes métodos de secagem como estufa por convecção forçada, liofilização, “spray drying”, leito de jorro e leito fluidizado nas operações de imobilização.

## *6. Conclusões*

---

## 6. CONCLUSÕES

Nos últimos anos avanços significativos têm sido efetuados no uso de enzimas em meios não convencionais. Esses avanços impulsionam uma nova era de aplicação de enzimas em síntese orgânica. Tais atividades são de extrema importância para o desenvolvimento de novas rotas de processo, para obtenção de produtos novos ou conhecidos a custos mais competitivos, ampliando simultaneamente, o potencial de aplicação das enzimas em processos industriais. Portanto, o uso industrial de enzimas como catalisadores depende da eficiência de sua imobilização e do emprego de suportes adequados, de tal forma que o investimento inicial em matéria-prima (enzima e suporte) seja compensado pela elevada atividade e estabilidade do derivado imobilizado obtido.

O desenvolvimento deste trabalho levou à obtenção de informações relevantes sobre a tecnologia de imobilização de enzimas. Somado à essa relevante área da tecnologia enzimática, inseriu-se a tecnologia de secagem nas operações de imobilização. Assim, como conclusão geral do trabalho tem-se que a imobilização das lipases produzidas por *C. kikuchii* mostrou-se bastante relevante do ponto de vista do baixo custo dos suportes utilizados, bem como em função dos altos valores de retenção da atividade enzimática tanto após a secagem quanto para o período de armazenamento.

Para a utilização dos subprodutos agroindustriais a ligação covalente foi o método de imobilização mais viável juntamente com a secagem em leito de jorro por apresentar os maiores níveis de atividade enzimática residual. Por outro lado, com o uso da quitosana como suporte, a ligação covalente manteve-se como melhor método de imobilização enquanto o leito fluidizado foi o melhor equipamento de secagem. Por fim, diante desses resultados promissores, a imobilização de outras enzimas também poderá ser avaliada utilizando estes métodos, reforçando assim, o desenvolvimento e a aplicação da tecnologia enzimática no país.

A seguir apresentam-se as principais conclusões obtidas a partir das condições experimentais analisadas.

## 6.1 Caracterização dos suportes agroindustriais

- Os suportes são constituídos basicamente dos mesmos componentes (celulose, lignina e hemicelulose), diferindo na proporção de cada um;
- Os suportes agroindustriais apresentaram uma área superficial relativamente alta (média de 136,2 m<sup>2</sup>/g) o que auxiliou na viabilidade dos métodos de imobilização, principalmente por adsorção;
- Os suportes apresentaram alta porosidade, tendo sua estrutura classificada como macroporosa;
- As densidades analisadas (densidade “bulk”, densidade aparente e densidade real) foram diferentes para cada tipo se suporte, o que pode influenciar na etapa de envase e transporte ou na fluidodinâmica em reatores;
- A análise qualitativa dos suportes após a ativação com os agentes ligantes através de espectrometria de infravermelho (FTIR) mostrou que houve modificações na estrutura dos mesmos devido ao surgimento de novas bandas ou desaparecimento de bandas originais nos espectros.

## 6.2 Protocolos para imobilização de lipase em subprodutos agroindustriais

### 6.2.1 Imobilização por adsorção

- A imobilização por adsorção da lipase do fundo *C. kikuchi* mostrou-se viável para todos os métodos de secagem avaliados (estufa, liofilizador e “spray dryer”);
- Na secagem por estufa a retenção da atividade enzimática variou de 64,5% a 89,0% e durante o período de armazenamento a retenção da atividade enzimática dos derivados imobilizados variou de 41,1 a 61,0%. A média de retenção da atividade da enzima após cinco ciclos de reação foi de 46,4%;

- Para a liofilização a retenção da atividade foi superior a 75,0% para todos os suportes avaliados. A média da retenção da atividade no período de armazenamento (3 meses) foi de 78,2% enquanto que a retenção da atividade após cinco ciclos reacionais variou de 37,5 a 48,7%;
- Com o uso do “spray dryer” a atividade enzimática residual foi superior a 85,5% para todos os suportes avaliados. O rendimento médio da produção da enzima imobilizada foi de 57,0%;
- A retenção da atividade enzimática no período de armazenamento apresentou valor médio de 70,0%, sendo o maior valor obtido para o processo de imobilização por adsorção. Os valores da retenção da atividade após cinco ciclos de reação também foram maiores, sendo que houve a manutenção da atividade acima de 50,0% em todos os suportes utilizados.

### **6.2.2 Imobilização por ligação covalente**

- A imobilização por ligação covalente de uma forma geral apresentou valores para retenção da atividade enzimática superiores à imobilização por adsorção;
- O leito de jorro foi a melhor opção no que se refere aos equipamentos de secagem utilizados quando os subprodutos agroindustriais foram os suportes, devido a maior valor da retenção da atividade enzimática;
- Na secagem em leito de jorro e com concentração de glutaraldeído a 1,5% (v/v), os melhores resultados foram obtidos para a celulose microcristalina com retenção da atividade enzimática de 179,1%, seguido da casca de arroz e da palha de milho com 173,9% e 169,8%, respectivamente;
- Os derivados imobilizados obtidos por secagem em leito de jorro e glutaraldeído como agente ligante tiveram uma diminuição da atividade enzimática com uma média de apenas 17,31% enquanto que a forma livre da

enzima perdeu 85,8% de sua atividade inicial após 6 meses de armazenamento. Os valores da retenção da atividade após cinco ciclos de reação usando *p*-NPP como substrato teve uma média de 67,2%;

- O rendimento do processo em termos de recuperação do produto no leito de jorro variou de 55,6 a 80,2% para o uso do glutaraldeído como agente ligante.
- A palha de milho revelou-se como o melhor suporte na imobilização covalente usando a secagem em estufa como método de desidratação do sistema suporte-enzima, uma vez que propiciou a retenção de mais de 90,0% da atividade enzimática inicial;
- Na secagem por liofilização, com o glutaraldeído na concentração de 1,5% (v/v), houve destaque para a casca de arroz (163,5%) seguida de palha de milho (157,5%), bagaço de cana (154,7%) e sabugo de milho (129,4%) no que se refere à retenção da atividade enzimática;

### **6.3 Protocolos para imobilização de lipases em quitosana**

- A técnica de produção das microesferas de acetato de quitosana por coacervação e inversão de fases, se mostrou eficiente, produzindo microesferas de tamanho uniforme e formato esférico, apresentando após o processo de secagem tamanho médio de partículas da ordem de 0,6 mm;
- Para o uso das microesferas de acetato de quitosana como suporte, a secagem utilizando leito fluidizado mostrou-se a mais vantajosa dentre todas as outras (secagem em estufa e liofilizador);
- O valor para a retenção da atividade enzimática foi de 93,9% enquanto que a retenção da atividade após 5 ciclos de reação foi superior a 65,0% para o uso do glutaraldeído como agente ligante;

- Na secagem do sistema quitosana-lipase por estufa, a eficiência de imobilização foi de 61,8% enquanto que a retenção da atividade enzimática foi de 68,6% utilizando ligação covalente;
- A secagem por liofilização apresentou resultados bem promissores, com eficiência de imobilização de 84,4% e retenção da atividade superior a 80,0% para ligação covalente.

#### **6.4 Protocolos para imobilização de lipases em quitosana magnetizada**

- A imobilização da lipase em quitosana contendo partículas magnéticas mostrou-se viável tanto pela alta retenção da atividade enzimática, quanto pelos benefícios no processo de recuperação dos derivados imobilizados do meio reacional;
- Dentre os dois métodos de microencapsulação explorados neste trabalho a encapsulação por “spray drying” apresentou os resultados mais promissores em relação a retenção da atividade enzimática, enquanto que a microencapsulação via “cross-linking” apresentou os melhores índices de retenção de atividade após 5 ciclos reacionais da enzima;
- A estabilidade da enzima imobilizada por encapsulação, durante o período de armazenamento, foi mais uma vez muito superior à estabilidade da enzima na forma livre e em solução. Para a enzima imobilizada a média de retenção de atividade após 6 meses foi de 76,0% enquanto que a enzima livre esse valor foi de 14,2%.

#### **6.5 Protocolo de imobilização de lipases purificadas**

- Os valores de retenção da atividade enzimática para a enzima pura e imobilizada foi, de uma forma geral, inferior àqueles obtidos para imobilização da enzima na forma bruta;

- Semelhante ao extrato bruto, a imobilização em casca de arroz ativada com 1,5% (v/v) de glutaraldeído proporcionou a maior retenção da atividade enzimática (115,2%);
- A imobilização da lipase purificada em quitosana, ativada com glutaraldeído e utilizando a secagem em leito fluidizado, promoveu a retenção da atividade enzimática em aproximadamente 90,0%.

### **6.6 Caracterização físico-química dos derivados imobilizados**

- As análises por espectrometria de infravermelho e elemental (CNH) evidenciaram a eficiência dos processos de imobilização na incorporação da enzima sobre a superfície dos suportes;
- A banda característica da lipase livre claramente apareceu no número de onda de  $1341\text{ cm}^{-1}$  o que é observado também para o derivado imobilizado (suporte + lipase), sugerindo a fixação da enzima no suporte após o processo de imobilização;
- O nitrogênio foi claramente o elemento que mais aumentou na superfície do suporte após a imobilização da enzima, com uma média de aumento de 50,2%;
- Através da análise morfológica constatou-se que os sistemas enzima-suporte apresentaram formas claramente distintas, com predominância de partículas com superfícies irregulares, cilíndricas e estruturas na forma de lascas;
- O estudo das propriedades bioquímicas e cinéticas dos derivados imobilizados mostrou a influência do processo de imobilização nas características das lipases estudadas com deslocamento nos valores ótimos de temperatura e pH, assim como alteração nos valores de  $K_m$  e  $V_{max}$ .

## 6.7 Avaliação do potencial de aplicação biotecnológica

- A etanolise do óleo de coco, através do emprego da lipase imobilizada em quitosana e casca de arroz, foi eficiente na conversão da matéria prima-lipídica em ésteres etílicos, promovendo rendimentos superiores a 96,0%;
- A qualidade do produto final (biodiesel) determinada pelas análises, cromatografia gasosa (CG) e RMN<sup>1</sup>H atendeu aos parâmetros exigidos pelas normas competentes;
- A lipase purificada, imobilizada em casca de arroz e quitosana, foi efetiva para a aplicação na síntese de ésteres empregando butanol e ácido butírico como substratos com conversões superiores a 92,0%;
- O uso do planejamento fatorial mostrou ser uma ferramenta importante para determinar as condições adequadas para obtenção dos ésteres aromatizantes: os valores ótimos são obtidos nas reações com massa de enzima de 0,5 gramas e para temperaturas de reação no intervalo de 32 a 42 °C.

