

El océano, fuente potencial de compuestos bioactivos: enzimas lipolíticas y su aplicación biotecnológica

ITZEL ANAHÍ HIDALGO MANZANO, LILIANA PARDO LÓPEZ, JOSÉ LUIS RODRÍGUEZ MEJÍA

Itzel Anahí Hidalgo Manzano es Ingeniera en Biotecnología por la Universidad Politécnica del Estado de Morelos. Actualmente estudia la Maestría en Ciencias del Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas (IICBA) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos bajo la dirección de la Dra. Liliana Pardo. José Luis Rodríguez Mejía es doctor en Ciencias por la Universidad Nacional Autónoma de México y realizó una estancia posdoctoral en el laboratorio de la Dra. Liliana Pardo. Actualmente realiza una estancia posdoctoral por México, CONACYT en la Universidad de Colima. Liliana Pardo López es investigadora del Instituto de Biotecnología de la UNAM y tiene a su cargo el grupo de Biotecnología Marina, es miembro de la Academia de Ciencias de Morelos. Esta publicación fue revisada por el comité editorial de la Academia de Ciencias de Morelos.

El océano y su diversidad

El océano es el ecosistema más grande de nuestro planeta, representando más del 70% de su superficie (Beygmoradi y Homaei, 2017). Desde el inicio de la historia de la humanidad, ha sido utilizado como fuente de recursos alimenticios mediante el aprovechamiento de peces, crustáceos, bivalvos, algas, entre otros (Imhoff, Labes y Wiese, 2011). Actualmente es importante para la realización de actividades con impacto económico como: la extracción de petróleo, la transportación marítima y el turismo, además, es considerado una fuente importante de investigación biotecnológica para la obtención de productos que cubren otras necesidades humanas.

En la inmensidad del ambiente marino habitan diversas formas de vida que representan una fuente inagotable de herramientas de gran aplicabilidad. La vida en el océano es tan diversa, que abarca desde grandes mamíferos hasta microorganismos, estos últimos representan la mayor parte de esta diversidad. Los microorganismos del ambiente marino han desarrollado la capacidad de crecer en circunstancias variables, como hábitats con condiciones abióticas extremas en temperatura, presión, salinidad y luz, además de condiciones bióticas limitadas, siendo una muy importante la disponibilidad de nutrientes. Los nichos ecológicos que habitan los microorganismos marinos (bacterias, hongos, microalgas, arqueas e incluso virus) son tan peculiares como los hielos polares, respiraderos hidrotermales, aguas profundas, costeras, playas, zonas marinas perturbadas e incluso infraestructura como ductos, cables y plataformas (Lozada y Dionisi, 2015; Zhang y Kim, 2010). Con el paso de millones de años, los microorganismos se han adaptado para habitar el ambiente marino produciendo compuestos estables y activos en una amplia gama de condiciones extremas (Dalmaso, Ferreira y Vermelho, 2015). En la actualidad, se realizan estudios en todo el mundo para explorar la diversidad biológica de los océanos y para el entendimiento de las propiedades de sus compuestos bioactivos con el objetivo de llevarlos hasta una aplicación en la vida diaria.

Ejemplos de beneficios para la humanidad

Un ejemplo clave para visualizar el potencial del océano como fuente de bienes con interés

antropogénico fue el aislamiento de los compuestos bioactivos de nombre esponguiridina y espongimidina de la esponja *Cryptotheca crypta* proveniente del mar Caribe a finales de la década de los cincuenta. Estos compuestos sirvieron para sintetizar los primeros fármacos denominados Ara-C y Ara-A, el primero utilizado para el tratamiento de leucemia mieloide aguda y el segundo como fármaco contra el Virus del Herpes Simple (VHS) (Luna, 2015). Entre los compuestos de interés que se producen en el ambiente marino con fines de estudio y aplicación destacan las enzimas, que son moléculas biológicas que intervienen en las reacciones químicas necesarias para la vida de los organismos y microorganismos que lo albergan. En 1907 Eduard Buchner recibió el premio Nobel de Química por su investigación en la fermentación libre de células, donde se estableció que los procesos bioquímicos no requieren de células vivas y que son posibles gracias a la acción de las enzimas. El trabajo de Buchner permitió sentar las bases para utilizar a las enzimas en el procesamiento a escala industrial de productos alimenticios, farmacéuticos y cosméticos.

