



Tomado de: http://3.bp.blogspot.com/_bZzczPfGaOA/S_g6jEOEhQI/AAAAAAAAABg/9exegm51Tm8/s1600/cartaz-biotecnologia1.jpg
<https://s-media-cache-ak0.pinimg.com/originals/18/15/af/1815af764c0018310057cd5831de6e8c.jpg>

Utilización de microorganismos de ambientes extremos y sus productos en el desarrollo biotecnológico

Utilization of microorganisms from extreme environments and their products in biotechnological development

Rosa María Oliart-Ros¹

Ángeles Manresa-Presas²

María Guadalupe Sánchez-Otero^{3*}

¹Instituto Tecnológico de Veracruz, Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos, M. A. de Quevedo núm. 2779, Veracruz, Veracruz, México, C.P. 91860.

²Universitat de Barcelona, Facultat de Farmàcia, Unitat de Microbiologia, Av. Joan XXIII, 27-31, E-08028, Barcelona, España.

³Universidad Veracruzana, Facultad de Bioanálisis, Carmen Serdán e Iturbide S/N, col. Flores Magón, Veracruz, Veracruz, México, C.P. 91700.

*Autor para correspondencia:
guadsanchez@uv.mx

Fecha de recepción:
11 de octubre de 2014

Fecha de aceptación:
5 de febrero de 2016

RESUMEN

La biotecnología representa una alternativa viable para el desarrollo industrial sustentable, ya que provee las herramientas necesarias para adaptar y modificar organismos, productos, sistemas y procesos naturales para mejorar el quehacer industrial, haciéndolo más rentable, diverso y amigable con el entorno de lo que pueden ser los procesos químicos y físicos tradicionales. En este sentido, los microorganismos extremófilos constituyen la opción más prometedora como fuente de biomoléculas con capacidad biocatalizadora, capaces de soportar condiciones drásticas de proceso y cuyo

uso comercial puede conducir a la sustentabilidad industrial.

PALABRAS CLAVE: microorganismos, extremófilos, biotecnología.

ABSTRACT

Biotechnology represents a viable alternative for a sustainable industrial development, as it provides the tools needed to adapt and modify organisms, products systems, and processes to improve industrial activity. This makes it more profitable, diverse and friendly with the environment than the traditional chemical and physical processes. In this regard, extremophilic microorganisms

represent the most promising option as a source of biomolecules with biocatalytic capacity, able to withstand drastic process conditions. In addition, their full-scale use may lead to industrial sustainability.

KEYWORDS: microorganisms, extremophiles, biotechnology.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo tecnológico requiere del uso de catalizadores y otras biomoléculas capaces de generar productos con una inversión mínima y en lapsos de tiempo cortos. De manera paralela, se debe disminuir el impacto ambiental que genera la actividad industrial, y optimizar la utilización y el manejo de los recursos naturales (Cavicchioli y col., 2011). Al día de hoy, el número de enzimas con aplicación industrial es inmenso, sin embargo, muchas de ellas sólo pueden funcionar bajo limitadas condiciones de temperatura, pH y medio de reacción (Sarmiento y col., 2015).

El descubrimiento de los microorganismos extremófilos, capaces de vivir bajo condiciones extremas de temperatura, pH, presión, salinidad, radiación y sus combinaciones, ha proporcionado herramientas invaluable para su aplicación en una amplia gama de procesos biotecnológicos, permitiendo el manejo racional de los recursos naturales (Reed y col., 2013).

El objetivo del presente trabajo fue revisar el uso de biomoléculas producidas por microorganismos extremófilos en aplicaciones comerciales e industriales, así como en la producción de intermediarios químicos enantioméricamente puros.

Microorganismos

Los microorganismos son un grupo grande y diverso de organismos microscópicos que pueden llevar a cabo sus procesos metabólicos de crecimiento, generación de energía y reproducción, de manera independiente de otras células; esta clasificación incluye a las bacterias, las arqueas, las algas, los hongos, los protozoarios

y los virus (Madigan y col., 2003). El rol que juegan los microorganismos en la vida terrestre es de tal importancia que la vida en la Tierra no sería posible sin la presencia de ellos (Demain y Adrio, 2008). Los microorganismos no solamente fueron las primeras formas de vida sobre la Tierra, por lo que todos los seres vivos comparten una historia evolutiva con el mundo microbiológico, sino que además, actualmente sustentan la vida en ella (Madigan y col., 2003; Demain y Adrio, 2008).

La biomasa microbiana en el planeta conforma el 60 % de la biomasa total y constituye una reserva genética dinámica que no ha podido ser caracterizada en su totalidad, debido a la dificultad de su cultivo en el laboratorio (Kennedy y col., 2011; McMahon y Parnell, 2014). La mayor parte de la vida microbiana que se conoce vive en el subsuelo marino y terrestre; estos hábitats son un campo lleno de posibilidades para el descubrimiento de formas microbianas de vida aún desconocidas (Madigan y col., 2003).

Los microorganismos poseen la mayor diversidad genética y metabólica de los seres vivos (Madigan y col., 2003), lo que, aunado a su pequeño tamaño, su rápido crecimiento y su habilidad para intercambiar genes, les permite vivir prácticamente en cualquier nicho ecológico y adaptarse rápidamente a condiciones ambientales cambiantes. Los microorganismos realizan más fotosíntesis que las plantas verdes y llevan a cabo la degradación de la materia orgánica necesaria para el sostén de los ciclos vitales, aunque también son los causantes de las enfermedades más importantes de las plantas y los animales, incluidos los humanos (Demain y Adrio, 2008).

