

**EXTREMÓFILOS: ENZIMAS E APLICAÇÕES INDUSTRIAIS**

SANDRA APARECIDA DE ASSIS<sup>1\*</sup>, DANIELA SILVA DOS SANTOS ALVES<sup>2</sup>, GARDÊNIA ARAÚJO AIRES<sup>2</sup> & SILVANIR FIGUEIREDO DE CARVALHO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Prof. Adjunta do Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, Av. Transnordestina, s/n, Novo Horizonte, 44036-900, Feira de Santana, Bahia.

<sup>2</sup>Discentes do Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia (UEFS).

\*Autor para correspondência: (sandraassis@uefs.br)

**(Extremófilos: enzimas e aplicações industriais)** – Os extremófilos são microrganismos que estão adaptados a viver em altas temperaturas como em fontes termais, baixas temperaturas como as regiões polares, altas concentrações de sais, sob pH ácidos e alcalinos e ainda sob altas pressões como mares profundos. As enzimas mesofílicas têm como restrição de utilização as condições drásticas das reações requeridas em processos industriais, por causa da falta de estabilidade da enzima. A descoberta de microrganismos extremófilos e de suas enzimas teve um impacto grande no campo da biotecnologia. Estes microrganismos produzem os biocatalisadores que atuam sob as circunstâncias restritas aos mesofílicos, permitindo o desenvolvimento de processos industriais adicionais.

**Palavras-chave:** Extremófilos, enzimas, aplicação industrial, potencial biotecnológico.

**(Extremophiles: enzymes and industrial applications)** – Extremophiles are microorganisms adapted to live at high temperatures as thermal vents, low temperatures as in polar regions, high salt concentrations, on acidic and alkali pH values, or under high pressure as deep sea regions. The mesophilic enzymes have some restriction in relation to drastic conditions required for industrial processes, mainly due the low stability of their enzymes. The discovery of new extremophiles microorganisms as well as their products and enzymes had a great impact in the biotechnological field. These microorganisms produce biocatalyzers that operate under conditions in with mesophilic could not survive, allowing the development of additional industrial processes.

**Key words:** Extremophiles, enzymes, industrial application, biotechnological potential.

**INTRODUÇÃO**

Define-se como extremófilo o organismo que é capaz de sobreviver e se reproduzir sob condições ambientais extremas (SCHIRALDI & DE ROSA, 2002). Segundo alguns autores, os extremófilos não somente toleram estas condições drásticas, mas as requerem para o seu crescimento (SCHIRALDI *et al.*, 2002; ATOMI, 2005). Segundo DEMIRJIAN *et al.* (2001), estes organismos têm evoluído para habitar em vários ambientes extremos: em altas temperaturas, como em fontes vulcânicas; em baixas temperaturas, como nas regiões polares; em altas concentrações salinas (5 a 30%); sob valores muito baixos ou muito altos de pH (pH inferior a 3 ou superior a 10); e ainda sob altas pressões, como em mares profundos (NIEHAUS *et al.*, 1999). Alguns trabalhos ampliam a definição dos extremófilos incluindo organismos tolerantes a altas concentrações de metais pesados ou radiação ionizante. No entanto, não existe um consenso a este respeito, pois estes organismos crescem igualmente bem na ausência das condições extremas. Existem ainda os organismos que são extremos em mais de uma dimensão (HENDRY, 2006).

Em relação à filogenia, a maioria dos termófilos pertence ao grupo Archaea e não possui ácidos graxos em sua membrana; em vez disso, eles possuem hidrocarbonetos C<sub>40</sub> formados de repetidas unidades de isoprenos (compostos formados por cinco átomos de carbono), que

dão origem a uma monocamada fosfolipídica, ao invés de uma bicamada lipídica (PACHECO & ALLAIN, 2009). Outra diferença é o tipo de ligação entre a cadeia carbônica e o glicerol fosfato. Em vez de uma ligação éster, o que existe é uma ligação éter. Este tipo de estrutura é, sem dúvida, muito mais resistente ao calor que a bicamada fosfolipídica constituinte das membranas de organismos do domínio Bacteria e Eucarya (PACHECO & ALLAIN, 2009; MADIGAN *et al.*, 2000). As Archaea parecem ser os únicos organismos descobertos até o presente momento que podem sobreviver a temperaturas superiores a 95°C e o fenótipo hipertermofílico só é encontrado nesse domínio de vida (CARDOSO *et al.*, 2003).