El mercado actual de enzimas para aplicación industrial tiene una tendencia creciente debido a que su uso permite la disminución de costos de producción, consumo de productos químicos, tiempo de procesamiento, espacio y energía, permitiendo la creación de procesos amigables con el ambiente. El uso de las enzimas de origen microbiano en la industria destaca sobre las enzimas de origen animal y vegetal, principalmente porque el crecimiento de los microorganismos se puede controlar fácilmente para obtener grandes cantidades de enzima en poco tiempo (Chapman, Ismail y Dinu, 2018). A las enzimas se les nombra por convención con el nombre del sustrato sobre el que actúan añadiendo el sufijo "asa", siendo algunos ejemplos de hidrolasas con aplicación industrial las proteasas, amilasas, lipasas y esterases (Singh et al., 2016). La mayoría de las enzimas utilizadas en la industria son hidrolasas con principal aplicación en el procesamiento de alimentos, bebidas, papel, textiles, cuero, producción de biocombustibles, detergentes y biorremediación. Existe una amplia variedad de enzimas microbianas provenientes de bacterias y hongos con potenciales aplicaciones diversas, sin embargo, no todas estas enzimas pueden ser utilizadas exitosamente a nivel industrial, ya que estos procesos operan en condiciones extremas requiriendo enzimas capaces de tolerarlas. Por lo anterior, la búsqueda de enzimas capaces de trabajar en condiciones extremas es hoy en día un amplio campo de investigación biotecnológica. Por las condiciones abióticas y bióticas presentes en el ambiente marino, los microorganismos que lo habitan representan un reservorio de enzimas con potencial aplicación como nuevos biocatalizadores estables y activos en condiciones extremas (Dalmaso, Ferreira y Vermelho, 2015). Pertenecientes al grupo de hidrolasas utilizadas en una amplia variedad de áreas destacan las conocidas como "lipasas" ya que además de hidrolizar compuestos lipídicos, sus propiedades catalíticas son aprovechadas cada vez más en reacciones de síntesis con el objetivo de sustituir la catálisis química clásica en diversos procesos industriales, posicionándose en el tercer lugar de las enzimas más utilizadas en la industria (Javed et al., 2018).

Las lipasas y sus campos de aplicación

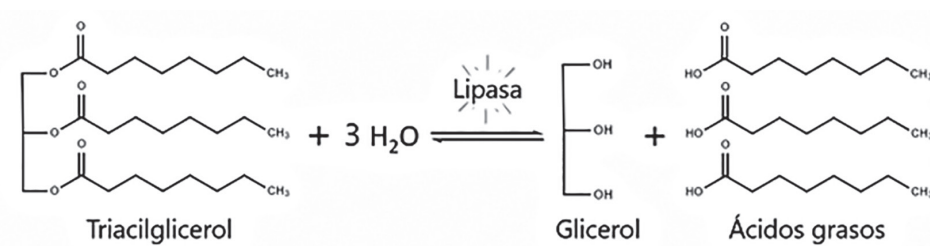


FIGURA 1. REACCIONES de hidrólisis y de síntesis que catalizan las lipasas. Tras la ruptura de la molécula de triacilglicerol se liberan sus componentes: una molécula de glicerol y tres moléculas de ácidos grasos. La reacción reversible involucra la síntesis de triacilglicerol o ésteres. Figura elaborada para este trabajo (Hidalgo-Manzano, 2021) en la base de datos de estructuras químicas ChemSpider <http://www.chemspider.com/>.

Las lipasas son enzimas involucradas en la ruptura de moléculas de triacilglicerol dejando libres al glicerol y los ácidos grasos que lo conforman (Figura 1), además, son capaces de sintetizar moléculas como algunos ésteres (Jaeger y Reetz, 1998).

Las lipasas tienen muy importantes aplicaciones que se presentan a continuación.

Industria alimenticia

La participación de las lipasas en la industria alimenticia favorece el valor nutricional y sensorial de los alimentos al estar involucradas en la obtención de texturas, aromas y sabores. Las lipasas se utilizan en la síntesis de triacilglicerol de importancia nutricional que son poco o nada dañinos para la salud humana. Entre los usos de los triacilglicerol sintetizados utilizando lipasas se encuentran la producción de chocolate a partir de sustitutos de manteca de cacao y la formulación de alimento para bebé (Melani, Tambourgi y Silveira, 2020). Las lipasas también se utilizan para mejorar el sabor y acelerar el proceso de maduración de algunos quesos, para prolongar la vida de anaquel de jugos y para mejorar la blandura de algunos fiados (Navvabi et al., 2018). Adicionalmente se utilizan en la síntesis de ésteres, compuestos encargados del sabor y aroma frutal de algunos alimentos (Javed et al., 2018). Lipasas aisladas de microorganismos como *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Bacillus subtilis*, *Candida rugosa*, *Penicillium camemberti* y *Penicillium roqueforti* tienen un gran potencial de aplicación en la industria alimenticia (Aravindan, Anbumathi y Viruthagiri, 2007; Raveendran et al., 2018). Actualmente se producen comercialmente lipasas aisladas de algunos de los microorganismos mencionados y son exitosamente aplicadas en el procesamiento de alimentos.