Se prefiere usar microorganismos o sus productos para producir compuestos que se podrían aislar de plantas y animales, o sersintetizadas químicamente, debido a que los microorganismos producen grandes cantidades de metabolitos valiosos y cuya producción vía síntesis química puede ser muy compleja y costosa (Tang y Zhao, 2009). Con ellos se pueden obtener altos

rendimientos en la producción de sustancias químicas, ya que tienen una alta relación área/volumen, lo que facilita la adquisición de los nutrientes requeridos para sostener altos niveles de biosíntesis. Además, pueden llevar a cabo una gran variedad de reacciones en diversos ambientes y medios de cultivo, produciendo compuestos de alto valor agregado a partir de materiales biológicos y sin la generación de residuos tóxicos (Demain y Adrio, 2008).

Los microorganismos pueden ser manipulados genéticamente con relativa facilidad, *in vivo* e *in vitro*, para aumentar la producción miles de veces, modificar estructuras y actividades, y fabricar nuevos productos (Demain y Adrio, 2008). Por todo lo anterior, estos organismos son clave en el desarrollo de tecnologías que requieran de sistemas biológicos o sus derivados.

Biotechnología

La biotecnología es la utilización tecnológica de sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados, para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos (ONU, 1992). La biotecnología tiene aplicaciones en áreas relevantes, como la atención de la salud (conocida como biotecnología roja), donde su principal interés se centra en la producción de fármacos; particularmente, en la búsqueda de antibióticos para combatir nuevos patógenos, virus, hongos y bacterias resistentes, para mejorar las propiedades farmacológicas de los ya existentes y para encontrar compuestos más seguros, potentes y de más amplio espectro (Tang y Zhao, 2009). También se aplica en el desarrollo de vacunas más seguras, de antitumorales, de agentes para disminuir los niveles de colesterol, de antiparasitarios, bioinsecticidas, vitaminas, factores de crecimiento, anticuerpos, esteroides, hormonas, en el diagnóstico molecular, en la aplicación de terapias regenerativas, y en el desarrollo de la ingeniería genética, para curar enfermedades a través de la manipulación genética, entre otros (Demain y Adrio, 2008).

La biotecnología verde es aquella aplicada a la agricultura. Ejemplo de ello es el diseño de plan-

tas transgénicas capaces de crecer en condiciones ambientales desfavorables, plantas resistentes a plagas, a enfermedades, cultivos mejorados y el desarrollo de usos no alimentarios de los cultivos, como la producción de biocombustibles. En todos estos procesos participan también los microorganismos (Tang y Zhao, 2009).

La biotecnología industrial (biotecnología blanca), es la producción sustentable de químicos, materiales y combustibles a partir de fuentes renovables, usando células vivas o sus enzimas como catalizadores industriales (Tang y Zhao, 2009). Es un campo multidisciplinario que abarca las ciencias de la vida, de la química y de la ingeniería, utilizando conocimientos de ingeniería de procesos metabólicos, ingeniería de proteínas, ingeniería genética, microbiología, bioquímica, química, biología, modelación matemática, y técnicas como la metagenómica (estudio del material genético de un conjunto de organismos), la proteómica (análisis de la estructura y función del conjunto de proteínas expresadas de un genoma), la metabolómica (estudio de todos los metabolitos producidos en respuesta a un determinado estímulo) (Demain y Adrio, 2008; Tang y Zhao, 2009).

Los procesos que utilizan biotecnología blanca cubren ya el 5 % de los procesos químicos en todo el mundo, siendo los sectores de la química fina y de la química básica los que presentan mayor avance en la transición de los procesos tradicionales a los procesos con biotecnología (Tang y Zhao, 2009). Existen factores que son la fuerza impulsora del cambio de proceso tales como: el factor económico, por la reducción significativa de costos; el desarrollo de la biotecnología, estimulando la investigación y el desarrollo de procesos; la sustentabilidad, al permitir una percepción pública positiva del quehacer industrial, integrando una reducción en el consumo de energía, en las emisiones de gas invernadero, en la generación de desechos, y en el uso de materiales no biodegradables, con un impacto mínimo a las fuentes de alimentos y agua (Tang y Zhao, 2009). Además, permiten la transición de la producción de sustancias químicas de alto valor agregado a partir de

materiales biológicos, en lugar de utilizar combustibles fósiles (Tang y Zhao, 2009; Otero y Nielsen, 2010).

La biotecnología industrial ha tenido un efecto preponderante en industrias, tales como, la petroquímica, minera, de alimentos y ambiental (Demain y Adrio, 2008). De particular importancia ha sido el desarrollo y producción de biocombustibles (bioetanol, biobutanol y el biodiésel) que promueven la disminución en el uso de combustibles fósiles al utilizar desechos vegetales como materia prima. El biodiésel se prepara a partir de grasas en forma de triglicéridos o ácidos grasos libres, por un proceso de transesterificación con alcoholes de cadena corta. Los insumos provienen de aceites vegetales, grasas animales, aceites de cocina de desecho, y aceites microbianos (Tang y Zhao, 2009). La transesterificación con enzimas lipolíticas aisladas de microorganismos lleva consigo una mayor eficiencia catalítica, en comparación con los procesos químicos tradicionales (Demain y Adrio, 2008; Tang y Zhao, 2009).

La amplia aplicación de las enzimas para las industrias química, farmacéutica y de alimentos crea una fuerte demanda de biocatalizadores que tengan propiedades nuevas y mejoradas. En general, las enzimas tienen requerimientos muy específicos de pH y temperatura para funcionar de manera óptima, y normalmente estos requerimientos son diferentes de los que se encuentran en las industrias (Tang y Zhao, 2009). En este sentido, la tecnología del DNA (ácido desoxirribonucleico) recombinante ha dado un gran impulso a la biotecnología a través del desarrollo de nuevos sistemas de expresión para la sobreproducción de enzimas en la cantidad y de la calidad que la industria demanda, modificando las rutas biosintéticas y las características bioquímicas de las moléculas a través de técnicas de mutagénesis y evolución dirigida (Demain y Adrio, 2008; Tang y Zhao, 2009). De esta manera, se han generado enzimas con modificaciones en su actividad, en la capacidad de utilizar sustratos no convenciona-

les, se ha incrementado su termoestabilidad, la tolerancia a la presencia de disolventes orgánicos y la enantioselectividad, entre otras características (Singh, 2010).