O objetivo principal da pesquisa sobre extremófilos é o potencial biotecnológico associado com os microrganismos e seus produtos celulares. Dentre estes produtos celulares estão as enzimas (chamadas “extremozimas”), muito relevantes para a indústria. As aplicações na indústria ainda são limitadas, porém as aplicações potenciais são inúmeras. As enzimas mesofílicas às vezes não podem ser utilizadas devido às condições drásticas das reações requeridas em processos industriais, devido à baixa estabilidade da enzima. Por esta razão, o uso dos biocatalisadores em reações orgânicas representou somente uma fração pequena do mercado industrial potencial no passado (DEMIRJIAN *et al.*, 2001). A descoberta de novos microrganismos extremófilos, bem como de suas

enzimas, teve um impacto grande no campo da biocatálise. Estes microrganismos produzem os biocatalisadores que atuam sob as circunstâncias em que mesófilos não poderiam sobreviver, permitindo o desenvolvimento de processos industriais adicionais.

#### TIPOS DE EXTREMÓFILOS E SUAS ENZIMAS

De acordo com a condição extrema na qual o organismo está inserido, ele é classificado em termófilo (altas temperaturas), psicrófilo (baixas temperaturas), piezófilo ou barófilo (altas pressões), halófilo (altas concentrações de sais), acidófilo e alcalófilo (extremos de pH) (HENDRY, 2006; VAN DEN BURG, 2003; DEMIRJIAN *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2001).

#### Termófilos e Hipertermófilos

Termófilos são organismos que têm seu crescimento ótimo em temperaturas elevadas (50-80°C) (NIEHAUS *et al.*, 1999; FUJIWARA, 2002; BERTOLDO & ANTRANIKIAN, 2002; COLLINS *et al.*, 2005; EGOROVA & ANTRANIKIAN, 2005). Dentro do contexto da termofilia, a descoberta contemporânea mais relevante foi feita por Karl O. Stetter e refere-se aos organismos hipertermófilos que crescem em temperaturas acima de 80°C, sendo 121°C o limite máximo de temperatura encontrado até o presente momento para crescimento (HENDRY, 2006).

O interesse industrial pelos termófilos e hipertermófilos está relacionado às vantagens dos processos realizados em altas temperaturas. O aumento da temperatura tem significativa influência na biodisponibilidade e na solubilidade de compostos orgânicos. A elevação da temperatura é acompanhada por uma diminuição na viscosidade e por um aumento no coeficiente de difusão de compostos orgânicos. Além disso, executando processos biológicos em temperaturas acima de 60°C o risco da contaminação é reduzido e os processos controlados sob circunstâncias estritas podem ser realizados (NIEHAUS *et al.*, 1999).

Existe uma grande variedade de enzimas termofílicas e hipertermofílicas descritas. Dentre elas, estão as enzimas envolvidas na degradação do amido, as amilases, pululanases, glucoamilases, glucosidases e ciclodextrina glicosiltransferases – CGTases (NIEHAUS *et al.*, 1999; BERTOLDO & ANTRANIKIAN, 2002; ATOMI, 2005). A importância destas enzimas consiste no fato das mesmas serem termoestáveis e ativas acima de 100°C e isto as qualifica como candidatas interessantes para o uso no processo industrial da bioconversão do amido em glicose e frutose, que é feito através de liquefação, sacarificação e isomerização, e que pode ser melhorado significativamente com estas enzimas (NIEHAUS *et al.*, 1999; BERTOLDO & ANTRANIKIAN, 2002). Tais enzimas também estão relacionadas com a digestão da lactose no leite, sacarificação de enzimas, síntese de oligossacarídeos e produção de glicose e frutose (SCHIRALDI & DE ROSA, 2002; FUJIWARA, 2002).