Formulación de detergentes

Las lipasas se utilizan como aditivos en la formulación de detergentes como los que se usan en el hogar para remover grasa de la ropa y de los utensilios de cocina, y son utilizadas durante pasos de lavado en algunos procedimientos industriales. Estas lipasas son compatibles con la formulación química de los detergentes en los que se les encuentra y soportan las condiciones fisicoquímicas de los procesos de lavado en los que se éstos se emplean.

Procesamiento del cuero

En la fabricación del cuero por métodos tradicionales se utilizan compuestos químicos para la eliminación de grasas y proteínas de la piel animal. Actualmente utilizar lipasas y proteasas para el procesamiento del cuero se ha convertido en un método amigable con el ambiente ya que se elimina el uso de compuestos químicos contaminantes y adicionalmente se obtiene cuero de mejor calidad. Las lipasas aisladas de los microorganismos *Rhizopus nodosus* y *B. subtilis* han sido utilizadas en la industria del cuero (Hasan, Shah y Hameed, 2006).

Producción de biodiesel

El biodiesel es una alternativa al uso de combustibles fósiles. Este se puede producir a partir

de aceites vegetales como el de soja, jatrofa, palma e incluso a partir de aceites usados como los que se desechan de cocinas domésticas e industriales (Melani et al., 2020). El procesamiento químico tradicional de los aceites para la obtención de biodiesel suele ser costoso, sin embargo, el uso de lipasas para el procesamiento de los aceites permite una disminución de costos de producción y por lo tanto procesos de producción más rentables (Chapman, Ismail y Dinu, 2018). Lipasas de los microorganismos *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia cepacia*, *Ralstonia sp.*, *T. lanuginosus* y *C. antarctica* son utilizadas actualmente para la producción de biodiesel con el objetivo de optimizar el proceso de producción y en un futuro comenzar a sustituir los combustibles fósiles (Chapman et al., 2018; Hasan, Shah y Hameed, 2006).

Tratamiento de aguas con alto contenido de lípidos

La presencia de desechos orgánicos en efluentes de la industria alimenticia, la industria del cuero e incluso en aguas residuales domésticas o de restaurantes, ha llevado a la creación de tecnologías que permiten la degradación parcial o total de los compuestos orgánicos utilizando diversas enzimas. Para el tratamiento de aguas con alto contenido de lípidos se emplean tecnologías como digestores aeróbicos y anaeróbicos y también lodos activados en los que se añaden microorganismos productores de lipasas o directamente las enzimas para el tratamiento de aguas residuales municipales o industriales (Chapman et al., 2018).

Importancia de las lipasas a nivel mundial

Actualmente existen lipasas microbianas disponibles en el mercado a través de compañías internacionales dedicadas a la tecnología de enzimas. Estas lipasas prometen ser aplicables en algunos de los diversos campos ya descritos, ejemplos de estas lipasas se enlistan en la Tabla 1.

El IBT-UNAM y el CIGoM unidos para la búsqueda de enzimas marinas con potencial aplicación biotecnológica

En el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IBT-UNAM) como parte del Consorcio de Investigación del Golfo de México (CIGoM) ha realizado en los últimos años una extensa investigación para la búsqueda de enzimas con potencial biotecnológico a partir de muestras ambientales marinas, principalmente de microorganismos como las bacterias. Actualmente, se realiza la identificación de enzimas microbianas como las lipasas utilizando estrategias de cultivo-dependientes y cultivo-independientes (Figura 2).

