

Biomoléculas de interés industrial provenientes de ambientes extremos y mecanismos para extraerlas

*Contreras Jiménez Rafael, Prieto Acosta Waldry, Simanca Arango Claudia*¹

RESUMEN :

Hoy en día, es conocido que los ambientes que hasta hace poco eran considerados inhabitables por el hombre son colonizados por determinados organismos capaces de adaptarse a esos nichos ecológicos llamados ambientes extremos; estos organismos son llamados extremófilos. El presente trabajo de investigación, consiste en describir las características de los microorganismos extremófilos tales como termófilos, acidófilos, alcalófilos, halófilos, psicrófilos, barófilos, describir las enzimas y las metodologías utilizadas para su extracción, como estas enzimas pueden ser sustitutos de procesos a nivel industrial, las investigaciones realizadas sobre extremófilos y el mapa de ambientes extremos en Colombia.

PALABRAS CLAVES: Extremofilos, Enzimas, Biorremediación, Agentes químicos.

¹ Estudiantes del programa de microbiología. Universidad Libre Barranquilla.
Rafaelg-contrerasj@unilibre.edu.co,waldryd-prietoa@unilibre.edu.co,Claudia-simancaa@unilibre.edu.co

Biomolecules of industrial interest from extreme environments and mechanisms to extract them

ABSTRACT:

Nowadays, it is known that environments that until recently were considered uninhabitable by man are colonized by certain organisms capable of adapting to those ecological niches called extreme environments; These organisms are called extremophiles.

The present research work consists in describing the characteristics of the extremophile microorganisms such as thermophilic, acidophilic, alkalophilic, halophilic, psychrophilic, barophilic, describe the enzymes and the methodologies used for their extraction, as these enzymes can be substitutes for processes at the level industrial, research conducted on extremophiles and the map of extreme environments in Colombia.

KEY WORDS:

Extremophiles, enzymes, Bioremediation, chemical agents.

INTRODUCCIÓN

Las enzimas son catalizadores naturales, estas pueden aumentar la velocidad de un conjunto inmenso y diverso de reacciones químicas, es esa capacidad de realizar transformaciones químicas muy específicas lo que las hace cada vez más útiles en los procesos industriales^{1,2,3}

Hoy en día el sector industrial a nivel mundial va en creciente aumento debido al avance en la producción de nuevas tecnologías que ayudan al desarrollo de las industrias pero que generan un impacto ambiental irreversible en los ecosistemas existentes^{4,5}

El impacto de la industria se suele producir en las siguientes áreas: aire, agua, residuos y energía. Así pues, el sector industrial debería centrarse en reducir el consumo de agua mediante el reciclado de sus aguas residuales y la optimización de los procesos productivos, atacando el vertido de contaminantes.^{6,7}

La producción de residuos peligrosos se estima en unos 3 millones de toneladas anuales. El 60% de ellos acaba siendo reciclado, el 34% va a parar a depósitos de seguridad y el 6% restante es incinerado. Más de la mitad de estos residuos se debe a la actividad industrial (1.6 millones de toneladas anuales en 2002), Estos volúmenes son excesivos y la gestión es insuficiente, creando problemas locales importantes.^{8,9,10} Por ello el sector industrial deberá centrarse en la minimización de los residuos; es evi-

dente que la actividad industrial, como casi toda actividad humana tiene un impacto sobre el medio que le rodea y por tanto es necesario estudiarlo para conocer sus causas y llevar a cabo el cambio necesario para reducirlo.^{11,12,13}

Hace siglos que las enzimas se utilizan, en particular para la producción de alimentos, y representan una de las formas más antiguas de la biotecnología, estas tienen una gran importancia no sólo en la industria alimentaria, sino también en la producción de sustancias químicas, por último, en la emergente industria de las tecnologías más limpias. Así pues, la biotecnología se considera una de las opciones que puede incluirse tanto en alternativas de implantación de nuevas tecnologías como en la sustitución de materias primas potencialmente contaminantes por enzimas que favorecen la reducción en origen de las corrientes residuales asociadas al proceso productivo.^{14,15}

Otra razón por la que usan enzimas termoestables en las industrias es su capacidad de adaptarse a duros procesos industriales, la ventaja extremadamente valiosa de poder llevar un proceso a altas temperaturas es reducir los riesgos de contaminación por microorganismos como los mesófilos, su capacidad de ser termoestable también hace que ayude a la prolongación de la vida útil de los productos comerciales.¹⁶

