

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

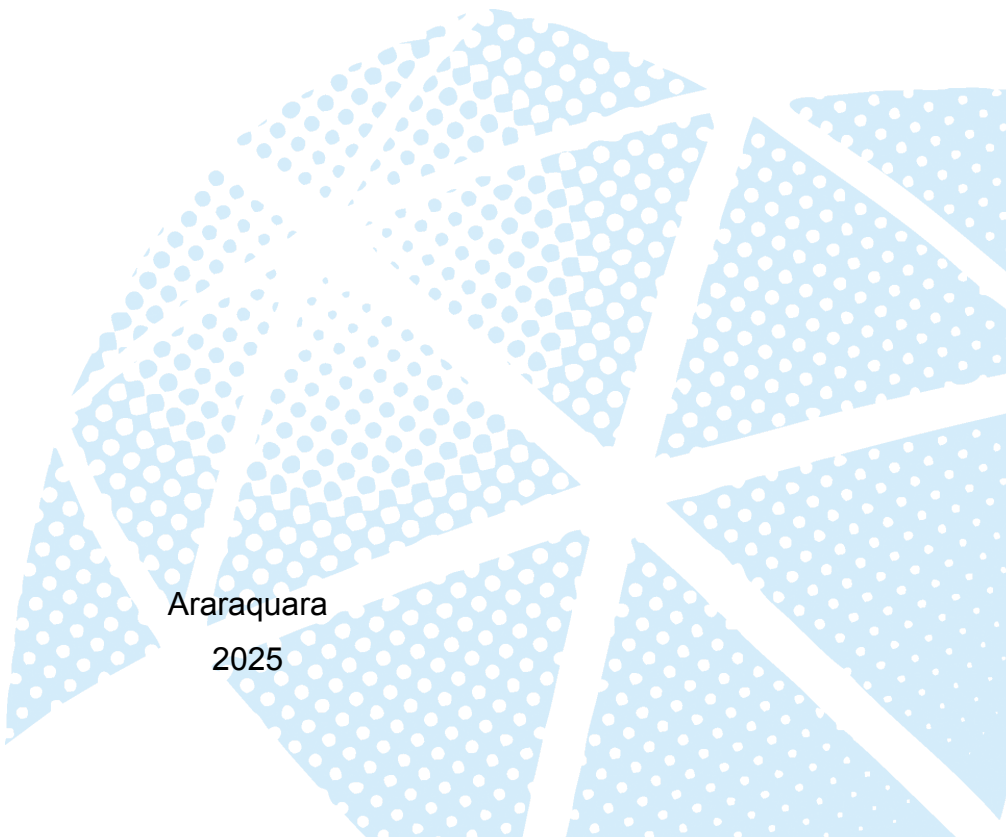
LUIS HENRIQUE FERREIRA DAVID JUNIOR

**PRODUÇÃO DE ENZIMAS PARA APLICAÇÃO INDUSTRIAL POR
MICRORGANISMOS MARINHOS:**

Importância e Desafios

Araraquara

2025



LUIS HENRIQUE FERREIRA DAVID JUNIOR

**PRODUÇÃO DE ENZIMAS PARA APLICAÇÃO INDUSTRIAL POR
MICRORGANISMOS MARINHOS:**

Importância e Desafios

Trabalho de conclusão de curso
apresentada à Universidade Estadual
Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências
Farmacêuticas, Araraquara, para
obtenção do título de Bacharel em
Farmácia.

Orientadora: Prof. Dr. Rosemeire Cristina
Linhari Rodrigues Pietro

Araraquara

2025

D249p David Junior, Luis Henrique Ferreira.
Produção de enzimas para aplicação industrial por
microrganismos marinhos: importância e desafios / Luis Henrique
Ferreira David Junior. – Araraquara, 2025.
45 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação – Farmácia) –
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade
de Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro.

1. Biodiversidade marinha. 2. Biotecnologia. 3. Microbiologia
marinha. 4. Enzimas. 5. Sustentabilidade. I. Pietro, Rosemeire
Cristina Linhari Rodrigues, orient. II. Título.

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP Campus de Araraquara
Vilma Bruna Mastelari Costa - CRB 8/10938

Esta ficha não pode ser modificada

LUIS HENRIQUE FERREIRA DAVID JUNIOR

**PRODUÇÃO DE ENZIMAS PARA APLICAÇÃO INDUSTRIAL POR
MICRORGANISMOS MARINHOS:**

Importância e Desafios

Trabalho de conclusão de curso apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Data da defesa: 26/05/2025

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro
UNESP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

Doutoranda Camila Cristina Baccetti Medeiros
UNESP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

Doutorando João Vitor Carvalho Constantini
UNESP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

Prof. Dr. Ana Marisa Fusco Almeida
UNESP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

Prof. Dr. Rodrigo Sorrechia
UNESP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

Dedico este trabalho à minha mãe, cujo apoio e dedicação foram essenciais para a minha trajetória durante a graduação. Obrigado por sempre estar comigo e acreditar em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe, meu irmão e meu avô que sempre estiveram ao meu lado e me ajudaram em todos os momentos durante toda a minha trajetória, assim como os demais familiares.

Agradeço ao meu primo Paulo César, que muito gentilmente me apadrinhou e tornou possível minha permanência no curso de Farmácia e na cidade de Araraquara - SP, permitindo que eu pudesse me dedicar integralmente aos estudos.

Agradeço aos meus amigos e colegas do curso, pelo apoio emocional, acadêmico e pelo companheirismo durante a graduação.

Agradeço à minha orientadora por aceitar conduzir o meu trabalho e por ter ministrado as aulas que me fizeram descobrir e me interessar pelo tema.

Também a todos os meus professores do curso de Farmácia da UNESP pela excelência e competência de cada um.

E a todos os outros que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

RESUMO

A biotecnologia industrial utiliza microrganismos na produção de enzimas para processos industriais, visando maior eficiência, sustentabilidade e redução de impactos ambientais. Essas enzimas, altamente específicas e biodegradáveis, substituem produtos químicos convencionais em setores como alimentação, farmacêutica, têxtil e detergentes. Os microrganismos marinhos, devido à adaptação a ambientes extremos, produzem biocatalisadores inovadores que atuam em condições adversas de temperatura, salinidade e pH, melhorando processos e causando menos impactos negativos no meio-ambiente, expandindo seu potencial de aplicação. A biotecnologia azul, área que explora organismos marinhos para usos industriais, cresce desde os anos 1940, mas enfrenta desafios como a dificuldade na produção em larga escala e a escassez de estudos sobre biodiversidade oceânica. Apesar das vantagens, a exploração comercial de enzimas marinhas ainda é limitada por barreiras tecnológicas, alto custo e dificuldades regulatórias. O desenvolvimento sustentável da biotecnologia marinha requer diretrizes e incentivos adequados para equilibrar inovação e conservação ambiental, permitindo que a exploração dos recursos oceânicos contribua para soluções industriais mais limpas e eficientes.

Palavras-chave: Biotecnologia; Enzimas; Microbiologia Marinha; Sustentabilidade.

ABSTRACT

Industrial biotechnology uses microorganisms to produce enzymes for industrial processes, aiming for greater efficiency, sustainability, and reduced environmental impact. These highly specific and biodegradable enzymes replace conventional chemicals in sectors such as food, pharmaceuticals, textiles, and detergents. Marine microorganisms, adapted to extreme environments, produce innovative biocatalysts that function under harsh temperature, salinity, and pH conditions, improving processes while minimizing environmental impact and expanding their application potential. Blue biotechnology, which explores marine organisms for industrial uses, has grown since the 1940s but faces challenges such as large-scale production difficulties and limited studies on ocean biodiversity. Despite its advantages, the commercial exploitation of marine enzymes remains restricted by technological barriers, high costs, and regulatory challenges. The sustainable development of marine biotechnology requires proper guidelines and incentives to balance innovation and environmental conservation, allowing the exploration of ocean resources to contribute to cleaner and more efficient industrial solutions.

Keywords: Biotechnology; Enzymes; Marine Microbiology; Sustainability .

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da técnica em placas de Petri para identificação da produção de enzimas por microrganismos	19
Figura 2 – Esquema de comparação dos métodos de triagem convencionais e os de triagem colorimétrica de alto rendimento	20
Figura 3 – Esquema conceitual das diferentes etapas do desenvolvimento do processo biocatalítico	21
Figura 4 – Esquema dos três principais tipos de abordagens utilizados em bioprocessamento	22
Figura 5 – Esquema da produção de enzimas marinhas em diferentes condições ambientais e a classificação dos microrganismos	24
Figura 6 – Diagrama das vantagens e desvantagens na produção de enzimas marinhas	30
Figura 7 – Esquema dos diferentes métodos de bioprospecção marinha	32
Figura 8 – Fluxograma das abordagens “ômicas” para identificação de novas enzimas no ecossistema marinho	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 MATERIAIS E MÉTODOS	15
2.1 METODOLOGIA DE PESQUISA	15
3 RESULTADOS	16
3.1 PRODUÇÃO DE ENZIMAS POR MEIO DE MICRORGANISMOS MARINHOS	17
3.2 CARACTERÍSTICAS DAS ENZIMAS PRODUZIDAS POR MICRORGANISMOS MARINHOS	23
3.2.1 Tolerância ao pH	24
3.2.2 Tolerância à salinidade	25
3.2.3 Barofilicidade	26
3.2.4 Termoestabilidade	27
3.2.5 Adaptabilidade ao frio	28
3.3 DESAFIOS NA UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS MARINHOS PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS	29
3.3.1 Descoberta de novos produtos e as “ômicas”	31
3.3.2 Rendimento e características do produto	34
3.4 DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL	36
4 CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

A biotecnologia essencialmente pode ser definida como a ciência que se refere à utilização de sistemas biológicos para aplicação em grande escala na obtenção de produtos comercializáveis ou no desenvolvimento de processos industriais (Walsh, 2013). Ao longo dos anos, essa área busca o desenvolvimento de bioprocessos sustentáveis, com a redução da emissão de gases poluentes e do gasto excessivo de energia e água (Gupta; Raghava, 2007). Considerando o crescimento da população e a elevação das necessidades dos consumidores, é extremamente vantajoso implementar inovações que integrem uma gestão ambiental aprimorada e a produção de bioenergia. O elemento fundamental para a sustentabilidade reside na troca de tecnologias que consomem energia e recursos por uma economia verde fundamentada na biologia, que se alinha a processos fisiológicos que utilizam princípios de engenharia ecológica (Dobrowolski *et al.*, 2017).

A biotecnologia industrial utiliza processos biológicos e bioquímicos na produção industrial e pode ser considerada uma tecnologia-chave emergente que revoluciona a fabricação de muitos produtos, oferecendo métodos eficientes de produção, com menor consumo de energia, recursos e emissão de poluentes, promovendo o desenvolvimento econômico e sustentável de forma simultânea (Fröhling; Hiete, 2020).

Dentre as biotecnologias, o processamento enzimático é considerado uma das opções mais promissoras em comparação ao processamento tradicional. As enzimas, que são proteínas geradas por todos os seres vivos, funcionam como catalisadores para diversas reações bioquímicas. Além de atuarem como catalisadores *in vivo*, elas também podem desempenhar esse papel em condições de laboratório para várias reações, incluindo as empregadas na indústria. As enzimas são altamente específicas e em geral agem sob condições de reação mais brandas do que os produtos químicos tradicionais. Além disso, são facilmente biodegradáveis e frequentemente levam à toxicidade reduzida ou nenhuma toxicidade quando atingem o ambiente após o uso na produção industrial (Jegannathan; Nielsen, 2013). Com os recentes avanços da biotecnologia, cresceu o interesse e a demanda para a produção de enzimas destinadas à aplicação industrial. Essas biomoléculas podem ser obtidas a partir de plantas, animais ou

microrganismos, e dentre esses a principal fonte é representada pelos microrganismos por conta de sua ampla diversidade bioquímica, viabilidade de cultura em massa e facilidade na manipulação genética (Niehaus *et al.*, 1999).

Os processos industriais cada vez mais demandam novas tecnologias e métodos para realizar os processos produtivos de forma mais eficiente, econômica e com o mínimo de desperdício de matérias-primas. Com isso, a utilização de enzimas nesses processos, principalmente as de origem microbiana, se torna um caminho importante para o desenvolvimento e o futuro da biotecnologia industrial (Muffler *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2012). A implementação de processos enzimáticos no lugar de processos convencionais geralmente leva a contribuições reduzidas para o aquecimento global e também contribuições reduzidas para acidificação, eutrofização, formação de ozônio fotoquímico e consumo de energia (Jegannathan; Nielsen, 2013). Aproximadamente 60% das enzimas industriais são produzidas a partir de fungos, 24% de bactérias, 4% de leveduras e os 10% restantes de plantas e animais. As enzimas microbianas são preferidas devido aos altos rendimentos, atividade, reprodutibilidade, produção econômica, crescimento exponencial, uso de meios baratos, fácil otimização e melhoria da cepa. Um processo multidimensional é aplicado para melhorar a eficiência e a produção das enzimas industriais e inclui procedimentos como bioprospecção, melhoria de cepas, otimização de meios, design de biorreatores, purificação e imobilização enzimática (Fasim; More; More, 2021).