As amilases termoestáveis que têm sido bem caracterizadas são provenientes de *Pyrococcus woesei*, *P. furiosus* e *Thermococcus profundus* e a temperatura ótima de atividade destas enzimas são 100°C, 100°C e 80°C, respectivamente. A atividade de degradação do amido também foi observada nos gêneros *Sulfolobus*, *Desulfurococcus*, *Thermococcus* e *Staphylothermus* (SUNNA *et al.*, 1997; BERTOLDO & ANTRANIKIAN, 2002). As glucoamilases têm sido purificadas e caracterizadas e recentes trabalhos têm mostrado que *Thermoplasma acidophilum*, *Picrophilus torridus* e *P. oshimae*, que são termoacidófilos, produzem glucoamilases termoestáveis e estáveis a pH altamente ácido, sendo que estas enzimas têm atividade ótima a pH 2,0 e 90°C (BERTOLDO & ANTRANIKIAN, 2002). KIM *et al.* (2004) demonstraram que a  $\alpha$ -glucoamilase proveniente de *Sulfolobus solfataricus* é mais eficiente nas etapas de processamento do amido que as enzimas atualmente utilizadas, por apresentar pH e temperatura ideais para a etapa de liquefação sem a necessidade de ajuste de pH e temperatura para a etapa seguinte de sacarificação.

Glucosidases estão envolvidas geralmente na última etapa da degradação do amido e têm sido identificadas em representantes dos domínios Archaea e Bacteria. Estudos prévios demonstraram que  $\alpha$ -glucosidase poderia ser utilizada na conversão industrial de dextrinas em glicose sob condições que são inviáveis para enzimas mesófilas (GIULIANO *et al.*, 2004). Em *P. furiosus*, a enzima glucosidase exibe atividade ótima em pH 5,0 a 6,0 sobre uma escala de temperatura de 105°C a 115°C, e a meia-vida em 98°C é 48h (BERTOLDO & ANTRANIKIAN, 2002). As CGTases atacam as ligações  $\alpha$ -1,4 de polissacarídeos de forma aleatória e convertem o amido por uma reação intramolecular de transglicosilação. Os produtos desta reação são  $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ -ciclodextrinas, consistindo em seis, sete ou oito moléculas de glicose, respectivamente. A aplicação predominante das CGTases está na produção industrial das ciclodextrinas, que melhoram a solubilidade de compostos hidrofóbicos em soluções aquosas, o que é interessante para as indústrias farmacêutica e cosmética. As ciclodextrinas podem ser usadas como agentes estabilizadores e de engrossamento em geléias, molhos, confeitaria e produtos derivados do leite e carne (EGOROVA & ANTRANIKIAN, 2005). Recentemente, uma CGTase estável em altas temperaturas e pH alcalino (atividade ótima a 65°C e pH 10) foi obtida e purificada a partir de *Anaerobranca bogoriae* (BERTOLDO & ANTRANIKIAN, 2002).

Diversas enzimas degradadoras de celulose de organismos termófilos têm sido clonadas, purificadas e caracterizadas (NIEHAUS *et al.*, 1999). Uma celulase termoestável de *T. maritima* foi caracterizada, sendo ativa a 95°C e entre pH 5,0 e 6,0. As celulases podem ser usadas na produção do álcool, aperfeiçoamento da produção de sucos e extração efetiva da cor dos sucos. A presença das celulases nos detergentes causa o avivamento da cor, maciez e melhor remoção das partículas de sujeira (HAKAMADA *et al.*, 1997; NIEHAUS *et al.*, 1999; EGOROVA & ANTRANIKIAN, 2005).

As xilanases desempenham um papel chave como agentes de aperfeiçoamento da qualidade e produção nas indústrias de alimentos, polpa e papel. Nas arqueas termofílicas, a xilanase tem sido produzida por *Pyrodictium abyssi* com temperatura ótima de 110°C – um dos valores mais altos para xilanases. A xilanase de *Thermococcus zilligii* é ativa acima de 100°C; pode atacar diferentes xilanos, mas não mostra atividade em celulose. No processo de biobranqueamento da polpa e papel, as xilanases termoestáveis exploram a estrutura da parede celular facilitando a remoção da lignina (VAN DEN BURG, 2003; COLLINS *et al.*, 2005; EGOROVA & ANTRANIKIAN, 2005).