Una actividad constante de la biotecnología ha sido la búsqueda de nuevos microorganismos productores de enzimas capaces de resistir las condiciones drásticas de los procesos industriales. Se ha estimado que menos del 1 % de los microorganismos que habitan el planeta han sido cultivados y estudiados en el laboratorio. En general, las condiciones de los medios de cultivo imponen presiones de selección sobre los microorganismos, impidiendo el crecimiento de una gran cantidad de ellos, por lo que pudiera haber alrededor de 50 millones de especies bacterianas por descubrir y que son una fuente potencial de enzimas nuevas (Singh, 2010). Una excelente opción son los microorganismos que viven en medios ambientes que son considerados por el hombre como extremos, denominados extremófilos (Madigan y Mairs, 1997; Rothschild y Mancinelli, 2001; Canganella y Wiegel, 2011).

Existen métodos que permiten el acceso a todo el conjunto de microorganismos de un entorno dado, tales como, la metagenómica, que es el análisis funcional y de secuencias de los genomas de los microorganismos en una muestra ambiental (Singh, 2010). Esta técnica permite entender, entre otras cosas, la diversidad genética de una comunidad, su estructura poblacional y sus roles ecológicos. Para ello, es necesario el aislamiento del DNA total de una muestra, la constitución de una biblioteca genómica o genoteca y la secuenciación de porciones del DNA y/o buscar fenotipos específicos cuando los vectores son expresados en un microorganismo huésped (Stewart, 2012). En este sentido, instituciones como el Instituto Tecnológico de Veracruz y la Universidad Veracruzana realizan investigación conjunta para el descubrimiento, caracterización y mejora de microorganismos termófilos y biomoléculas producidas por ellos (Castro-Ochoa y col., 2005; Sánchez-Otero y col., 2008; Quintana-Castro y col., 2009; Pinzón-Martínez y col., 2010; Sán-

chez-Otero y col., 2010; Sánchez-Otero y col., 2011; Espinosa-Luna y col., 2016.

Microorganismos extremófilos

Los microorganismos extremófilos tienen como hábitat natural ambientes que antiguamente se consideraban demasiado hostiles para permitir la supervivencia de organismos vivos. Se clasifican en base a la condición física o química extrema del ambiente donde se desarrollan: termófilos (temperatura óptima de crecimiento superior a 45 °C); dentro de éstos se encuentran los hipertermófilos (temperatura óptima de crecimiento superior a 80 °C); psicrófilos (temperatura óptima de crecimiento por abajo de 10 °C); acidófilos (pH óptimo de crecimiento por abajo de 5); alcalófilos (pH óptimo de crecimiento por arriba de 8); halófilos (habitan en medios hipersalinos, de 5 % a 30 % de sal); osmófilos (viven a altas presiones osmóticas); radiófilos (resisten altos niveles de radiación); metalófilos (toleran altas concentraciones de metales pesados); piezófilos (antes llamados barófilos, requieren o toleran presión hidrostática de 40 atm a 60 atm) (Antranikian y col., 2005; Ferrer y col., 2007; Jia y col., 2013; Reed y col., 2013).

Los hábitats donde viven los extremófilos incluyen manantiales calientes, sistemas hidrotermales submarinos poco profundos o sistemas de aberturas termales abisales, tierras y mares polares fríos y glaciares alpinos; lagos salinos y ambientes con valores de pH extremos, sea ácido (zonas de solfataras, minas) o alcalino (fuentes carbónicas, tierras y lagos alcalinos); y con relativa frecuencia, en zonas que combinan dos o más factores extremos, como alta temperatura y condiciones ácidas, en los manantiales ácidos y calientes de zonas volcánicas, o baja temperatura y alta presión, en los fondos marinos (Madigan y Marrs, 1997; Rothschild y Mancinelli, 2001; Canganella y Wiegel, 2011). En México, se han aislado bacterias y arqueas extremófilas de pozos petroleros (Miranda-Tello y col., 2004), aguas termales (Castro-Ochoa y col., 2005; Pinzón-Martínez y col., 2010), zonas desérticas (Souza y col., 2006), suelos alcalinos (Valenzuela-Encinas y col., 2008; Ruiz-Romero y col., 2009), zonas volcánicas

(Cavicchioli y col., 2011), entre otros, revelando la gran biodiversidad y el gran potencial biotecnológico de la microflora mexicana.

Las condiciones físico-químicas de estos ambientes distan de los valores en los que la vida de muchos organismos es posible. El agua líquida, el suministro de energía y el control de la misma y las condiciones de óxido-reducción ambientales son indispensables para la vida, por lo que los extremófilos deben vivir dentro de esos parámetros o bien ser capaces de mantenerlos regulados intracelularmente (Rothschild y Mancinelli, 2001). Por ejemplo, los psicrófilos sintetizan enzimas con modificaciones bioquímicas que les permiten funcionar a bajas temperaturas, así como moléculas que reducen el punto de congelación del agua dentro de la célula; los acidófilos y alcalófilos poseen mecanismos de regulación del pH intracelular para mantenerlo en valores cercanos a la neutralidad a través de diversas adaptaciones en las membranas celulares y en los transportadores de iones transmembranales (Reed y col., 2013); la membrana celular de los termófilos contiene ácidos grasos saturados, mantiene a la célula lo suficientemente rígida para sobrevivir a elevadas temperaturas. Las proteínas de los termófilos son especialmente estables, ya que poseen un mayor número de puentes de hidrógeno entre sus aminoácidos, poseen menor flexibilidad, un menor número de giros en su estructura, tienen una carga superficial mayor y pocos aminoácidos termolábiles hacia el exterior, en comparación con sus contrapartes mesófilas (Rothschild y Mancinelli, 2001; Gomes y Steiner, 2004).