Das 4000 enzimas conhecidas, apenas 200 delas são obtidas a partir de microrganismos e, aproximadamente 20 delas são produzidas em real escala industrial. Quase 75% de todas as enzimas aplicadas nos processos industriais são hidrolíticas, com amilases, lipases, proteases, celulasas, xilanasas, catalases e lacases dominando o mercado enzimático (Li *et al.*, 2012). Os microrganismos fornecem uma quantidade impressionante de catalisadores com uma ampla gama de aplicações em várias indústrias, como cuidados domésticos, alimentos, ração animal, têxteis, química fina e farmacêuticos. O uso de enzimas como aditivos detergentes representa uma aplicação importante de enzimas industriais. Proteases, lipases, amilases, oxidases, peroxidases e celulasas são adicionadas a detergentes onde catalisam a quebra de ligações químicas na adição de água. Também, as proteases constituem mais de 60% do mercado global de enzimas sendo utilizadas para produzir produtos farmacêuticos, alimentos, detergentes, couro, seda e

produtos agroquímicos. Na indústria têxtil, as enzimas também estão sendo cada vez mais usadas para desenvolver processos mais limpos e para reduzir o uso de matérias-primas e a geração de resíduos. A aplicação de celulases para acabamento de brim e lacases para descoloração de efluentes têxteis e branqueamento têxtil são os avanços comerciais mais recentes (Adrio; Demain, 2014).

Nesse contexto, em muitos casos os substratos para os processos industriais possuem uma estrutura química complexa, que impossibilita a utilização de enzimas já conhecidas para catalisar a reação adequadamente. Além disso, há situações onde ocorre a preparação de reações que necessitam ser realizadas em condições extremas de temperatura, pH ou salinidade e que muitas enzimas não são capazes de realizar as reações de catálise necessárias. Portanto, existe essa urgência em descobrir novas enzimas capazes de atuar de forma eficiente nessas circunstâncias. A seleção de uma quantidade significativa de microrganismos é a abordagem mais promissora na descoberta de novas enzimas, e os microrganismos marinhos estão se mostrando uma valiosa fonte de diversos biocatalisadores inovadores (Sana, 2015). Os ecossistemas marinhos precisam ser mais bem explorados, já que esses ambientes são marcados por uma variedade de condições, resultando em uma diversidade biológica e genética impressionante. Os biocatalisadores provenientes do mar têm a capacidade de realizar bioprocessos excepcionais, graças às características únicas de seus habitats. O interesse da indústria por essas propriedades está crescendo, e há um incremento nas iniciativas para descobrir biocatalisadores marinhos que sejam, tanto eficazes quanto apropriados para os processos industriais (Rodrigues; De Carvalho, 2022). Os microrganismos marinhos são responsáveis por mais de 90% da biomassa oceânica e sabe-se que sua diversidade é o resultado de sua capacidade de adaptação às condições extremas do ambiente marinho. As biotransformações são usadas para produzir uma ampla gama de materiais de alto valor agregado, e os fungos marinhos, por exemplo, provaram ser uma fonte de novas enzimas, sendo empregados como biocatalisadores para diferentes reações, incluindo redução, oxidação, hidroxilação, hidrólise, desalogenação, eliminação, ciclização, rearranjo, etc. (Virués-Segovia *et al.*, 2023).

A biotecnologia azul ou marinha é uma área emergente desde 1940, quando se iniciou a busca por microrganismos e enzimas com características

diferenciadas que lhes conferissem vantagem no uso industrial (Jain; Tailor, 2020). Se fundamenta na utilização de organismos marinhos, seus genomas ou produtos derivados, visando o benefício humano. Sendo uma disciplina mais recente e em contínua evolução, suas definições e subáreas também estão em constante transformação (Thompson; Thompson, 2020). O século XXI tem sido o século do oceano porque ele provou ser uma fonte relevante de material biológico e biotecnológico, que fornece uma matriz de novos recursos com características diferentes para os seres humanos (Maldonado-Ruiz; Pedroza-Islas; Pedraza-Segura, 2024). Por exemplo, essas características incluem a capacidade de suportar altas ou baixas temperaturas e altas concentrações de sal, tolerância a altas pressões ou alterações nas membranas, como aumento de sua fluidez causado pela presença de fosfolipídios carregados negativamente, e a capacidade de produzir certos compostos, como ácido docosahexaenóico (DHA) e ácido eicosapentaenóico (EPA) (Mikhailov; Andryukov; Lyapun, 2019). Produtos de origem marinha têm se tornado cada vez mais importantes devido às suas aplicações. No entanto, até o momento, a exploração desses recursos marinhos tem sido mínima devido a restrições tecnológicas, e o oceano apresenta uma oportunidade de explorar esse potencial, descobrindo novos organismos, enzimas e vias bioquímicas que podem ter aplicações industriais significativas (Maldonado-Ruiz; Pedroza-Islas; Pedraza-Segura, 2024).

Os microrganismos marinhos, ao sobreviver em ecossistemas únicos e diferenciados, desenvolveram mecanismos adaptativos com a produção de biomoléculas específicas. Dessa forma, esses seres demonstram um grande potencial em produzir compostos bioativos que não são encontrados nos ambientes terrestres, que são mais comumente explorados (Xie *et al.*, 2018). A bioprospecção do habitat marinho é uma das plataformas mais produtivas devido à sua população microbiana diversa e subestimada. Os microrganismos podem facilmente detectar, adaptar-se e reagir ao seu ambiente e competir produzindo metabólitos secundários específicos para proteção e sobrevivência. Esses compostos desenvolvidos em reação ao estresse têm demonstrado diversas aplicações biotecnológicas (Mahapatra *et al.*, 2020).

Os produtos naturais marinhos (MNP - *Marine Natural Products*) são fontes bem conhecidas de biomoléculas e metabólitos secundários como, compostos antimicrobianos (lactonas, quinolonas), polissacarídeos e enzimas que

exibem várias bioatividades significativas, não só para a utilização na indústria, mas também para aplicação na saúde humana com propriedades antibióticas, antivirais, anticâncer ou anti-inflamatórias (Karthikeyan; Joseph; Nair, 2022). O potencial de aplicação dos MNPs pode ser estendida até para a produção de alimentos funcionais, como por exemplo por meio das microalgas que contém e produzem carotenóides, enzimas, aminoácidos, PUFA's e fibras que podem desempenhar um papel fundamental nesses alimentos, promovendo vários benefícios à saúde humana (Ghosh *et al.*, 2022).

A complexidade do ecossistema marinho, que inclui alta salinidade, pressão elevada, temperaturas baixas e características específicas de iluminação, pode ser um fator que explica as diferenças marcantes entre as enzimas produzidas por microrganismos do mar e aquelas de microrganismos terrestres. Isso tem impulsionado o avanço na tecnologia de enzimas microbianas marinhas nos últimos anos, resultando em produtos valiosos (Zhang; Kim, 2010). Ademais, devido ao papel crucial desse ambiente como fonte de novas substâncias ativas e à divulgação do genoma específico dos microrganismos marinhos, além da implementação de tecnologias de engenharia microbiana e enzimática marinha, os microrganismos marinhos e suas enzimas apresentam promissoras oportunidades de desenvolvimento em setores como a indústria agroalimentar, a medicina e outras áreas da biotecnologia. Neste momento, a investigação sobre a fisiologia e o metabolismo microbiano em condições extremas do ambiente marinho tem avançado significativamente, e esse conhecimento também tem sido utilizado na recuperação do ecossistema marinho (Mou *et al.*, 2022).

Quando acompanhada de diretrizes e estímulos apropriados, a tecnologia de enzimas marinhas tem o potencial de atender a crescente necessidade de produção de enzimas, preservando o equilíbrio ecológico e evitando a exploração inadequada do ecossistema marinho (Parte; Sirisha; D'Souza, 2017). Graças aos avanços em tecnologia de sequenciamento de genoma, recombinação genética, design assistido e microbiologia sintética, o estudo de microrganismos e enzimas oriundos do mar está progredindo de forma acelerada (Mou *et al.*, 2022).

Apesar de a biotecnologia marinha ser considerada uma das melhores opções para utilizar os recursos disponíveis também de maneira sustentável, diversos obstáculos dificultam a comercialização de produtos inovadores provenientes do mar, pois eles não conseguem alcançar a quantidade necessária

para a produção em larga escala nem apresentam competitividade econômica (Daniotti; Re, 2021).

Os sistemas marinhos, a despeito de oferecerem uma ampla gama de benefícios, sofrem com a escassez de dados espaciais em relação às contrapartes terrestres. Os serviços ecossistêmicos oferecidos pelos ambientes marinhos são múltiplos e variados, mas os estudos marinhos representam uma pequena proporção da literatura total sobre serviços ecossistêmicos (menos que 9% em média ao longo do tempo), o que é desconcertante, considerando os níveis de dependência humana do ambiente costeiro (Townsend *et al.*, 2018).

Também, a falta de informações básicas sobre o histórico de vida da maioria das espécies marinhas, juntamente com as dificuldades fundamentais de rastrear organismos marinhos em ambientes fluidos, significa que a extensão total do uso do habitat e os limites de alcance doméstico são frequentemente desconhecidos (Townsend *et al.*, 2018). Embora muitos organismos sejam isolados do ambiente marinho, eles são difíceis de analisar e, portanto, a classificação taxonômica é complexa, com potenciais erros que podem comprometer todo o processo de descoberta de novas substâncias devido à impossibilidade de reproduzir os mecanismos de isolamento e a posterior identificação do composto bioativo (Martins *et al.*, 2014).

Tendo em vista a crescente relevância do tema, o presente trabalho possui o objetivo de abordar o mecanismo e desenvolvimento da produção biotecnológica de enzimas por microrganismos marinhos, a importância no contexto da demanda industrial, destacando suas principais características, além de apontar os principais desafios cuja essa aplicação enfrenta e como a área pode evoluir ao longo dos anos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 METODOLOGIA DE PESQUISA

Para a realização deste trabalho bibliográfico foram realizadas consultas e análises de publicações científicas de periódicos publicados *online*, durante oito meses, utilizando bases de dados de acesso público, sendo eles: PubMed, SciELO e ScienceDirect.

Durante o levantamento dos dados nos mecanismos de busca, foram utilizados os termos e tópicos: *“Blue Biotechnology”*; *“Marine microorganisms”*; *“Marine Bioprospecting”*; *“Marine microorganisms and biotechnology”*; *“Marine bioactive compounds”*; *“Marine Biocatalysts”*; *“Marine enzyme”*; *“Marine microorganisms and health”*; *“Marine Enzymes: Production and Applications for Human Health”*.

Os materiais analisados incluem artigos de revisão, artigos de pesquisa, capítulos de livros, teses e dissertações de mestrado ou doutorado e relatórios, publicados no período de 1992 a 2025. Foram levadas em consideração as fontes que estavam acessíveis e diretamente relacionadas com o tema do estudo.

O intervalo extenso compreendido nos anos de publicação dos materiais consultados se justifica por conta de alguns conceitos e definições importantes que foram referenciados a partir de artigos científicos clássicos. Mas, os estudos mais recentes e atuais foram preferencialmente considerados para a realização do trabalho.

3 RESULTADOS

Os resultados da busca dos termos descritos anteriormente nas bases de dados PubMed, Scielo e Science Direct estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Quantidade de publicações nas bases de dados PubMed, Scielo e Science Direct, por tópicos no período de 1998 a 2025.

