

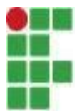
INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

BEATRIZ CAVALCANTE DE AVELAR GERALDIS

ENZIMAS PROTEOLÍTICAS EM COSMÉTICOS: PAPAÍNA

LONDRINA

2018



INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

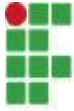
BEATRIZ CAVALCANTE DE AVELAR GERALDIS

ENZIMAS PROTEOLÍTICAS EM COSMÉTICOS: PAPAÍNA

Trabalho de Conclusão de Curso, modalidade Revisão Bibliográfica, apresentado ao curso Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio do Instituto Federal do Paraná.

LONDRINA

2018



FOLHA DE APROVAÇÃO

BEATRIZ CAVALCANTE DE AVELAR GERALDIS

ENZIMAS PROTEOLÍTICAS EM COSMÉTICOS: PAPAÍNA

Trabalho de Conclusão de Curso, modalidade Revisão Bibliográfica, apresentado ao Curso Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio do Instituto Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Técnico em Biotecnologia.

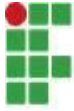
Orientador: _____

Prof. Dr. Omar Arafat Kdudsi Khalil

Prof(a). Luciana Fernandes de Oliveira

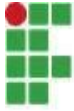
Prof(a). Letícia Chendysnski

Londrina, ____ de _____ de 2018.



Ministério da Educação

Dedico esse trabalho à minha mãe, que com esforço e dedicação me educou, e com sua graça me fez ver o melhor da vida: o amor.



AGRADECIMENTOS

À minha mãe, que dedicou tempo, dinheiro e saúde para me proporcionar uma boa formação acadêmica.

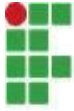
A meu pai, por todo apoio que me deu em todos esses anos que aqui estive.

À Deus por me dar sabedoria para seguir meus caminhos e finalizar com sucesso.

Aos meus colegas de turma, que sempre unida superou todas as avaliações durante todo o curso para chegarmos fortes até seu fim.

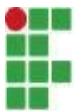
A meu orientador Omar Arafat Kdudsi Khalil, que me auxiliou durante o processo de desenvolvimento deste trabalho, e persistiu comigo até sua conclusão.

Ao corpo docente do Instituto Federal do Paraná, que com muito esforço deu o seu melhor para proporcionar o melhor ensino aos alunos.



Ministério da Educação

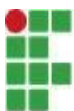
*O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia.
(COLLIER, Robert.)*



RESUMO

A papaína - EC 3.4.22.2 - é uma mistura complexa de enzimas proteolíticas obtidas principalmente a partir do látex dos frutos verdes de *Carica papaya*, conhecido popularmente como "leite de mamão". Essa cisteíno-proteinase é utilizada principalmente devido às suas propriedades proteolíticas, com aplicação nas indústrias alimentícia como amaciante de carnes, medicinal, no desbridamento de feridas, odontológica, no tratamento de cáries e têxtil, no tratamento das fibras da seda. As enzimas possuem inúmeras aplicações industriais e a cada dia surgem ou se intensificam novas aplicações destes catalisadores biológicos, exemplificando-se a área cosmética, na qual a papaína tem sido estudada e pesquisada na composição de cremes ou outras formulações devido a sua ação na degradação de proteínas dos pelos ou de camadas mais externas da pele, podendo ser utilizada no *peeling* enzimático por meio da hidrólise de proteínas de células mortas na superfície epitelial. Devido à importância cosmética e industrial da papaína e de sua interligação com a área biotecnológica, pesquisas que visem o aprofundamento de conhecimentos específicos sobre suas aplicações e seus aspectos químicos e biotecnológicos podem contribuir significativamente na formação do Técnico em Biotecnologia. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi realizar uma revisão de literatura sobre a aplicação da papaína na área cosmética, focando em seus aspectos estruturais e biotecnológicos. Foi realizada uma revisão de literatura na qual foram selecionados trabalhos científicos sobre a papaína publicados em periódicos, teses, dissertações principalmente. As bases de dados utilizadas foram o Scielo, *Scencedirect* e o Google. Os materiais obtidos foram classificados de acordo com as principais seções do trabalho de conclusão de curso: enzimas, cosméticos, biocosméticos, biotecnologia e obtenção de papaína. Foram apontados e descritos estudos que demonstram a importância e potencial da papaína além das suas ações mais comumente conhecidas. A análise de suas características gerais ampliou o conhecimento sobre esta enzima e muitas pesquisas apontaram o potencial cosmético devido à sua capacidade em catalisar reações de hidrólise de ligações peptídicas de proteínas que possuam resíduos cisteína. Verificou-se também a importância de fatores relacionados a sua extração e ação, sendo importante a realização de estudos que tratem sobre novas pesquisas para sua aplicação, como a imobilização enzimática. Conclui-se que a papaína possui potencial cosmético, a qual pode ser obtido com maior eficiência por meio do emprego de conhecimentos e ferramentas biotecnológicas para a obtenção, estabilidade e atividade desta enzima em formulações para este fim.

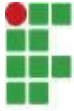
Palavras-chave: Papaína. Biocosmético. Extração. Biotecnologia. *Peeling*.



ABSTRACT

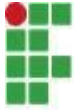
*Papain - EC 3.4.22.2 - is a complex mixture of proteolytic enzymes mainly to latex milk of the green fruits of *Carica papaya*, popularly known as "papaya milk". This cysteine proteinase is used because of its proteolytic properties, with the application in the food industries as meat wood, medicines, without debridement of wounds, dental, without treatment of caries and textiles, without treatment of silk fibers. As the enzymes are advantageous in a new cosmetic, since papain has been studied and researched in the composition of creams or other formulations due to its action in the degradation of proteins of the peas or of the outermost layers of the skin, being able to be used in the peeling enzymatic activity by hydrolysis of dead cell proteins on the epithelial surface. The importance of human biotechnology, biology and biotechnology research, and the human development of biochemical and biotechnology, and the human biotechnology, in the development of biology in biotechnology. In this way a literature review was carried out on the application of papain in the cosmetic area, focusing on its structural and biotechnological aspects. It has been a literature review specialized in scientific works on a publication published in periodicals, theses, dissertations mainly. As used databases were Scielo, Scencedirect and Google. The compounds were classified according to the main vectors of the course exercise: enzymes, cosmetics, biocosmetics, biotechnology and papain extension. Studies that demonstrate the importance and potential of papain in addition to its most commonly known actions have been pointed out and visited. The analysis of its general characteristics broadened the knowledge about this enzyme and many studies pointed out the cosmetic potential due to its capacity to catalyze reactions of hydrolysis of peptide bonds of proteins that have cysteine residues. It was also verified the importance of factors related to its extraction and action, being important to carry out studies that deal with new research for its application, such as enzymatic immobilization. It is concluded that papain has a cosmetic potential, which can be obtained with greater efficiency through the use of biotechnological knowledge and tools to obtain, stability and activity of this enzyme in formulations for this purpose.*

Key-words: *Papain. Biocosmetics. Biotechnology. Extraction. Peeling.*



LISTA DE FIGURAS

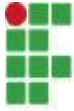
FIGURA 1 –Representação da fragmentação epitelial e dérmica.	22
FIGURA 2 – Esquema de ajuste induzido, com ajuste estrutural tanto da enzima quanto do substrato.	25
FIGURA 3 – Representação de uma hidrólise proteica catalisada por uma protease	27
FIGURA 4 – Estrutura tridimensional da papaína. Estrutura da Papaína (PDB ID: 9PAP)	31
FIGURA 5 – Processo de obtenção da papaína.	34



LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Características Físico-químicas da papaína

29



LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABIHPEC - Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BPF - Boas Práticas de Fabricação.