As proteases estão envolvidas na conversão de proteínas em aminoácidos e peptídeos. Proteases são usadas como aditivos para detergentes e resistem à desnaturação por detergentes e condições alcalinas. Estas propriedades são ilustradas pela enzima de *Thermococcus stetteri*, com uma meia-vida de 2,5h a 100°C. Proteases mostram altas atividades de degradação da queratina e são utilizadas nas indústrias de couro; também na síntese de peptídeos, usando a reação reversa, principalmente por causa da sua compatibilidade com solventes orgânicos (NIEHAUS *et al.*, 1999). Várias proteases termoestáveis têm sido identificadas em arqueas hipertermofílicas e pertencem aos gêneros *Desulfurococcus*, *Sulfolobus*, *Staphylothermus*, *Thermococcus*, *Pyrobaculum* e *Pyrococcus*. Múltiplas atividades proteolíticas têm sido observadas em *P. furiosus*. Uma protease termoestável isolada de *Fervidobacterium pennavorans* é capaz de hidrolisar queratina formando aminoácidos e peptídeos, sendo esta enzima ativa em 80°C e em pH 10,0 (NIEHAUS *et al.*, 1999). As proteases dos termófilos também podem ser utilizadas na produção de produtos fermentados (FUJIWARA, 2002; VAN DEN BURG, 2003). Embora muitas das proteases de hipertermófilos sejam estruturalmente relacionadas com enzimas mesofílicas caracterizadas, algumas são estruturalmente novas (ATOMI, 2005).

Outro grupo importante de enzimas presentes em termófilos são as lipases (SCHIRALDI & DE ROSA, 2002; SCHIRALDI *et al.*, 2002), que têm aplicações no tratamento de água, formulação de detergentes e na indústria de laticínios (SCHIRALDI & DE ROSA, 2002; SCHIRALDI *et al.*, 2002; VAN DEN BURG, 2003).

Outras enzimas também encontradas em termófilos e hipertermófilos são as esterases, utilizadas para biotransformação de solventes orgânicos, nas indústrias de laticínios, detergentes, fármacos e químicos finos, e também na produção de alimentos (SCHIRALDI *et al.*, 2002; SCHIRALDI & DE ROSA, 2002; VAN DEN BURG, 2003; SUZUKI *et al.*, 2004; EGOROVA & ANTRANIKIAN, 2005).

De grande importância para a biotecnologia são as DNA polimerases, pois permitiram o desenvolvimento da reação em cadeia da polimerase (PCR), que tem revolucionado o campo da biologia molecular. A principal enzima utilizada é a Taq polimerase, que foi isolada de um hipertermófilo, o *Thermus aquaticus* (SCHIRALDI *et al.*, 2002;

SCHIRALDI & DE ROSA, 2002; VAN DEN BURG, 2003; EGOROVA & ANTRANIKIAN, 2005).

#### Psicrófilos

Os psicrófilos constituem um grupo de organismos que crescem restritamente em ambientes com temperaturas muito baixas, menores que 15°C, chegando em algumas espécies a 0°C, sendo o limite máximo, encontrado até o momento, de -18°C (HENDRY, 2006; VAN DEN BURG, 2003). Devido aos efeitos de detrimento provocados pelas baixas temperaturas, os psicrófilos têm desenvolvido estratégias adaptativas, dentre elas: regulação da fluidez da membrana, síntese de moléculas especializadas conhecidas como proteínas “cold-shock”, regulação da permeabilidade dos canais iônicos, polimerização dos microtúbulos, dormência sazonal e o mais importante, modificação da cinética das enzimas (GEORLETTE *et al.*, 2004). Enzimas psicrófilas evoluíram para superar a redução das taxas das reações químicas e o aumento da viscosidade do meio induzido pelas baixas temperaturas (ZECCHINON *et al.*, 2001). Estas propriedades exclusivas, isto é, alta atividade específica em baixas temperaturas e alta termosensibilidade, podem ser úteis em vários processos biotecnológicos (DEMIRJIAN *et al.*, 2001; D’AMICO *et al.*, 2002; GERDAY *et al.*, 2000).

Diversas enzimas de interesse industrial já foram isoladas de psicrófilos: celulasas, amilases, desidrogenases e xilanases (VAN DEN BURG, 2003).

Celulasas, enzimas que são utilizadas pelas indústrias de alimentos, têxteis e detergentes, foram isoladas de espécie *Pseudoalteromonas* sp. (VAN DEN BURG, 2003; ZENG *et al.*, 2006).

Lipases, enzimas que são úteis principalmente como agentes de degradação em detergentes, foram encontradas em espécies de *Moxarella* e *Pseudomonas* (HORIKOSHI, 1995; RUSSEL, 2000; SCHIRALDI & DE ROSA, 2002; FUJIMARA, 2002).