## *Referências Bibliográficas*

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, H.; COMEAU, L. Aroma synthesis by immobilized lipase from *Mucor sp.* **Enzyme and Microbial Technology**, v.32, p.589–595, 2003.
- ABROL, K.; QAZI, G.N.; GHOSHA, A.K. Characterization of an anion-exchange porous polypropylene hollow fiber membrane for immobilization of ABL lipase. **Journal of Biotechnology**, v.128, p.838–848, 2007.
- ADLERCREUTZ, P. Immobilized enzymes. In: NAGODAWITHANA, T., REED, G., Eds. **Enzymes in Food Processing**, 3rd ed., Academic Press Inc., San Diego, 1993. p.116.
- ADLERCREUTZ, P. Immobilisation and application of lipases in organic media. **Chemical Society Reviews**, v.42, p.6406-6436, 2013.
- AGNES, E.J.; PEREIRA, E.B.; AGUIAR, R.O.; MONDARDO, R.M. Avaliação e comparação da eficiência de imobilização de lipase pancreática em quitosana para produção de ácidos graxos em frascos agitados. In: **VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, 2003.
- AGUIAR, R.A.; MONDARDO, R.M.; AGNES, E.J.; CASTRO, H.F.; PEREIRA, E.B. Avaliação e comparação da eficiência de imobilização de lipase pancreática em quitosana para produção de ácidos graxos em frascos agitados. **Acta Scientiarum Technology**, v.32, p.15-19, 2010.
- ALLOUE, W.A.M.; DESTAIN, J.; MEDJOUB, T.E.; GHALFI, H.; KABRAN, P.; THONART, P. Comparison of *Yarrowia lipolytica* lipase immobilization yield of entrapment, adsorption, and covalent bond techniques. **Applied Biochemical Biotechnology**, v.150, p.51-63, 2008.
- ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V.; HENNING, A.A. Doenças da soja. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 3 ed. São Paulo, 1997.
- ALMEIDA-NETO, A.F. **Caracterização e avaliação de argilas como adsorventes na remoção e eluição de íons cobre e mercúrio em diferentes sistemas**. Campinas, 2011. Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia Química, Unicamp.
- ALONSO, F.O.M. **Efeito da agitação e aeração na produção de lipases por *Yarrowia lipolytica* (IMUFRJ 50862)**. Rio de Janeiro, 2007. 98p. Dissertação de mestrado - Centro de Ciências da Saúde - Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- ALVAREZ-MACARIE, E.; AUGIER-MAGRO, V.; BARATTI, J. Characterization of a thermostable esterase activity from the moderate thermophile *Bacillus licheniformes*. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v.63, p.63-70, 1999.
- AMORIM, R.V.S.; MELO, E.S.; CANEIRO-DA-CUNHA, M.G.; LEDINGHAN, W.M.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Chitosan from *Syncephalastrum racemosum* used as a film support for lipase immobilization. **Bioresource Technology**, v.89, p.35-39, 2003.

AOCS. **American Oil Chemists' Society Official Methods and Recommended Practices of the AOCS.** 5<sup>th</sup> Ed. AOCS Press. (2004).

ARNOLD, A.E.; MAYNARD, Z.; GILBERT, G.S.; COLEY, P.D.; KURSAR, T.A. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? **Ecology Letters**, v.3, p.267-274, 2000.

ARROYO, M.; SANCHEZ-MONTERO, J.M.; SINISTERRA, V. Thermal stabilization of immobilized lipase B from *Candida antarctica* on different supports: Effect of water activity on enzymatic activity in organic media. **Enzyme and Microbial Technology**, v.24, p.3-12, 1999.

AZEVEDO, J.L.; MACCHERONI, J.W.; PEREIRA, J.O.; ARAÚJO, W.L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal Biotechnology**, v.3, p.112-141, 2000.

BALCÃO, V.M.; PAIVA, A.L.; MALCATA, F.X. Bioreactors with immobilized lipases: state of the art. **Enzyme Microbial Technology**, v.18, p.392-416, 1996.

BARBOSA, O.; TORRES, R.; ORTIZ, C.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. The slow-down of the CALB immobilization rate permits to control the inter and intra molecular modification produced by glutaraldehyde. **Process Biochemistry**, v.47, p.766–74, 2012.

BARBOSA, O.; TORRES, R.; ORTIZ, C.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Versatility of glutaraldehyde to immobilize lipases: Effect of the immobilization protocol on the properties of lipase B from *Candida antarctica*. **Process Biochemistry**, v.47, p.1220–1227, 2012.

BAUTISTA, F.M.; BRAVO, M.C.; CAMPELO, J.M.; GARC, A.; LUNA, D.; MARINAS, J.M.; ROMERO, A.A. Covalent immobilization of porcine pancreatic lipase on amorphous AlPO<sub>4</sub> and other inorganic supports. **Journal Chemical Technology Biotechnology**, v.72, p.249-254, 1998.

BAYMAN, P.; ANGULO-SANDOVAL, P.; BAEZ-ORTIZ, Z.; LODGE, J.D. Distribution and dispersal of Xylaria endophytes in two tree species in Puerto Rico. **Mycological Research**, v.102, p.944-948, 1998.

BEAUCHAT, L.R. Microbial stability as affected by water activity. **Cereal food world**, v.26, p.345-349, 1991.

BERNSTEIN, M.E.; CARROLL, G. Internal fungi in old-growth *Douglas fir* foliage. **Canadian Journal of Botany**, v.55, p.644-653, 1977.

BETANCOR, L.; LÓPEZ-GALLEGO, F.; HIDALGO, A.; ALONSO-MORALES, N.; MATEO, GD-OC.; FERNÁNDEZ-LAFUENTE, R. Different mechanisms of protein immobilization on glutaraldehyde activated supports: effect of support activation and immobilization conditions. **Enzyme Microbial Technology**, v.39, p.877–82, 2006.

BHUSHAN, I.; PARSHAD, R.; QAZI, G.N.; GUPTA, V.K. Immobilization of lipase by entrapment in ca-alginate beads. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v.23, p.552-562, 2008.

- BICKERSTAFF, G.F. **Immobilization of enzymes and cells.** In: SCHMAUDES, H. P. (Ed) Methods in biotechnology. Totowa: Humara press, v.1, p.1-11, 1997.
- BLUM, H.; BEIER, H.; GROSS, H.J. Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. **Electrophoresis**, v.8, p.93-99, 1987.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities for protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.156-171, 1976.
- BRAGA, L.P.; BRUNO, L.M.; CASTRO, H.F. Uso e reutilização da lipase de candida rugosa imobilizada em suporte híbrido obtido pela técnica sol- gel. In: **VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, 2005.
- BRANDY, D.; JORDAAN, J.; SIMPSOM, C.; CHETTY, A.; ARUMUGAM, C.; MOOLMAN, F.S. Spherezymes: A novel structured self-immobilisation enzyme technology. **Bio Medical Center Biotechnology**, v.8, p.123-134, 2008.
- BRASIL. Ministério de Minas e Energia. **Forte crescimento da produção de biodiesel. Boletim mensal dos combustíveis renováveis**, Brasília, n. 37, mar. 2010.
- BREM, J.; TURCU, M.C.; PAIZS, C.; LUNDELL, K.; TOSA, M-L.; IRIMIEA, F-D.; KANERVA, L.T. Immobilization to improve the properties of *Pseudomonas fluorescens* lipase for the kinetic resolution of 3-aryl-3-hydroxy esters. **Process Biochemistry**, v.47, p.119–126, 2012.
- BRÍGIDA, A.I.S.; PINHEIRO, A.D.T.; FERREIRA, A.L.O.; GONÇALVES, L.R.B. Immobilization of *Candida antarctica* Lipase B by adsorption to green coconut fiber. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v.146, p.173-187, 2008.
- BRÍGIDA, A.I.S.; PINHEIRO, A.D.T.; FERREIRA, A.L.O.; PINTO, G.A.S.; GONÇALVES, L.R.B. Immobilization of *Candida antarctica* lipase B by covalent attachment to green coconut fiber. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.136–140, p.67-80, 2007.
- BRINK, L.E.S.; LUYBEN, K.C.H.A.M.; VAN'TRIET, K. Biocatalysis in organic media. **Enzyme Microbiol Technology**, v.10, p.736–74, 1988.
- BRUNO, L.M.; LIMA-FILHO, J.L.; CASTRO, H.F. Comparative performance of microbial lipases immobilized on magnetic polysiloxane polyvinyl alcohol particles. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.51, p.889-896, 2008.
- BRUNO, L.M.; SAAVEDRA, G.A.; CASTRO, H.F.; LIMA-FILHO, J.L.; MELO, E.H.M. Variables that affect immobilization of *Mucor miehei* lipase on nylon membrane. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.20, p.371–375, 2004.
- BRYJAK, J.; TROCHIMCZUK, A.W. Immobilization of lipase and penicillin acylase on hydrophobic acrylic carriers. **Enzyme and Microbial Technology**, v.39, p.573–578, 2006.

BRZOZOWSKI, A.M.; DEREWENDA, U.; DEREWENDA, Z.S.; DODSON, G.G.; LAWSON, D.M.; TURKENBURG, J.P. A model for interfacial activation in lipases from the structure of a fungal lipase-inhibitor complex. **Nature**, v.351, p.491-494, 1991.

BURKERT, J.F.M. **Otimização das condições de produção da lipase por *Geotrichum candidum* NRRL-Y552.** Campinas, 2002. 95p. Tese de Doutorado - Departamento de Ciências dos Alimentos - Universidade Estadual de Campinas.

BURKERT, J.F.M.; MAUGERI, F.; RODRIGUES, M.I. Optimization of extracellular lipase production by *Geotrichum* sp. using factorial design. **Bioresource Technology**, v.91, p.74–84, 2004.

CAMPBELL, M.K. **Bioquímica.** 3.ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2000. 751p.

CANILHA, L.; CARVALHO, W.; ROCHA, G.J.M.; ALMEIDA E SILVA, J.B.; GIULIETTI, M. **Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, extraído com etanol ou ciclohexano/etanol.** In: 47º Congresso Brasileiro de Química - CBQ, 2007.

CANMET – Energy Diversification Research Laboratory, 1999, Disponível em: <http://cetc-varennes.nrcan.gc.ca/eng/publication/1999-46-47e.pdf>. Acesso em fevereiro de 2011.

CANNON, P.F.; SIMMONS, C.M. Diversity and host preference of leaf endophytic fungi in the Iwokrama Forest Reserve, Guyana. **Mycologia**, v.94, p.210-220, 2002.

CAO, L. **Carrier-bound Immobilized Enzymes: Principles, Applications and Design.** 1.ed. The Netherlands: editora WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2005, 563p.