Tópicos	PubMed	Scielo	Science Direct
<i>Blue biotechnology</i>	6.886	6	294.088
<i>Marine microorganisms</i>	28.370	47	87.911
<i>Marine bioprospecting</i>	559	0	1.619
<i>Marine microorganisms and biotechnology</i>	1.872	0	26.895
<i>Marine bioactive compounds</i>	4.652	43	39.005
<i>Marine biocatalysts</i>	29.561	0	4.764
<i>Marine enzyme</i>	32.373	45	126.820
<i>Marine microorganisms and health</i>	1.347	0	43.005
<i>Marine enzymes: Production and applications for human health</i>	1	0	29.277

Fonte: Autor

Analisando a tabela, ao comparar o número de resultados de acordo com as bases de dados, há uma discrepância nas quantidades, principalmente entre as bases Pubmed e Science Direct. Isso ocorreu provavelmente por conta da forma como os mecanismos de busca foram programados para identificar os termos, já que eles foram inseridos e nenhum filtro de especificação foi aplicado. A pesquisa na base Science Direct mostrou resultados mais gerais e em sua maioria não relacionados com o tema do trabalho, mas que foram mostrados por conter alguma frase ou mesmo alguma palavra que fizesse parte do descritor que foi inserido. Já na base de dados Pubmed, os resultados mostrados foram mais específicos de acordo com os termos utilizados na busca, possibilitando que a seleção dos materiais fosse mais direcionada. O único termo pesquisado em que houve uma inversão nessa discrepância, foi o “*Marine biocatalysts*” que obteve um número maior de resultados

na plataforma Pubmed do que na Science Direct. A base de dados Scielo, apresentou poucos resultados com alguns termos até sem nenhum resultado, sendo então bem menos utilizada do que as outras duas bases.

Assim, após a inserção dos termos de busca e a obtenção dos resultados, foi feita uma seleção criteriosa dos materiais, sempre com o foco nos títulos que forneceram os dados de acordo com o tema e com os assuntos relacionados para a fundamentação das discussões apresentadas no trabalho. A seleção de materiais resultou numa amostra de 45 artigos.

De todos os resultados obtidos, o critério de exclusão para as discussões apresentadas a seguir, foram as publicações que tratavam de obtenção de outros produtos, que não enzimas, por meio de microrganismos marinhos.

3.1 PRODUÇÃO DE ENZIMAS POR MEIO DE MICRORGANISMOS MARINHOS

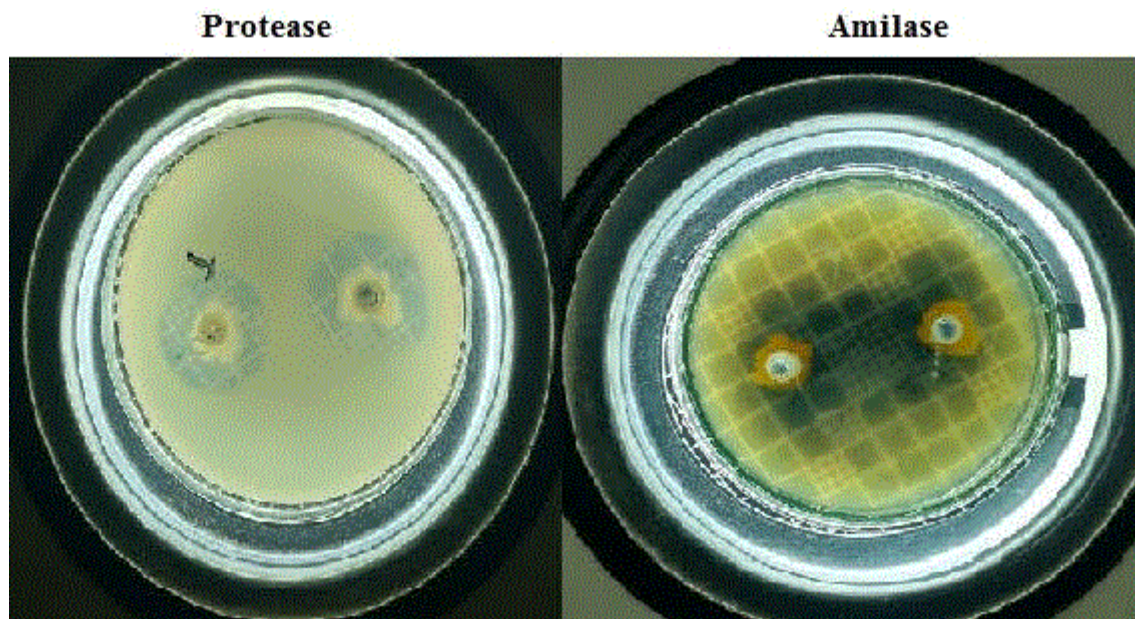
Os oceanos ocupam mais de 70% da superfície do planeta e na sua biodiversidade contém uma infinidade de microrganismos marinhos que guardam segredos bioquímicos que podem oferecer novas perspectivas e compreensões sobre as enzimas. Esses microrganismos têm recebido atenção crescente como uma fonte promissora, uma vez que as enzimas microbianas tendem a ser mais estáveis do que aquelas extraídas de plantas e animais (Kin, 2006). Por exemplo, as amilases obtidas de microrganismos têm um amplo espectro de usos industriais, pois apresentam maior estabilidade nas condições de aplicação do que as amilases vegetais e animais, oferecendo propriedades bioquímicas diferenciadas e também tendo a vantagem econômica de possibilitar a produção em massa com fácil manipulação. Devido ao avanço da biotecnologia, muitos microrganismos e suas enzimas com função única foram descobertas por meio de triagem extensiva, e agora podem ser comumente utilizadas em diferentes campos industriais e médicos (Gurung *et al.*, 2013). Nos últimos anos, pesquisadores isolaram uma variedade de enzimas com atividades especiais de bactérias marinhas, actinomicetos, fungos e outros microrganismos marinhos, e esses produtos são utilizados em processos industriais (Ghosh *et al.*, 2005). A utilização de enzimas marinhas tem aumentado constantemente e essas aplicações incluem áreas como: indústria alimentícia (emprego de aminopeptidases extraídas do fungo *Aspergillus flavus* marinho para melhorar sabor e propriedades funcionais de alimentos), indústria de detergentes

(aplicação de alfa-amilases resistentes à pH alcalino isoladas de *Pseudoalteromonas* sp. M175 para retirar manchas de forma eficiente) e indústria farmacêutica (isolamento de beta-glucanase A1 de *Bacillus circulans* WL-12 para aplicação em terapia enzimática) (Ghattavi; Homaei, 2023).

Microrganismos marinhos selecionados foram caracterizados, projetados e otimizados com o objetivo de gerar preparações enzimáticas de alta qualidade em grande escala para diversas aplicações industriais. Avanços recentes em biologia molecular possibilitaram a adaptação de microrganismos específicos, capazes de produzir não apenas uma elevada concentração da enzima desejada, mas também de apresentar características especiais requisitadas como termoestabilidade, tolerância a altas temperaturas, a diferentes condições de pressão e maior estabilidade em ambientes com grandes variações de pH, além de manter a atividade enzimática em condições rigorosas de reação, como na presença de outros metais e compostos (Rao; Imchen; Kumavath, 2017; Khalifa *et al.*, 2019). As enzimas marinhas também apresentam uma série eficaz de aplicações farmacológicas, incluindo pigmentos, inibidores de enzimas, pesticidas, herbicidas, toxinas, antiparasitários, micotoxinas, agentes antitumorais, antibióticos, atividades citotóxicas e promotores de crescimento de animais e plantas, demonstrando sua ampla capacidade de serem empregadas em diferentes áreas (Carroll *et al.*, 2022).

Atualmente, diferentes estratégias são aplicadas, aprimoradas e estudadas para a triagem e isolamento de microrganismos marinhos e as enzimas produzidas por eles. Os métodos convencionais são baseados na triagem de atividade, sendo as técnicas baseadas em placas de Petri os métodos mais utilizados tanto para isolados cultivados quanto para triagem em bibliotecas metagenômicas. O meio de cultura da placa de Petri é preparado com o substrato para o qual a enzima desejada deve ser ativa e a identificação dos resultados positivos é feita pela formação de colônias capazes de crescer no substrato e/ou por alterações no meio, como formação de halos ou mudanças de cor ao redor das colônias (Figura 1) (Rodrigues; De Carvalho, 2022).

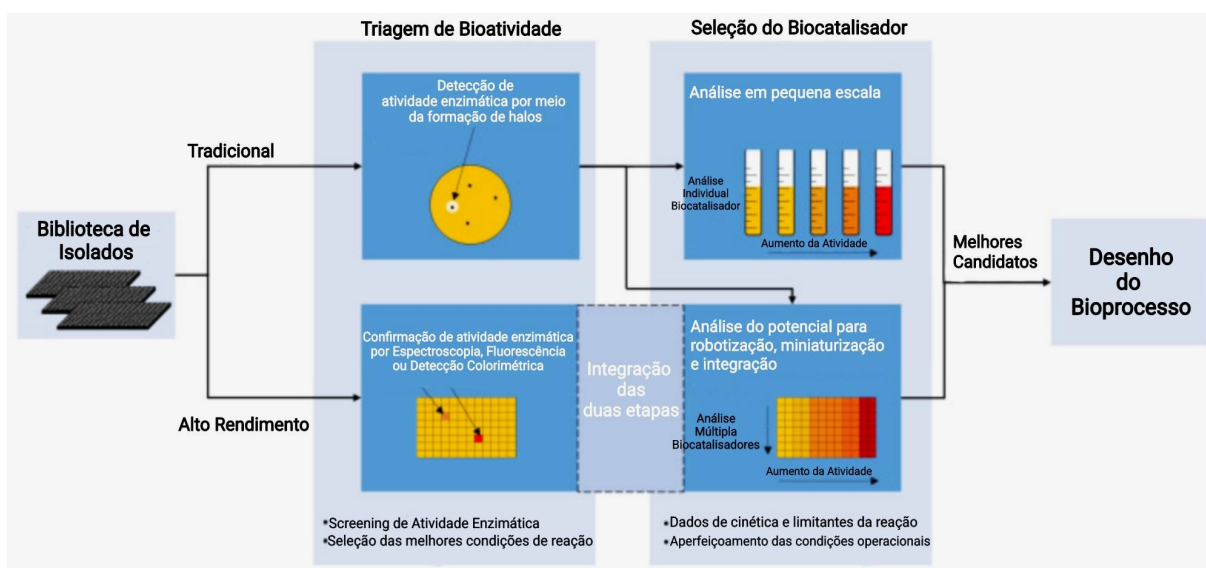
Figura 1 – Representação da técnica em placas de Petri para identificação da produção enzimas por microrganismos



Fonte: Soares *et al.*, 2016.

Apesar de os métodos tradicionais de triagem para identificar novos biocatalisadores ainda serem eficazes, é imprescindível empregar abordagens de alto rendimento para a triagem de bibliotecas que incluem isolados naturais e clones metagenômicos. Tipicamente, são criados ensaios de triagem colorimétrica de alto rendimento, os quais possibilitam uma avaliação ágil da conversão dos substratos desejados (Figura 2) (Rodrigues; De Carvalho, 2022).

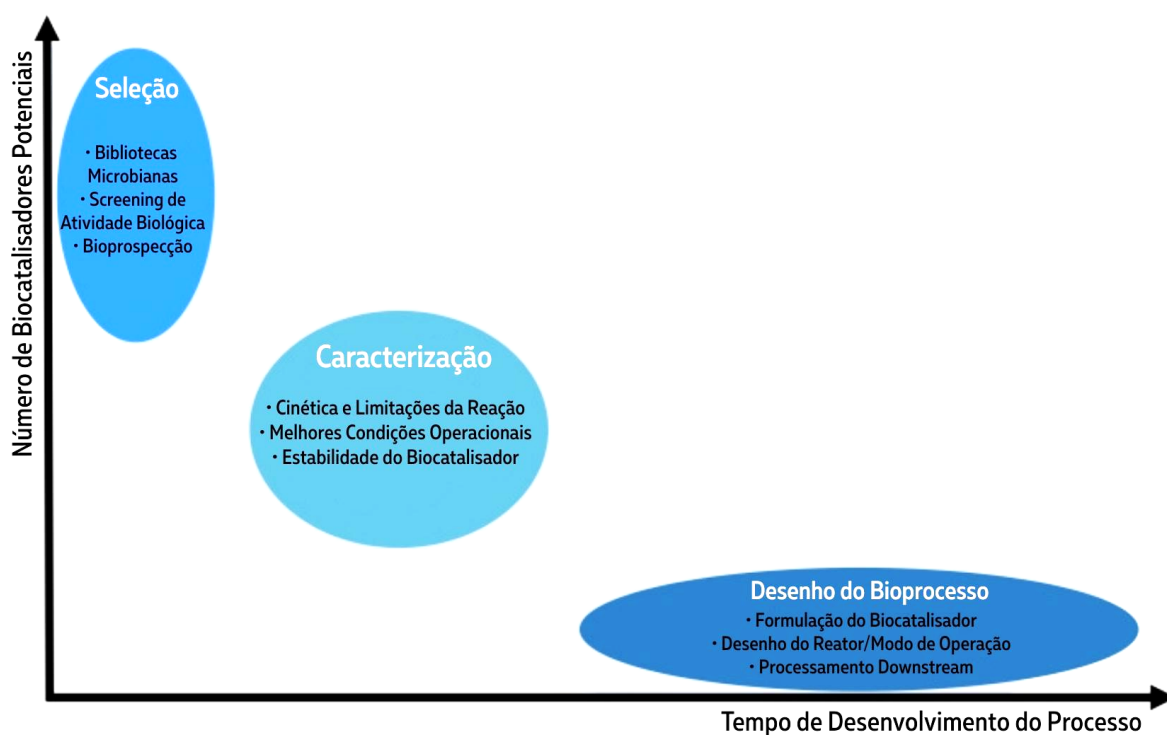
Figura 2 - Esquema de comparação dos métodos de triagem convencionais e os de triagem colorimétrica de alto rendimento



Fonte: adaptado de Rodrigues; De Carvalho, 2022.