El descubrimiento de los extremófilos ha abierto una nueva panorámica en las ciencias naturales al extenderse los límites en los que es posible la vida. Se ha favorecido el surgimiento de nuevas hipótesis sobre el origen de la vida, dado que las condiciones en las que habitan los extremófilos semejan a las que debieron existir cuando surgieron las primeras células. Asimismo, ha estimulado la búsqueda de las condiciones más extremas que pueden

llegar a ser compatibles con alguna forma de vida, haciendo más plausible su búsqueda fuera del planeta Tierra (Hough y Danson, 1999; Rothschild y Mancinelli, 2001).

La gran biodiversidad existente entre los microorganismos extremófilos y su capacidad para sintetizar proteínas y enzimas (extremoenzimas), capaces de funcionar bajo condiciones extremas, ha abierto un prometedor panorama en la biotecnología, ya que gran parte de los procesos industriales ocurren bajo condiciones extremas de temperatura, presión, fuerza iónica, pH y solventes orgánicos. Además, las extremoenzimas pueden ser usadas como un modelo para diseñar y construir proteínas con nuevas propiedades de interés para determinadas aplicaciones industriales, a través de la manipulación genética de microorganismos (Haki y Rakshit, 2003; Eijsink y col., 2004; Jia y col., 2013; Reed y col., 2013).

Se han obtenido y caracterizado extremoenzimas provenientes de diferentes grupos de microorganismos extremófilos, muchas de ellas se aplican actualmente en procesos industriales sustentables, como la síntesis enantioselectiva de fármacos (Littlechild, 2015). Al ser biodegradables, su empleo es amigable con el ambiente, tienen una alta estabilidad bajo condiciones extremas (lo que elimina la necesidad de modificar las condiciones a lo largo de los procesos), permiten la utilización de materia prima sin procesar (lo que reditúa en una mayor eficiencia), permiten una reducción de costos y generan pocos productos secundarios y materiales de desecho (Reed y col., 2013).

Aplicaciones de las extremoenzimas

Las principales industrias que se han visto beneficiadas con el uso de extremoenzimas son las productoras de detergente, la alimentaria, la textil, la peletera, la papelera y la farmacéutica (Van-Den-Burg, 2003; Hasan y col., 2010) (Tabla 1). Los termófilos y los hipertermófilos son los grupos de extremófilos más estudiados; las enzimas que han sido aisladas de ellos han sido objeto de diversas investigaciones y aplicaciones

industriales y biotecnológicas, ya que son extremadamente termoestables y generalmente resistentes a la acción de agentes caotrópicos, desnaturalizantes, detergentes, solvente orgánicos, y a la exposición a valores extremos de pH (Sarmiento y col., 2015). La realización de procesos biotecnológicos a elevadas temperaturas tiene muchas ventajas. El incremento en la temperatura tiene una influencia significativa en la biodisponibilidad y solubilidad de los compuestos orgánicos, en la disminución en la viscosidad y en el incremento en el coeficiente de difusión de los compuestos orgánicos (en especial substratos hidrofóbicos poco solubles, como hidrocarburos y grasas alifáticas), por lo que las velocidades de reacción son más altas (Van-Den-Burg, 2003). Esto es especialmente importante en procesos que involucran el manejo enzimático de lípidos y de efluentes industriales ricos en aceites. En la industria de los alimentos, las lipasas termoestables se requieren para el procesamiento enzimático de algunos lípidos, como la manteca animal y el aceite de palma, que son los principales materiales utilizados en la producción de ácidos grasos libres, pero se encuentran en estado sólido a las temperaturas normales en las que se llevan a cabo estas reacciones (Haki y Rakshit, 2003; Hasan y col., 2010).

El ejemplo más conocido de aplicación de una enzima termoestable es la de la enzima Taq polimerasa aislada de *Thermus aquaticus*, que significó un avance trascendental en la biología molecular, al permitir la automatización de la tecnología de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), que permite la amplificación de fragmentos de DNA en unas cuantas horas, lo cual representó una gran ventaja para laboratorios e industrias (Reed y col., 2013).

De las enzimas termofílicas, las lipasas se encuentran dentro de las más prometedoras para las aplicaciones industriales, ya que presentan diversas ventajas: una mayor estabilidad termodinámica a altas temperaturas y la capacidad de llevar a cabo reacciones de hidrólisis y de síntesis en presencia de disolventes orgánicos

■ Tabla 1. Clasificación de los microorganismos extremófilos y ejemplos de aplicación de sus enzimas (Van-Den-Burg, 2003; Hasan y col., 2010).

Table 1. Extremophile microorganisms classification and some applications of their enzymes (Van-Den-Burg, 2003; Hasan y col., 2010).