CARROLL, G.C.; CARROL, F.E. Studies on the incidence of coniferous needle endophytes in the Pacific Northwest. **Canadian Journal of Botany**, v.56, p.3034-3043, 1978.

CARVALHO, O.C.; CALAFATTI, S.A.; MARASSI, M.; SILVA, D.M. Potencial de biocatálise enantiosseletiva de lipases microbianas. **Química Nova**, v.28, p.614-621, 2005.

CASA, R.M.; GUISAN, J.M.; SANCHES-MONTEROA, J.M.; SINISTERRA, J.V. Modification of the activities of two different lipases from *Candida rugosa* with dextrans. **Enzyme and Microbial Technology**, v.30, p.30–40, 2002.

CASTRO, A.M.; PEREIRA Jr., N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 27, p.181-188, 2010.

CASTRO, H.F.; LIMA, R.; ROBERTO, C.I. Rice straw as a support for immobilization of microbial lipase. **Biotechnology Progress**, v.17, p.1061-1064, 2001.

CASTRO, H.F.; OLIVEIRA, P.C.; SOARES, C.M.F.; ZANIN, G.M. Immobilization of porcine pancreatic lipase on celite for application in the synthesis of butyl butyrate in a nonaqueous system. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.76, p.147-152, 1999.

CASTRO, H.F.; SILVA, M.L.C.P; SILVA, G.L.J.P. Evaluation of inorganic matrixes as supports for immobilization of microbial lipase. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.17, p.456-463, 2000

CHANG, S-W.; SHAW, J-F.; YANG, K-H.; CHANG, S-F.; SHIEH, C-J. Studies of optimum conditions for covalent immobilization of *Candida rugosa* lipase on poly(c-glutamic acid) by RSM. **Bioresource Technology**, v.99, p.2800–2805, 2008.

CHATTOPADHYAY, S.; SEN, R. A comparative performance evaluation of jute and eggshell matrices to immobilize pancreatic lipase. **Process Biochemistry**, v.47, p.749–757, 2012.

CHEN, G-J.; KUO, C-H.; CHEN, C-I.; YU, C-C.; SHIEH, C-J.; LIU, Y-C. Effect of membranes with various hydrophobic/hydrophilic properties on lipase immobilized activity and stability. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.113, p.166–172, 2012.

CHEN, J-P.; HWANG, Y-N. Polyvinyl formal resin plates impregnated with lipase-entrapped sol-gel polymer for flavor ester synthesis. **Enzyme and Microbial Technology**, v.33, p.513–519, 2003.

CHEN, J-P.; LIN, W-S. Sol-gel powders and supported sol-gel polymers for immobilization of lipase in ester synthesis. **Enzyme and Microbial Technology**, v.32, p.801–811, 2003.

CHIOU, S-H.; WU, W-T. Immobilization of *Candida rugosa* lipase on chitosan with activation of the hydroxyl groups. **Biomaterials**, v.25, p.197-204, 2004.

CHOWDARY, G.V.; RAMESH, M.N.; PRAPULLA, S.G. Enzymic synthesis of isoamyl isovalerate using immobilized lipase from *Rhizomucor miehei*: multivariate analysis. **Process Biochemistry**, v.186, p.331-339, 2001.

CIHANGIR, N.; SARIKAYA, E. Investigation of lipase production by a new isolated of *Aspergillus* sp. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.20, p.193–197, 2004.

COLLINS, S.E.; LASSALLE, V.; FERREIRA, M.L. FTIR-ATR characterization of free *Rhizomucor miehei* lipase (RML), Lipozyme RM IM and chitosan-immobilized RML. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.72, p.220– 228, 2011.

COSTAS, L.; BOSIO, V.E.; PANDEY, A.; CASTRO, G.R. Effects of organic solvents on immobilized lipase in pectin microspheres. **Applied Biochemical Biotechnology**, v.151, p.578–586, 2008.

COSTA-SILVA, T.A. **Caracterização bioquímica e secagem em "spray dryer" de lipases produzidas pelo fungo endofítico *Cercospora kikuchii*.** Ribeirão Preto, 2010. Dissertação de mestrado. Departamento de Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto.

COSTA-SILVA, T.A.; NOGUEIRA, M.A.; SOUZA, C.R.F.; OLIVEIRA, W.P.; SAID, S. Lipase production by endophytic fungus *Cercospora kikuchii*: stability of enzymatic activity after spray drying in the presence of carbohydrates. **Drying Technology**, v.29, p.1112 -1219, 2011.

COSTA-SILVA, T.A.; SAID, S.; SOUZA, C.R.F.; OLIVEIRA, W.P. Stabilization of endophytic fungus *Cercospora kikuchii* lipase by spray drying in presence of maltodextrin and  $\beta$ -cyclodextrin. **Drying Technology**, v. 28, p.1245-1254, 2010.

CRUZ JR, A.; PACHECO, S.M.V.; FURIGO JR, A. Imobilização de lipase de *Candida antarctica* B em esferas de quitosana para obtenção de biodiesel por transesterificação de óleo de mamona. In: **VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, 2007.

CUI, Y.; LI, Y.; YANG, Y.; LIU, X.; LEI, L.; ZHOU, L.; PAN, F. Facile synthesis of amino-silane modified superparamagnetic  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles and application for lipase immobilization. **Journal of Biotechnology**, v.150, p.171–174, 2010.

CUNHA, A.G.; FERNÁNDEZ-LORENTE, G.; BEVILAQUA, J.V.; DESTAIN, J.; PAIVA, L.M.C.; FREIRE, D.M.G.; FERNÁNDEZ-LAFUENTE, R.; GUISAN, J.M. Immobilization of *Yarrowia lipolytica* lipase - a comparison of stability of physical adsorption and covalent attachment techniques. **Applied Biochemical Biotechnology**, v.146, p.49–56, 2008.

D'SOUZA, R.A. Immobilized enzymes in bioprocess. Disponível em: <http://www.ias.ac.in/currsci/jul10/articles15.htm>, Acesso em fevereiro de 2011.

DA RÓS, P.C.M.; SILVA, G.M.M.; MENDES, A.A.; SANTOS, J.C.; CASTRO, H.F. Evaluation of the catalytic properties of *Burkholderia cepacia* lipase immobilized on non-commercial matrices to be used in biodiesel synthesis from different feedstocks. **Bioresource Technology**, v.101, p.5508–5516, 2010.

DALLA-VECCHIA, R.; NASCIMENTO, M.D.; SOLDI, V. Aplicações sintéticas de lipases imobilizadas em polímeros. **Química Nova**, v.27, n.4, p.623-630, 2004.

DEMARCHE, P.; JUNGHANNS, C.; NAIR, R.R.; AGATHOS, S.N. Harnessing the power of enzymes for environmental stewardship, **Biotechnology Advances**, v.30, p.933-953, 2012.

DEREWENDA, U.; BRZOZOWSKI, A.M.; LAWSON, D.M.; DEREWENDA, Z.S. Catalysis at the interface: the anatomy of a conformational change in a triglyceride lipase. **Biochemistry**, v.31, p.1532–1541, 1992.

DHAKE, K.P.; KAROYO, A.H.; MOHAMED, M.H.; WILSON, L.D.; BHANAGEA, B.M. Enzymatic activity studies of *Pseudomonas cepacia* lipase adsorbed onto copolymer supports containing  $\beta$ -cyclodextrin. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.87, p.105–112, 2013.

DHAKE, K.P.; DESHMUKHA, K.M.; PATIL, Y.P.; SINGHAL, R.S.; BHANAGEA, B.M. Improved activity and stability of *Rhizopus oryzae* lipase via immobilization for citronellol ester synthesis in supercritical carbon dioxide. **Journal of Biotechnology**, v.156, p.46– 51, 2011.

DIAS, F.S; QUEIROZ, D.C.; NASCIMENTO, R.F.; LIMA, M.B. Um sistema simples para preparação de microesferas de quitosana. **Química Nova**, v.31, p.160-163, 2008.

DICKENSHEET, P.A.; CHEN, L.F.; TSAO, G.T. Characterization of yeast invertase immobilised on porous cellulose beads. **Biotechnology and Bioengineering**, v.19, p.365-375, 1977.

DIZGE, N.; AYDINER, C.; IMER, D.Y.; BAYRAMOGLU, M.; TANRISEVEN, A.; KESKINLER, B. Biodiesel production from sunflower, soybean, and waste cooking oils by transesterification using lipase immobilized onto a novel microporous polymer. **Bioresource Technology**, v.100, p.1983–1991, 2009.

DREYFUSS, M.M.; CHAPELA, I.H. **In the discovery of natural products whith terapeutical potential**; Gullo, V.P., Ed. Butterworth-Heinemann, p.49-79, Boston, 1994.

DUMOULIN, E.; BIMBENET, J.J. Mechanical physical and chemical phenomena during fooding drying: consequences on properties of dried products. **Proceedings of International Drying Symposium (IDS'98)**, Halkidiki, Greece, v. A, p.711-718, 1998.

ELNASHAR, M.M.M.; MOSTAFA, H.; MORSY, N.A.; AWAD, G.E.A.A. Biocatalysts: isolation, identification, and immobilization of thermally stable lipase onto three novel biopolymeric supports. **Industrial Engineering Chemical Research**, v.52, p.14760–14767, 2013.

ETZEL, M.R. Enzyme inactivation in a droplet forming a bubble during drying. **Journal of Food Engineering**, v.27, p.17-34, 1996.

FABER, K. **Biotransformations in Organic Chemistry**, 3rd, Springer-Verlag, Berlin, 1997.

FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; ARMISÉN. P.; SABUQUILLO. P.; FERNÁNDEZ-LORENTE, G.; GUISÁN, J.M. Immobilization of lipases by selective adsorption on hydrophobic supports. **Chemistry and Physics of Lipids**, v.93, p.185-97, 1998.

FERNANDEZ-LORENTE, G.; GODOY, C.A.; MENDES, A.A.; LOPEZ-GALLEGO, F.; GRAZU, V.; RIVAS, B.; PALOMO, J.M.; HERMOSO, J.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; GUISAN, J.M. Solid-phase chemical amination of a lipase from *Bacillus thermocatenulatus* to improve its stabilization via covalent immobilization on highly activated glyoxyl-agarose. **Biomacromolecules**, v.9, p.2553–2561, 2008.

FERNÁNEZ-SALGUEIRO, J.; GÓMEZ, R.; CARMONA, M.A. Water activity in selected high-moisture foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.6, p.364-399, 1993.

FORESTI, M.L.; ALIMENTI, G.A.; FERREIRA, M.L. Interfacial activation and bioimprinting of *Candida rugosa* lipase immobilized on polypropylene: effect on the enzymatic activity in solvent-free ethyl oleate synthesis. **Enzyme and Microbial Technology**, v.36, p.338-349, 2005.