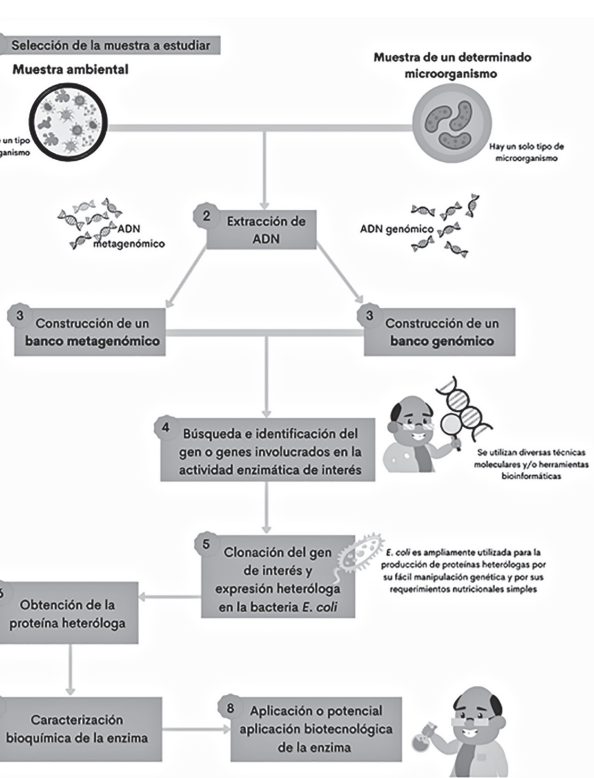
A partir de librerías metagenómicas de muestras ambientales provenientes del golfo de México obtenidas de columna de agua y de sedimentos, a 1000 m y 3000 m de profundidad respectivamente, en el laboratorio se han realizado arduas exploraciones a través de las que se han identificado al menos 10 posibles genes relacionados con enzimas lipolíticas y se conoce la secuencia de cuatro de ellos, lo cual, es de gran importancia para la lograr la caracterización de las enzimas y con ello entender su po-

tencial aplicación biotecnológica. Así mismo, se han aislado bacterias productoras de lipasas pertenecientes a diversos géneros bacterianos entre los que destaca el género *Pseudomonas*. Interesantemente una de las cepas identificada como *P. alcaligenes*, aislada de una muestra de agua de mar a 1000 m de profundidad, tiene actividad lipolítica relacionada con tres enzimas, del tipo esterasa y lipasa, dos de ellas actualmente están siendo caracterizadas, de las cuales, una ya fue sometida para la obtención de una patente.

El IBT-UNAM y el CIGoM unidos para la búsqueda de enzimas marinas con potencial aplicación biotecnológica

En el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IBT-UNAM) como parte del Consorcio de Investigación del Golfo de México (CIGoM) ha realizado en los últimos años una extensa investigación para la búsqueda de enzimas con potencial biotecnológico a partir de muestras ambientales marinas, principalmente de microorganismos como las bacterias. Actualmente, se realiza la identificación de enzimas microbianas como las lipasas utilizando estrategias de cultivo-dependientes y cultivo-independientes (Figura 2).

A partir de librerías metagenómicas de muestras ambientales provenientes del golfo de México obtenidas de columna de agua y de sedimentos, a 1000 m y 3000 m de profundidad respectivamente, en el laboratorio se han realizado arduas exploraciones a través de las que se han identificado al menos 10 posibles genes relacionados con enzimas lipolíticas y se conoce la secuencia de cuatro de ellos, lo cual, es de gran importancia para la lograr la caracterización de las enzimas y con ello entender su po-



El potencial biotecnológico de ambientes extremos como el marino es sin duda un campo de investigación que está en desarrollo y que ofrece una amplia variedad de posibilidades para la búsqueda de enzimas versátiles como las lipasas. La exploración de este ambiente no se limita solo al desarrollo de nuevas tecnologías biocatalíticas de interés industrial, sino que al mismo tiempo las enzimas contribuyen con la creación de estrategias para salvaguardar este y otros recursos naturales incluyendo las especies que lo habitan y sus ecosistemas.