EDTA - ácido etilenodiaminotetraacético.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

FDA – Food and Drugs Administration.

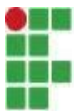
ISO - International Organization for Standardization (Organização Internacional para Padronização).

IUBBM - União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular.

KMS - metabissulfito de potássio.

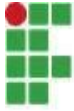
OGM - Organismo Geneticamente Modificado.

TPE - Two Phase Extraction.



SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 TEMA	13
1.2 PROBLEMA	13
1.3 OBJETIVO GERAL	13
1.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
1.5 JUSTIFICATIVA	14
1.6 METODOLOGIA	14
2 DESENVOLVIMENTO	16
2.1 BIOTECNOLOGIA	16
2.2 COSMÉTICOS	17
2.2.1 BIOCOSMÉTICOS	20
2.2.2 HISTOLOGIA E ANATOMIA DA PELE	21
2.3 ENZIMAS	22
2.3.1 PROTEASES	25
2.3.2 ENZIMAS EM COSMÉTICOS	27
2.4 PAPAÍNA	29
2.4.1 EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO	32
2.4.2 APLICAÇÕES DA PAPAÍNA	36
2.4.3 APLICAÇÕES COSMÉTICAS DA PAPAÍNA	38
2.4.4 PAPAÍNA: SEGURANÇA RELACIONADA AO USO	39
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
REFERÊNCIAS	43

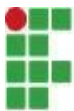


1 INTRODUÇÃO

A biotecnologia é uma área da atividade humana que tem como foco principal a aplicação tecnológica que utilize organismos vivos, suas partes, sistemas ou processos biológicos na pesquisa e desenvolvimento de produtos com fins comerciais (FUNDAÇÃO BIOMINAS, 2007). Sua importância já era prevista há muito tempo: Kennedy (1993) afirma que a biotecnologia inicia uma nova era e muda intensamente a forma de vida das pessoas e que, devido a necessidade no aumento da produção de alimentos e ao poder envolto desta área, não há como o movimento biotecnológico ser freado.

Como é uma área que demanda o uso de seres vivos ou suas partes de forma técnica e científica, requer pessoal qualificado, como técnicos, graduados e pós-graduados, tanto na pesquisa como no desenvolvimento de bioprodutos associados a tecnologia. Exemplificam-se as enzimas, que são catalisadores biológicos necessários a todos os seres vivos no desempenho de suas funções (VOET; VOET; PRATT, 2014), nesse contexto, a biotecnologia as utiliza com propósitos comerciais em diversas áreas de atuação humana.

Entre as diversas enzimas comercializadas devido ao uso de ferramentas biotecnológicas, cita-se a papaína, que é obtida do látex do fruto verde do mamoeiro (*Carica papaya*), encontrado comumente no Brasil. Trata-se de uma mistura complexa de enzimas proteolíticas e peroxidases, que realiza a quebra de proteínas de diferentes naturezas e origens. Seu uso mais destacado é como desbridante químico utilizado em feridas de diversas etiologias, em todas as fases do processo de cicatrização e em pacientes de diferentes faixas etárias, com resultados positivos (LEITE et al., 2012). Por outro lado, o mercado biotecnológico é claramente versátil e procura novos bioprodutos ou novos usos de produtos já estabelecidos para ampliar seu leque de atuação. Desta forma, trabalhos de pesquisa que tratem sobre a importância e novos usos de enzimas como a papaína são uma importante



ferramenta para o desenvolvimento e formação científica de Técnicos em Biotecnologia.

1.1 TEMA

Trata-se de pesquisa sobre o uso de papaína em formulações cosméticas, contextualizando-se suas aplicações ao contexto da biotecnologia.

1.2 PROBLEMA

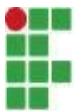
A questão norteadora deste estudo foi centrada na busca dos fatores envolvidos no emprego cosmético da papaína na pele e o papel e participação da biotecnologia na obtenção deste catalisador biológico na formulação de produtos nesta área. Assim, este trabalho de conclusão de curso buscou tratar fatores envolvidos no uso da papaína em formulações cosméticas, demonstrando os benefícios e questões de segurança relacionados à sua aplicação tópica.

1.3 OBJETIVO GERAL

Esta pesquisa objetivou a realização de uma revisão bibliográfica para a construção de um trabalho de conclusão de curso para o Curso Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio do IFPR *Campus* Londrina por meio de revisão de literatura sobre os aspectos químicos, enzimáticos e biotecnológicos da papaína aplicada à área cosmética.

1.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- (I). Compreender e apresentar aspectos gerais sobre a biotecnologia, cosméticos, biocosméticos, enzimas, proteases e papaína;
- (II). Apresentar a importância da papaína no cenário biotecnológico, contextualizando sua produção a fatores agregados na cosmetologia;



- (III). Apresentar características químicas e estruturais da papaína;
- (IV). Demonstrar a importância da biotecnologia e suas ferramentas para o desenvolvimento e obtenção, extração e purificação da papaína;
- (V). Compilar de forma sistemática as informações produzidas sobre a papaína com foco em sua obtenção, importância e aplicações cosméticas por meio de análise crítica de textos obtidos e selecionados a partir de bases de dados científicos.

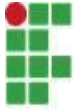
1.5 JUSTIFICATIVA

Este trabalho foi desenvolvido visando a obtenção de conhecimentos mais aprofundados em área específica da biotecnologia para a construção de um trabalho de conclusão de curso (TCC), um requisito necessário para a obtenção do grau de Técnico em Biotecnologia no IFPR *Campus* Londrina. A escolha do tema ocorreu porque a papaína é uma biomolécula obtida a partir de plantas, o que a torna objeto de estudo, análise e aplicação biotecnológica. Como já se possui significativos conhecimentos sobre sua estrutura, ações, obtenção e aplicações voltadas principalmente para a área de saúde e alimentícia, este TCC direcionou sua construção para a aplicação da papaína para a área cosmética, o que pode ampliar ainda mais seu uso e importância, gerando novos bioprodutos e ampliando a atuação de profissionais que atuam com biotecnologia.