Como exemplo de amilases obtidas de psicrófilos, temos o isolamento a partir de espécies de *Alteromonas haloplanktis* (RUSSEL, 2000).

DEMIRJIAN *et al.* (2001) citam a produção de proteases psicrófilas a partir de espécies de *Bacillus* TA39.

As desidrogenases têm utilização na produção de biosensores (RUSSEL, 2000) e foram isoladas a partir de *Aquaspirillum articum*. Xilanases, enzimas que têm aplicação nas indústrias de vinhos e sucos e na fermentação da massa do pão, foram isoladas de *Cryptococcus adeliae* (CAVICCHIOLI *et al.*, 2002), *Bacillus halodurans*, *Bacillus halodurans* MIR32, *Bacillus* sp. KK-1 e *Pseudoalteromonas haloplanktis* TAH3a (COLLINS *et al.*, 2005).

#### Piezófilos ou Barófilos

Barófilos ou piezófilos são organismos que têm seu crescimento ótimo sob pressões acima da pressão atmosférica; piezotolerantes são organismos capazes do crescimento em pressão elevada, assim como na pressão

atmosférica, mas distinguem-se dos piezófilos porque não têm taxas de crescimento ótimo em pressões acima de 1 atm (ABE & HORIKOSHI, 2001). O primeiro isolado piezófilo foi relatado por Yayanos e colaboradores em 1979 e, subsequentemente, muitos outros piezófilos com várias pressões ótimas de crescimento foram isolados e caracterizados. O limite de pressão encontrado até o momento foi de 80 MPa, do isolado *Moritella* ssp. (HORIKOSHI, 1995; ABE & HORIKOSHI, 2001; HENDRY, 2006). Em vez da alta temperatura, pressão elevada pode ser usada no processamento de alimentos e na esterilização de materiais, o que leva a uma melhor preservação do sabor e da cor. Outra vantagem é que o tratamento a altas temperaturas evita a contaminação. Poucos trabalhos têm explorado as enzimas dos barófilos, mas pelas suas características elas têm aplicações industriais potenciais, tais como proteases e glucanases para detergentes, DNA polimerases para biologia molecular, outras possíveis aplicações na produção de antibióticos e processamento de alimentos (HORIKOSHI, 1998; VAN DEN BURG, 2003).

Ainda é necessário explorar os mecanismos que permitem a adaptação dos barófilos e este conhecimento dos efeitos da pressão nas reações bioquímicas e biofísicas, combinado com a biologia molecular, possibilitará encontrar uma variedade de aplicações industriais novas para os piezófilos (ABE & HORIKOSHI, 2001).

#### Halófilos

Os organismos capazes de crescer em ambientes com altas concentrações de sais (3-20%) são chamados halófilos (SCHIRALDI & DE ROSA, 2002).

Várias enzimas de interesse comercial e que são extra ou intracelulares já foram isoladas e caracterizadas de halófilos. As vantagens no uso de enzimas halofílicas estão primeiramente no fato de crescerem em concentrações elevadas de sal, o que minimiza o risco da contaminação; em segundo, são fáceis de crescer e suas exigências nutricionais são simples: a maioria pode usar uma escala grande dos compostos como sua única fonte de carbono e de energia (VENTOSA *et al.*, 1998).

Enzimas de halófilos com potencial industrial incluem: proteases, utilizadas na síntese de peptídeos, como a isolada da espécie *Halobacterium halobium* que tem sua atividade máxima a 4M NaCl e com a vantagem do aumento da estabilidade em presença de solventes orgânicos (VENTOSA *et al.*, 1998; DEMIRJIAN *et al.*, 2001); amilases, glicosidases, com utilização na produção de suplementos alimentares (DEMIRJIAN *et al.*, 2001; SCHIRALDI *et al.*, 2002); celulases (ZVEREVA *et al.*, 2006); e esterases (VENTOSA *et al.*, 1998).

#### Acidófilos

Define-se como acidófilos os organismos que crescem em ambientes com pH abaixo de 3 (FUJIWARA, 2002;

VAN DEN BURG, 2003). O limite de acidez no qual foi registrado o desenvolvimento de um organismo foi pH 0, com o microrganismo *Ferroplasma acidarmanus* (HENDRY, 2006).