Tipo	Microorganismos	Enzimas	Aplicación
Termófilos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus</i> sp. • <i>Streptomyces</i> sp. • <i>Bacillus licheniformis</i> • <i>Trichoderma</i> sp. • <i>Bacillus</i> sp. • <i>Geobacillus</i> sp. • <i>Bacillus</i> sp. • <i>Thermus aquaticus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Proteasas • Glucosilhidrolasas (amilasas, glucoamilasas, celulasas) • Quitinasas • Xilanasas • Lipasas, esterases • DNA polimerasas • Deshidrogenasas 	<ul style="list-style-type: none"> • Detergentes, hidrólisis en alimentos y bebidas, panificación • Procesamiento de almidón, celulosas, pectinas y procesamiento de textiles • Modificación de quitina para uso farmacéutico y alimenticio • Blanqueo de papel • Detergentes, modificación de grasas y lácteos, reacciones estéro-específicas y biosíntesis orgánicas, biocatálisis en disolventes orgánicos y curtido de pieles • Biología molecular (PCR) • Reacciones de óxido-reducción
Psicrófilos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Pseudoalteromonas</i> sp. • <i>Cytophaga</i> sp. • <i>Vibrio</i> sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Proteasas • Amilasas • Deshidrogenasas • Lipasas 	<ul style="list-style-type: none"> • Detergentes, industria de alimentos • Detergentes y panificación • Biosensores • Detergentes, alimentos y cosméticos
Halófilos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Halobacterium</i> sp. • <i>Haloarcula</i> sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Proteasas • Deshidrogenasas 	<ul style="list-style-type: none"> • Síntesis de péptidos • Biocatálisis en disolventes orgánicos
Alcalófilos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus</i> sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Proteasas, celulasas 	<ul style="list-style-type: none"> • Detergentes e industria de los alimentos
Acidófilos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus acidocaldarius</i> • <i>Desulfurolobus</i> sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Amilasas, glucoamilasas • Proteasas y celulasas • Oxidasas 	<ul style="list-style-type: none"> • Procesamiento de almidón • Componentes de alimentos • Desulfuración del carbono

(Pinzón-Martínez y col., 2010). Por ello, se han aplicado en la industria alimentaria para la hidrólisis de grasas, particularmente en productos lácteos; en la industria textil, para la remoción de impurezas del algodón antes del procesamiento y teñido; en la industria peletera para retirar la grasa subcutánea de

las pieles, entre otras aplicaciones (Hasan y col., 2006).

Debido a su excelente capacidad para realizar reacciones específicas regioselectivas, en presencia de solventes orgánicos, las lipasas termostables se usan en la síntesis de compues-

tos quirales de interés farmacéutico. A través de reacciones de esterificación, interesterificación y transesterificación, en presencia de solventes orgánicos, las lipasas participan en la síntesis de compuestos enantioméricamente puros, que se recomiendan particularmente en el campo de los farmoquímicos y sus intermediarios sintéticos, también llamados bloques de construcción quiral, debido a la diferencia en las propiedades biológicas de dos enantiómeros (Gotor-Fernández y col., 2006). Por otro lado, los procesos biocatalíticos son más eficientes, se acompañan de menos reacciones secundarias y son ambientalmente aceptables, en contraste con los métodos químicos convencionales que utilizan catalizadores a base de metales pesados (Gavrilescu y Chisti, 2005). La combinación de procedimientos químicos con métodos biocatalíticos puede resultar una excelente estrategia para la producción de la industria farmacéutica y de productos químicos finos en general (Simon y col., 2013).

Una aplicación muy exitosa de las enzimas termófilas y alcalófilas ha sido como aditivos de los detergentes biológicos, para la remoción de depósitos orgánicos en la ropa, como grasas y aceites. Se han utilizado enzimas del tipo de las amilasas, proteasas, celulasas y lipasas, que además de ser activas a las altas temperaturas y en las condiciones alcalinas de las aguas de lavado, son resistentes a los componentes de los mismos (Hasan y col., 2010). Las enzimas de los psicrófilos, que catalizan reacciones a bajas temperaturas, tienen también un gran potencial de aplicación en la biotecnología y la industria. Por ejemplo, la aplicación de enzimas hidrolíticas, como proteasas, lipasas, amilasas y celulasas, en la formulación de detergentes, ofrecen lagran ventaja de reducir el consumo de energía y el deterioro de las telas al llevar a cabo el lavado en frío (Cavicchioli y col., 2011; Sarmiento y col., 2015). La aplicación de proteasas y queratinasas psicrófilas en el depilado de pieles y cueros representa un ahorro de energía, al eliminar el calentamiento y la necesidad de utilizar compuestos químicos que impactan en el ambiente (Cavicchioli y col., 2011). Las enzimas

psicrófilas se han utilizado también en la industria de los alimentos, por ejemplo para la extracción y clarificación de jugos de frutas con pectinasas, y en el caso de las proteasas, como aditivos en la industria de alimentos congelados para el ablandado y la potenciación del sabor en carnes refrigeradas (Cavicchioli y col., 2011; Reed y col., 2013).

En el área ambiental, las lipasas, oxidasas, peroxidases y catalasas de termófilos y psicrófilos, se han utilizado como alternativa a los métodos fisicoquímicos de biorremediación de sólidos y aguas residuales contaminados con hidrocarburos, aceites y lípidos (Hasan y col., 2006).

Algunas enzimas de alcalófilos y acidófilos se han utilizado en la producción de detergentes y en el procesamiento de almidón. De manera particular, algunas enzimas alcalófilas, tales como xilanasas, lipasas y proteasas, ya se producen a gran escala para ser utilizadas en diferentes aplicaciones, como en el depilado del cuero, que se lleva a cabo a pH entre 8 y 10, y en la recuperación de plata a partir de placas de rayos X, donde la proteólisis ocurre a pH 10 (Horikoshi, 1999; Wiegel y Kevbrin, 2004).

Productos de los extremófilos y su aplicación biotecnológica

El estrés provocado por las drásticas condiciones ambientales ha seleccionado aquellas poblaciones de microorganismos capaces de sintetizar compuestos que protegen a la célula del estrés ambiental en un amplio rango de salinidad o temperatura. Estos productos, denominados “extremolitos” o solutos compatibles, mantienen el balance de agua y protegen a las macromoléculas biológicas. Desde el punto de vista químico son moléculas diversas; en los organismos mesófilos las más frecuentes son: aminoácidos (prolina), azúcares (trehalosa), betaínas (glicina betaína), ácido aminosulfónico (taurina) (Bonaterra y col., 2005); mientras que los termófilos sintetizan altas concentraciones de derivados de mioinositol (DIP), en el caso de las Thermotogales, o diglicerol

fosfato (DGP y cDGP) acumulado por algunas arqueobacterias termófilas y metanógenas (Lenzen y Schwarz, 2006).