A crescente necessidade de descoberta de novos biocatalisadores e sua utilização em processos industriais para complementar métodos químicos tradicionais precisa estar integrada ao avanço dos bioprocessos. Durante o desenvolvimento de um processo biocatalítico, as seguintes etapas devem ser consideradas: seleção do biocatalisador, caracterização/melhoria do biocatalisador e projeto do bioprocesso, incluindo recuperação e purificação do produto (Figura 3) (Rodrigues; De Carvalho, 2022).

Figura 3 - Esquema conceitual das diferentes etapas do desenvolvimento do processo biocatalítico

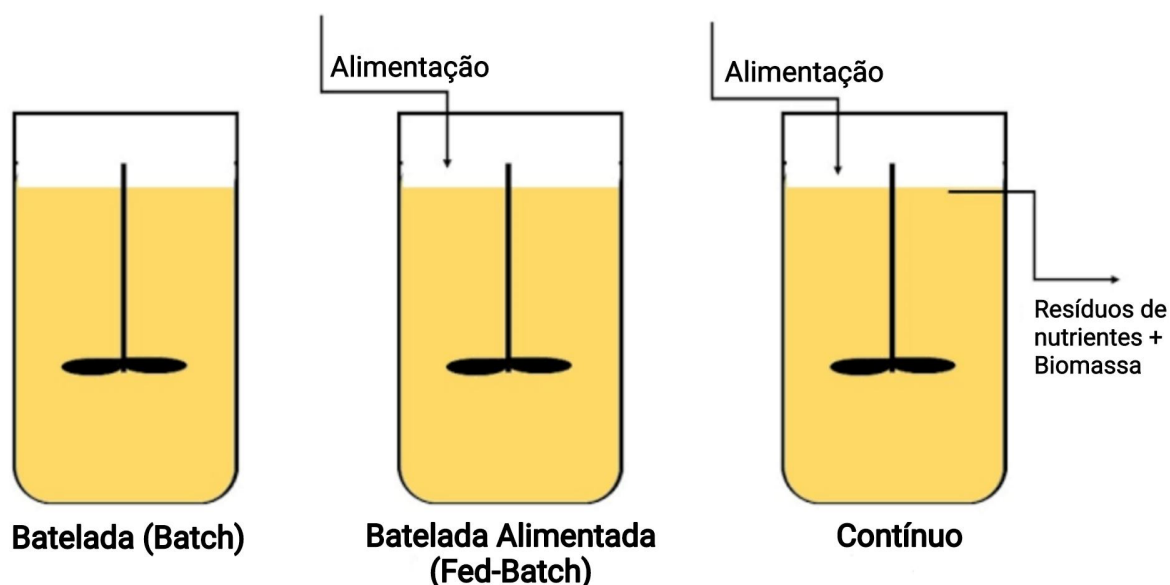


Fonte: adaptado de Rodrigues; De Carvalho, 2022.

Após as etapas de bioprospecção e caracterização dos biocatalisadores, é fundamental que o desenho do bioprocesso seja realizado de forma a garantir a maior produtividade possível, com um bom controle das reações, visando promover a otimização do processo e a redução de custos (Rodrigues; De Carvalho, 2022).

Diferentes abordagens de bioprocessos podem ser empregadas para a produção enzimática, incluindo as três principais: batelada (*batch*), batelada alimentada (*fed-batch*) e contínua (Figura 4).

Figura 4 - Esquema dos três principais tipos de abordagens utilizados em bioprocessamento



Fonte: adaptado de Dhanya, 2020.

O crescimento em batelada (*batch*) se refere à cultura inserida em um recipiente com uma quantidade inicial de meio que não é alterada pela adição ou remoção de nutrientes. Esta forma de cultivo é simples e amplamente utilizada tanto em laboratório quanto industrialmente, com o crescimento, a formação do produto e a utilização do substrato terminando após um certo intervalo de tempo (Sarkar *et al.*, 2010). A Superóxido Dismutase (SOD), por exemplo, é uma metaloenzima responsável por catalisar a dismutação de radicais superóxido com várias aplicações medicinais, é produzida pelo fungo marinho *Debaryomyces hansenii* e obtida por meio do processo de crescimento em batelada (*batch*) (Ramirez-Orozco *et al.*, 1998).

Na batelada alimentada (*fed-batch*) os nutrientes são adicionados de forma contínua ou semi-contínua, permitindo que a concentração de substrato seja mantida em um nível pré-determinado. Este tipo de operação é intermediário entre os processos em batelada e contínuo, aumentando a duração do cultivo em batelada e a produtividade geral do reator (Sarkar *et al.*, 2010). Uma protease alcalina, produzida a partir de *Teredinibacter turnerae*, uma bactéria isolada de teredos, é um exemplo de enzima que pode ser obtida utilizando o processo de batelada alimentada (*fed-batch*) (Beshay; Moreira, 2005).

Já o processamento contínuo, consiste na adição constante de nutrientes no meio de cultura com a remoção simultânea dos produtos e das células. Após um certo período de tempo, o sistema geralmente atinge um estado estável onde as concentrações de células, produtos e substratos permanecem constantes, fornecendo condições estáveis para o reator e gerando produtos de qualidade uniforme (Sarkar *et al.*, 2010). A enzima L-glutaminase pode ser obtida por uma cepa marinha da bactéria *Pseudomonas sp.* com a utilização de um biorreator com alimentação contínua (Sukumaran; Muthusamy, 2003).

Evidentemente, podem ser conduzidos diferentes processos de fermentação. Como por exemplo, os processos em batelada podem ocorrer tanto em fermentação submersa (SmF) (Estrada-Badillo; Marquez-Rocha, 2003) como em fermentação em estado sólido (SSF) (Kashyap *et al.*, 2002). Por exemplo, SmF é o principal processo de escolha para a produção de L-glutaminase microbiana marinha, onde os fatores físicos e nutricionais desempenham um papel vital na fermentação e o processo é dependente da presença do substrato apropriado e da inibição por feedback pelo produto final (Mostafa *et al.*, 2021; Potla Durthi *et al.*, 2019). Mas, atualmente há o interesse na produção baseada em SSF pois tais processos podem produzir metabólitos concentrados com a liberação de menos quantidade de efluente (Barzkar *et al.*, 2021).

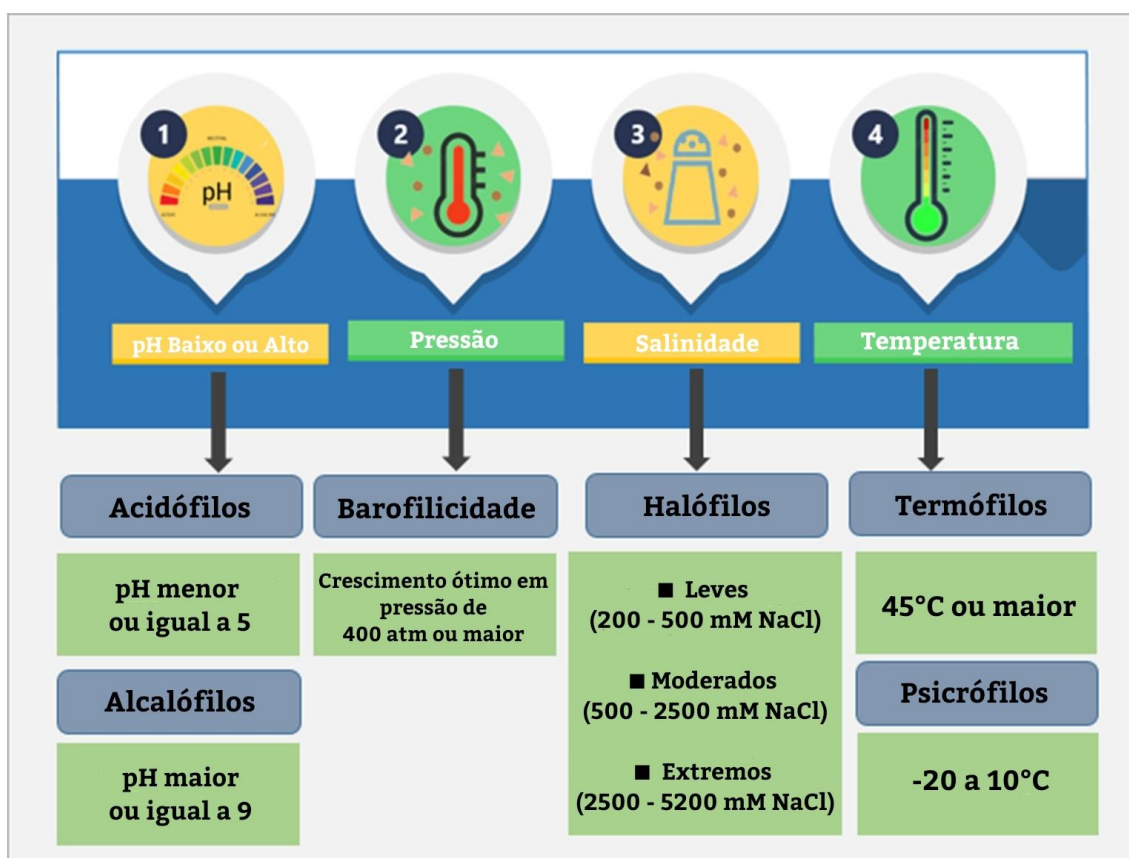
O fator que influencia na escolha do reator a ser utilizado, além das necessidades e características do microrganismo empregado, é a economia de mercado, um sistema contínuo é dedicado a um único produto, enquanto os sistemas em batelada oferecem maior flexibilidade. Uma boa compreensão do processo de produção é necessária, pois fornecerá amplas oportunidades para uma escala bem-sucedida até o nível industrial. Por isso, os bioengenheiros devem ter conhecimento sobre as várias abordagens disponíveis para a produção em massa de enzimas marinhas, suas vantagens e desvantagens relativas e, assim, ser capazes de selecionar a melhor alternativa (Sarkar *et al.*, 2010).

3.2 CARACTERÍSTICAS DAS ENZIMAS PRODUZIDAS POR MICRORGANISMOS MARINHOS

Como citado anteriormente, as enzimas marinhas possuem características diferenciadas devido ao habitat dos microrganismos que as

produzem, e por conta disso essas enzimas são o novo alvo de pesquisas e potenciais aplicações nas indústrias que cada vez mais demandam inovações e melhorias nos processos. As condições do habitat dos microrganismos marinhos impactam em suas funções metabólicas, possibilitando sua maquinaria biomolecular de produzir enzimas que possuem funções e comportamentos particulares em relação às produzidas pelos microrganismos terrestres equivalentes (Trincone, 2011). Dentre essas diferentes características, as principais serão destacadas: tolerância à salinidade, tolerância ao pH, barofilicidade, termoestabilidade e adaptabilidade ao frio (Figura 5) (Ghattavi; Homaei, 2023).

Figura 5 - Esquema da produção de enzimas marinhas em diferentes condições ambientais e a classificação dos microrganismos



Fonte: adaptado de Ghattavi; Homaei, 2023.

3.2.1 Tolerância ao pH

Enzimas obtidas de microrganismos capazes de suportar condições de pH extremas podem ser extremamente úteis em aplicações que exigem reações altamente ácidas ou fortemente alcalinas. Os microrganismos que sobrevivem em

ambientes com pH menor ou igual a 5 são chamados de acidófilos e os que sobrevivem em ambientes com um valor de pH maior ou igual a 9 são chamados de alcalófilos (Ghattavi; Homaei, 2023).

Uma α -amilase de *Streptomyces* sp. D1 marinho foi submetida a procedimentos experimentais e a enzima reteve quase 100% e 50% de sua atividade na presença de 7% (p/v) de NaCl e 10% (p/v) de NaCl após 48 h de incubação. Essa amilase foi considerada estável em sistemas de tampão de fosfato com pH 7–8, bem como tampões de glicina-NaOH na faixa de pH 9–11 quando incubada por 6–48 h. Este é o primeiro registro de uma enzima do gênero *Streptomyces* que apresenta uma ampla faixa de estabilidade de pH, o que sugere uma aplicação potencial na indústria de detergentes (Chakraborty *et al.*, 2009).