Dentre as enzimas encontradas em acidófilos que interessam o setor industrial estão amilases, glicosidases e glucoamilases envolvidas no processamento do amido, presentes, por exemplo, em *Ferroplasma acidiphilum*, que tem crescimento ótimo em pH 1,7 (VAN DEN BURG, 2003; GOLYSHINA *et al.*, 2006; DI LAURO *et al.*, 2006); esterases, que são utilizadas na síntese orgânica, sendo que uma delas foi isolada do termoacidófilo *Bacillus acidocaldarius* (DEMIRJIAN *et al.*, 2001); xilanases, que são usadas nas indústrias de alimentos na clarificação de sucos, de polpa e papel facilitando o branqueamento e a liberação da lignina da polpa, têxtil e de processamento do amido; as xilanases têm sido isoladas de vários acidófilos, dentre eles o *Scytalidium acidophilum*, um fungo que cresce em pH 2,0 (COLLINS *et al.*, 2005; AL BALAA *et al.*, 2006); oxidases, utilizadas na dessulfurização do carvão e em biorreatores no processamento de minérios como ouro e cobalto (NORRIS *et al.*, 2000; DEMIRJIAN *et al.*, 2001; VAN DEN BURG, 2003); celulases e proteases, usadas como componentes alimentares (VAN DEN BURG, 2003); e colagenases, utilizadas pela indústria farmacêutica, foram isoladas de *Alicyclobacillus sendaiensis*, um termoacidófilo com pH ótimo de 3,9 para a atividade catalítica (TSURUOKA *et al.*, 2003).

#### Alcalófilos

Os alcalófilos são organismos que requerem um pH alcalino acima de 9,0 para o seu crescimento e têm um desenvolvimento ótimo em pH em torno de 10. Além disso, são incapazes de proliferar em meios com valores de pH próximos da neutralidade (HORIKOSHI, 1999; SCHIRALDI & DE ROSA, 2002; FUJIWARA, 2002; VAN DEN BURG, 2003).

Os estudos de alcalófilos conduziram à descoberta de muitos tipos de enzimas que exibem propriedades interessantes, as principais são: proteases, usadas como aditivos de detergentes. Um exemplo está na espécie *Bacillus* sp., sendo que o pH ótimo da enzima purificada foi 11,5 e mantendo 75% da atividade em pH 13 (HORIKOSHI, 1995, 1999); amilases, com utilização no processamento do amido, produzindo principalmente maltotriose, e como aditivos alimentares (HORIKOSHI, 1999; SCHIRALDI *et al.*, 2002; SCHIRALDI & DE ROSA, 2002); celulases, empregadas como aditivos de detergentes, são eficientes em remover sujeira de tecido de algodão sem degradação das fibras do algodão, e já foram introduzidas nos mercados do Japão e em alguns outros países asiáticos (ITO, 1997; HAKAMADA *et al.*, 1997; ITO, 1998; HORIKOSHI, 1999; ZVEREVA, 2006); CGTases, utilizadas na produção de ciclodextrinas – um exemplo está na espécie *Bacillus* sp. (HORIKOSHI, 1999; SCHIRALDI & DE ROSA, 2002); lipases, empregadas como aditivos alimentares,

e também com possível utilização na indústria de metal na prevenção da putrefação do fluido (pH 10) que é usado na refrigeração e lubrificação nos processos industriais de trabalho com metal, foi descoberta uma lipase extracelular de *Pseudomonas aeruginosa*, que cresce nesse fluido naturalmente (SCHIRALDI & DE ROSA, 2002; KARADZIC, 2006); xilanases (COLLINS *et al.*, 2005); e dihidrofolato redutase (DHFR), enzima que catalisa a redução do NADPH-dependente de dihidrofolato a tetrahidrofolato, uma exigência universal para o crescimento das células de procarióticos e eucariotos, por isto, a DHFR é importante para o tratamento do câncer e para drogas contra infecções bacterianas e fúngicas (REDECKE *et al.*, 2006).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como descrito acima, são numerosas enzimas de extremófilos que possuem aplicação potencial no setor industrial. No entanto, alguns desses organismos são de difícil cultivo por apresentar exigências ambientais extremas intrincadas de reproduzir em laboratório, por isso, muito se tem investido na abordagem envolvendo a clonagem e expressão dos genes que codificam essas enzimas em organismos mesófilos, cujo cultivo já bem estabelecido, como, por exemplo, a *Escherichia coli*. Com o aprimoramento dessas técnicas, serão maiores as contribuições que os extremófilos poderão gerar aos processos industriais.