FORESTI, M.L.; FERREIRA, M.L. Chitosan-immobilized lipases for the catalysis of fatty acid esterifications. **Enzyme and Microbial Technology**, v.40, p.769–777, 2007.

FREITAS, L.; PAULA, A.V.; SANTOS, J.C.; ZANIN, G.M.; CASTRO, H.F. Enzymatic synthesis of monoglycerides by esterification reaction using *Penicillium camembertii* lipase immobilized on epoxy SiO<sub>2</sub>-PVA composite. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.65, p.87–90, 2010.

GANDHI, N.N. Applications of lipases. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.74, p.621-634, 1997.

GAO, S.; WANG, Y.; DIAO, X.; LUO, G.; DAI, Y. Effect of pore diameter and cross-linking method on the immobilization efficiency of *Candida rugosa* lipase in SBA-15. **Bioresource Technology**, v.101, p.3830–3837, 2010.

GARCIA, C.M. **Transesterificação de óleos vegetais**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2006

GARCIA-GALAN, C.; BERENGUER-MURCIA, A.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; RODRIGUES, R.C. Potential of different enzyme immobilization strategies to improve enzyme performance. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v.353, p.2885–904, 2011.

GATFIELD, I.L.; HOLZMINDEN, G.R. Enzymatic and microbial generation of flavors. **Perfumer & Flavorist**, v.20, p.5-14, 1995.

GHOSH, P.K.; SAXENA, R.K.; GUPTA, R.; YADAV, R.P.; DAVIDSON, S. Microbial lipases: production and applications. **Science Progress**, v.79, p.119-157, 1996.

GIESLER, L. J. **Purple seed stain and *Cercospora Blight***. Disponível em: <http://pdc.unl.edu/agriculturecrops/soybean/purpleseedstain>. Acessado em 19/02/2013.

GIORNO, L.; D'AMORE, E.; DRIOLI, E.; CASSANO, R.; PICCI, N. Influence of –OR ester group length on the catalytic activity and enantioselectivity of free lipase and immobilized in membrane used for the kinetic resolution of naproxen esters. **Journal of Catalysis**, v.247, p.194–200, 2007.

GODDARD, J.M.; HOTCHKISS, J.H. Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds. **Progress in Polymer Science**, v.32, p.698-725, 2007.

GOMES, F.M.; PAULA, A.V.; SILVA, G.S.; CASTRO, H.F. Determinação das propriedades catalíticas em meio aquoso e orgânico da lipase de *Candida rugosa* imobilizada em celulignina quimicamente modificada por carbonildiimidazol. **Química Nova**, v.29, p.710-718, 2006.

GOMES, F.M.; PEREIRA, E.B.; CASTRO, H.F. Immobilization of lipase on chitin and its use in nonconventional biocatalysis. **Biomacromolecules**, v.5, p.17-23, 2004.

GOMES, F.M.; SANTOS, G.S.; CONTE, R.M.; PINATTI, D.G.; CASTRO, H.F. Wood cellulignin as an alternative matrix for enzyme immobilization. **Applied Biochemical Biotechnology**, v.121–124, p.255–268, 2005.

GREGG, S.J.; SING, K.S.W. **Adsorption, surface area, and porosity**. London, Academic Press, 1982. 303p.

- GUIBAL, E. Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents: A review. **Separation and Purification Technology**, v.38, p.43-74, 2004.
- GUNNLAUGSDOTTIR, H.; WANNERBERGER, K.; SIVIK, B. Alcoholysis and glyceride synthesis with immobilized lipase on controlled pore glass of varying hydrophobicity in supercritical carbon dioxide. **Enzyme and Microbial Technology**, v.22, p.360–367, 1998.
- GUO, L.D.; HYDE, K.D.; LIEW, E.C.Y. Identification of endophytic fungi from *Livistonia chinensis* based on morphology and rDNA sequences. **New Phytologist**, v.147, p.617-630, 2000.
- GUO, Z.; BAI, S.; SUN, Y. Preparation and characterization of immobilized lipase on magnetic hydrophobic microspheres. **Enzyme and Microbial Technology**, v.32, p.776–782, 2003.
- GUPTA, M.; MATTIASSON, B. Unique applications of immobilized proteins in bioanalytical systems. **Methods of Biochemical Analysis**, v.36, p.1–34, 1992.
- GUPTA, P.; DUTT, K.; MISRA, S.; RAGHUVANSHI, S.; SAXENA, R.K. Characterization of cross-linked immobilized lipase from thermophilic mould *Thermomyces lanuginosa* using glutaraldehyde. **Bioresource Technology**, v.100, p.4074–4076, 2009.
- HALLING, P.J. Thermodynamic predictions for biocatalysis in nonconventional media: theory, tests, and recommendations for experimental design and analysis. **Enzyme Microbial Technology**, v.16, p.178–206, 1994.
- HARA, P.; HANEFELD, U; KANERVA, L.T. Sol-gels and cross-linked aggregates of lipase PS from *Burkholderia cepacia* and their application in dry organic solvents. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.50, p.80-86, 2008.
- HAMES, D.B. An introduction to polyacrylamide gel electrophoresis. In: **Gel electroforesis of proteins**. Hames, D.B. & Rickwood, D., Oxford: IRL Press, 1987. p.290.
- HASAN, F.; SHAH, A.A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, v.12, p.145-178, 2006.
- HERNANDEZ, K.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Control of protein immobilization: coupling immobilization and site-directed mutagenesis to improve biocatalyst or biosensor performance. **Enzyme Microbial Technology**, v.48, p.107–22, 2011a.
- HERNANDEZ, K.; GARCIA-GALAN, C.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Simple and efficient immobilization of lipase B from *Candida antarctica* on porous styrene–divinylbenzene beads. **Enzyme and Microbial Technology**, v.28, p.446–450, 2011b.
- HOLM, H.C.; COWAN, D. The evolution of enzymatic interesterification in the oils and fats industry. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.110, p.679–691, 2008.

- HORCHANI, H.; BUAZIZ, A.; GARGOURI, Y.; SAYARI, A. Immobilized *Staphylococcus xylosus* lipase-catalysed synthesis of ricinoleic acid esters. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.75, p.35– 42, 2012.
- HUANG, X-J.; CHEN, P-C.; HUANG, F.; OU, Y.; CHEN, M-R.; XU, Z-K. Immobilization of *Candida rugosa* lipase on electrospun cellulose nanofiber membrane. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.70, p.95–100, 2011.
- HUNG, T-C.; GIRIDHAR, R.; CHIOU, S-H.; WU, W-T. Binary immobilization of *Candida rugosa* lipase on chitosan. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.26, p.69–78, 2003.
- HUTT, A.J.; CALDWELL, J. The importance of stereochemistry in the clinical pharmacokinetics of the 2-arypropionic acid nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Clinical Pharmacokinet**, v.9, p.371-373, 1984.
- HWANG, S.; AHN, J.; LEE, S.; LEE, T.G.; HAAM, S.; LEE, K.; AHN, I-S.; JUNG, J-K. Evaluation of cellulose-binding domain fused to a lipase for the lipase immobilization. **Biotechnology Letters**, v.26, p.603–605, 2004.
- IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry. Physical Chemistry Division. Commission on colloid and surface chemistry. Recommendations for the characterization of porous solids. **Pure and Applied Chemistry**, v.66, p.1739-1758, 1994.
- JACOB, S.; SHIRWAIKAR, A.A.; SRINIVASAN, K.K.; ALEX, J.; PRABU, S.L.; MAHALAXMI, R.; KUMAR, R. Stability of proteins in aqueous solution and solid state. **Indian Journal Pharmaceutical Scienicie**, v.68, p.154-163, 2006.
- JAEGER, K.E.; REETZ, M.T. Microbial lipases from versatile tools for biotechnology. **Trends and Biotechnology**, v.16, p.396-403, 1998.
- JENJOB, S.; SUNINTABOON, P.; INPRAKHON, P.; ANANTACHOKE, N.; REUTRAKUL, V. Chitosan-functionalized poly(methyl methacrylate) particles by spinning disk processing for lipase immobilization. **Carbohydrate Polymers**, v.89, p.842– 848, 2012.
- JESUS, P.C.; JOÃO, J.J.; SILVA, P.L.F.; BURLIN, G.; NASCIMENTO, M.G. Organo-gel: um novo sistema para a imobilização de lipases e sua aplicação em síntese orgânica. **QUÍMICA NOVA**, v.20, p.664-672, 1997.
- JÚNIOR, P.C.A.; CORRÊA, P.C.; SILVA, F.S.; RIBEIRO, D.S. Water activity, microbiological increase and dry matter loss of the coffee grains (*Coffea arabica*) in different storage conditions. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.5, p.17-24, 2003.
- KAEWTHONG, W.; SIRISANSANEYAKUL, S.; PRASERTSAN, P.; H-KITTIKUN, A. Continuous production of monoacylglycerols by glycerolysis of palm olein with immobilized lipase. **Process Biochemistry**, v.40, p.1525-1530, 2005.

KAMORI, M.; HORI, T.; YAMASHITA, Y.; HIROSE, Y.; NAOSHIMA, Y. Immobilization of lipase on a new inorganic ceramics support, toyonite, and the reactivity and enantioselectivity of the immobilized lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.9, p.269–274, 2000.

KANG, Y.; HE, J.; GUO, X.; SONG, Z. Influence of pore diameters on the immobilization of lipase in SBA-15. **Industrial Engineering Chemical Research**, v.46, p.4474-4479, 2007.

KARAGOZ, B.; BAYRAMOGLU, G.; ALTINTAS, B.; BICAK, N.; M. ARICA, M.Y. Poly(glycidyl methacrylate)-polystyrene diblocks copolymer grafted nanocomposite microspheres from surface-initiated atom transfer radical polymerization for lipase immobilization: application in flavor ester synthesis. **Industrial Engineering Chemical Research**, v.49, p.9655–9665, 2010.

KARTAL, F.; JANSEN, M.H.A.; HOLLMANN, F.; SHELDON, R.A.; KILINC, A. Improved esterification activity of *Candida rugosa* lipase in organic solvent by immobilization as cross-linked enzyme aggregates (CLEAs). **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.71, p.85–89, 2011.

KASCHE, V.; HAUFLER, U.; RIECHMANN, L. Kinetically controlled semisynthesis of  $\beta$ -lactam antibiotics and peptides. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.434, p.99-105, 1984.

KATZBAUER, B.; NARODOSLAWSKY, M.; MOSER, A. Classification system for immobilisation techniques. **Bioprocess Engeneering**, v.12, p.173–179, 1995.

KENNEDY, J.F.; WHITE, C.A.; MELO, E.H.M. The immobilization of enzymes and cells. **Chimica Oggi**, v.5, p.21–29, 1988.