1.6 METODOLOGIA

Este trabalho de conclusão de curso foi construído por meio de revisão bibliográfica de caráter qualitativo e exploratório, desenvolvido pela realização de pesquisas retrospectivas em bases de dados nacionais e internacionais (SciELO, ScienceDirect e Google Acadêmico), focando-se preferencialmente a obtenção de obras mais recentes (últimos cinco - 2013 a 2018).

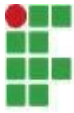
A opção por este tipo de estudo deve-se à sua adequação aos objetivos desta pesquisa: o aprofundamento sobre determinados conhecimentos específicos da papaína utilizada como recurso biotecnológico e sua importância para a formação



técnica em biotecnologia.

Para a realização da pesquisa, os seguintes unitermos e descritores foram pesquisados: biotecnologia, enzima, protease, papaína, extração, purificação, cosmético, biocosmético. A data da publicação dos materiais obtidos não foi um critério de exclusão, porém, na medida do possível, procurou-se obter matérias mais recentes (últimos cinco anos) para análise. Apenas os materiais de língua portuguesa, espanhola e inglesa foram analisados.

As informações obtidas dos materiais foram analisadas e compiladas de forma sistemática, sendo divididas nas seções apresentadas no sumário e no desenvolvimento deste trabalho.



2 DESENVOLVIMENTO

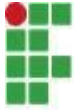
2.1 Biotecnologia

A biotecnologia é uma ciência promissora que se expandiu muito a partir do último século, mas que teve surgimento há milênios, desde que o homem iniciou a fabricação de pães e vinhos pela fermentação de grãos e cereais por microrganismos. Esta área pode ser entendida como um conjunto de atividades baseadas em conhecimentos multidisciplinares que utiliza agentes biológicos (organismos, células, moléculas) para o desenvolvimento de produtos úteis ou para a resolução de problemas (BRUNO; HORN; LANDGRAF, 2014).

Um grande marco para revolução biotecnológica ocorreu no século XX com a descoberta da penicilina a partir da observação do inglês Alexander Fleming, que, devido a uma contaminação de suas culturas de *Staphylococcus aureus* por *Penicillium notatum* percebeu a ausência de crescimento da bactéria próximo à colônias do fungo. A partir desta contaminação, foi desenvolvido o primeiro antibiótico comercial da história (CALIXTO; CAVALHEIRO, 2012).

A engenharia genética é uma área fortemente relacionada à biotecnologia. As tecnologias de DNA recombinante, transgenia, clonagem e terapia gênica são promessas da área para o futuro geneticamente modificado pelo homem. Sua aplicação em mamíferos, já ocorre há décadas, como no caso da clonagem da ovelha Dolly em 1997 (ALMEIDA; DIAS; NASCIMENTO; 1997).

De acordo com o Catálogo Nacional de Cursos Técnicos (2016), o Técnico em Biotecnologia pode atuar em diversas áreas desta ciência, como em agroindústrias, instituições de pesquisa, ensino e desenvolvimento em biociências, produtos biotecnológicos, laboratórios de controle de qualidade de biomoléculas, de bioprocessos, de biologia molecular, de toxicologia, de biodiagnósticos e de análises clínicas, entre diversos outros. Desta forma, as enzimas são uma classe de biomoléculas a qual este profissional pode atuar com grande auxílio e apoio na área industrial.



O crescimento no mercado de enzimas, que tem crescido muito nos últimos anos, se deve ao aumento na produção industrial de enzimas e desenvolvimento de novas tecnologias e novos campos de aplicação destas. A biotecnologia atua fortemente na área e garante um futuro promissor para esse mercado pelo desenvolvimento de novas técnicas, métodos e tecnologias (SENAI, 2009).

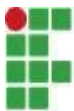
Vermelho et al. (2008) descrevem várias aplicações biotecnológicas de peptidases como a papaína, que incluem a indústria de alimentos até a indústria de detergentes e farmacêutica. Neste sentido, fundamenta-se a atuação do técnico em biotecnologia nesta área no Brasil, pois este profissional extrai, replica e quantifica biomoléculas o que inclui enzimas vegetais e, também, opera, controla e monitora processos industriais e laboratoriais, muitos dos quais utilizam enzimas (BRASIL, 2016).

2.2 Cosméticos

A palavra cosmético deriva dos radicais gregos *kosméticos* que significa “relativo ao adorno”, ordenar ou habilidade de decorar, já que antigamente eram utilizados majoritariamente para decorar e até mesmo para camuflagem com o uso de corantes naturais de origem vegetal ou animal. Os produtos cosméticos são utilizados desde a antiguidade, havendo registros de seu uso pelos egípcios há mais de 6000 anos. Os produtos, tanto de beleza quanto de higiene eram comumente utilizados com relação à espiritualidade, saúde e sedução (SCHÜLTZ; SCHAEFER; FRANÇA; s.d.).

Conforme determinado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da RDC Nº 07, de 10 de fevereiro de 2015, cosmético é definido como:

“... preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado.



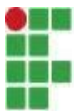
Dentro desse contexto, percebe-se a grande abrangência de aplicações dos cosméticos no cotidiano humano.

A valorização da aparência é fator sempre presente na história da humanidade, com o padrão de beleza sofrendo mudanças radicais através do tempo. Atualmente, vivencia-se a ditadura de um corpo perfeito e, a todo o momento, surgem novas dietas, tratamentos estéticos, tipos de ginásticas ou produtos que prometem alcançar esta perfeição (MENEZES, 2006).

Há muito tempo a manutenção da boa aparência é realizada por meio do uso de cosméticos por diversas vias, porém, desde a década de 80 ganhou força uma nova linha de aplicação, os cosmecêuticos, termo designado por Albert Kligman (1984), referindo-se a produtos aplicados topicamente que não são meramente cosméticos, pois são capazes de alterar o *status* da pele, não sendo, porém, considerados medicamentos (ANUNCIATO, 2011). Além destes, novos termos e definições têm surgido, como os nutricosméticos que atuam por meio da ingestão de alimentos e suplementos à base de enzimas, vitaminas e proteínas, sendo exemplos os antioxidantes e suplementos alimentares que atuam especialmente na pele, cabelos e unhas (ANUNCIATO, 2011).

Atualmente, além de tecnologias clássicas, a biotecnologia também atua com de ferramentas mais avançadas para o desenvolvimento de produtos e processos em suas diversas áreas, como os alimentos, ambiente, saúde e até cosméticos. A área cosmética tem importante papel econômico e social e, conforme apontado pela Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos – ABIHPEC (2016), representa 1,7% do PIB do país, registrando faturamento de R\$ 43,5 bilhões de reais em 2015. O Brasil oscila entre a 3ª e a 4ª posição no ranking mundial de produção de cosméticos, denotando importante participação na indústria nacional.