El mercado de enzimas industriales en todo el mundo estimado en el 2000 fue

valorada en aproximadamente \$ 1.5 millones de euros. Colombia tiene escasos estudios realizados en bioprospección y actualmente el país tiene la capacidad científica y tecnológica para avanzar de una forma más intensiva en actividades bioprospectivas.¹⁷

Clasificación de los microorganismos extremófilos

Se clasifican de acuerdo a las condiciones en que crecen en: termófilos e hipertermofilos, psicrófilos, acidófilos y alcalófilos, halófilos y barófilos.¹⁸

Termófilos e hipertermófilos: (organismos que crece a temperaturas altas o muy altas, respectivamente). Se consideran termófilos aquellos microorganismos que crecen en temperaturas por encima de 65°C, la temperatura para un crecimiento óptimo se encuentra entre 70 - 80°C y la máxima entre 80 – 113°C. El límite de temperatura a la que se pueden encontrar organismos no se conoce aún aunque se cree que por encima de 150°C ninguna forma de vida podría evitar la ruptura de los enlaces químicos que forman el ADN y otras moléculas esenciales.^{19,20,21}

Psicrófilos: (organismos que crecen mejor a bajas temperaturas). El agua es el disolvente primordial para la vida y debe estar presente en estado líquido para que ésta ocurra. Esto pone un límite para el crecimiento de organismos por debajo de los 0°C. Típicamente los organismos psicrófilos pueden crecer

en temperaturas por debajo de los 5°C, aunque su rango de temperaturas de crecimiento puede ir desde los 20°C hasta menos de 0°C. Los ambientes fríos son actualmente mucho más comunes y extensos que los calientes en la tierra y en el universo. En la tierra la temperatura media de los océanos es de tan sólo 2 a 3°C aunque puede ser mayor en la superficie, pero a 200 metros de profundidad esta se iguala casi totalmente, por otro lado hay extensas áreas en el ártico y antártico que permanecen heladas la mayor parte del año.^{22,23}

Acidófilos y alcalófilos: (organismos perfectamente adaptados a ácido o valores de pH básico, respectivamente). Hasta ahora se conocen muy pocos organismos capaces de vivir en medios con pH cercano a cero, sin embargo cuando los valores son más moderados hay una gran proliferación. Se consideran acidófilos aquellos organismos que viven en medios con pH menor de 5. Los ambientes ácidos surgen naturalmente de actividades geoquímicas, como pueden ser la producción de gases sulfurosos de emanaciones volcánicas. Otro lugar donde es posible encontrar acidófilos es en las escorias de las minas. Para soportar el pH bajo, los acidófilos emplean una gama de mecanismos por ejemplo: una superficie de membrana cargada positivamente, una alta capacidad reguladora interna, y sistemas únicos de transporte.^{24,25}

Halófilos: (organismos que requieren NaCl para el crecimiento). Se llaman

halófilos a aquellos organismos que requieren cierta concentración de NaCl para su desarrollo y crecimiento. La diversidad de los microorganismos halófilos es muy variada. Muchos de estos microorganismos han sido aislados de hábitats que presentan alta salinidad ubicados en diferentes puntos geográficos del planeta. Los ambientes extremadamente salinos son raros, la mayoría se encuentran en zonas calientes y secas, como son lagos salinos (Gran Lago Salado de Utah y el Mar Muerto), suelos salados y alimentos salados principalmente. Las salinas marinas son también buenos hábitat para los procariotas halófilos extremos.²⁶

Barófilos: (organismos que crecen mejor a presión baja). Los microorganismos que requieren condiciones de alta presión (superior a 1 atm) para su desarrollo y crecimiento se llaman barófilos. Los organismos aislados a profundidades de alrededor de 400 m y utilizados en estudios que relacionan el crecimiento o la actividad metabólica con la presión, demuestran que son barotolerantes, se han obtenido barófilos en profundidades mayores entre 5,000 y 6,000 m; mientras que a profundidades mayores de 10,000 m se han obtenido barófilos extremos. Se encuentran en

las profundidades marinas. Los océanos son el principal hábitat para los barófilos, incluyendo varios termófilos e hipertermófilos.^{27,28}