KIM, S.; JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, C.; DALE, E. Enzymes for pharmaceutical applications—a cradle-to-gate life cycle assessment. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, v.14, p.392-400, 2009.

KIM, M.H.; AN, S.; WON, K.; KIM, H.J.; LEE, S.H. Entrapment of enzymes into cellulose–biopolymer composite hydrogel beads using biocompatible ionic liquid. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.75, p.68– 72, 2012.

KIM, M.I.; HAM, H.O.; OH, S.D.; PARK, H.G.; CHANG, H.N.; CHOI, S.H. Immobilization of *Mucor javanicus* lipase on effectively functionalized silica nanoparticles. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.39, p.62–68, 2006.

KIM, S.H.; KIM, S-J.; PARK, S.; KIM, H.K. Biodiesel production using cross-linked *Staphylococcus haemolyticus* lipase immobilized on solid polymeric carriers. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.85– 86, p.10–16, 2013.

KNEZEVIC, Z.; MOJOVIC, L.; ADNADJEVIC, B. Palm oil hydrolysis by lipase from *Candida cylindracea* immobilized on zeolite type Y. **Enzyme and Microbial Technology**, v.22, p.275-280, 1998.

KONDO, T. The relationship between intramolecular hydrogen bonds and certain physical properties of regioselectively substituted cellulose derivatives. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, v.35, p.717-723, 1997.

- KRAMER, M.; CRUZA, J.C.; PFROMA, P.H.; REZACA, M.E.; CZERMAKA, P. Enantioselective transesterification by *Candida antarctica* lipase B immobilized on fumed silica. **Journal of Biotechnology**, v.150, p.80–86, 2010.
- KUMAR, M.N.V.R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v.46, p.1-27, 2000.
- KUMAR, A.; KANWAR, S.S. Synthesis of ethyl ferulate in organic medium using celite-immobilized lipase. **Bioresource Technology**, v.102, p.2162–2167, 2011.
- KUMAR, D.; NAGAR, S.; BHUSHAN, I.; KUMAR, L.; PARSHAD, R.; GUPTA, V.K. Covalent immobilization of organic solvent tolerant lipase on aluminum oxide pellets and its potential application in esterification reaction. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.87, p.51-61, 2013.
- KUO, C-H.; LIU, Y-C.; CHANG, C-M.J.; CHEN, J-H.; CHENG, C.; SHIEH, C-J. Optimum conditions for lipase immobilization on chitosan-coated  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v.87, p.2538– 2545, 2012.
- LAEMMILI, U.K. Cleavage of structural protein during the assembly of head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p.680-685, 1970.
- LARA, P.V.; PARK, E.Y. Potential application of waste actived bleaching earth on the production of fatty acid alkyl esters using *Candida cylindracea* lipase in organic solvent system. **Enzyme and Microbial Technology**, v.34, p.270-277, 2004.
- LEE, D.H.; PARK, C.H.; YEO, J.M.; KIM, S.W. Lipase immobilization on silica gel using a cross-linking method. **Journal Industrial Engineering Chemical**, v.12, p. 777-782, 2006.
- LEI, L.; BAI, Y.; LI, Y.; YI, L.; YANG, Y.; XIA, C. Study on immobilization of lipase on to magnetic microspheres with epoxy groups. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v.321, p.252–258, 2009.
- LEUENBERGER, H.G.W., Biotransformations - A Useful tool in organic chemistry. **Pure & Applied Chemistry**, v.62. p.753–768, 1990.
- LIMA, L.N.; ARAGONA, C.C.; MATEO, C.; PALOMO, J.M.; GIORDANO, R.L.C.; TARDIOLI, P.W.; GUISAN, J.M.; FERNANDEZ-LORENTE, G. Immobilization and stabilization of a bimolecular aggregate of the lipase from *Pseudomonas fluorescens* by multipoint covalent attachment. **Process Biochemistry**, v.48, p.118–123, 2013.
- LÓPEZ, N.; PÉREZ, R.; VÁZQUEZ, F.; VALERO, F.; SÁNCHEZ, A. Immobilisation of different lipases by adsorption onto polypropylene powder: application to chiral synthesis of ibuprofen and trans-2-phenyl-1-cyclohexanol esters. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v.77, p.175-182, 2002.
- LÓPEZ-SERRANO, P.; CAO, L.; RANTWIJK, F.; SHELDON, R.A. Cross-linked enzyme aggregates with enhanced activity: application to lipases. **Biotechnology Letters**, v.24, p.1379–1383, 2002.

LUSTOSA, C.F.P. **Aplicação do extrato e dos resíduos das folhas de *Tithonia diversifolia* como adubo orgânico e agente anti-edematógeno em edema de planta induzido por carragenina e veneno de *Bothrops jararaca*.** São Jose dos Campos, 2005, 72p. Dissertação de mestrado. Universidade do Vale do Paraíba.

MA, L.; PERSSON, M.; ADLERCREUTZ, P. Water activity dependence of lipase catalysis in organic media explains successful transesterification reactions. **Enzyme and Microbial Technology**, v.31, p.1024-1029, 2002.

MAA, Y.F.; HSU, C.C. Protein denaturation by combined effect of shear and air-liquid interface. **Biotechnology and Bioengineering**, v.54, p.503-512, 1997.

MACEDO, G.A.; PASTORE, G.M. Lipases microbianas na produção de ésteres formadores de aroma. **Ciências e Tecnologia dos Alimentos**, v.17, p.115-119, 1997.

MAHADIK, N.D.; PUNTAMBEKAR, U.S.; BASTAWDE, K.B.; KHIRE, J.M.; GOKHALE, D.V. Production of acidic lipase by *Aspergillus niger* in solid state fermentation. **Process Biochemistry**, v.38, p.715-721, 2002.

MAHMOOD, I.; GUO, C.; XIA, H.; MA, J.; JIANG, Y.; LIU, H. Lipase immobilization on oleic acid-pluronic (L-64) block copolymer coated magnetic nanoparticles, for hydrolysis at the oil/water interface. **Industrial Engineering Chemical Research**, v.47, p.6379–6385, 2008.

MALCATA, F.X.; REYES, H.R.; GARCIA, H.S.; HILL, C.G.; AMUNDSON, C.H. Immobilized lipase reactors for modification of fats and oils – A review. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v.67, p.890-910, 2009.

MANRICH, A.; GALVÃO, C.M.A.; JESUS, C.D.F.; GIORDANO, R.C.; GIORDANO, R.L.C. Immobilization of trypsin on chitosan gels: Use of different activation protocols and comparison with other supports. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.43, p.54-61, 2008.

MARKOGLOU, N.; WAINER, I. **Bioanalytical separations.** WILSON, I. D., ed. Elsevier Science: New York, cap. 7, 2003.

MARKOGLOU, N.; WAINER, I.W. **Methods in enzymology immobilized enzymes.** Academic Press: New York, vol. 44, 1976.

MARTINS, T.S. **Produção e purificação de lipases de *Yarrowia lipolytica* (IMUFRJ 50862).** Rio de Janeiro, 2007. 101p. Dissertação de mestrado - Centro de Ciências da Saúde - Universidade Federal do Rio de Janeiro.

MATEO, C.; PALOMO, J.M.; FERNANDEZ-LORENTE, G.; GUISAN, J.M.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques. **Enzyme Microbial Technology**, v.40, p.1451–63, 2007.

MATSUSHIMA, A.; KODERA, Y.; HIROTO, M.; NISHIMURA, H.; INADA, Y.; Bioconjugates of proteins and polyethylene glycol: potent tools in biotechnological processes. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.2, p.1-17, 1996.

MAYORDOMO, I.; RANDEZ-GIL, F.; PIETRO, J.A. Isolation, purification, and characterization of a cold-active lipase from *Aspergillus nidulas*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.105-109, 2000.

MEHER, L.C.; DHARMAGADDA, V.S.S.; NAIK, S.N. Optimization of alkali-catalyzed transesterification of *Ongomia pinnata* oil for production of biodiesel. **Bioresource Technology**, v.97, p.1392-1397, 2006.

MENDES, A.A. **Seleção de suportes e protocolos de imobilização de lipases para síntese enzimática de biodiesel**. São Carlos, 2009. 225p. Tese de doutorado, Universidade Federal de São Carlos.

MENDES, A.A.; BARBOSA, B.C.M.; SILVA, M.L.C.; CASTRO, H.F. Morphological, biochemical and kinetic properties of lipase from *Candida rugosa* immobilized in zirconium phosphate. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 25, p.393-400, 2007.

MENDES, A.A.; BARBOSA, B.C.M.; SOARES, C.M.F.; SILVA, M.L.C.P.; CASTRO, H.F. Atividade e estabilidade operacional de lipase imobilizada em fosfato de zircônio na ausência e presença de polietilenoglicol. **Acta Science Technology**, v. 28, p.133-140, 2006.

MENDES, A.A.; CASTRO, H.F.; PEREIRA, E.B.; JÚNIOR, A.F. Aplicações de lipases no tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos. **Química Nova**, v.28, p.296-305, 2005.

MENDES, A.A.; GIORDANO, R.C.; GIORDANO, R.L.C.; CASTRO, H.F. Immobilization and stabilization of microbial lipases by multipoint covalent attachment on aldehyde-resin affinity: Application of the biocatalysts in biodiesel synthesis. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.68, p.109–115, 2011.

MENG, X.; XU, G.; ZHOU, Q-L.; WU, J-P.; YANG, L-R. Improvements of lipase performance in high-viscosity system by immobilization onto a novel kind of poly(methylmethacrylate-co-divinylbenzene) encapsulated porous magnetic microsphere carrier. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.89, p.86–92, 2013.

MENONCIN, S.; DOMINGUES, N.M.; FREIRE, D.M.G.; OLIVEIRA, J.V.; DI LUCCIO, M.; TREICHEL, H.; OLIVEIRA, D. Imobilização de lipases produzidas por fermentação em estado sólido utilizando *Penicillium verrucosum* em suportes hidrofóbicos. **Ciências e Tecnologia dos Alimentos**, v.29, p.440-443, 2009.

MIGNEAULT, I.; DARTIGUENAVE, C.; BERTRAND, M.J.; WALDRON, K.C. Glutaraldehyde: Behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking. **Biotechniques**, v.37, p.790–802, 2004.

MIRANDA, M.; SILVA, M.L.C.P.; CASTRO, H.F. Optimised immobilisation of microbial lipase on hydrous niobium oxide. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v.81, p.566–572, 2006.

MOJOVIĆ, L., KNEŽEVIĆ, Z. AND S. JOVANOVIĆ. Immobilization of lipase from *Candida rugosa* on a polymer support. **First Balkan Conference of Microbiology**, Plovdiv, Bulgaria, Book of Abstracts AM 30, p.234-239, 1999.