3.2.2 Tolerância à salinidade

As enzimas halofílicas ou halo enzimas são produzidas por halófilos, que são organismos capazes de se desenvolver em ambientes com alta concentração de sais.

Eles podem ser classificados em três grupos de acordo com a concentração de cloreto de sódio do meio (Pikuta; Hoover; Tang, 2007):

- a) halófilos leves (200–500 mM NaCl);
- b) halófilos moderados (500–2500 mM NaCl);
- c) halófilos extremos (2500–5200 mM NaCl).

Enzimas produzidas por microrganismos halofílicos são mais ativas e estáveis na presença de NaCl, contando com processos de adaptação e demonstrando estabilidade excepcionalmente alta quando há muitos sais e solventes orgânicos. As enzimas que são halofílicas também podem ser estáveis e ativas em temperaturas baixas e altas e, devido às suas características distintas, as enzimas halofílicas de águas profundas oferecem perspectivas promissoras para utilização em uma variedade de indústrias, como as indústrias alimentícia, farmacêutica e de detergentes (Jin *et al.*, 2019).

Uma nova β -1,3-xilanase (Xyl512) psicrófila e halofílica foi caracterizada a partir da bactéria de águas profundas *Flammeovirga pacifica*, cepa WPAGA1, e foi descoberto que uma alta concentração salina (1,5M de NaCl) poderia alterar a

temperatura e o pH ideais da Xyl512, bem como melhorar significativamente sua atividade geral em duas vezes em comparação com a ausência de NaCl, o que atenderia às demandas da indústria alimentícia por baixas temperaturas e altas concentrações de sal, já que essa enzima é a principal hidrolase utilizada para transformar oligossacarídeos em alimentos funcionais na extração a partir de algas marinhas (Cai *et al.*, 2018).

3.2.3 Barofilicidade

As áreas mais profundas do oceano são chamadas de zona hadal com profundidades variando de 6.000 a 11.000 m e com pressões que são maiores que a pressão do ar em até 1.100 vezes (Gerringer *et al.*, 2020).

O comportamento de um sistema sob alta pressão é governado pelo Princípio de Le Châtelier, onde a aplicação de pressão desloca o equilíbrio em direção ao estado com menor volume, favorecendo assim processos para os quais o estado de transição tem um volume menor que o estado fundamental (Atkins; Jones, 2012). Assim, a vantagem básica da pressão como controlador de reação enzimática é baseada no fato de que nenhum novo agente químico precisa ser adicionado à mistura de reação (Bartlett, 1992). Por outro lado, a alta pressão impede que processos que aumentam o volume do sistema ocorram (Boonyaratanakornkit; Park; Clark, 2002).

Os microrganismos piezófilos (anteriormente chamados de barófilos), como bactérias de águas profundas ou arqueas, vivem em ambientes de alta pressão e são de interesse para vários setores da biotecnologia, como no descarte de resíduos em águas profundas, produção de novos produtos naturais e atividades metabólicas e, no fornecimento de enzimas para biorreatores de alta pressão (Bartlett, 1992).

Foi observado que em alta pressão (60 MPa) e alta temperatura (90 °C), o número de bandas de proteína permaneceu inalterado quando a Arquea hipertermofílica *Thermococcus peptonophilus*, isolada de uma fonte hidrotermal a uma profundidade de 1400 metros, foi cultivada sob alta pressão e temperatura, mas o crescimento celular foi acompanhado pela superprodução de proteínas específicas (Canganella *et al.*, 1997).

3.2.4 Termoestabilidade

Os termófilos são microrganismos que necessitam de ou são capazes de resistir a altas temperaturas para sobreviverem. Eles podem ser classificados em três grupos de acordo com a faixa de temperatura em que ocorre crescimento (Madigan; Orent, 1999):

- a) Moderados: incluem organismos com faixa de crescimento entre um mínimo de 20 °C e um máximo de 55 °C, sendo as temperaturas ótimas entre 40 e 50 °C;
- b) Extremos: incluem microrganismos capazes de crescer otimamente em temperaturas entre 65 a 85 °C;
- c) Hipertermófilos: incluem os microrganismos com temperaturas ótimas de crescimento de 85 até 110 °C.

Dentre os vários fatores que influenciam na adaptação dos microrganismos e das enzimas produzidas por eles, a temperatura é o principal deles, já que influencia diretamente na função e estrutura das biomoléculas (Gomes *et al.*, 2007). As proteínas de organismos adaptados a temperaturas extremas geralmente têm estruturas tridimensionais semelhantes às dos organismos mesófilos, mas a composição de aminoácidos é diferente das proteínas comuns e o número de resíduos carregados em suas superfícies é muito maior do que em organismos não adaptados. Além disso, essas proteínas geralmente têm loops mais curtos, evitando assim a ocorrência de interações não específicas devido à sua maior flexibilidade em altas temperaturas (Colletier *et al.*, 2012; Tehei *et al.*, 2005).

Um processo biotecnológico realizado em temperatura elevada possui muitas vantagens como: alta solubilidade de substratos, em particular para moléculas pouco solúveis ou poliméricas, viscosidade reduzida de misturas de reação, taxas de reação mais rápidas e maior biodisponibilidade de substratos, além do risco reduzido de contaminação microbiana. Também, se destaca o fato de que as proteínas convencionais são completamente desnaturadas sob as condições adversas nas quais enzimas hipertermofílicas são capazes de operar (Trincone, 2011).

Uma esterase (enzima pertencente ao grupo das lipases), proveniente do hipertermófilo *Archaeoglobus fulgidus* DSM 4304, cujo gene foi clonado em *E. coli*,

foi caracterizada. Essa enzima foi testada com várias cadeias acil de p-nitrofenol e a maior atividade foi encontrada para p-nitrofenil butirato a 80 °C. Sua aplicação pode ser muito vantajosa na indústria farmacêutica, pois apresenta alta enantiosseletividade, uma propriedade química onde a enzima interage preferencialmente com um dos enantiômeros de um par (Kim; Lee; Ryu, 2008). O desenvolvimento e produção de fármacos envolve a utilização de moléculas quirais, ou seja, estruturas com a mesma conectividade dos átomos, mas com arranjos espaciais diferentes, resultando em estruturas com imagem espelhada uma da outra que são os enantiômeros. As enzimas reconhecem os enantiômeros como entidades moleculares diferentes devido às suas diferentes constantes de dissociação dos sítios de ligação, levando a comportamentos diferentes e consequente disparidade nas respostas farmacológicas (Lu, 2007; Testa, 2014; Tiritan *et al.*, 2016). Essa propriedade então, permite que elas sejam aplicadas para obter enantiômeros puros na produção dos fármacos (Kim; Lee; Ryu, 2008).

3.2.5 Adaptabilidade ao frio

Aproximadamente 90% da água no fundo do mar é fria, com uma temperatura média de 5 °C, e 20% da região terrestre do planeta é composta por geleiras, glaciais e regiões cobertas por neve. Os microrganismos que possuem a capacidade de sobreviver e se reproduzir em ambientes com baixas temperaturas são chamados de psicrófilos e podem produzir enzimas ativas ou adaptadas ao frio (Junge; Christner; Staley, 2011).

As enzimas que se adaptam a temperaturas mais baixas desempenham um papel vital nas estratégias de sobrevivência dos psicrófilos, e suas propriedades podem trazer benefícios em aplicações biotecnológicas. Diversas características estruturais se manifestam nessas enzimas, onde elas apresentam uma capacidade de ligação ao solvente mais intensa, similar à observada em enzimas que se adaptam à salinidade, permitindo que mantenham uma alta atividade catalítica mesmo em temperaturas reduzidas, graças à melhor conexão com o solvente e à flexibilidade de sua estrutura. O emprego de enzimas marinhas adaptáveis ao frio pode aprimorar a eficiência nos processos de fermentação e hidrólise, tanto na produção de produtos quanto no consumo energético (Ghattavi; Homaei, 2023).

Além disso, esses biocatalisadores podem ser utilizados como aditivos nas indústrias de detergentes e alimentos, ou em processos de biorremediação, reduzindo o risco de contaminação microbiana e evitando a instabilidade de reagentes ou outros produtos. O uso de enzimas psicrófilicas pode ser vantajoso também não apenas por sua alta atividade específica (permitindo a redução da quantidade de enzima necessária), mas também por sua fácil inativação, evitando ação prolongada das enzimas quando indesejada (Trincone, 2011).

A alfa-amilase ativa a frio mais estudada se origina da bactéria marinha da Antártica *Pseudoalteromonas haloplanktis* (AHA) (antiga *Alteromonas haloplanctis*), que é sintetizada a 0–2 °C pela cepa selvagem e foi expressa com o dobramento correto em *Escherichia coli* com o máximo de crescimento em 18°C (Feller; Bussy; Gerday, 1998). Em novos experimentos, a mesma alfa-amilase foi investigada e demonstrou 80% da atividade inicial a 4,5 M de NaCl a 10 °C (Srimathi *et al.*, 2007).

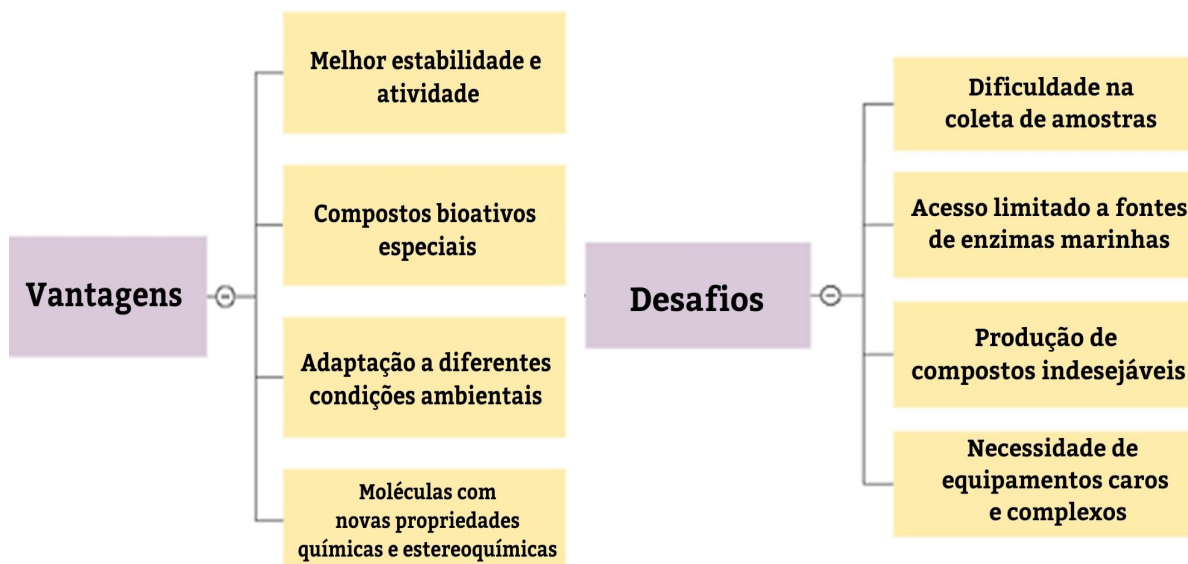
3.3 DESAFIOS NA UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS MARINHOS PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS

Quase 99% das espécies marinhas nunca foram cultivadas, deixando-as desconhecidas. Como resultado, as técnicas de cultura padrão para microrganismos marinhos acabam sendo limitadas por uma série de fatores (Cheung; Watson; Pauly, 2013). Limitações na disponibilidade e sazonalidade também são os principais desafios na exploração das enzimas derivadas do mar (Haard; Simpson; Sikorski, 1994). Além disso, para investigar a biodiversidade em maiores profundidades do oceano, são necessários equipamentos caros e tecnologias avançadas, como veículos controlados remotamente, submersíveis e sistemas automatizados para amostragem para coletar e acessar amostras em locais remotos (Figura 6) (Cheung; Watson; Pauly, 2013; Bruzzone *et al.*, 2020; Macaulay *et al.*, 2022).

Biocatalisadores que são produzidos naturalmente por organismos marinhos podem estar presentes em baixas concentrações e são misturados com uma variedade de outras enzimas, mas devido à necessidade de produção em massa, eles podem levar à produção de toxinas ou subprodutos indesejáveis (Gurung *et al.*, 2013). Ademais, muitos fatores como tamanho molecular (que pode impedir sua integração nas células), reação imunológica da célula hospedeira e

manutenção de um alto grau de pureza podem causar interferência no uso de uma enzima marinha, particularmente para aplicações em abordagens terapêuticas (Nigam, 2013; Parte; Sirisha; D'Souza, 2017).

Figura 6 - Diagrama das vantagens e desafios da produção de enzimas marinhas



Fonte: adaptado de Ghattavi; Homaei, 2023.