A indústria biotecnológica moderna possui impacto significativo no mercado mundial, representando cerca de 15 bilhões de dólares pelo desenvolvimento de biofármacos como medicamentos, vacinas, e proteínas recombinantes (ROMANA; XAVIER; SHARMA, 2017).

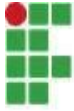


Os cosméticos são utilizados na melhoria da qualidade da pele e cabelos, refletindo assim no aumento da qualidade de vida do consumidor do produto, visto que regidos por um sistema com padronizações do conceito de beleza, os cosméticos são considerados também um recurso para alcançar objetivos estéticos. Importantes e inovadores bioprodutos têm alcançado o mercado recentemente, com o emprego de ferramentas biotecnológicas (GALEMBECK; CSORDAS, 2012). O setor biotecnológico cosmético na área de beleza possui grande apelo no mercado industrial e, por este motivo, vem lançando diversos produtos para tratar, colorir e modificar a estrutura dos cabelos humanos, e um número infindável de cremes de tratamento antienvhecimento (FREIRE, 2015).

O desenvolvimento da cosmetologia (ciência que estuda as formulações cosméticas e suas aplicações) têm ocorrido exponencialmente ao longo do último século, devido principalmente a avaliação de toxicidade de agentes como o chumbo, prata, alumínio entre outros. A partir do conhecimento da presença de elementos nocivos à saúde humana, novos produtos começam a surgir para aumentar a segurança de seu uso. Deste princípio surgem os chamados biocosméticos (LYRIO, 2011).

Não há, entretanto, a existência de dois polos distintos na composição destes produtos. Obviamente, os cosméticos devem seguir normas sobre sua composição com o intuito de garantir sua segurança, visto que também podem possuir aplicações terapêuticas, como os cosmecêuticos (produtos híbridos de fármacos e cosméticos que possam trazer benefícios à saúde humana). A restrição no uso de determinados componentes é dada na RDC nº 03, de 18 de janeiro de 2012 publicada pela ANVISA, considerando que os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes devem ser seguros sob as condições normais ou previsíveis de uso (BRASIL, 2012).

As restrições existentes no mercado nacional são para o uso de alguns ácidos, hidróxidos, óxidos entre outras substâncias que apresentem potencial alergênico e sensibilidade ao usuário. Por esse motivo, há determinação de indicação quali e quantitativa em sua composição, respeitando-se o limite de



concentração recomendada para não causar danos (SILVA, 2017).

A implantação de normas como as da *International Standards Organization* (ISO) e Boas Práticas de Fabricação (BPF), serve para padronizar e garantir a eficácia, segurança e qualidade dos produtos. A ISO 22716:2007, em vigor no Brasil, é um conjunto de diretrizes para BPF que trata sobre práticas de fabricação aplicáveis à produção, controle, armazenamento e expedição de produtos cosméticos (ISO, 2017).

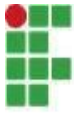
Para garantir as atribuições e segurança dos cosméticos, as normalizações devem ser atualizadas constantemente conforme o estudo de novas metodologias de produção e conhecimento do efeito prejudicial de componentes.

2.2.1 Biocosméticos

Biocosméticos são caracterizados pela cultura popular como produtos livres de conservantes sintéticos, adubos químicos, minerais e artificiais. Precisam passar por rigorosas técnicas de produção e análises, desde o plantio até chegar ao consumidor final e todo o processo de produção deve ser ecológico e sustentável, devendo promover a biodiversidade e proteção das gerações futuras (LYRIO, 2011).

A expansão do consumo de produtos desenvolvidos com bases naturais nos últimos anos decorre da construção e intensificação de novos valores relacionados à qualidade de vida, na qual prioriza-se a saúde, bem-estar, beleza, entre outros princípios (MIGUEL, 2011). Os biocosméticos são originados de matérias-primas naturais não tóxicas (muitos elementos químicos podem ser naturais e prejudiciais à saúde) e elaborados com ingredientes vegetais, sem conservantes artificiais e nem substância de origem animal (LYRIO, 2011).

A utilização de matérias primas orgânicas não geneticamente modificadas de origem vegetal, como as frutas, compõem a base para a formulação de biocosméticos e têm sido utilizadas em diversos produtos, especialmente em cremes, xampus e condicionadores. A diversidade de princípios ativos presentes nas espécies frutíferas, como enzimas, proteínas e lipídeos, indica grande potencial de



aproveitamento industrial (MIGUEL,2011).

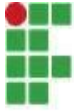
Entre os produtos naturais utilizados em cosméticos, as enzimas são uma alternativa natural e eficiente para que decorram atividades benéficas de seu uso, porém deve-se atentar para a origem de biomoléculas presentes em biocosméticos. Neste sentido a ECOCERT é um órgão de inspeção e certificação de produtos orgânicos, sendo que os produtos que pertencem à essa categoria e possuem em sua composição enzimas, não podem ser derivadas de Organismos Geneticamente Modificados (OGMs - Organismos que passaram por modificações genéticas em laboratório com o fim de melhorar suas características). Também, seus substratos devem apresentar informação sobre sua origem (ECOCERT, 2012). A papaína é considerada um ingrediente de origem vegetal aceito, já que não consta como biomolécula oriunda de espécie protegida, contanto que no processo de extração não utilizem solventes petroquímicos (ECOCERT, 2012) e a biomolécula seja de espécie natural (não OGM).

Dessa forma, observa-se que apesar da falta de definição oficial do conceito de biocosméticos, existem exigências normativas para verificar a confiabilidade de um produto com origem natural.

2.2.2 Histologia e Anatomia da Pele

A pele (conjunto de epiderme e derme) é um órgão/tegumento, diferentemente de tecido (epitelial e conjuntivo que constituem). Montanari (2016) descreve a epiderme (ou epitélio estratificado pavimentoso queratinizado) como a camada não vascularizada mais externa da pele, sendo dividida em 5 camadas: basal, espinhosa, granulosa, córnea e lúcida.

A camada basal (Figura 1) é também chamada de camada germinativa devido atividade mitótica. É a única que entra em contato direto com a derme. Possui cinco tipos diferentes de células: queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células táteis. Com exceção das células de Langerhans, todas sofrem mitose para reposição das células mortas. Devido à quantidade de células e a pressão exercida, as células possuem formato colunar (MONTANARI, 2016).



A camada espinhosa localiza-se abaixo da camada basal e é composta por várias subcamadas e um único tipo de célula, os queratinócitos, que possuem formato poliédrico e são unidos por desmossomos.

A camada granulosa é composta por poucas camadas de células achatadas e possui grânulos de queratomalina (precursor da queratina) e grânulos lamelares, que possuem função impermeabilizante às células para evitar perda de água (MONTANARI, 2016).