- MONDAL, K.; MEHTA, P.; MEHTA, B.R.; VARANDANI, D.; GUPTA, M.N. A bioconjugate of *Pseudomonas cepacia* lipase with alginate with enhanced catalytic efficiency. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1764, p.1080–1086, 2006.
- MONTERO, S.; BLANCO, A.; VIRTO, M.D.; LANDETA, L.C.; AGUD, I.; SOLOZABAL, R.; LASCARAY, J.M.; RENOBALES, M.; LLAMA, M.J.; SERRA, J.L. Immobilization of *Candida rugosa* lipase and some properties of the immobilized enzyme. **Enzyme and Microbiol Technology**, v.15, p.239-247, 1993.
- MOREAU, V.H. Produção experimental de biodiesel por transesterificação enzimática. **Revista da Rede de Ensino Ftc**, n.12, p.1-14, 2008.
- MOREIRA, A.B.R.; PEREZ, V.H.; ZANIN, G.M.; CASTRO, H.F. Biodiesel synthesis by enzymatic transesterification of palm oil with ethanol using lipases from several sources immobilized on silica–PVA composite. **Energy & Fuels**, v.21, p.3689–3694, 2007.
- MURALIDHAR, R.V.; CHIRUMAMILLA, R.R.; MARCHANT, R.; RAMACHANDRAN, V.N.; WARD, O.P.; NIGAM, P. Understanding lipase stereoselectivity, **World Journal Microbiology Biotechnology**, v.18, p.81-97, 2002.
- MURGATROYD, K.; BUTLER, L.D.; KINNARNEY, K.; MONGER, P. **Good pharmaceutical freeze-drying practice**, Peter Cameron (ed.), 1997.
- NADRUZ, W.; LEÃO, I.C.; KRIEGER, N.; PIMENTEL, M.C.B.; LEDINGHAM, W.M.; MELO, E.H.M.; LIMA-FILHO, J.L.; KENNEDY, J.F. Characterisation of *Candida rugosa* lipase immobilised on alkyl-amine glass beads. **Genetic Engineering and Biotechnology**, v.14, p.143-148, 1994.
- NIELSEN, P.M.; BRASK, J.; FJERBAEK, L. Enzymatic biodiesel production: Technical and economical considerations. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.110, p.692–700, 2008.
- NIETO, I.; ROCCHIETTI, S.; UBIALI, D.; SPERANZA, G.; MORELLI, C.F.; FUENTES, I.E.; ALCANTRA, A.R.; TERRENI, M. Immobilization of different protein fractions from *Rhizomucor miehei* lipase crude extract enzymatic resolution of (R,S)-2-tetralol. **Enzyme and Microbial Technology**, v.37, p.514–520, 2005.
- NORENÃ, C.Z.; HUBINGER, M.D.; MENEGALLI, F.C. Técnicas básicas de determinação de atividade de água: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, p.91-96, 1996.
- OLIVEIRA, A.C.; ROSA, M.F.; AIRES-BARROS, M.R.; CABRAL, J.M.S. Enzymatic esterification of ethanol by an immobilised *Rhizomucor miehei* lipase in a perforated rotating disc bioreactor. **Enzyme and Microbial Technology**, v.26, p.446–450, 2000a.
- OLIVEIRA, P. C.; ALVES, G. M.; CASTRO, H. F. Immobilization studies and catalytic properties of microbial lipase onto styrene-divinylbenzene copolymer. **Biochemical Engineering Journal**, v.5, p.63-71, 2000b.

OLIVEIRA, P.C.; ALVES, G.M.; MEI, L.H.I.; CASTRO, H.F. Síntese do butirato de n-butila empregando lipase microbiana imobilizada em copolímero de estireno-divinilbenzeno. **Química Nova**, v.23, p.345-352, 2000c.

ORREGO, C.E.; SALGADO, N.; VALENCIA J.S.; GIRALDO, G.I.; GIRALDO, O.H.; CARDONA, C.A. Novel chitosan membranes as support for lipases immobilization: Characterization aspects. **Carbohydrate Polymers**, v.79, p.9–16, 2010.

OSBOURN, A. Host-microbe interactions: molecular intimacy exposed: probing plant-fungus interactions. **Current Opinion in Microbiology**, London, v. 4, p. 363-364, 2001.

OXENBØLL, K.; ERNST, S. Environment as a new perspective on the use of enzymes in the food industry. **Food Science and Technology**, v.22, p.35–37, 2008.

OZYILMAZ, G. The effect of spacer arm on hydrolytic and synthetic activity of *Candida rugosa* lipase immobilized on silica gel. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.56, p.231–236, 2009.

PAHUJANI, S.; KANWAR, S.S.; CHAUHAN, G.; GUPTA, R. Glutaraldehyde activation of polymer Nylon-6 for lipase immobilization: Enzyme characteristics and stability. **Bioresource Technology**, v.99, p.2566–2570, 2008.

PAIVA, E.J.M. **Estudo da produção de biodiesel a partir de óleo de babaçu e etanol utilizando a transesterificação alcalina tradicional com agitação mecânica e assistida por ultrassons**. 173 p. Dissertação (Mestrado em Ciências – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2010.

PAIVA, E.J.M.; DA SILVA, M.L.C.P.; BARBOZA, J.C.S.; OLIVEIRA, P.C.; CASTRO, H.F.; GIORDANI, D.S. Non-edible babassu oil as a new source for energy production - a feasibility transesterification survey assisted by ultrasound, **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p.833-838, 2013.

PALOMO, J.M.; ORTIZ, C.; FERNANDEZ-LORENTE, G.; FUENTES, M.; GUISAN, J.M.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Lipase–lipase interactions as a new tool to immobilize and modulate the lipase properties. **Enzyme and Microbial Technology**, v.36, p.447–454, 2005.

PALOMO, J.M.; SEGURA, R.L.; FERNANDEZ-LORENTE, G.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; GUISAN, J.M. Glutaraldehyde modification of lipases adsorbed on aminated supports: A simple way to improve their behaviour as enantioselective biocatalyst. **Enzyme and Microbial Technology**, v.40, p.704–707, 2007.

PANDEY, A.; SELVAKUMAR, P.; SOCCOL, C.R.; NIGAN, P. Solid state fermentation for production of industrial enzymes. **Current Science**, v.77, p.1153-1159, 1999.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; MITCHELL, D. New developments in solid state fermentation: I-bioprocess and products. **Process biochemistry**, v.35, p.1153-1169, 2000.

PARK, E. Y.; SATO, M.; KOJIMA, S. Fatty acid methyl ester production using lipase-immobilizing silica particles with different particle sizes and different specific surface areas. **Enzyme and Microbial Technology**, v.39, p.889-896, 2006.

PAULA, A.V.; MOREIRA, A.B.R.; BRAGA, L.P.; BRUNO, L.M.; CASTRO, H.F. Comparação do desempenho da lipase de *Candida rugosa* imobilizada em suporte híbrido de polissiloxano-polivinilálcool empregando diferentes metodologias. **Química Nova**, v.31, p.35-40, 2008.

PAULA, A.V.; NUNES, G.F.M.; FREITAS, L.; CASTRO, F.H.; SANTOS, J.C. Interesterification of milkfat and soybean oil blends catalyzed by immobilized *Rhizopus oryzae* lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.65, p.117–121, 2010.

PENG, Y.; ZHU-PING, H.; YONG-JUAN, X.; PENG-CHENG, H.; JI-JUN, T. Effect of support surface chemistry on lipase adsorption and activity. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.94, p.69–76, 2013.

PEREIRA, E.B.; CASTRO, H.F.; MORAES, F.F.; ZANIN, G.M. Esterification activity and stability of *Candida rugosa* lipase immobilized into chitosan. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.98, p.997-986, 2002.

PEREIRA, E.B.; CASTRO, H.F.; MORAES, F.F.; ZANIN, G.M. Kinetic studies of lipase from *Candida rugosa*: A comparative study between free and immobilized enzyme onto porous chitosan beads. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.91, p.739-752, 2001.

PEREIRA, E.B.; ZANIN, G.M.; CASTRO, H.F. Immobilization and catalytic properties of lipase on chitosan for hydrolysis and esterification reactions. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.20, p.343-355, 2003.

PEREZ, V.H.; SILVA, G.S.; GOMES, F.M.; CASTRO, H.F. Influence of the functional activating agent on the biochemical and kinetic properties of *Candida rugosa* lipase immobilized on chemically modified cellulignin. **Biochemical Engineering Journal**, v.34, p.13–19, 2007.

PINHEIRO, A.D.T.; BRÍGIDA, A.I.S.; GONÇALVES, L.R.B. Influência do pH no processo de imobilização de lipase em fibra da casca de coco verde. In: **VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, p.1-5, 2005.

PINHEIRO, R.C.; SOARES, C.M.F.; SANTOS, O.A.A.; CASTRO, H.F.; MORAES, F.F.; ZANIN, G.M. Influence of gelation time on the morphological and physico-chemical properties of the sol-gel entrapped lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.52–53, p.27–33, 2008a.

PINHEIRO, R.C.; SOARES, C.M.F.; SANTOS, O.A.A.; CASTRO, H.F.; MORAES, F.F.; ZANIN, G.M. Response surface methodology as an approach to determine optimal activities of lipase entrapped in sol-gel matrix using different vegetable oils. **Applied Biochemical Biotechnology**, v.146, p.203–214, 2008b.

POPPE, J.K.; COSTA, A.P.O.; BRASIL, M.C.; RODRIGUES, R.C.; AYUB, M.A. Multipoint covalent immobilization of lipases on aldehyde-activated support: Characterization and application in transesterification reaction. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.94, p.57– 62, 2013.

POSPISKOVAA, K.; SAFARI, I. Low-cost, easy-to-prepare magnetic chitosan microparticles for enzymes immobilization. **Carbohydrate Polymers**, v.96, p.545– 548, 2013.

RAMANI, K.; KARTHIKEYANA, S.; BOOPATHYA, R.; KENNEDYB, L.J.; MANDALA, A.B.; SEKARANA, G. Surface functionalized mesoporous activated carbon for the immobilization of acidic lipase and their application to hydrolysis of waste cooked oil: Isotherm and kinetic studies. **Process Biochemistry**, v.47, p.435–445, 2012.

RANJBAKHSH, E.; BORDBARA, A.K.; ABBASIA, M.; KHOSROPOURA, A.R.; SHAMSA, E. Enhancement of stability and catalytic activity of immobilized lipase on silica-coated modified magnetite nanoparticles. **Chemical Engineering Journal**, v.179, p.272– 276, 2012.

REN, Y.; RIVERA, J.G.; HE, L.; KULKARNI, H.; LEE, D-K.; MESSERSMITH, P.B. Facile, high efficiency immobilization of lipase enzyme on magnetic iron oxide nanoparticles via a biomimetic coating. **Bio Medical Center Biotechnology**, v.11, p.55-63, 2011.