Desde el punto de vista biotecnológico estos compuestos son interesantes para la estabilización de macromoléculas, enzimas y como protectores celulares por su respuesta al estrés hídrico (Margesin y Schinner, 2001). Uno de los más frecuentes es la ectoína, que en el caso de *Halomonas* puede incrementar sus niveles en un 50 %, cuando la concentración de NaCl es del orden del 20 %, lo que permite estabilizar la actividad enzimática de lipasas, amilasas, celulasas o proteasas (Sauer y Gallinski, 1998). La trehalosa es un osmolito que puede ser utilizado como crioprotector, o bien el diglicerol fosfato, producido por *Arqueolobus fulgidus*, que es un potente estabilizador de proteínas frente a la temperatura (Margesin y Schinner, 2001). Otro de los productos utilizados como moléculas para el reconocimiento celular son las lectinas, especialmente la concanavalina A, producidas por arqueobacterias halófilas que se usan como indicadores de las modificaciones de la superficie celular en la detección de células malignas (Lei y Chang, 2007).

Biopolímeros

De gran interés biotecnológico en la industria farmacéutica o alimentaria son los biopolímeros extracelulares de diversos microorganismos extremófilos, como el poli-gamma-D-glutámico (PGA) con propiedades de espesante y humectante (Kunioka, 1997), o la capa S de las arqueobacterias, que contiene una glicoproteína situada en la parte exterior de la célula y que tiene la propiedad de autoensamblarse, formando una malla altamente regular, que ha despertado gran interés en la nanotecnología (Sára y col., 2006).

En lo concerniente al desarrollo alternativo de los plásticos y de nuevas aplicaciones en el campo de la biomedicina, se han utilizado muy poco los organismos extremófilos, posiblemente debido a las dificultades de su manipulación, a pesar de que, algunos de ellos

son capaces de acumular hasta el 60 % del peso seco de poli-hidroxi-alcanoato (PHA), como en el caso de *Haloferax mediterranei* (Hezayen y col., 2000).

Otro grupo importante de biopolímeros son los exopolisacáridos (EPS), compuestos de alto peso molecular que los microorganismos secretan al medio ambiente y que pueden actuar como adhesinas favoreciendo la asociación entre microorganismos. Estas biomoléculas son utilizadas en diversas áreas industriales, ya que pueden actuar como emulsificantes, espesantes, antioxidantes y quelantes (Freitas y col., 2011). Diversos microorganismos extremófilos, tales como, los halófilos de los géneros *Haloterrigena* y *Halomonas*, termoacidófilos de los géneros *Sulfolobus* y *Thermococcus* y termófilos del género *Bacillus*, producen biopolímeros con propiedades emulsificantes y antioxidantes (Squillaci y col., 2016).

Biotensoactivos y emulsionantes

La colonización de hábitats altamente salinos y con alto contenido de material oleoso, como los yacimientos petrolíferos, ha actuado como agente de presión selectiva sobre microorganismos productores de biotensoactivos (Khire, 2010). Estos compuestos anfífilos que tienen la capacidad de solubilizar fases inmiscibles, son producidos por bacterias en hábitats con un alto grado de salinidad, hidrofobicidad y temperatura. Se han detectado tensoactivos producidos por microorganismos termófilos tales como *Bacillus stearothermophilus* o bien a partir del termófilo halófilo *Methanobacterium thermoautotrophicum*. En el otro extremo de la escala está *Arthrobacter protophormiae*, microorganismo psicrófilo aislado de la Antártida (Khire, 2010).

Otra estrategia para proteger a la célula y permitir la emulsificación de nutrientes en hábitats psicrófilos, es la acumulación de material extracelular alrededor de la célula. Estas matrices extracelulares están formadas por diversos materiales, como exopolisacáridos, y por vesículas derivadas de la membrana externa. Debi-

do a que tienen una alta capacidad emulsionante, poseen un gran potencial biotecnológico en la industria farmacéutica y cosmética (Frias y col., 2010).

Ha sido demostrado que, para hacer frente a las extremas condiciones de su hábitat, los extremófilos han desarrollado diversas estrategias tanto a nivel intracelular como extracelular, que comprenden la biosíntesis de productos singulares para la protección de la célula, y de macromoléculas biológicas como enzimas y polímeros extracelulares que, en conjunto, les ofrecen ventajas para su desarrollo en condiciones de baja actividad de agua, elevada salinidad, pH, temperatura, entre otros (Rothschild y Mancinelli, 2001). Esta versatilidad de los sistemas biológicos ha sido fuente de inspiración y soporte para el avance de la ciencia, permitiendo el nacimiento de una nueva

era tecnológica, la biotecnología, que tiende al diseño de nuevos organismos adaptados a los cambios del planeta y que debieran beneficiar a todos.

CONCLUSIONES

El desarrollo de procesos biotecnológicos empleando microorganismos extremófilos y las biomoléculas provenientes de ellos, ofrece una alternativa viable para el desarrollo sustentable. Es necesario entonces, encaminar esfuerzos por parte de la comunidad científica para apoyar la búsqueda de nuevas fuentes de extremófilos, así como el desarrollo de técnicas que impliquen la modificación genética, estructural y funcional, de las biomoléculas provenientes de estos microorganismos para su aplicación a gran escala, lo que finalmente redundará en el beneficio de las generaciones presentes y futuras.