A camada córnea possui cerca de 30 estratos de células com núcleos pequenos ou anucleadas, achatadas e mortas, semelhantes a escamas. Essas células sofrem o processo de queratinização, também chamado de cornificação, que consiste em transformar os queratinócitos em células córneas, achatadas e secas. Este processo leva a uma função protetora para a pele e transcorre por cerca de 26 a 28 dias; após, as células mortas se desprendem pelo processo de esfoliação, sendo substituídas por células novas oriundas das camadas mais profundas (BARBOSA, 2011).

A camada lúcida é uma camada extra presente nas regiões palmoplantares (de pele mais espessa e nos lábios). É situada entre a camada córnea e a granulosa e possui células transparentes e achatadas (BARBOSA, 2011).

A derme, é a camada localizada abaixo da camada basal (figura 1). É mais espessa que a epiderme, e diferentemente dela, possui tecido conjuntivo em sua maior parte, além de colágeno, fibras elásticas e tecido muscular agregado ao bulbo capilar.

A derme possui nervos e terminações nervosas dando sensibilidade à temperatura e pressão, dor, tato e prurido. Além disso, ajuda na manutenção da temperatura corporal, por meio da vasoconstrição, dificultando a perda de calor, ou vasodilatação facilitando a circulação sanguínea na derme. esta camada confere à pele elasticidade e resistência (BARBOSA, 2011; MONTANARI, 2016).

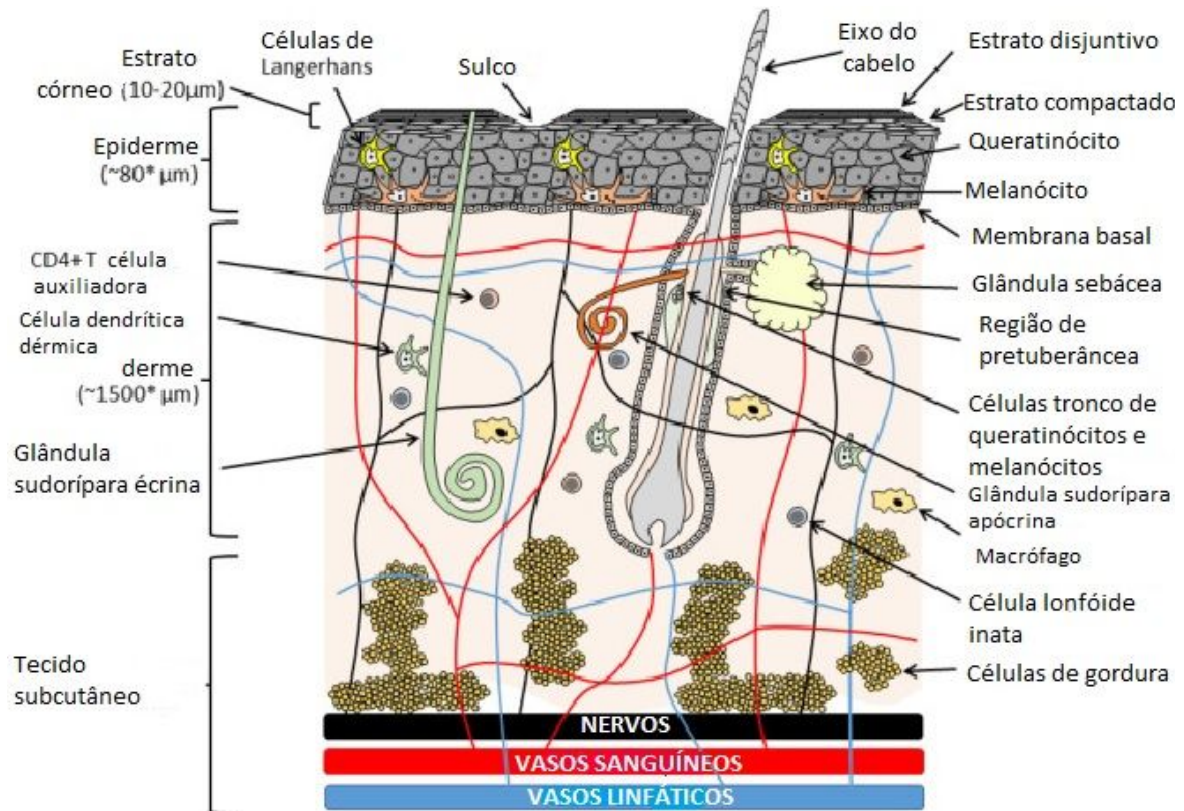
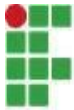
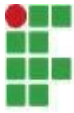


Figura 1 - Representação da fragmentação epitelial e dérmica. Fonte: adaptado de Khan; Roberts (2018).

2.3 Enzimas

As enzimas são moléculas que aceleram reações químicas com grandes vantagens em relação aos catalisadores químicos, principalmente por suas qualidades ecológicas, não gerar tantos resíduos e ser reutilizada após uma reação. Após os antibióticos, elas são os produtos microbianos mais explorados pela indústria biotecnológica. Entretanto, esses biocatalisadores também podem ser extraídos de tecidos e vegetais animais, tendo aplicações em inúmeras atividades humanas (SENAI, 2009).

A disponibilidade de terras para cultivo, dificuldade da adaptação das condições climáticas para crescimento e longo tempo demandado, são fatores associados à insuficiência na demanda comercial pela produção de proteases extraídas de plantas e de animais. Desta forma, sobressaiu-se a produção industrial de enzimas microbianas. A produção de peptidases por microrganismos é favorecida



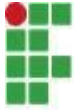
em relação a obtenção desta enzima de origem vegetal devido a fatores como rendimento, facilidade de manipulação genética, volume de produção, espaço limitado requerido para o seu cultivo, diversidade genética e pequeno tempo de geração (RAO et al., 1998). Entretanto, as plantas são claramente uma alternativa para a obtenção de enzimas sem a necessidade do uso de biorreatores e de processos microbiológicos de produção.

Processos industriais que necessitam de reações químicas estão presentes na maioria dos aspectos ligados à fabricação de produtos ou bens utilizados pelo homem. Muitas dessas reações são catalisadas por catalisadores químicos que podem ser substituídos por catalisadores biológicos. Há cada vez mais processos industriais que utilizam enzimas como catalisadores, dentre as quais se destacam as áreas de alimentos, terapêutica, industrial, saúde humana e animal e bens como papel e indústria têxtil (SENAI, 2009).

De acordo com Cruz et al. (2008), as enzimas para fins terapêuticos devem possuir elevado grau de pureza, alta especificidade (só atua com determinado substrato), baixa antigenicidade (capacidade de atuar como ou formar um antígeno) e estabilidade em condições fisiológicas.