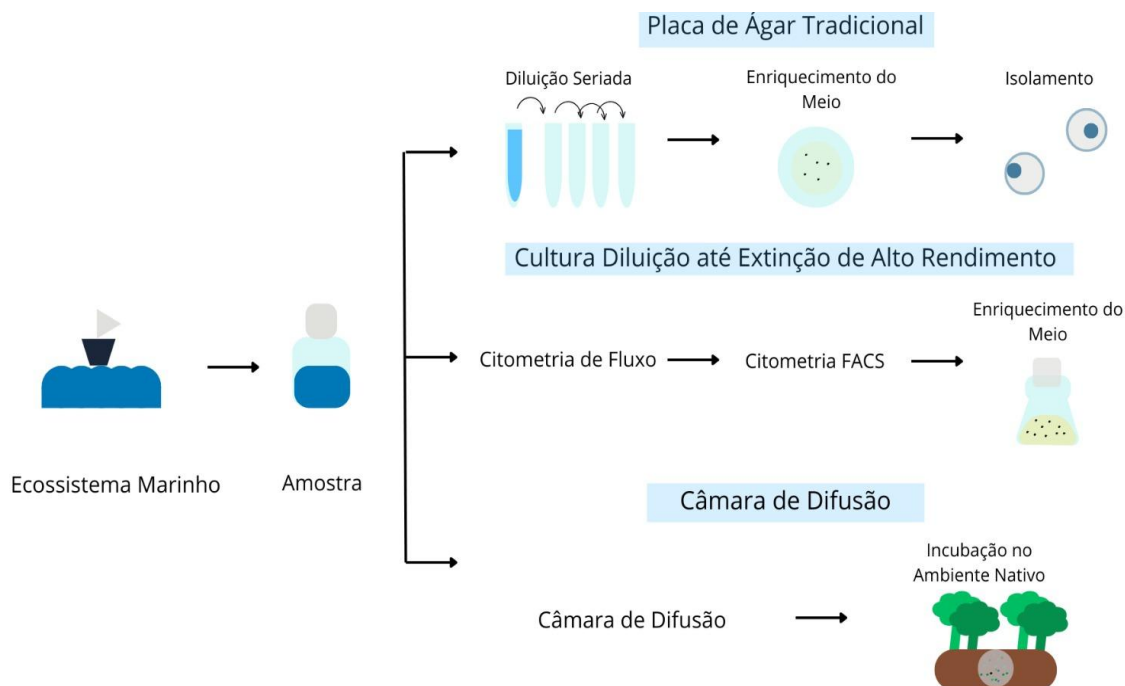
A fragilidade dos ecossistemas marinhos deve também ser levada em consideração ao utilizar organismos marinhos para a produção de substâncias de alto valor agregado. As quantidades fornecidas diretamente por microrganismos marinhos não suportam as exigências industriais e as limitações do processo de descoberta de enzimas. A coleta direta de substâncias bioativas e outros compostos de interesse industrial, portanto, quase nunca é sustentável, especialmente porque muitas dessas espécies estão em perigo de extinção e sua exploração excessiva pode danificar o delicado equilíbrio do ecossistema. Soluções alternativas estão, portanto, se tornando necessárias. Até o momento, as técnicas químicas e microbiológicas tradicionais costumam envolver a síntese ou semi síntese de substâncias semelhantes às naturais. No entanto, esses métodos podem causar um impacto ambiental considerável, principalmente pelo uso de solventes tóxicos e pela quantidade de resíduos gerados (Daniotti; Re, 2021). Por isso, pesquisadores e empresas que atuam na área de biotecnologia marinha têm buscado desenvolver tecnologias mais sustentáveis como a aquicultura e outros métodos de cultivo de organismos marinhos, em corais ou esponjas (Leal *et al.*, 2013; Vlachou *et al.*,

2018). Esses procedimentos são considerados mais ecológicos, pois não dependem do uso de substâncias tóxicas e podem utilizar matérias-primas que não prejudicam os frágeis ecossistemas do oceano (Daniotti; Re, 2021).

3.3.1 Descoberta de novos produtos e as “ômicas”

As atividades tradicionais de bioprospecção marinha dependem de metodologias culturais que incluem microscopia, meios seletivos, coloração de Gram e identificação bioquímica (Sysoev *et al.*, 2021). Geralmente, a bioprospecção começa com a coleta da amostra ambiental, depois ocorre o enriquecimento da amostra com nutrientes para aumentar o crescimento dos microrganismos e, finalmente, se inicia a etapa de isolamento dos microrganismos cultivados (Hu; Natarajan; Wang, 2021). Outros métodos mais inovadores podem ser empregados, como a diluição até extinção de alto rendimento e a utilização de câmaras de difusão com a incubação dos microrganismos de interesse em seu ambiente natural, fornecendo dados qualitativos e quantitativos de maior sensibilidade e confiabilidade sobre as espécies microbianas (Figura 7) (Hosseini *et al.*, 2022; Nowrotek *et al.*, 2019).

Figura 7 - Esquema dos diferentes métodos de bioprospecção marinha



Fonte: baseado em Hosseini et al., 2022.

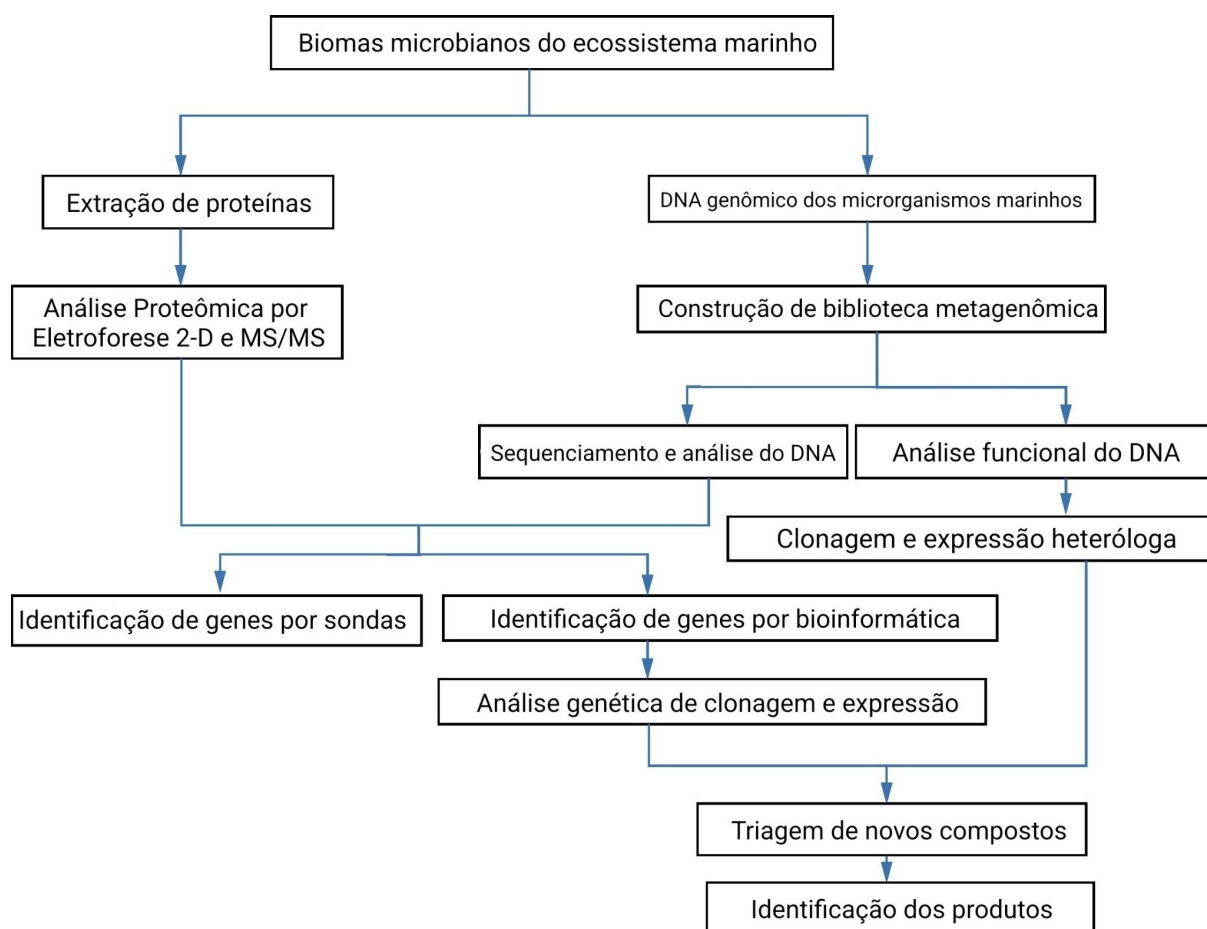
Entretanto, o emprego desses métodos tradicionais ainda limita muito a bioprospecção, já que apenas 0,1% das espécies microbianas marinhas são cultiváveis em laboratório (Amann; Ludwig; Schleifer, 1995). Confiar apenas nas técnicas tradicionais pode significar uma subestimação de praticamente todos os outros microrganismos marinhos que apresentam um grande potencial de produção enzimática, mas não são passíveis de cultivo em laboratório (Hosseini *et al.*, 2022).

Avanços recentes em Tecnologia da Informação levaram ao desenvolvimento de técnicas computacionais que fornecem pesquisas mais eficientes e mais direcionadas do que a simples análise do genoma ou da estrutura do composto (Pereira; Aires-de-Souza, 2018). O estudo do perfil genômico, metagenômico ou transcriptômico de amostras de água do mar por meio do sequenciamento de última geração (NGS) oferece uma metodologia avançada para a descoberta de novos compostos (Trindade *et al.*, 2015). A biotecnologia marinha se beneficiou do NGS e do desenvolvimento de projetos de sequenciamento, o que resultou no avanço da abordagem “ômica”, incluindo proteômica e metabolômica para entender a estrutura e função de novas moléculas (Hartmann *et al.*, 2014).

Embora ainda em estágio inicial, a abordagem baseada em moléculas, como a proteômica, mostrou ser promissora para explorar genes e suas expressões gênicas funcionais na descoberta de novas enzimas (Prihanto; Wakayama, 2016). Nesse método ocorre a análise das proteínas produzidas por um organismo e a identificação de suas propriedades físico-químicas, sendo um estudo que complementa a análise metagenômica e transcriptômica, onde a comparação de dados revelará os genes responsáveis pela produção de proteínas. O estudo da composição de proteínas é geralmente realizado por meio de cromatografia e espectrometria de massa (Shiny Matilda *et al.*, 2020).

Após a identificação de moléculas de interesse por meio de “ômicas”, o organismo é isolado ou o gene de interesse é isolado e reinserido em outro organismo que terá DNA recombinante (Ambrosino *et al.*, 2019). Espécies isoladas ou espécies recombinantes são ampliadas de forma controlada, usando biorreatores, por exemplo, para produzir grandes quantidades da molécula de interesse sem alterar a população selvagem, um mecanismo que é importante para manter o equilíbrio do ecossistema e a sustentabilidade do processo (Figura 8) (Kim; Toldrá, 2017).

Figura 8 - Fluxograma das abordagens “ômicas” para identificação de novas enzimas no ecossistema marinho



Fonte: adaptado de Rao *et al.*, 2017.

Apesar de se mostrar uma área promissora que pode contribuir de forma significativa para a exploração das enzimas marinhas, todos esses métodos exigem tecnologias de ponta e são muito caros, de modo que nem todos os pesquisadores podem ter tais requisitos. Portanto, nos próximos anos, o desenvolvimento e aprimoramento de novos métodos que ofereçam simplicidade, baixo custo e alta confiabilidade deve ser levado em consideração (Prihanto; Wakayama, 2016).

3.3.2 Rendimento e características do produto

Os custos operacionais constituem um dos aspectos mais relevantes a serem levados em conta nas estratégias biotecnológicas. É essencial enfrentar os desafios relacionados à viabilidade econômica e aos custos de produção para viabilizar comercialmente os produtos de origem biológica. Ao se analisar o

mercado, é crucial que esses produtos sejam altamente competitivos em relação às opções já disponíveis, tanto em preço quanto em eficiência. Dessa forma, torna-se necessária a otimização dos custos de produção e operação para potencializar a viabilidade comercial do produto (Silveira Júnior; Faustino; Cunha, 2019).

Para concretizar o elevado potencial dos recursos marinhos, é indispensável desenvolver processos que possam fornecer uma biomassa compatível com a procura do mercado, com elevados rendimentos e consequente aumento da competitividade (Camacho; Macedo; Malcata, 2019). Os avanços tecnológicos nas estruturas dos biorreatores também significaram que os volumes podem ser consideravelmente aumentados, uma vez que podem mimetizar o ambiente marinho em que os microrganismos crescem, de modo a maximizar a sua produtividade. Os sistemas que podem obter a energia para funcionar a partir do próprio metabolismo microbiano, ou os sistemas *in situ* que utilizam módulos subaquáticos depositados no fundo do mar para permitir a exploração sustentável dos recursos marinhos, são particularmente inovadores (Zhang *et al.*, 2011).