REFERENCIAS

- Antranikian, G., Vorgias, C. E., and Bertoldo, C. (2005). Extreme environments as a resource for microorganisms and novel biocatalysts. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. 96: 219-262.
- Bonaterra, A., Camps, J., and Montesinos, E. (2005). Osmotically induced trehalose and glycine betaine accumulation improves tolerance to desiccation, survival and efficacy of the postharvest biocontrol agent *Pantoea agglomerans* EPS125. *FEMS microbiology letters*. 250(1):1-8.
- Canganella, F. and Wiegel, J. (2011). Extremophiles: from abyssal to terrestrial ecosystems and possibly beyond. *Naturwissenschaften*. 98(4): 253-279.
- Castro-Ochoa, L. D., Rodríguez-Gómez, C., Valerio-Alfaro, G., and Ros, R. M. (2005). Screening, purification and characterization of the thermoalkaliphilic lipase produced by *Bacillus thermoleovorans* CCR11. *Enzyme and Microbial Technology*. 37(6): 648-654.
- Cavicchioli, R., Charlton, T., Ertan, H., Omar, S. M., Siddiqui, K. S., and Williams, T. J. (2011). Biotechnological uses of enzymes from psychrophiles. *Microbial biotechnology*. 4(4): 449-460.
- Demain, A. L. and Adrio, J. L. (2008). Contributions of microorganisms to industrial biology. *Molecular Biotechnology*. 38(1): 41-55.
- Eijsink, V. G. H., Björk, A., Gaseidnes, S., Sirevag, B., Syntad, B., Van-Den-Burg, G., and Vriend, G. (2004). Rational engineering of enzyme stability. *Journal of Biotechnology*. 113(1):105-120.
- Espinosa-Luna, G., Sánchez-Otero, M. G., Quintana-Castro, R., Matus-Toledo, R. E., and Oliart-Ros, R. M. (2016). Gene Cloning and Characterization of the *Geobacillus thermoleovorans* CCR11 Carboxylesterase CaesCCR11, a New Member of Family XV. *Molecular biotechnology*. 58(1): 37-46.
- Ferrer, M., Golyshina, O., Beloqui, A., and Golys-hin, P. N. (2007). Mining enzymes from extreme environments. *Current Opinion in Microbiology*. 10(3): 207-214.
- Frias, A., Manresa, A., de-Oliveira, E., López-Iglesias, C., and Mercadé, E. (2010). Membrane vesicles: a common feature in the extracellular matter of cold-adapted antarctic bacteria. *Microbiology Ecology*. 59(3): 476-486.
- Freitas, F., Alves, V. D., and Reis, M. A. (2011). Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. *Trends in Biotechnology*. 29(8): 388-398.

- Gavrilescu, M. and Chisti, Y. (2005). Biotechnology a sustainable alternative for chemical industry. *Biotechnology Advances*. 23(7): 471–499.
- Gomes, J. and Steiner, W. (2004). The biocatalytic potential of extremophiles and extremozymes. *Food Technology and Biotechnology*. 42(4): 223–225.
- Gotor-Fernández, V., Brieva, R., and Gotor, V. (2006). Lipases: useful biocatalysts for the preparation of pharmaceuticals. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 40(3): 111–120.
- Haki, G. D. and Rakshit, S. K. (2003). Developments in industrially important thermostable enzymes: a review. *Bioresource Technology*. 89(1): 17–34.
- Hasan, F., Shah, A. A., and Hameed, A. (2006). Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*. 39(2): 235–251.
- Hasan, F., Shah, A. A., Javed, S., and Hameed, A. (2010). Enzymes used in detergents: lipases. *African Journal of Biotechnology*. 9(31): 4836–4844.
- Hezayen, F. F., Rehm, B. H. A., Eberhardt, R., and Steinbüchel, A. (2000). Polymer production by two newly isolated extremely halophilic archaea: application of a novel corrosion-resistant bioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 54(3): 319–325.
- Horikoshi, K. (1999). Alkaliphiles: some applications of their products for biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 63(4): 735–750.
- Hough, D. W. and Danson, M. J. (1999). Extremozymes. *Current Opinion in Chemical Biology*. 3(1): 39–46.
- Jia, B., Cheong, G. W., and Zhang, S. (2013). Multifunctional enzymes in archaea: promiscuity and moonlight. *Extremophiles*. 17(2): 193–203.
- Kennedy, J., O’Leary, N. D., Kiran, G. S., Morrissey, J. P., O’Gara, F., Selvin J., and Dobson, A. D. (2011). Functional metagenomic strategies for the discovery of novel enzymes and biosurfactants with biotechnological applications from marine ecosystems. *Journal of Applied Microbiology*. 111(4): 787–99.
- Khire, J. M. (2010). Bacterial surfactants and their role in Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR). En R. Sen (Ed.), *Biosurfactants. Advances in experimental medicine and biology series* (pp. 146–157). USA: Springer.
- Kunioka, M. (1997). Biosynthesis and chemical reaction of poly (amino acid)s from microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 47(5): 469–475.
- Lei, H. Y. and Chang, C. P. (2007). Induction of autophagy by concanavalin A and its application in antitumor therapy. *Autophagy*. 3(4): 402–404.
- Lenzen, G. and Schwarz, T. (2006). Extremolytes: natural compounds from extremophiles for versatile applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 72(4): 623–634.
- Littlechild, J. A. (2015). Archaeal enzymes and applications in industrial biocatalysts. *Archaea*. 2015: 1–10.
- Madigan, M. T. and Marrs, B. L. (1997). Extremophiles. *Scientific American*. 276: 82–87.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D., and Clark, D. P. (2003). *Brock biology of microorganisms*. USA: Pearson Education, Inc. 694 Pp.
- Margesin, R. and Schinner, F. (2001). Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology. *Extremophiles*. 5(2): 73–83.
- McMahon, S. and Parnell, J. (2014). Weighing the deep continental biosphere. *FEMS Microbial Ecology*. 87(1): 113–20.
- Miranda-Tello, E., Fardeau, M. L., Thomas, P., Ramirez, F., Casalot, L., Cayol, J. L., ..., and Ollivier, B. (2004). *Petrotoga mexicana* sp. nov. a novel thermophilic, anaerobic and xylanolytic bacterium isolated from an oil-producing well in the Gulf of Mexico. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 54(1): 169–174.
- ONU, Organización de las Naciones Unidas (1992). Convenio sobre Diversidad Biológica de 1992. [En línea]. Disponible en: <http://www.cbd.int/doc/legal/cbd-es.pdf>. Fecha de consulta: 2 de septiembre de 2014.
- Otero, J. M. and Nielsen, J. (2010). Industrial Systems Biology. *Biotechnology and Bioengineering*. 105(3): 439–460.
- Pinzón-Martínez, D. L., Rodríguez-Gómez, C., Miñana-Galbis, D., Valerio-Alfaro, G., and Oliart-Ros, R. M. (2010). Thermophilic bacteria from Mexican thermal environments: Isolation and potential applications. *Environmental Technology*. 31(8–9): 957–966.
- Quintana-Castro, R., Díaz, P., Valerio-Alfaro, G., García, H.S., Oliart-Ros, R. (2009). Gene cloning, expression and characterization of the *Geobacillus thermoleovorans* CCR11 thermoalkaliphilic lipase. *Molecular Biotechnology*. 42 (1): 75–83.
- Reed, C. J., Lewis, H., Trejo, E., Winston, V., and Evilia, C. (2013). Protein adaptations in archaeal