A União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBBM) aponta que as enzimas são classificadas e nomeadas de acordo com a reação que catalisam em seis classes (com diferentes subdivisões): oxiredutases (catalisam reações de oxidação-redução ou transferência de elétrons), transferases (catalisam reações de transferência de grupos funcionais), hidrolases (catalisam reações de hidrólise), liases (catalisam reações de adição de grupos a duplas ligações ou remoção de grupos formando dupla ligação), isomerases (catalisam reações que levam a formação de isômeros) e ligases, que catalisam reações de formação de ligação covalente entre duas moléculas (IUBMB, 2018).

As enzimas podem ser constitutivas ou indutivas. As constitutivas são sintetizadas de forma independente ao ambiente celular e estão presentes em quantidades constantes nas células, independente do estado metabólico do organismo. Já as enzimas indutivas são biocatalisadores cuja a síntese é



sensivelmente aumentada pela presença de um indutor no meio de cultura, como forma de resposta a este (BON et al., 2008). Alguns indutores de enzimas comerciais são bastante conhecidos, como o amido, dextrina e maltose, que atuam induzindo de α -amilase produzida por *Bacillus sp* e a lactose, indutora de lactase por *Aspergillus nidulans* (EMBRAPA, s.d.).

O mecanismo de ação para acelerar as reações químicas depende da enzima. Algumas atuam reunindo dois substratos para a formação do produto, outras favorecem as condições do sítio ativo para a reação (por exemplo, alterando a polaridade, pH). O complexo enzima-substrato diminui a energia de ativação da reação alterando a estrutura espacial das moléculas do substrato de maneira a facilitar a quebra da ligação química, ajudando a alcançar o estado de transição com menor energia de ativação (OPENSTAX COLLEGE, 2013).

Os substratos são moléculas que se ligam à enzima e sofrem modificação por esta. Cada enzima possui um local onde ocorre a reação, denominado sítio ativo, a qual é muito específico ao substrato, que se encaixa perfeitamente a ele. Fatores como temperatura e pH podem alterar a conformação estrutural do sítio sobre a forma de interação para a formação desse complexo foram criadas, sendo o “ajuste induzido” a mais aceita. Esta teoria consiste na crença de que tanto o sítio ativo quanto a enzima sofrem pequenas alterações estruturais dinâmicas que facilitam a ligação entre ambos (OpenStax College, 2013). A Figura 2 demonstra e detalha os passos relacionados a interação entre enzima e substrato para a formação de produto.

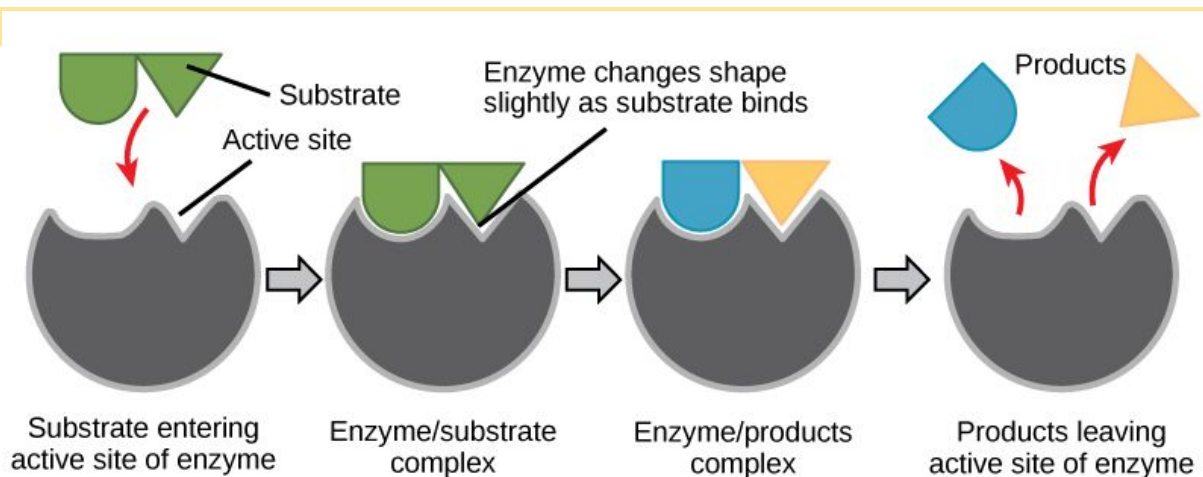
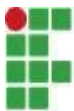
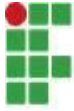


Figura 2 - Esquema de ajuste induzido, com ajuste estrutural tanto da enzima quanto do substrato.
Fonte: adaptado de OpenStax College, 2013.

Muitas enzimas necessitam de uma molécula não-aminoácido para realizar suas funções, denominadas de cofatores. Quando o cofator é uma molécula orgânica, é denominado de coenzima (ex.: algumas vitaminas). Estas moléculas se unem temporariamente às enzimas por meio de interações iônicas ou ligações de hidrogênio ou de forma permanente por meio de de ligações covalentes (OPENSTAX COLLEGE, 2013).

A aplicação de enzimas é uma alternativa mais limpa e que consome pouca energia, gerando mínimo impacto ambiental quando comparado aos processos químicos convencional de catálise. Pode-se exemplificar a importância da biotecnologia nesta área com a patente "Extração enzimática do óleo de soja", obtida em 1996 pelo grupo da pesquisadora Sônia Couri, na qual possibilitou a obtenção do óleo de soja com qualidade superior ao processo que utiliza solvente orgânico. Adicionalmente, pode-se obter um subproduto desse processo que pode ser utilizado na alimentação humana, na fabricação de pães e bolos (EMBRAPA, 2015).

O emprego de enzimas em processos industriais é de grande interesse comercial, principalmente pela facilidade de obtenção biotecnológica e preeminência em relação aos catalisadores químicos. Atuam na indústria de alimentos, medicamentos e análises clínicas. Além destas, são aplicadas na fábrica de celulose



e têxtil, detergentes, biocombustíveis e no tratamento de efluentes. As enzimas atualmente, vem ganhando espaço no mercado cosmético, especialmente as proteases nas formulações cosméticas indicadas para depilação e esfoliação corporal (MUSSATO et al., 2007).

2.3.1 Proteases

As proteases são enzimas que catalisam a hidrólise de ligações peptídicas em cadeias proteicas. A representação de uma reação catalisada por essas enzimas pode ser verificada na figura 3.