Enzimas extremófilas y su aplicación industrial

· Que los extremófilos sean capaces de sobrevivir en condiciones no estándar en entornos no convencionales ha conducido a la hipótesis de que las propiedades de sus enzimas se han optimizado para estas condiciones. De hecho, los datos para una fracción considerable de las enzimas que han sido aisladas y caracterizadas funcionalmente de extremófilos apoyan esta hipótesis.^{29,30} Una de las principales causas de esto es el hecho de que muchas enzimas disponibles no resisten condiciones de reacción industrial. Como resultado, la caracterización de microorganismos que son capaces de prosperar en ambientes extremos ha recibido una gran cantidad de atención: estos extremófilos son una valiosa fuente de nuevas enzimas, las condiciones extremas no solo hacen referencia a los extremos físicos (por ejemplo, temperatura, presión o radiación), sino también a los extremos geoquímicos como la salinidad y el Ph^{31,32,33} (Tabla 1).

TABLA 1. Clasificación de enzimas y microorganismos Extremófilos que las producen.

TIPO	ENZIMAS	MICROORGANISMO	AMBIENTE
Psicrófilos	ADN polimerasas	<i>Bacillus psychrosaccharolyticus</i>	Temperatura <15°C
	Deshidrogenasas Proteasas	<i>Alteromonas haloplanctis</i>	Pantanos de tierras bajas
	Amilasas	<i>Moraxella</i> <i>sp. TA144</i>	aguas de mares antárticos
	Celulasas	<i>Psychrobacter immobilis</i>	barro glaciar en la Antártida
	Lactato -Deshidrogenasas	<i>Aquaspirillum arcticum</i>	
	Lipasas		
Halófilos	Proteasas	<i>Haloarcula Marismortui</i> <i>Halobacterium halobium</i>	Altas concentración de Sal, (2 a 5 M NaCl)
	Deshidrogenasas	<i>Pseudomonas salinaria</i>	Ambiente con alta salinidad.
	Malato deshidrogenasa	<i>Micrococcus sp</i> <i>Pediococcus halophylus</i>	
Alcalófilos	Proteasas	<i>Bacillus sp.</i>	Ambiente alcalinos > pH 9.
	Celulasas	<i>Clostridium</i>	Suelos sobrecargados con bicarbonato o lagos extremadamente salados
	Amilasas		
Acidófilos	Amilasas	<i>Picrophilaceae</i>	Ambiente ácidos con < pH 2-3
	Glucoamilasa	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	Respiraderos hidrotermales terrestres o marinos, extracción y drenajes de mina ácida
	Proteasas	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
	Celulasas		
	Oxidasas		
Barófilos	Microorganismo entero	<i>Shewanella</i>	Alta presión hasta 130 MPa
		<i>Photobacterium</i>	
		<i>Colwellia</i>	Se encuentran presentes en grandes presiones en el fondo oceánico
		<i>Moritella</i>	

FUENTE: Tabla adaptada de varias referencias (34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44)

CONCLUSIONES

El estudio de los microorganismos extremófilos de la mano con la biotecnología ha abierto nuevas y grandes alternativas para dar uso de enzimas, las cuales han llegado a reemplazar materias primas potencialmente contaminantes para el ambiente y con una tasa de rendimiento equivalente, acelerando reacciones químicas, produciendo resultados en los procesos en un menor tiempo lo cual representa una gran ventaja para la industria.

Con nuestro trabajo de investigación pudimos identificar los microorganismos extremófilos según sus condiciones de crecimiento y de esta manera saber en qué ambientes se pueden encontrar dichos microorganismos, también identificamos en base a datos teóricos algunas enzimas de utilidad industrial que son producidas por los diferentes tipos de microorganismos extremófilos lo que nos permite visualizar la importancia y su potencial a la hora de producción de bienes y servicios, detallamos las metodologías utilizadas para el aislamiento y prospección de biomoléculas provenientes de ambientes extremos y finalmente describimos cual es el impacto de las enzimas extremófilas usadas en procesos industriales, y algunos ejemplos de investigaciones colombianas y producción de enzimas en otros países para motivar el estudio de estos microorganismos y su gran importancia en la industria colombiana.