extremophiles. *Archaea*. 2013: 1-14.

Rothschild, L. J. and Mancinelli, R. L. (2001). Life in extreme environments. *Nature*. 409(6823): 1092-1101.

Ruiz-Romero, E., Alcántara-Hernández, R., Cruz-Mondragon, C., Marsch, R., Luna-Guido, M. L., and Dendooven, L. (2009). Denitrification in extreme alkaline saline soils of the former lake Texcoco. *Plant and Soil*. 319(1-2): 247-257.

Sánchez-Otero, M. G., Valerio-Alfaro, G., Garcia-Galindo, H. S., and Oliart-Ros, R. M. (2008). Immobilization in the presence of Triton X-100: modifications in activity and thermostability of *Geobacillus thermoleovorans* CCR11 lipase. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*. 35(12): 1687-1693.

Sánchez-Otero, M. G., Quintana-Castro, R., Mora-González, P., Márquez-Molina, O., Valerio-Alfaro, G., and Oliart-Ros, R. M. (2010). Enzymatic reactions and synthesis of n-butyl caproate: esterification, transesterification and aminolysis using a recombinant lipase from *Geobacillus thermoleovorans* CCR11. *Environmental Technology*. 31(10): 1101-1106.

Sánchez-Otero, M. G., Ruiz-López, I. I., Avila-Nieto, D. E., and Oliart-Ros, R. M. (2011). Significant improvement of *Geobacillus thermoleovorans* CCR11 thermoalkalophilic lipase production using Response Surface Methodology. *New Biotechnology*. 28(6): 761-766.

Sára, M., Egelseer, E. M., Huber, C., Ilk, N., Pleschberger, M., Pum, D., and Sleytr, U. B. (2006). S-layer proteins: potential application in nano (bio) technology. En B. H. Rehn (Ed.), *Microbial bionanotechnology: biological self-assembly systems and biopolymer-based nanostructures* (pp. 307-338). U.K.: Horizon Scientific Press.

Sarmiento, F., Peralta, R., and Blamey, J. M. (2015). Cold and hot extremozymes: industrial relevance and current trends. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 3: 148.

Sauer, T. and Gallinski, E. A. (1998). Bacterial milking: a novel bioprocess for production of compatible solutes. *Biotechnology and Bioengineering*. 57(3): 306-313.

Simon, R. C., Mutti, F. G., and Kroutil, W. (2013). Biocatalytic synthesis of enantiopure building blocks for pharmaceuticals. *Drug Discovery Today: Technologies*. 10(1): e37-e44.

Singh, B. K. (2010). Exploring microbial diversity for biotechnology: the way forward. *Trends in Biotechnology*. 28(3): 111-116.

Souza, V., Espinosa-Asuar, L., Escalante, A. E., Eguiarte, L. E., Farmer, J., Forney, L., ..., and Elser, J. J. (2006). An endangered oasis of aquatic microbial biodiversity in the Chihuahuan desert. *Proceedings of the National Academy*. 103(17): 6565-6570.

Squillaci, G., Finamore, R., Diana, P., Restaino, O. F., Schiraldi, C., Arbucci, S., ..., and Morana, A. (2016). Production and properties of an exopolysaccharide synthesized by the extreme halophilic archaeon *Haloterrigena turkmenica*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 100(2): 613-623.

Stewart, E. J. (2012). Growing unculturable bacteria. *Journal of bacteriology*. 194(16): 4151-4160.

Tang, W. L. and Zhao, H. (2009). Industrial biotechnology: Tools and applications. *Journal Biotechnology*. 4(12): 1725-1739.

Valenzuela-Encinas, C., Neria-González, I., Alcántara-Hernández, R. J., Enríquez-Aragón, J. A., Estrada-Alvarado, I., Hernández-Rodríguez, C., ..., and Marsch, R. (2008). Phylogenetic analysis of the archaeal community in an alkaline-saline soil of the former lake Texcoco (Mexico). *Extremophiles*. 12(2): 247-254.

Van-Den-Burg, B. (2003). Extremophiles as a source for novel enzymes. *Current opinion in microbiology*. 6(3): 213-218.

Wiegel, J. and Kevbrin, V. V. (2004). Alkalithermophiles. *Biochemical Society Transactions*. 32(2): 193-198.