RESLOW, M.; ADLERCREUTZ, P.; MATTIASSEN, B. On the importance of the support material for bioorganic synthesis: Influence of water partition between solvent, enzyme and solid support in water-poor reaction media. **European Journal of Biochemistry**, v.172, p.573-578, 1988.

RODRIGUES, D.S.; MENDESA, A.A.; ADRIANO, W.S.; GONÇALVES, L.R.B.; GIORDANO, R.L.C. Multipoint covalent immobilization of microbial lipase on chitosan and agarose activated by different methods. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.51, p.100–109, 2008.

RODRIGUES, F.A. **Avaliação da tecnologia de hidrólise ácida de bagaço de cana**. Campinas, 2007. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas.

RODRIGUES, R.C.; BERENGUER-MURCIA, A.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Coupling chemical modification and immobilization to improve the catalytic performance of enzymes. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v.353, p.2216–38, 2011.

ROMDHANE, I.B.B.; ROMDHANE, Z.B.; GARGOURI, A., BELGHITH, H. Esterification activity and stability of *Talaromyces thermophilus* lipase immobilized onto chitosan. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.68, p.230–239, 2011.

RORER, G.L., HSIEN, T.Y.; Way, J.D. Synthesis of porous-magnetic chitosan beads for removal of cadmium ions from waste water. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.32, p.2170-2178, 1993.

ROSSET, I.G.; TAVARES, M.C.H.; ASSAF, E.M.; PORTO, A.L.M. Catalytic ethanolysis of soybean oil with immobilized lipase from *Candida antarctica* and  $^1\text{H}$  NMR and GC quantification of the ethyl esters (biodiesel) produced. **Applied Catalysis A: General**, v.392, p.136-142, 2011.

ROY, A.; CHAWLA, H.P.S. Biocatalysis in organic solvents: a process for multigram synthesis of 1,4:3,6-dianhydro-D-glucitol 2-acetate and its isomeric 5-acetate using immobilized lipase from *Pseudomonas* sp. **Enzyme and Microbial Technology**, v.29, p.490–493, 2001.

RUBINI, M.R.; SILVA-RIBEIRO, R.T.; POMELLA, A.W.; MAKI, C.S.; ARAÚJO, W.L.; SANTOS, D.R.; AZEVEDO, J.L. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis perniciosa*, causal agent of Witches' Broom Disease. **International J. Biological Sciences**, v.72, p.24-33, 2005.

RUIZ, M.; GALVIS, M.; BARBOSA, O.; ORTIZ,C.; TORRES, R.; Fernandez-Lafuente, R. Solid-phase modification with succinic polyethyleneglycol of aminated lipase B from *Candida antarctica*: Effect of the immobilization protocol on enzyme catalytic properties. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.87, p.75–82, 2013.

SAFARIK, I.; HORSKA, K.; POSPIŠKOVA, K.; SAFARIKOVA, M. One-step preparation of magnetically responsive materials from non-magnetic powders. **Powder Technology**, v.23, p.122-129, 2012.

SAID, S.; PIETRO, R.C.L.R. Generalidades sobre a aplicação industrial de enzimas. In: SAID, S.; PIETRO, R.C.L.R. **Enzimas como agentes biotecnológicos**. Cap. 1, p. 1 – 7, Ed. Legis Summa, 2004.

SALAZAR, R.F.S.; SILVA, G.L.P.; SILVA, M.L.C.P. **Estudo da composição da palha de milho para posterior utilização como suporte na preparação de compósitos**. In: VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Unicamp, 2005.

SANCHES, E.M.; BELLE, J.F.; ROIG, M.G.; BURGUILLO, F.J.; MORENO, J.M.; SINISTERRA, J.V. Kinetic and enantioselective behavior of the lipase from *Candida cylindracea*: A comparative study between the soluble enzyme and the enzyme immobilized on agarose and silica gels. **Enzyme and Microbial Technology**, v.18, p.468-476, 1996.

SANTOS, F.A.; QUEIRÓZ, J.H.; COLODETTE, J.L.; FERNANDES, S.A.; GUIMARÃES, V.M.; REZENDE, S.T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, v.35, p.1004-1010, 2012.

SANTOS, J.C.; MIJONE, P.D.; NUNES, G.F.M.; PEREZ, V.H.; CASTRO, H.F. Covalent attachment of *Candida rugosa* lipase on chemically modified hybrid matrix of polysiloxane–polyvinyl alcohol with different activating compounds. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.61, p.229–236, 2008b.

SANTOS, J.C.; NUNES, G.F.M.; MOREIRA, A.B.R.; PEREZ, V.H.; CASTRO, H.F. Characterization of *Candida rugosa* lipase immobilized on poly(n-methylolacrylamide) and its application in butyl butyrate synthesis. **Chemical Engineering Technology**, v.30, p.1255–1261, 2007.

SANTOS, J.C.; PAULA, A.V.; NUNES, G.F.M.; CASTRO, H.F. *Pseudomonas fluorescens* lipase immobilization on polysiloxane–polyvinyl alcohol composite chemically modified with epichlorohydrin. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.52–53, p.49–57, 2008c.

SANTOS, J.C.; PAULA, A.V.; ROCHA, C.G.F.; NUNES, G.F.M.; CASTRO, H.F. Morphological and mechanical properties of hybrid matrices of polysiloxane–polyvinyl alcohol prepared by sol–gel technique and their potential for immobilizing enzyme. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v.354, p.4823–4826, 2008a.

SAXENA, R.K. Purification strategies for microbial lipases. **Journal of Microbiological Methods**, v.52, p.1-18, 2003.

SAXENA, R.K.; GHOSH, P.K.; GUPTA, R.; DAVIDSON, W.S.; BRADOO, S.; GULATI, R. Microbial lipases: Potential biocatalysts for the future industry. **Current Science**, 77, p.101-115, 1999.

SCHALL, R. **Estimation in generalized linear models with random effects**. Biometrika. Vol. 78, nº. 4, 719-727, 1991.

SCHMID, R.D.; VERGER, R. **Interfacial enzymes with attractive applications**. Angewandte Chemie International Edition, v.37, p.1608-33, 1998.

SCHRAG, J.D.; LI, Y.; CYGLER, M.; LANG, D.; BURGDORF, T.; HECHT, H.J.; SCHMID, R.; SCHOMBURG, D.; RYDE, T.J.; OLIVER, J.D.; STRICKLAND, L.C.; DUNAWAY, C.M.; LARSON, S.B.; DAY,J.; MCPHERSON, A. The open conformation of a *Pseudomonas* lipase. **Structure**, v.5, p.187–202, 1997.

SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R.M. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.9, p.199-210, 1998.

SCHULTZ, N.; SYLDATK, C.; FRANZREB, M.; HOBLEY, T.J. Integrated processing and multiple re-use of immobilised lipase by magnetic separation technology. **Journal of Biotechnology**, v.132, p.202–208, 2007.

SCHULTZ, N.; SYLDATK, C.; FRANZREB, M.; HOBLEY, T.J. Integrated processing and multiple re-use of immobilised lipase by magnetic separation technology. **Journal of Biotechnology**, v.132, p.202–208, 2013.

SCHULZ, B.; BOYLE, C.; DRAEGER, S.; ROMMERT, A.; KROHN, K. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. **Mycological Research**, Cambridge, v.106, p.996-1004, 2002.

SEBRÃO, D.; SILVA, V.D.; NASCIMENTO, M.G.; MOREIRA, M.A. Imobilização de lipases em filme de caseinato de sódio/glicerol: aplicação na síntese de ésteres. **Química Nova**, v.30, p.1182-1187, 2007.

SÉVERAC, E.; GALY, O.; TUROND, F.; PANTELE, C.A.; CONDORETE, J-S.; MONSANA, P.; MARTY, A. Selection of CalB immobilization method to be used in continuous oil transesterification: Analysis of the economical impact. **Enzyme and Microbial Technology**, v.48, p.61–70, 2011.

SHAKERI, M.; KAWAKAMI, K. Significant changes in the transesterification activity of free and mesoporous-immobilized *Rhizopus oryzae* lipase in ionic liquids. **Journal of Biotechnology**, v.145, p.281–283, 2010.

SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Production, purification, characterization, and applications of lipases. **Biotechnology Advances**, v.19, p.627–662, 2001.

SHELDON, R.A. Enzyme Immobilization: The quest for optimum performance. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v.349, p.1289-1307, 2007.

SHIBATA, T.M.M. **Atividade de água no controle microbiológico**. 2013. Disponível em: <http://aqualab.decagon.com.br/noticias/seminario/>. Acesso em: 15 mar. 2013.

SHU, C.; CAIA, J.; HUANGA, L. ZHUA, X.; XUA, Z. Biocatalytic production of ethyl butyrate from butyric acid with immobilized *Candida rugosa* lipase on cotton cloth. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.72, p.139–144, 2011.

SILVA, G.S.; INOUE, D.Y.; DORS, G.; FURIGO-JUNIOR, A.; CASTRO, H.F. Desempenho de diferentes lipases imobilizadas na síntese de biodiesel de óleo de palma. **Acta Scientiarum Technology**, v.33, p.197-203, 2011.

SIMÕES, A.S.; MORI, R.Y.; FARIA, R.; CASTRO, H.F.; MENDES, A.A. Desempenho da matriz híbrida SiO<sub>2</sub>-quitosana na imobilização da lipase microbiana de *Candida rugosa*. **Química Nova**, v.34, p.33-38, 2011.

SIÓDMIAKA, T.; ZIEGLER-BOROWSKAB, M.; MARSZAŁŁA, M.P. Lipase-immobilized magnetic chitosan nanoparticles for kinetic resolution of (R,S)-ibuprofen. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.94, p.7–14, 2013.

SOARES, C.M.; CASTRO, H.F.; MORAES, F.F.; ZANIN, G.M. Characterization and utilization of *Candida rugosa* lipase immobilized on controlled pore silica. **Applied Biochemical Biotechnology**, v.77, p.745-756, 1999.

SOARES, C.M.; CASTRO, H.F.; SANTANA, M.H.A.; ZANIN, G.M. Intensification of lipase performance for long-term operation by immobilization on controlled pore silica in presence of polyethylene glycol. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.98–100, p.863-874, 2002.

SOARES, C.M.F.; CASTRO, H.F.; ITAKO, J.E.; MORAES, F.F.; ZANIN, G.M. Characterization of sol-gel bioencapsulates for ester hydrolysis and synthesis. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.121–124, p.845-858, 2005.

SOARES, C.M.F.; CASTRO, H.F.; SANTANA, M.H.A.; ZANIN, G.M. Selection of stabilizing additive for lipase immobilization on controlled pore silica by factorial design. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.9, p.703-718, 2001.