No caso das enzimas produzidas por microalgas, por exemplo, embora muitos estudos estejam visando a otimização da produção, a maioria deles são demonstrações de escala laboratorial ou semi-industrial, e não de produção em larga escala. Efetivamente, as condições ambientais desempenham um papel importante na decisão do comportamento do organismo e dos metabólitos produzidos (Abo *et al.*, 2019).

Mesmo após superar os obstáculos da produção em larga escala, isolar o microrganismo ou produto desejado é ainda outro desafio. O isolamento junto com a purificação do produto depende muito das características dele e das células produtoras e isso requer um estudo intensivo e uma caracterização correta do microrganismo para escolher quais as abordagens de processamento downstream serão mais adequadas e econômicas (Hosseini *et al.*, 2022).

Como uma forma de aumentar a eficiência de custo da comercialização, a engenharia genética de microrganismos marinhos ganhou interesse. Apesar de a engenharia genética de microrganismos ter obtido resultados satisfatórios em laboratório, ainda existem diversos desafios a serem superados na transição para a produção e venda em grande escala, especialmente em decorrência de aspectos ligados à viabilidade econômica (Hegde *et al.*, 2015).

3.4 DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

Bem como apresentado previamente, a exploração de microrganismos marinhos deve ser realizada levando em consideração a sua vulnerabilidade dos ecossistemas onde eles se encontram. A sustentabilidade é um aspecto crucial na pesquisa e desenvolvimento de produtos provenientes do mar (Daniotti; Re, 2021).

A exploração excessiva de espécies marinhas, sem uma devida recuperação, pode causar impactos profundos na biodiversidade dos oceanos, o que, por sua vez, compromete a própria sobrevivência dessas espécies. Os avanços na pesquisa sobre ambientes marinhos têm sido significativos em muitas áreas, no entanto, é imprescindível que essa pesquisa seja conduzida de maneira responsável, levando em conta os efeitos a longo prazo. Além disso, o entendimento limitado sobre as consequências dessas intervenções pode resultar em problemas como o desaparecimento de formas de vida específicas ou da degradação de seus habitats, gerando perdas de habitat, extinção de espécies e desajustes ecológicos, entre outros problemas. Considerando as pressões que os ecossistemas marinhos enfrentam e os desafios adicionais que a exploração e o desenvolvimento de produtos naturais marinhos podem trazer, é crucial explorar alternativas para alcançar os objetivos da biodescoberta marinha, alinhando-os com a necessidade de conservação dos ambientes oceânicos (Seghal Kiran *et al.*, 2018).

Como uma alternativa aos métodos de exploração incontroláveis e potencialmente agressivos ao ecossistema, surgiu a biologia sintética. A biologia sintética é uma prática que envolve diversas disciplinas e visa a criação de estruturas naturais dotadas de habilidades aprimoradas e atraentes. Essa abordagem é valiosa para o desenvolvimento e a incorporação de modificações específicas nos genomas, as quais não poderiam ser alcançadas com manipulações genéticas ou de vias isoladas (Seghal Kiran *et al.*, 2018).

Estratégias da biologia sintética, como a transferência de genoma completo e a engenharia genômica, podem ser empregadas para explorar potenciais rotas biossintéticas e incentivar a superexpressão ou a fabricação de produtos naturais (Pretorius, 2017).

4 CONCLUSÃO

Em síntese, os oceanos abrigam ecossistemas diversos e únicos moldados por condições ambientais extremas, oferecendo uma rica diversidade genética e mecanismos biológicos especializados. Esse reservatório genético possui um imenso potencial para a biotecnologia marinha, tornando possível a descoberta e utilização de novos recursos biológicos para enfrentar os cada vez mais crescentes desafios humanos. A bioprospecção desempenha um papel fundamental na exploração sistemática desses recursos, evoluindo de métodos tradicionais dependentes de cultivo para abordagens funcionais inovadoras que dispensam a necessidade de cultivo.

Apesar desses avanços, o campo da bioprospecção marinha enzimática enfrenta desafios significativos. Entre os principais obstáculos estão as limitações no desenvolvimento da bioinformática, dificuldades na ampliação da produção e na garantia da pureza dos produtos, variações nos resultados de produção e a necessidade de manter a eficiência de custos. Superar essas questões é essencial para liberar plenamente o potencial dos recursos marinhos e impulsionar o campo em direção a inovações sustentáveis e impactantes.

Além disso, é crucial que investimentos, infraestrutura e capital humano sejam priorizados, especialmente em países em desenvolvimento. A exploração de ambientes ainda pouco estudados, como fontes hidrotermais em águas profundas e recifes mesofóticos, depende de tecnologias avançadas e de alto custo. Ações futuras devem incluir a criação de novos institutos acadêmicos e redes dedicadas à biotecnologia marinha, além da promoção de cursos tecnológicos, de graduação e de pós-graduação, bem como de projetos tecnológicos voltados para essa área.

A aceleração do processo de descoberta e transferência tecnológica requer a implementação de marcos legais eficientes. O sucesso de incubadoras acadêmicas e startups depende de ciência de alta qualidade, propriedade intelectual protegível e soluções inovadoras que superem as existentes no mercado. De acordo com o relatório *Marine Enzymes Market Trends, Scope And Outlook (2024)*, a crescente projeção do mercado global de enzimas marinhas, avaliado em USD 15,5 bilhões em 2023, com previsão de atingir USD 30,44 bilhões até 2031, reflete um crescimento anual composto (CAGR) de 10,12%. Esse avanço é impulsionado por inovações tecnológicas, ampliação de aplicações e maior aceitação dos

consumidores. Empresas desse setor podem se beneficiar de investimentos estratégicos em pesquisa, desenvolvimento e parcerias, reforçando o papel essencial da biotecnologia marinha no futuro da ciência e da economia global.

Por fim, com o progresso contínuo nas ferramentas e estratégias biotecnológicas, a bioprospecção marinha focada na produção enzimática a partir de microrganismos promete contribuições transformadoras para a ciência, a indústria e a sociedade.

REFERÊNCIAS

- ABO, B. O. *et al.* Microalgae to biofuels production: a review on cultivation, application and renewable energy. **Reviews on Environmental Health**, v. 34, n. 1, p. 91–99, mar. 2019.
- ADRIO, J. L.; DEMAINE, A. L. Microbial Enzymes: Tools for Biotechnological Processes. **Biomolecules**, v. 4, n. 1, p. 117–139, jan. 2014.
- AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiological Reviews**, v. 59, n. 1, p. 143–169, mar. 1995.
- AMBROSINO, L. *et al.* Bioinformatics for Marine Products: An Overview of Resources, Bottlenecks, and Perspectives. **Marine Drugs**, v. 17, n. 10, p. 576, out. 2019.
- ATKINS, P. W.; JONES, L. **Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**. Porto Alegre: Bookman, 2012.
- BARTLETT, D. H. Microbial life at high pressures. **Science Progress**, v. 76, n. 301-302 Pt 3–4, p. 479–496, 1992.
- BARZKAR, N. *et al.* Marine microbial L-glutaminase: from pharmaceutical to food industry. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, n. 11, p. 4453–4466, jun. 2021.
- BESHAY, U.; MOREIRA, A. Production of alkaline protease with *Teredinobacter turnirae* in controlled fed-batch fermentation. **Biotechnology Letters**, v. 27, n. 19, p. 1457–1460, out. 2005.
- BOONYARATANAKORNKIT, B. B.; PARK, C. B.; CLARK, D. S. Pressure effects on intra- and intermolecular interactions within proteins. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1595, n. 1–2, p. 235–249, mar. 2002.
- BRUZZONE, G. *et al.* Monitoring of Sea-Ice-Atmosphere Interface In the Proximity of Arctic Tidewater Glaciers: The Contribution of Marine Robotics. **Remote Sensing**, v. 12, p. 1707, maio 2020.
- CAI, Z.-W. *et al.* Characterization of a novel psychrophilic and halophilic β -1, 3-xylanase from deep-sea bacterium, *Flammeovirga pacifica* strain WPAGA1. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, n. part B, p. 2176–2184, out. 2018.
- CAMACHO, F.; MACEDO, A.; MALCATA, F. Potential Industrial Applications and Commercialization of Microalgae in the Functional Food and Feed Industries: A Short Review. **Marine Drugs**, v. 17, n. 6, p. 312, maio 2019.
- CANGANELLA, F. *et al.* Pressure and temperature effects on growth and viability of the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus peptonophilus*. **Archives of Microbiology**, v. 168, n. 1, p. 1–7, jul. 1997.

CARROLL, A. R. *et al.* Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 39, n. 6, p. 1122–1171, jun. 2022.

CHAKRABORTY, S. *et al.* Isolation and characterization of novel α -amylase from marine *Streptomyces* sp. D1. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 58, n. 1, p. 17–23, jun. 2009.

CHEUNG, W. W. L.; WATSON, R.; PAULY, D. Signature of ocean warming in global fisheries catch. **Nature**, v. 497, n. 7449, p. 365–368, maio 2013.

COLLETIER, J.-P. *et al.* Sampling the conformational energy landscape of a hyperthermophilic protein by engineering key substitutions. **Molecular Biology and Evolution**, v. 29, n. 6, p. 1683–1694, jun. 2012.

DANIOTTI, S.; RE, I. Marine Biotechnology: Challenges and Development Market Trends for the Enhancement of Biotic Resources in Industrial Pharmaceutical and Food Applications. A Statistical Analysis of Scientific Literature and Business Models. **Marine Drugs**, v. 19, n. 2, p. 61, fev. 2021.

DHANYA, K. C. Batch, Fed Batch and Continuous Fermentation. **Dhanus Micro Notes**, 27 jun. 2020. Disponível em: <https://dhanusmicronotes.blogspot.com/2020/06/batch-fed-batch-and-continuous.html>. Acesso em: 10 fev. 2025

DOBROWOLSKI, J. W. *et al.* Integrated Innovative Biotechnology for Optimization of Environmental Bioprocesses and a Green Economy. In: PUROHIT, H. J. *et al.* (Eds.). **Optimization and Applicability of Bioprocesses**. Singapore: Springer, 2017. p. 27–71.

ESTRADA-BADILLO, C.; MÁRQUEZ-ROCHA, F. J. Effect of agitation rate on biomass and protease production by a marine bacterium *Vibrio harveyi* cultured in a fermentor. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 19, n. 2, p. 129–133, mar. 2003.

FASIM, A.; MORE, V. S.; MORE, S. S. Large-scale production of enzymes for biotechnology uses. **Current Opinion in Biotechnology**, Chemical Biotechnology • Pharmaceutical Biotechnology. v. 69, p. 68–76, jun. 2021.

FELLER, G.; BUSSY, O. L.; GERDAY, C. Expression of Psychrophilic Genes in Mesophilic Hosts: Assessment of the Folding State of a Recombinant α -Amylase. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 3, p. 1163, mar. 1998.

FRÖHLING, M.; HIETE, M. The Sustainability and Life Cycle Assessments of Industrial Biotechnology: An Introduction. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v. 173, p. 3–9, mar. 2020.

GERRINGER, M. E. *et al.* Pressure tolerance of deep-sea enzymes can be evolved through increasing volume changes in protein transitions: a study with lactate dehydrogenases from abyssal and hadal fishes. **The FEBS journal**, v. 287, n. 24, p. 5394–5410, dez. 2020.