## REFERÊNCIAS

- ABE F & K HORIKOSHI. 2001. The biotechnological potential of Piezophiles. **Trends in Biotech.** 19(3): 102-108.
- ATOMI H. 2005. Recent progress towards the application of hyperthermophiles and their enzymes. **Current Opinion in Chem. Biol.** 9: 166-173.
- BERTOLDO C & G ANTRANIKIAN. 2002. Starch-hydrolyzing enzymes from thermophilic archaea and bacteria. **Current Opinion in Chem. Biol.** 6: 151-160.
- CARDOSO AM, MM CLEMENTINO, OB MARTINS, RP VIEIRA, RV ALMEIDA, SMC ALQUERES & WI ALMEIDA. 2003. Archaea: potencial biotecnológico. **Biociência & Desenvolvimento** 30: 71-77.
- CAVICCHIOLI R, KS SIDDIQUI, D ANDREWS & KR SOWERS. 2002. Low-temperature extremophiles and their applications. **Current Opinion in Biotech.** 13: 253-261.
- COLLINS T, C GERDAY & G FELLER. 2005. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. **FEMS Microbiol. Reviews** 29: 3-23.
- D'AMICO S, P CLAVERIE, T COLLINS, D GEORLETTE, M GRATIA, A HOYOUN, M-A MEUWIS, G FELLER & C GERDAY. 2002. Molecular basis of cold adaptation. **Phil. Trans. R. Soc. Lond.** 357: 917-925.
- DI LAURO B, M ROSSI & M MORACCI. 2006. Characterization of a *b* glycosidase from the thermoacidophilic bacterium *Alicyclobacillus acidocaldarius*. **Extremophiles** 10: 301-310.
- DEMIRJIAN DC, F MORIS-VARAS & CS CASSIDY. 2001. Enzymes from extremophiles. **Current Opinion in Chem. Biol.** 5: 144-15.
- EGOROVA K & G ANTRANIKIAN. 2005. Industrial relevance of thermophilic Archaea. **Current Opinion in Microbiol.** 8(6): 649-655.
- FUJIWARA S. 2002. Extremophiles: developments of their Special functions and potential resources. **J. Bioscience and Bioeng.** 94(6): 518-525.
- GEORLETTE D, V BLAISE, T COLLINS, S D'AMICO, E GRATIA, A HOYOUN, J-C MARX, G SONAN, G FELLER & C GERDAY. 2004. Some like it cold: biocatalysis at low temperatures. **FEMS Microbiol. Reviews** 28: 25-42.
- GERDAY C, M ATTALIB, M BENTAHIR, JP CHESSA, P CCLAVANE & T COLLINS. 2000. Cold-adapted enzymes: from fundamentals to biotechnology. **TIBTECH** 18: 103-107.
- GIULIANO M, C SCHIRALDI, MR MAROTTA, J HUGENHOLTZ & M DE ROSA. 2004. Expression of *Sulfolobus solfataricus*  $\alpha$ -glucosidase in *Lactococcus lactis*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 64: 829-832.
- GOLYSHINA OV, PN GOLYSHIN, KN TMMIS & M FERRER. 2006. The 'pH optimum anomaly' of intracellular enzymes of *Ferroplasma acidiphilum*. **Environ. Microbiol.** 8(3): 416-425.
- HAKAMADA Y, K KOIKE, T YOSHIMATSU, T KOBAYASHI & S ITO. 1997. Thermostable alkaline cellulase from an alkaliphilic isolate, *Bacillus* sp. KSM-S237. **Extremophiles** 1: 151-156.
- HENDRY P. 2006. Extremophiles: there's more to life. **Environ. Chem.** 3: 75-76.
- HORIKOSHI K. 1995. Discovering novel bacteria, with an eye to biotechnological applications. **Current Opinion in Biotechnol.** 6: 292-297.
- HORIKOSHI K. 1998. Barophiles: deep-sea microorganisms adapted to an extreme environment. **Current Opinion in Microbiol.** 1: 291-295.
- HORIKOSHI K. 1999. Alkaliphiles: some applications of their products for biotechnology. **Microbiol. and Mol. Biol. Reviews** 63:735-750.
- ITO S. 1997. Alkaline cellulases from alkaliphilic *Bacillus*: Enzymatic properties, genetics, and application to detergents. **Extremophiles** 1: 61-66.
- ITO S. 1998. Alkaline detergent enzymes from alkaliphiles: Enzymatic properties, genetics, and structures. **Extremophiles** 2: 185-190.
- KARADZIC I. 2006. Purification and characterization of an alkaline lipase from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from putrid mineral cutting oil as component of metalworking fluid. **J. Bioscience and Bioeng.** 102(2): 82-89.
- KIM MS, J-T PARK, Y-W KIM, H-S LEE, R NYAWIRA, H-S SHIN, C-S PARK, S-H YOO, Y-R KIM, T-W MOON & K-W PARK. 2004. Properties of a novel thermostable glucoamylase from the hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* in relation to starch processing. **Appl. and Environ. Microbiol.** 70(7): 3933-3940.
- PACHECO SMV & O ALLAIN. 2009. Extremófilos e suas estratégias de adaptação a ambientes extremos. **Cad. de Ens. de Ciênc. Tec.** 1(1): 10-20.
- NIEHAUS F, C BERTOLDO, M KÄHLER & G ANTRANIKIAN. 1999. Extremophiles as a source of novel enzymes for industrial application. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 51: 711-729.
- NORRIS PR, NP BURTON & NAM FOULIS. 2000. Acidophiles in bioreactor mineral processing. **Extremophiles** 4: 71-76.
- REDECKE L, MA BREHM & R BREDEHOST. 2006. Cloning and characterization of dihydrofolate reductase from a