Referencias

- Aravindan, R., Anbumathi, P., & Viruthagiri, T. (2007). Lipase applications in food industry. *Indian Journal of Biotechnology*, 6(2), 141-158.
- Bajpai, P. (1999). Application of enzymes in the pulp and paper industry. *Biotechnology progress*, 15(2), 147-157.
- Beygmoradi, A., & Homaei, A. (2017). Marine microbes as a valuable resource for brand new industrial biocatalysts. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 11, 131-152.
- Bezborodov, A. M., & Zagustina, N. A. (2014). Lipases in catalytic reactions of organic chemistry. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 50(4), 313-337.
- Buchner, E. (1907). Cell-free fermentation. Nobel Lecture.
- Chapman, J., Ismail, A. E., & Dinu, C. Z. (2018). Industrial Applications of Enzymes: Recent Advances, Techniques, and Outlooks. *Catalysts*, 8(6), 238-263.
- Dalmaso, G. Z., Ferreira, D., & Vermelho, A. B. (2015). Marine extremophiles: a source of hydrolases for biotechnological applications. *Marine drugs*, 13(4), 1925-1965.
- Gutiérrez, A., Del Río, J. C., & Martínez, A. T. (2009). Microbial and enzymatic control of pitch in the pulp and paper industry. *Applied microbiology and biotechnology*, 82(6), 1005-1018.
- Hasan, F., Shah, A. A., & Hameed, A. (2006). Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(2), 235-251.
- Imhoff, J. F., Labes, A., & Wiese, J. (2011). Bio-mining the microbial treasures of the ocean: new natural products. *Biotechnology advances*, 29(5), 468-482.
- Jaeger, K. E., & Reetz, M. T. (1998). Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. *Trends in biotechnology*, 16(9), 396-403.
- Javed, S., Azeem, F., Hussain, S., Rasul, I., Siddique, M. H., Riaz, M., ... & Nadeem, H. (2018). Bacterial lipases: a review on purification and characterization. *Progress in biophysics and molecular biology*, 132, 23-34.
- Kennedy, J., Flemer, B., Jackson, S. A., Lejon, D. P., Morrissey, J. P., O'gara, F., & Dobson, A. D. (2010). Marine technologies: new tools for the study and exploitation of marine microbial metabolism. *Marine drugs*, 8(3), 608-628.
- Lozada, M., & Dionisi, H. M. (2015). Microbial bioprospecting in marine environments. *Springer Handbook of Marine Biotechnology*, 307-326.
- Luna, G. M. (2015). Biotechnological potential of marine microbes. *Springer Handbook of Marine Biotechnology*, 651-661.
- Madhavan, A., Sindhu, R., Parameswaran, B., Sukumar, R. K., & Pandey, A. (2017). Meta-genome Analysis: a Powerful Tool for Enzyme Bioprospecting. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 183(2), 636-651.
- Melani, N. B., Tambourgi, E. B., & Silveira, E. (2020). Lipases: From Production to Applications. *Separation & Purification Reviews*, 49(2), 143-158.
- Navvabi, A., Razzaghia, M., Fernandes, P., Karamid, L., & Homaei, A. (2018). Novel lipases discovery specifically from marine organisms for industrial production and practical applications. *Process Biochemistry*, 70, 61-70.
- Raveendran, S., Parameswaran, B., Ummalyama, S. B., Abraham, A., Mathew, A. K., Madhavan, A., ... & Pandey, A. (2018). *Applications of Microbial Enzymes in Food Industry*. Food Technology and Biotechnology, 56(1), 16-30.
- Sana, B. (2015). Marine microbial enzymes: current status and future prospects. *Springer Handbook of Marine Biotechnology*, 905-917.
- Sharma, R., Christy, Y., & Chand Banerjee, U. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances*, 19(8), 627-662.
- Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., & Mehta, P. K. (2016). Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. *3 Biotech*, 6(2), 1-15.
- Sorokin, D. Y., & E, J. B. (2009). Improved method for direct screening of true lipase-producing microorganisms with particular emphasis on alkaline conditions. *Microbiology*, 78(1), 125-130.
- Zhang, C., & Kim, S.-K. (2010). Research and Application of Marine Microbial Enzymes: Status and Prospects. *Marine Drugs*, 8(6), 1920-1934.



ESTA PUBLICACIÓN FUE REVISADA POR EL COMITÉ EDITORIAL DE LA ACADEMIA DE CIENCIAS DE MORELOS

Para actividades recientes de la academia y artículos anteriores puede consultar: www.acmor.org.mx
¿Comentarios y sugerencias?, ¿Preguntas sobre temas científicos? CONTACTANOS: editorial@acmor.org.mx

Esta columna se prepara y edita semana con semana, en conjunto con investigadores morelenses convencidos del valor del conocimiento científico para el desarrollo social y económico de Morelos. Desde la Academia de Ciencias de Morelos externamos nuestra preocupación por el vacío que genera la extinción de la Secretaría de Innovación, Ciencia y Tecnología dentro del ecosistema de innovación estatal que se debilita sin la participación del Gobierno del Estado.