- GHATTAVI, S.; HOMAEI, A. Marine enzymes: Classification and application in various industries. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 230, p. 123136, mar. 2023.
- GHOSH, S. *et al.* Marine enzymes. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, v. 96, p. 189–218, jan. 2005.
- GHOSH, S. *et al.* Novel Bioactive Compounds From Marine Sources as a Tool for Functional Food Development. **Frontiers in Marine Science**, v. 9, 10 fev. 2022.
- GOMES, E. *et al.* Enzimas termoeestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Química Nova**, v. 30, p. 136–145, fev. 2007.
- GUPTA, M. N.; RAGHAVA, S. Relevance of chemistry to white biotechnology. **Chemistry Central Journal**, v. 1, p. 17, jun. 2007.
- GURUNG, N. *et al.* A broader view: microbial enzymes and their relevance in industries, medicine, and beyond. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 329121, set. 2013.
- HAARD, N. F.; SIMPSON, B. K.; SIKORSKI, Z. E. Biotechnological Applications of Seafood Proteins and Other Nitrogenous Compounds. In: SIKORSKI, Z. E.; PAN, B. S.; SHAHIDI, F. (Eds.). **Seafood Proteins**. New York, NY: Springer US, 1994. p. 194–216.
- HARTMANN, E. M. *et al.* Proteomics meets blue biotechnology: a wealth of novelties and opportunities. **Marine Genomics**, v. 17, p. 35–42, out. 2014.
- HEGDE, K. *et al.* Genetic Engineering Strategies for Enhanced Biodiesel Production. **Molecular Biotechnology**, v. 57, n. 7, p. 606–624, jul. 2015.
- HOSSEINI, H. *et al.* Marine microbial bioprospecting: Exploitation of marine biodiversity towards biotechnological applications-a review. **Journal of Basic Microbiology**, v. 62, n. 9, p. 1030–1043, set. 2022.
- HU, H.; NATARAJAN, V. P.; WANG, F. Towards enriching and isolation of uncultivated archaea from marine sediments using a refined combination of conventional microbial cultivation methods. **Marine Life Science & Technology**, v. 3, n. 2, p. 231–242, maio 2021.
- JAIN, A.; TAILOR, V. Emerging Trends of Biotechnology in Marine Bioprospecting: A New Vision. In: NATHANI, N. M. *et al.* (Eds.). **Marine Niche: Applications in Pharmaceutical Sciences : Translational Research**. Singapore: Springer, 2020. p. 1–36.
- JEGANNATHAN, K. R.; NIELSEN, P. H. Environmental assessment of enzyme use in industrial production – a literature review. **Journal of Cleaner Production**, v. 42, p. 228–240, mar. 2013.
- JIN, M. *et al.* Properties and Applications of Extremozymes from Deep-Sea Extremophilic Microorganisms: A Mini Review. **Marine Drugs**, v. 17, n. 12, p. 656, nov. 2019.

JUNGE, K.; CHRISTNER, B.; STALEY, J. Diversity of Psychrophilic Bacteria from Sea Ice - and Glacial Ice Communities. In: HORIKOSHI, Koki. **Extremophiles Handbook**. Tóquio: Springer Tokyo, 2011. p. 793–815.

KARTHIKEYAN, A.; JOSEPH, A.; NAIR, B. G. Promising bioactive compounds from the marine environment and their potential effects on various diseases. **Journal of Genetic Engineering & Biotechnology**, v. 20, p. 14, jan. 2022.

KASHYAP, P. *et al.* Extra-cellular L-glutaminase production by *Zygosaccharomyces rouxii* under solid-state fermentation. **Process Biochemistry - PROCESS BIOCHEM**, v. 38, p. 307–312, nov. 2002.

KHALIFA, S. A. M. *et al.* Marine Natural Products: A Source of Novel Anticancer Drugs. **Marine Drugs**, v. 17, n. 9, p. 491, set. 2019.

KIM, S.-B.; LEE, W.; RYU, Y.-W. Cloning and characterization of thermostable esterase from *Archaeoglobus fulgidus*. **The Journal of Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 100–107, fev. 2008.

KIM S. K., Toldrá F. **Advances in food and nutrition research**. 1st ed. Cambridge, San Diego, Oxford, London: Elsevier, Academic Press; 2017.

KIN, L. Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes. **Current opinion in microbiology**, v. 9, n. 3, jun. 2006.

LEAL, M. C. *et al.* Coral aquaculture to support drug discovery. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 10, p. 555–561, out. 2013.

LI, S. *et al.* Technology prospecting on enzymes: application, marketing and engineering. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 2, n. 3, p. e201209017, set. 2012.

LU, H. Stereoselectivity in drug metabolism. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 3, n. 2, p. 149–158, abr. 2007.

MACAULAY, S. *et al.* Moving towards improved surveillance and earlier diagnosis of aquatic pathogens: From traditional methods to emerging technologies. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 4, p. 1813–1829, mar. 2022.

MADIGAN, M. T.; ORENT, A. Thermophilic and halophilic extremophiles. **Current Opinion in Microbiology**, v. 2, n. 3, p. 265–269, jun. 1999.

MAHAPATRA, G. P. *et al.* Metagenomics Approaches in Discovery and Development of New Bioactive Compounds from Marine Actinomycetes. **Current Microbiology**, v. 77, n. 4, p. 645–656, abr. 2020.

MALDONADO-RUIZ, K.; PEDROZA-ISLAS, R.; PEDRAZA-SEGURA, L. Blue Biotechnology: Marine Bacteria Bioproducts. **Microorganisms**, v. 12, n. 4, p. 697, 29 mar. 2024.

MARKET RESEARCH PULSE. **Marine Enzymes Market Trends, Scope and Outlook** Disponível em:

<https://marketresearchpulse.com/report/25810/marine-enzymes-market>. Acesso em: 30 set. 2024.

MARTINS, A. *et al.* Marketed marine natural products in the pharmaceutical and cosmeceutical industries: tips for success. **Marine Drugs**, v. 12, n. 2, p. 1066–1101, fev. 2014.

MIKHAILOV, V. V.; ANDRYUKOV, B. G.; LYAPUN, I. N. Search and Selection of Bacteriocin-Producing Strains of Marine Bacteria in the Aquatic Ecosystems of the Sea of Japan. **Molecular Genetics, Microbiology and Virology**, v. 34, n. 4, p. 216–219, out. 2019.

MOSTAFA, Y. S. *et al.* L-Glutaminase Synthesis by Marine Halomonas meridiana Isolated from the Red Sea and Its Efficiency against Colorectal Cancer Cell Lines. **Molecules**, v. 26, n. 7, p. 1963, mar. 2021.

MOU, H. *et al.* Editorial: Marine Microorganisms and Their Enzymes With Biotechnological Application. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 901161, abr. 2022.

MUFFLER, K. *et al.* Marine Enzymes – Production & Applications. In: KIM, S.-K. (Ed.). **Springer Handbook of Marine Biotechnology**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2015. p. 413–429.

NIEHAUS, F. *et al.* Extremophiles as a source of novel enzymes for industrial application. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 51, n. 6, p. 711–729, jun. 1999.

NIGAM, P. S. Microbial Enzymes with Special Characteristics for Biotechnological Applications. **Biomolecules**, v. 3, n. 3, p. 597, ago. 2013.

NOWROTEK, M. *et al.* Culturomics and metagenomics: In understanding of environmental resistome. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, v. 13, n. 3, p. 40, jun. 2019.

PARTE, S.; SIRISHA, V. L.; D'SOUZA, J. S. Chapter Four - Biotechnological Applications of Marine Enzymes From Algae, Bacteria, Fungi, and Sponges. In: KIM, S.-K.; TOLDRA, F. (Eds.). **Advances in Food and Nutrition Research**. Marine Enzymes Biotechnology: Production and Industrial Applications, Part III - Application of Marine Enzymes. San Diego, Oxford, London: Elsevier, Academic Press, 2017. v. 80p. 75–106.

PEREIRA, F.; AIRES-DE-SOUSA, J. Computational Methodologies in the Exploration of Marine Natural Product Leads. **Marine Drugs**, v. 16, n. 7, p. 236, jul. 2018.

PIKUTA, E. V.; HOOVER, R. B.; TANG, J. Microbial Extremophiles at the Limits of Life. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 183–209, jan. 2007.

POTLA DURTHI, C. *et al.* Screening, optimization of culture conditions and scale-up for production of the L-Glutaminase by novel isolated Bacillus sps. mutant endophyte using response surface methodology. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 18, p. 101077, mar. 2019.

PRETORIUS, I. S. Synthetic genome engineering forging new frontiers for wine yeast. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 37, n. 1, p. 112–136, fev. 2017.

PRIHANTO, A. A.; WAKAYAMA, M. Marine Microorganism: An Underexplored Source of L-Asparaginase. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 79, p. 1–25, out. 2016.

RAMÍREZ-OROZCO M, *et al.* Cell yield and superoxide dismutase activity of the marine yeast *Debaryomyces hansenii* under different culture conditions. **Journal of Marine Biotechnology**, v. 6, n. 4, p. 255–259, dez. 1998.

RAO, T. E.; IMCHEN, M.; KUMAVATH, R. Marine Enzymes: Production and Applications for Human Health. **Marine Enzymes Biotechnology: Production and Industrial Applications, Part III - Application of Marine Enzymes**, p. 149–163, fev. 2017.

RODRIGUES, C. J. C.; DE CARVALHO, C. C. C. R. Marine Bioprospecting, Biocatalysis and Process Development. **Microorganisms**, v. 10, n. 10, p. 1965, out. 2022.

SANA, B. Marine Microbial Enzymes: Current Status and Future Prospects. In: KIM, S.-K. (Ed.). **Springer Handbook of Marine Biotechnology**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2015. p. 905–917.

SARKAR, S. *et al.* Bioprocessing Data for the Production of Marine Enzymes. **Marine Drugs**, v. 8, n. 4, p. 1323, abr. 2010.

SEGHAL KIRAN, G. *et al.* Synthetic biology approaches: Towards sustainable exploitation of marine bioactive molecules. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 112, p. 1278–1288, jun. 2018.

SHINY MATILDA, C. *et al.* Potential of proteomics to probe microbes. **Journal of Basic Microbiology**, v. 60, n. 6, p. 471–483, jun. 2020.

SILVEIRA JÚNIOR, A. M.; FAUSTINO, S. M. M.; CUNHA, A. C. Bioprospection of biocompounds and dietary supplements of microalgae with immunostimulating activity: a comprehensive review. **PeerJ**, v. 7, p. e7685, out. 2019.

SOARES, D. W. F. *et al.* Avaliação da capacidade de produção de enzimas por bactérias isoladas de um efluente de lubrificantes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 56., 2016, Belém. **Trabalho de Iniciação Científica**. Disponível em: <https://www.abq.org.br/cbq/2016/trabalhos/13/10168-23128.html>. Acesso em: 03 fev. 2025.

SRIMATHI, S. *et al.* Intrinsic halotolerance of the psychrophilic alpha-amylase from *Pseudoalteromonas haloplanktis*. **Extremophiles: Life Under Extreme Conditions**, v. 11, n. 3, p. 505–515, maio 2007.

SUKUMARAN, R.; MUTHUSAMY, C. Continuous production of L-glutaminase by an immobilized marine *Pseudomonas* sp BTMS-51 in a packed bed reactor. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 1431–1436, maio 2003.

SYSOEV, M. *et al.* Bioprospecting of Novel Extremozymes From Prokaryotes-The Advent of Culture-Independent Methods. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 630013, fev. 2021.

TEHEI, M. *et al.* Neutron scattering reveals the dynamic basis of protein adaptation to extreme temperature. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 49, p. 40974–40979, dez. 2005.

TESTA, B. Types of stereoselectivity in drug metabolism: a heuristic approach. **Drug Metabolism Reviews**, v. 47, n. 2, p. 239–251, nov. 2014.

THOMPSON, F.; THOMPSON, C. **Biotecnologia Marinha**. Rio Grande: Editora FURG, 2020. Disponível em: <https://cienciasdomarbrasil.furg.br/images/livros/LivroBiotecnologia.pdf>. Acesso em: 30 set. 2024.

TIRITAN, M. E. *et al.* Chiral Pharmaceuticals. **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology**, p. 1–28, set. 2016.

TOWNSEND, M. *et al.* The Challenge of Implementing the Marine Ecosystem Service Concept. **Frontiers in Marine Science**, v. 5, out. 2018.

TRINCONE, A. Marine Biocatalysts: Enzymatic Features and Applications. **Marine Drugs**, v. 9, n. 4, p. 478–499, abr. 2011.

TRINDADE, M. *et al.* Targeted metagenomics as a tool to tap into marine natural product diversity for the discovery and production of drug candidates. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 890, ago. 2015.

VIRUÉS-SEGOVIA, J. R. *et al.* Marine-derived fungi as biocatalysts. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, fev. 2023.

VLACHOU, P. *et al.* Innovative Approach to Sustainable Marine Invertebrate Chemistry and a Scale-Up Technology for Open Marine Ecosystems. **Marine Drugs**, v. 16, n. 5, maio 2018.

WALSH, Gary. **Pharmaceutical Biotechnology: Concepts and Applications**. Nova Jersey: Wiley, 2013.

XIE, C. L. *et al.* Metabolomic Investigations on *Nesterenkonia flava* Revealed Significant Differences between Marine and Terrestrial Actinomycetes. **Marine Drugs**, v. 16, n. 10, p. 356, set. 2018.

ZHANG, C.; KIM, S.-K. Research and Application of Marine Microbial Enzymes: Status and Prospects. **Marine Drugs**, v. 8, n. 6, p. 1920–1934, jun. 2010.

ZHANG, Y. *et al.* Bioreactor technology in marine microbiology: from design to future application. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 3, p. 312–321, jan. 2011.