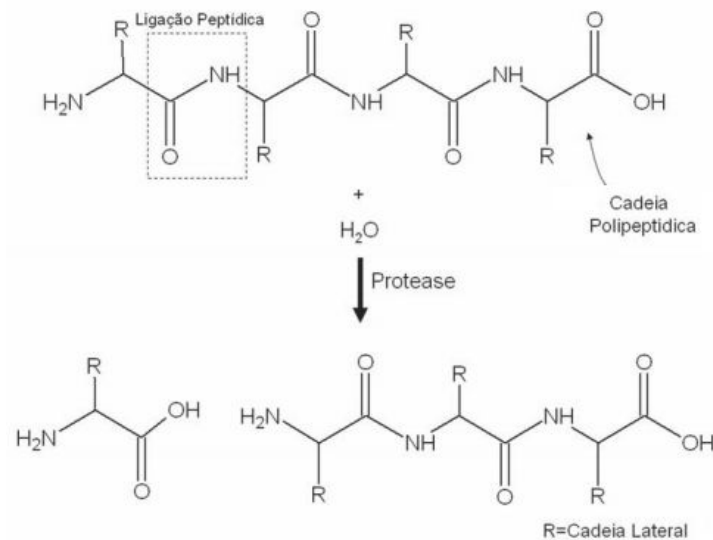
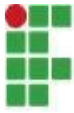


Figura 3 - Representação de uma hidrólise proteica catalisada por uma protease. Fonte: Lima et al. (2008).

Com base no local de ação, as proteases são divididas em exopeptidases e endopeptidases. As exopeptidases atuam nas extremidades das ligações, no terminal amino ou carboxi do substrato, enquanto as endopeptidases atuam em regiões distantes dos terminais. A natureza do sítio ativo da enzima também é um critério de classificação: há proteases de serina, proteases aspárticas, proteases de cisteína e metaloproteases (RAO et al, 1998).

As aplicações na indústria são vastas. Vermelho et al. (2008) apontam aplicação no mercado de detergentes, especialmente as serino-peptidases, pelo bom desempenho na remoção de manchas e manutenção da cor dos produtos. Na



indústria de alimentos, os seus produtos da hidrólise atuam melhorando o sabor, o aroma, a textura, a funcionalidade e a qualidade nutricional os produtos, como na produção de queijos e bebidas (VERMELHO et al., 2008; SILVA, 2007).

Outra aplicação das proteases é em química fina, como na síntese enzimática de dipeptídeos e tripeptídeos, sobretudo na obtenção dos aminoácidos aspartame, dinorfina e eucefalina (VERMELHO et al., 2008). Dentre a grande variedade de proteases, destaca-se a papaína, enzima muito importante devido ao seu amplo uso industrial.

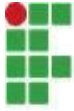
2.3.2 Enzimas em cosméticos

Além das diversas aplicações citadas, as enzimas estão sendo estudadas para aplicação em um ramo mais recentemente explorado pela biotecnologia, a cosmética. Nessa área, as enzimas podem ser utilizadas na composição de tinturas, cremes depilatórios, alisantes de cabelo, sais de banho, dentifrícios, desodorantes, produtos anticasca, curativos, entre outros (MUSSATO et al., 2007).

Conforme a finalidade, os produtos que contém enzimas podem ser administradas por via tópica, oral ou parenteral. Pela necessidade de apresentar alto grau de pureza, os custos de produção podem ser elevados. Felizmente, o desenvolvimento de novas técnicas de produção tem facilitado os processos de obtenção do produto final, barateando os custos. (SENAI, 2009).

A comercialização de artigos cosméticos enzimáticos rende ganhos econômicos ao país, onde são comercializados produtos como o DG-DNA Complex[®], contendo extrato enzimático lipossomado de *Micrococcus lysate* e extrato de *Artemia* sp. A enzima atua no reparo do DNA e protege contra a radiação UV que pode ser prejudicial à pele (EMILIANO et al., 2012).

Enzimas como a hialuronidase podem ser obtidas a partir do sêmen de testículos bovinos. Tratamentos com a utilização de ácido hialurônico para volumização facial são comumente utilizadas no meio cosmético. Todavia, seu uso errôneo pode levar a necessidade da retirada do produto. Utilizada da forma correta e sob prescrição e orientação profissional, a hialuronidase é uma opção para



tratamento de nódulos por excesso de ácido hialurônico, visto que é capaz de degradá-lo apresentando efeito imediato (ALMEIDA; SALIBA, 2015).

Queratinases (EC 3.4.99) são enzimas especializadas na hidrólise de queratina. Na área dermatológica são aplicadas na remoção de calosidades, onde ocorre o acúmulo de queratina que causam rigidez do tecido (FRIEDRICH et al., 2002).

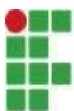
Buendia (2003) apontou o uso da catalase na concentração de 250mg como recurso auxiliar na neutralização do peróxido de hidrogênio residual após o clareamento dental, visando uma melhor adesividade do material restaurado. Já as lipases (EC 3.1.1.3) são catalisadores lipídicos. Na química fina, abrangendo os cuidados pessoais, auxiliam na limpeza de lentes de contato, pele e cabelo (DELGADO, 2014).

Dentre as enzimas mais citadas na literatura da área cosmética, a papaína é empregada principalmente na esfoliação facial (*peeling*), no desbridamento de feridas e como agente depilatório (CAPUCHO, 2007).

2.4 Papaína

Há uma forte tendência mundial para o aproveitamento de recursos naturais na terapêutica e principalmente aqueles já utilizados pela medicina tradicional. Neste sentido, a papaína é uma mistura complexa de enzimas proteolíticas e peroxidases existentes no látex do mamoeiro, conhecido popularmente como "leite de mamão" (MONETTA, 1987) que pode contribuir para o arsenal de moléculas úteis às atividades humanas.

O mamão possui alto valor nutricional, sendo constituído por polissacarídeos, vitaminas, minerais, proteínas, enzimas, alcalóides, glicosídeos, óleos, saponinas, flavonóides, lectinas, esteróis, entre outros componentes. O fruto é provavelmente originário do México e Costa Rica, porém foi introduzido em plantações no Havaí, Filipinas, Austrália, Índia e outros países tropicais (KRISHNA; PARIDHAVI; PATEL; 2008).



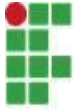
A papaína (3.4.22.2) é uma enzima proteolítica, endopeptidase encontrada em concentração de cerca de 8% em *Carica papaya*. É classificada como uma tiol proteinase constituída de uma única cadeia polipeptídica, contendo 212 resíduos de aminoácidos. Conforme indicado no Quadro 1, possui massa molecular de 23400 Daltons e ponto isoelétrico de 9,5 (CAPUCHO, 2007).

E.C.	3.4.22.2
Peso molecular	23,4 kDa
Ponto isoelétrico	9,5
pH ideal	ativa entre 5,0 e 9,0 ideal entre 6,0 e 7,0
Resíduos do sítio ativo	Cisteína (Cys) Histidina (His) Asparagina (Asp)
Condições de armazenamento	4°C

Quadro 1 - Características Físico-químicas da papaína. Fonte: Capucho (2007); Rao, 1987; Paul et al., 2013; Pinto et al., 2011).