Sabemos que su uso industrial ya ha comenzado, pero cabe resaltar que dándole más interés al estudio de estos microorganismos se podría lograr el desarrollo de muchas más biomoléculas hasta ahora desconocidas y que puedan ser de mucho interés industrial y ecológico. Por ahora muchas empresas miran su utilización con desconfianza y se limitan a utilizar herramientas tradicionales como los productos químicos, ya que tienen buenos resultados, pero algunos desconocen que con la utilización de las enzimas extremófilas pueden tener iguales resultados en un menor tiempo y menos residuos dañinos al ecosistema. Son muchos los puntos a favor de la utilización de estas pero el problema de la no utilización de ellas es el poco estudio que hay de sobre estos microorganismos.

REFERENCIAS

- 1- Flores, a., Canosa, I., Govantes, F. (2010). Biotecnología de microorganismos extremófilos. Departamento: biología molecular e ingeniería bioquímica, 1-5
- 2- Syed, H., Srinivasa, R., Annapura, B., Kumar, B., Harinaraya, T. (2014). Application of geo-microbial prospecting method for finding oil and gas reservoirs. *Frontiers in Earth Science*9, 9-40
- 3- Oliart, R., Manresa, A., Sánchez, M. (2016). Utilización de microorganismos de ambientes extremos y sus productos en el desarrollo biotecnológico. *Revista ciencia*, 1, 1-2.

- 4- Rodríguez, J. (2008). El impacto ambiental de las actividades industriales: el cambio necesario. 55-58.
- 5- Centro de Actividad Regional para la Producción Limpia (CAR/PL). (2004). Biocatálisis: aplicación de las enzimas en el sector industrial. 22-23.
- 6- Rubiano, C. (2006). Aislamiento y caracterización de microorganismos termofilicos anaerobios lipo liticos, proteolíticos y amilolíticos de manantiales termominerales de paipa eiza. 18.
- 7- Cherry, J., Fidantsef, A. (2003). Directed evolution of industrial enzymes: an update. *ElSevier*, 14, 438-443
- 8- Torres, O. (2013). La bioprospección en Colombia. *Expedio*, 7, 2.
- 9- Shuang L, Yang X, Yang S, Zhua M, Xiaoning W. (2012). *Technology Prospecting on Enzymes: Application, Marketing and Engineering*, 2, 1-2.
- 10- Kumar, P., Sharma S. (2016). Enzymes in green chemistry: The need for environment and sustainability. *International Journal of Applied Research*, 6, 337-341.
- 11- Ferrer, M. (2010). Metagenoma: acceso a los recursos potencialmente ilimitados de microorganismos no cultivables. *SEM*, 38, 1.
- 12- Shuang L, Yang X, Yang S, Zhua M, Xiaoning W. (2012). *Technology Prospecting on Enzymes: Application, Marketing and Engineering*, 2, 1-2.
- 13- Rodríguez, M., Castillo, E. (2014). Enzimas aplicadas en procesos industriales. *Revista unam*, 14.
- 14- Casablanca, E., Ríos, N., Terrazas, E., Álvarez, T. (2013). Producción de β -glucosidasas por cultivos de bacterias termófilas indígenas del altiplano boliviano, *Revista Colombiana de Biotecnología Universidad Nacional de Colombia*, 13, 1-2.
- 15- Oliart, R., Manresa, A., Sánchez, M. (2016). Utilización de microorganismos de ambientes extremos y sus productos en el desarrollo biotecnológico. *Revista ciencia*, 1, 1-2.
- 16- Niehaus F., Bertoldo, C., Kähler, M., Antranikian, G. 1999. Extremophiles as a source of novel enzymes for industrial application. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51: 714.
- 17- Gomes J., Steiner W. 2004. The biocatalytic potencial of extremophiles and extremozymes. *Food technology and Biotechnology*, 42: 223-227.
- 18- Bowman, J., Mccammon S., Brown M., Nichols D., Mcmeekin T. (1997). Diversity and association of psychrophilic bacteria in Antarctic sea ice. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 3068.
- 19- Grossmann S., Gleitz M. (1993). Microbial responses to experimental sea ice formation: implications for the establishment of Antarctic sea