- facultative alkaliphilic and halotolerant bacillus strain. **Extremophiles**.11(1): 75-83
- RUSSEL NJ. 2000. Toward a molecular understanding of cold activity of enzymes from psychrophiles. **Extremophiles** 4: 83-90.
- SANTOS H, P LAMOSA & MS COSTA. 2001. Extremófilos: microrganismos à prova de agressões ambientais extremas. *Biocologia microbiana*. **Bol. Biotechnol.** 69: 2-10.
- SCHIRALDI C, M ACONE, M GIULIANO, I DI LERNIA, C MARESCA, M CARTENI & M ROSA. 2001. Innovative fermentation strategies for the production of extremophilic enzymes. **Extremophiles** 5: 193-198.
- SCHIRALDI C & M DE ROSA. 2002. The production of biocatalysts and biomolecules from extremophiles. **Trends in Biotech.** 20: 12.
- SCHIRALDI C, MT GIULIANO & M DE ROSA. 2002. Perspectives on biotechnological applications of archaea. **Archaea** 1: 75-86.
- SUNNA A, M MORACCI, M ROSSI & G ANTRANIKIAN. 1997. Glycosyl hydrolases from hyperthermophiles. **Extremophiles** 1: 2-13.
- SUZUKI Y, K MIYAMOTO & H OHTA. 2004. A novel thermostable esterase from the thermoacidophilic archaeon *Sulfolobus tokodaii* strain 7. **FEMS Microbiol. Letters** 236: 97-102.
- TSURUOKA N, Y ISONO, O SHIDA, H HEMMI, T NAKAYAMA & T NISHINO. 2003. *Alicyclobacillus sendaiensis* sp. nov., a novel acidophilic, slightly thermophilic species isolated from soil in Sendai, Japan. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 53: 1081-1084.
- VAN DEN BURG B. 2003. Extremophiles as a source for novel enzymes. **Curr. Opinion in Microbiol.** 6: 213-218.
- VENTOSA A, JJ NIETO & A OREN. 1998. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.** 62(2): 504-544.
- ZECCHINON L, P CLAVERIE, T COLLINS, S D'ÁMICO, D DELILLE, G FELLER, D GEORLETTE, E GRATIA & C GERDAY. 2001. Did psychrophilic enzymes really win the challenge? **Extremophiles** 5: 313-321.
- ZENG R, P XIONG & J WEN. 2006. Characterization and gene cloning of a cold-active cellulase from a deep-sea psychrotrophic bacterium *Pseudoalteromonas* sp. DY3. **Extremophiles** 10: 79-82.
- ZVEREVA EA. 2006. Cellulase activity of a haloalkaliphilic anaerobic bacterium, strain Z-7026. **Extremophiles** 10: 53-60.