SOARES, C.M.F.; SANTANA, M.H.A.; ZANIN, G.M.; CASTRO, H.F. Covalent coupling method for lipase immobilization on controlled pore silica in the presence of nonenzymatic proteins. **Biotechnology Progress**, v.19, p.803-807, 2003.

SOARES, C.M.F.; SANTANA, M.H.A.; ZANIN, G.M.; CASTRO, H.F. Efeito do polietilenoglicol e da albumina na imobilização de lipase microbiana e na catálise em meio orgânico. **Química Nova**, v.26, p.832-838, 2003.

SOARES, C.M.F.; SANTOS, O.A.; CASTRO, H.F.; MORAES, F.F.; ZANIN, G.M. Studies on immobilized lipase in hydrophobic sol-gel. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.113–116, p.307-319, 2004.

SOARES, C.M.F.; SANTOS, O.A.; CASTRO, H.F.; MORAES, F.F.; ZANIN, G.M. Characterization of sol-gel encapsulated lipase using tetraethoxysilane as precursor. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.39, p.69–76, 2006.

SOUZA, C.R.F. **Estudo comparativo da produção de extrato seco de *Bahinia forficata* Link pelos processos de spray-dryer e leito de jorro.** Ribeirão Preto, 2003. 180p. Dissertação de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

SOUZA, C.R.F. **Produção de extratos secos padronizados de plantas medicinais brasileiras: estudo da viabilidade técnica e econômica do processo de leito de jorro.** Ribeirão Preto, 2007. 219p. Tese de doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

STAMAKIS, H.; XANAKIS, A. Biocatalysis using microemulsion-based polymer gels containing lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.6, p.399-406, 1999.

STROBEL, G.A. Rainforest endophytes and bioactive products. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.22, p.315-333, 2002.

STROBEL, G.A.; BRYN, D.; CASTILLO, U.; HARPER, J. Natural products from endophytic microorganisms. **Journal Natural Products**, v.67, p.257-268, 2004.

SVAROVSKY, Y.L. **Powder testing guide methods of measuring the physical properties of bulk powders.** New York: Elsevier Applied Science, 1987, 146 p.

SYNOWIECKI, J.; SIONDALSKA, S.A.; EI-BEDAWEY, A.F. Adsorption of enzymes on krill chitin modified with carbon disulfide. **Biotechnology Bioengineering**, v.29, p.352-354, 1987.

TAIPA, M.A.; AIRES-BARROS, M.R.; CABRAL, J.M.S. Purification of lipases. **Journal of Biotechnology**, v.26, p.111–142, 1992.

TANG, Z-X.; QIAN, J-Q.; SHI, L-E. Characterizations of immobilized neutral lipase on chitosan nano-particles. **Materials Letters**, v.61, p.37–40, 2007.

TATTINI JR, V.; PARRA, D.F.; PITOMBO, R.N.M. Influência da taxa de congelamento no comportamento físico-químico e estrutural durante a liofilização da albumina bovina. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.42, p.127-136, 2006.

TRAN, D-T.; CHEN, C-L.; CHAN, J-S. Immobilization of *Burkholderia* sp. lipase on a ferric silica nanocomposite for biodiesel production. **Journal of Biotechnology**, v.158, p.112–119, 2012.

- TRAN, D.N.; BALKUS-JR, K.J. Perspective of recent progress in immobilization of enzymes. **Catalysis**, v.1, p.956–968, 2011.
- TREVISAN, H.C. Lipases. In: Said S.; Pietro R.C.L.R. **Enzimas como agentes biotecnológicos**, Ribeirão Preto: Legis Summa, 2004, Cap.6, p.115-135.
- TZIALLA, A.A.; PAVLIDIS, I.V.; FELICISSIMO, M.P.; RUDOLF, P.; GOURNIS, D.; STAMATIS, H. Lipase immobilization on smectite nanoclays: Characterization and application to the epoxidation of a-pinene. **Bioresource Technology**, v.101, p.1587–1594, 2010.
- URIOSTE, D.; CASTRO, M.B.A.; BIAGGIO, F.C.; CASTRO, H.F. Síntese de padrões cromatográficos e estabelecimento de método para dosagem da composição de ésteres de ácidos graxos presentes no biodiesel a partir do óleo de babaçu. **Química Nova**, v.31, p.407-412, 2008.
- URSINI, A.; MARAGNI, P.; BISMARA, C.; TAMBURINI, B. Enzymatic method of preparation of optically active trans-2-amino cyclohexanol derivatives. **Synth Commun**, v.29, p.1369–1377, 1999.
- VAIDYA, A.; GERA, G.; RAMAKRISHNA, S. Evaluation and optimization of immobilized lipase for esterification of fatty acid and monohydric alcohol. **World Journal Microbiol Biotechnology**, v.24, p.2987–2995, 2008a.
- VAIDYA, B.K.; INGAVLE, G.C.; PONRATHNAM, S.; KULKARNI, B.D.; NENE, S.N. Immobilization of *Candida rugosa* lipase on poly(allyl glycidyl ether-co-ethylene glycol dimethacrylate) macroporous polymer particles. **Bioresource Technology**, v.99, p.3623–3629, 2008b.
- VERGER R. Interfacial activation of lipases: facts and artifacts. **Trends in Biotechnology**, v.15, p.32–8, 1997.
- VILLENEUVE, P. Lipases in lipophilization reactions. **Biotechnology Advances**, v.25, p.515-536, 2007.
- VILLENEUVE, P.; MUDERHWA, J.M.; GRAILLE, J.; HAAS, M.J. Customizing lipases for biocatalysis: survey of chemical, physical and molecular biological approaches. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.9, p.143-148, 2000.
- VISENTAINER, J.V.; FRANCO, M.R.B. **Ácidos graxos em óleos e gorduras: Identificação e quantificação**, São Paulo: Varela, 2006, p. 120.
- VOGEL, H.J. A convenient growth medium for *Neurospora crassa*. **Microbial Genet Bull**, v.13, p.42-43, 1956.
- VULFSON, N.E. Enzymatic synthesis of food ingredients in low water media. **Trends in Food Science & Technology**, v.4, p.209-215, 1993.
- XIE, W.; MA, N. Immobilized lipase on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as biocatalyst for biodiesel production. **Energy & Fuels**, v.23, p.1347-1353, 2009.

- WALT, D.R.; AGAYN, V.I. The chemistry of enzyme and protein immobilization with glutaraldehyde. **Trends in Analytical Chemistry**, v.13, p.425–30, 1994.
- WANG, J-Y.; MA, C-L.; BAO, Y-M.; XU, P-S. Lipase entrapment in protamine-induced bio-zirconia particles: Characterization and application to the resolution of (R,S)-1-phenylethanol. **Enzyme and Microbial Technology**, v.51, p.40–46, 2012.
- WANG, W.; JIANG, Y.; ZHOU, L.; GAO, J. Comparison of the properties of lipase immobilized onto mesoporous resins by different methods. **Applied Biochemical Biotechnology**, v.164, p.561–572, 2011.
- WEHTJE, E.; ADLERCREUTZ, P. Water activity and substrate concentration effects on lipase activity. **Biotechnology and Bioengineering**, v.55, p.798–806, 1997.
- WILSON, L.; PALOMO, J.M.; FERNANDEZ-LORENTE, G.; ILLANES, A.; GUISAN, J.M.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Improvement of the functional properties of a thermostable lipase from *Alcaligenes* sp. via strong adsorption on hydrophobic supports. **Enzyme and Microbial Technology**, v.38, p.975–980, 2006.
- WILSON, M.B.; NAKANE, P.K. The covalent coupling of proteins to periodate-oxidized sephadex: a new approach to immunoabsorbent preparation. **Journal of Immunological Methods**, v.12, p.171-181, 1976.
- WONG, S.S.; WONG, L.J.C. Chemical crosslinking and the stabilization of proteins and enzymes. **Enzyme Microbial Technology**, v.14, p.866–74, 1992.
- WU, C.; ZHOU, G.; JIANG, X.; MA, J.; ZHANG, H.; SONG, H. Active biocatalysts based on *Candida rugosa* lipase immobilized in vesicular silica. **Process Biochemistry**, v.47, p.953–959, 2012.
- WU, Y.; WANG, Y.; LUO, G.; DAI, Y. In situ preparation of magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-chitosan nanoparticles for lipase immobilization by cross-linking and oxidation in aqueous solution. **Bioresource Technology**, v.100, p.3459–3464, 2009.
- XIN, J.Y.; LI, S.B.; XU, Y.; CHUI, J.R.; XIA, C.G. Dynamic enzymatic resolution of naproxen methyl ester in a membrane bioreactor. **Journal of Chemistry Technology Biotechnology**, v.76, p.579-585, 2001.
- YAN, J.; YAN, Y.; LIU, S.; HU, J.; WANG, G. Preparation of cross-linked lipase-coated micro-crystals for biodiesel production from waste cooking oil. **Bioresource Technology**, v.102, p.4755–4758, 2011.
- YANG, G.; WU, J.; XU, G.; YANG, L. Improvement of catalytic properties of lipase from *Arthrobacter* sp. by encapsulation in hydrophobic sol-gel materials. **Bioresource Technology**, v.100, p.4311–4316, 2009.
- YANG, J.; LIU, L.; CAO, X. Combination of bioimprinting and silane precursor alkyls improved the activity of sol-gel-encapsulated lipase. **Enzyme and Microbial Technology**, v.46, p.257–261, 2010.
- YESIOLGLU, Y. Utilization of bentonite as a support material for immobilization of *Candida rugosa*. **Process Biochemistry**, v.40, p.2155-2159, 2005.

YILMAZ, E.; CAN, K.; SEZGIN, M.; YILMAZ, M. Immobilization of *Candida rugosa* lipase on glass beads for enantioselective hydrolysis of racemic naproxen methyl ester. **Bioresource Technology**, v.102, p.499–506, 2011.

YÜCEL, Y. Biodiesel production from pomace oil by using lipase immobilized onto olive pomace. **Bioresource Technology**, v.102, p.3977–3980, 2011.

ZANIN, G.M. **Sacarificação de amido em reator de leito fluidizado com enzima amiloglicosidase imobilizada**. 454 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, 1989.

ZANIN, G.M.; MORAES, F.F. **Em Enzimas como Agentes Biotecnológicos**; Said, S.; Pietro, R.C.L.R., eds.; Legis Summa: Ribeirão Preto, 2004, cap. 4.

ZHANG, L.Q.; ZHANG, Y.D.; XU, L.; LI, X.L.; GAO, H.Y.; DU, W.B. Lipase-catalyzed synthesis of RGD diamide in aqueous water-miscible organic solvents. **Enzyme Microbial Technology**, v.29, p.29-35, 2001.