- ice communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 173: 277.
- 20- Cavicchioli R., Siddiqui K., Andrews D., Sowers K. (2002). Low-temperature extremophiles and their applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 13: 253-261.
- 21- Kar N., Dasgupta, A. (1996). The possible role of surface charge in membrane organization in an acidophile, Indian. *Journal of Biochemistry and Biophysics*, 33: 398-402.
- 22- Edwards K., Bond P., Gihring T., Banfield J. (2000). An Arqueal Iron-Oxidizing Extreme Acidophile Important in Acid Mine Drainage. *Science*, 287: 1796-1799.
- 23- Wiegel J., Keubrin U. (2004). Alkalithermophiles. *Biochemical Society Transactions*, 32: 193-198
- 24- Horikoshi K. (1999). Alkaliphiles: Some applications of their products for biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63: 735-740.
- 25- Ventosa A., Nieto J., Oren, A. (1998). Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62: 504-544.
- 26- Russell, N. (2003). Lipids of halophilic and halotolerant microorganisms. En: R.H. Vreeland y L.I. Hochstein (eds). *The Biology of Halophilic Bacteria*. Boca Raton: CRC Press. USA, pp. 163-210
- 27- Dennis, P., Shimmin L. (1997). Evolutionary divergence and salinity-mediated selection in halophilic Arquea. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61: 90-104.
- 28- Brown, A. (1986). Microbial water stress. *Bacteriological Reviews*, 40: 803-846.
- 29- Abe, F., Horikoshi, K. (2001). The biotechnological potential of piezophiles. *Trends in Biotechnology*, 19: 102-108.
- 30- Ramírez, N., Serrano, J., Sandoval, H. (2006). Microorganismos extremófilos. *Actinomicetos halófilos en México*. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, vol. 37, núm. 3; 56-71.
- 31- Rampelotto, P., H. (2013). Extremophiles and Extreme Environments. *MDPI*, 3 482-485.
- 32- Suarez, C., Alazard, D., Ramirez, F., Monroy, O., Fernandez, L., (2002). Las enzimas termoestables y sus aplicaciones Instituto mexicano del petróleo. 1-12.
- 33- Van den Burg, B. (2003). Extremophiles as a source for novel enzymes. *Elsevier Science*, 6, 213-218.
- 34- Turner, P., Mamo, G., Nordberg, E. (2007). Potential and utilization of

- thermophiles and thermostable enzymes in biorefining. *Microbial Cell Factories* 6:9
- 35-Brock, T. (1986). Introduction, an overview of the thermophiles. *Thermophiles: General, Molecular and Applied Microbiology*. Edited by: Brock TD, New York: John Wiley & Sons, 1-16.
- 36- Maheshwari R, Bharadwaj G, Bhat MK. (2000). Thermophilic fungi: Their physiology and enzymes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64: 461-488.
- 37-Satyanarayana T, Raghukumar C, Shivaji S. (2005). Extremophilic microbes: Diversity and perspectives. *Current Science*, 89: 78-90.
- 38-Russell, N. (2000). Toward a molecular understanding of cold activity of enzymes from psychrophiles. *Springer-Verlag*, 4:83–90.
- 39- Ghajari N, Feller G, Gerday C, Haser R (1996). Crystallization and preliminary X-ray diffraction studies of amylase from the antarctic psychrophile *Alteromonas haloplanctis* A23. *Protein Sci* 5:2128–2129.
- 40-Arpigny JL, Feller G, Gerday C (2003). Cloning, sequence, and structural features of a lipase from the antarctic facultative psychrophile *Psychrobacter immobilis* B10. *Biochim Biophys Acta* 1171:331–333.
- 41- Feller G, Thiry M, Gerday C (2001). Nucleotide sequence of the lipase gene lip2 from the antarctic psychrotroph *Moraxella* TA144 and site-specific mutagenesis of the conserved serine and histidine residues. *DNA Cell Biol* 10:381–388.
- 42-Clarke AR, Evington JRN, Dunn CR, Atkinson T, Holbrook JJ (2006). The molecular pathway by which fructose 1,6-bisphosphate induces the assembly of a bacterial lactate dehydrogenase. *Biochim Biophys Acta* 870:112–126.
- 43-Baliga NS, Bonneau R, Facciotti MT, Pan M, Glusman G, Deutsch EW, Shannon P, Chiu Y, Weng RS, Gan RR, Hung P, Date SV, Marcotte E, Hood L, Ng WV. (2004). Genome sequence of *Haloarcula marismortui*: a halophilic archaeon from the Dead Sea. *Pubmed*, 14(12):2510.
- 44-Marhuenda-Egea FC, Piere-Velazquez S, Cadenas C, Cadenas, E. (2002). An extreme halophilic enzyme active at low salt in reversed micelles. *J Biotechnol*, 93:159-164.