A papaína é um polipeptídeo de cadeia única com três pontes dissulfeto e um grupo sulfidrila altamente essenciais para a atividade da enzima (PAUL et al., 2013). Dispõe de baixa estabilidade enzimática sob condições extremas, sendo um desafio à biotecnologia estabelecer melhor estabilidade para evitar sua inativação nestas condições (PINTO et al., 2011).

A enzima é composta por 7 resíduos de cisteína (Figura 4). Sua estrutura apresenta dois domínios de mesmo tamanho ao redor de um núcleo hidrofóbico R, de conformação alfa-hélice e folha-beta e L de conformação exclusivamente alfa-hélice, com localização amino terminal. As duas partes desta molécula se unem



por ligações de hidrogênio, ligações eletrostáticas e efeitos hidrofóbicos (PINTO et al., 2011).

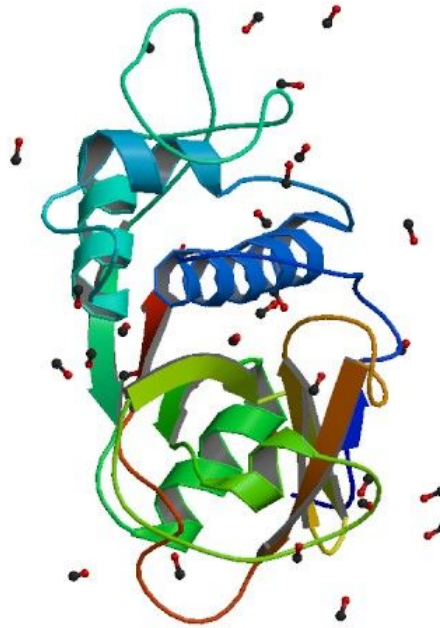
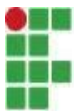


Figura 4 - Estrutura tridimensional da papaína (PDB ID: 9PAP). Fonte: Kamphuis et al. (1984).

Pinto et al. (2011) analisaram a estabilidade física, físico-química e química de diferentes formulações em gel e emulsões contendo papaína e papaína modificada para a possibilidade de produção em escala industrial de formulações com esta enzima de forma estável, e, desta forma, viáveis para a comercialização. Constataram que a papaína modificada possui maior estabilidade térmica em relação à papaína livre, sendo a mais indicada para formulações tópicas.

A enzima é ativa entre pH 5,0 e 9,0 e é estável até 80°C ou 90°C na presença de substratos (RAO et al., 1998). É solúvel em água e glicerol, mas praticamente insolúvel no álcool, éter e clorofórmio. É inativada ao reagir com agentes oxidantes como o ferro, oxigênio, derivados de iodo, água oxigenada e nitrato de prata, luz e calor (FERREIRA, 2005).

A papaína possui amplo espectro de atuação, visto que os peptídeos, amidas, ésteres e tioésteres são suscetíveis à hidrólise catalítica por esta enzima. Isso permite sua aplicação em diversas áreas, apesar de requerer condições específicas



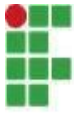
para atender às demandas catalíticas, como pH, temperatura e solventes específicos; porém, estes fatores são passíveis de controle laboratorial, viabilizando os processos (FERNANDES et al., 2018).

2.4.1 Extração e Purificação

Como um dos papéis do técnico em biotecnologia é a obtenção de biomoléculas (BRASIL, 2016), é importante levar em consideração as variáveis relacionadas à sua obtenção mais eficiente.

Balls et al. (1937) realizaram a cristalização da papaína a partir do látex fresco de *C. papaya* há mais de 80 anos. Estes autores constataram que a cristalização da papaína retirada do látex fresco de *Carica papaya* ou sua fração já parcialmente purificada em atmosfera inerte (N₂) e na presença de ativadores como cisteína, cianetos ou sulfetos aumentavam sua atividade enzimática. A redução da atividade poderia ocorrer pela presença de metais pesados decorrentes da contaminação de reagentes pelo mesmo processo (BALLS et al., 1937).

Atualmente, o processo realizado por Balls et al. (1937) não apresenta a melhor eficácia de purificação desta enzima, porém ainda é possível obter alta atividade enzimática com os procedimentos utilizados há mais de 80 anos por estes autores. Smith et al. (1953) adaptaram o método com a utilização do extrato seco do látex. Para a extração deste, pulverizaram a amostra para garantir maior rendimento, visto que partículas muito grandes dificultam a extração da enzima. A mudança dos valores pH de extração de 6,7 para 5,5, (meio mais ácido) facilita a extração da enzima (SMITH et al., 1953). Os autores analisaram estudos prévios sobre a utilização átomos de mercúrio para complexação de proteínas e verificaram que a presença deste metal associado à papaína garantiu resultados satisfatórios para a cristalização da enzima. Entretanto, como relatado por Balls et al. (1937), a presença de metais pesados causa a inativação da enzima, processo que pode ser revertido por agentes redutores (ex.: cisteína), capazes de complexar impurezas metálicas e aumentar novamente a atividade enzimática da papaína. Após a diluição do



complexo Hg-papaína, a atividade permaneceu em até 85% (SMITH et al. 1953).

São necessárias diversas etapas para extrair, cristalizar e purificar enzimas para obter resultados satisfatórios. Antunes et al. (2017) frisam que a preparação do material vegetal, a purificação parcial, o isolamento enzimático e sua caracterização são etapas frequentemente envolvidas em processos de purificação da papaína. A escolha da variedade do vegetal, do local de plantio, as variações sazonais, genéticas e o estágio de vida das plantas utilizadas interferem diretamente na qualidade e concentração do produto (ANTUNES et al., 2017).

Galindo-Estrella et al. (2009) verificaram que a partir dos frutos de *Carica papaya L.* da variedade Maradol obtém-se maior atividade proteolítica quando comparado com extratos de caule e folhas desta espécie. Fatores como solventes e secagem foram avaliados por Andrade-Mahecha, Morales-Rodríguez e Martínez-Correa (2011) para a extração de papaína de *Carica papaya cv. Maradol*. A obtenção e conservação do extrato bruto do fruto é uma etapa essencial durante o processo de produção. Os autores retiraram o látex do fruto verde com auxílio de instrumentos de aço inoxidável, utilizando em cortes longitudinais e extraído a enzima por gotejamento. O extrato bruto foi conservado com a adição de metabissulfito de sódio (0,5% p/p) sob refrigeração a -5°C . A secagem a vácuo e proporções látex: álcool de 1:2.1 e 1:3 levaram a rendimentos (g papaína/látex) de 10.83 ± 0.04 e 11.53 ± 0.2 , respectivamente. A Figura 5 demonstra detalhadamente a obtenção desta enzima por estes autores.

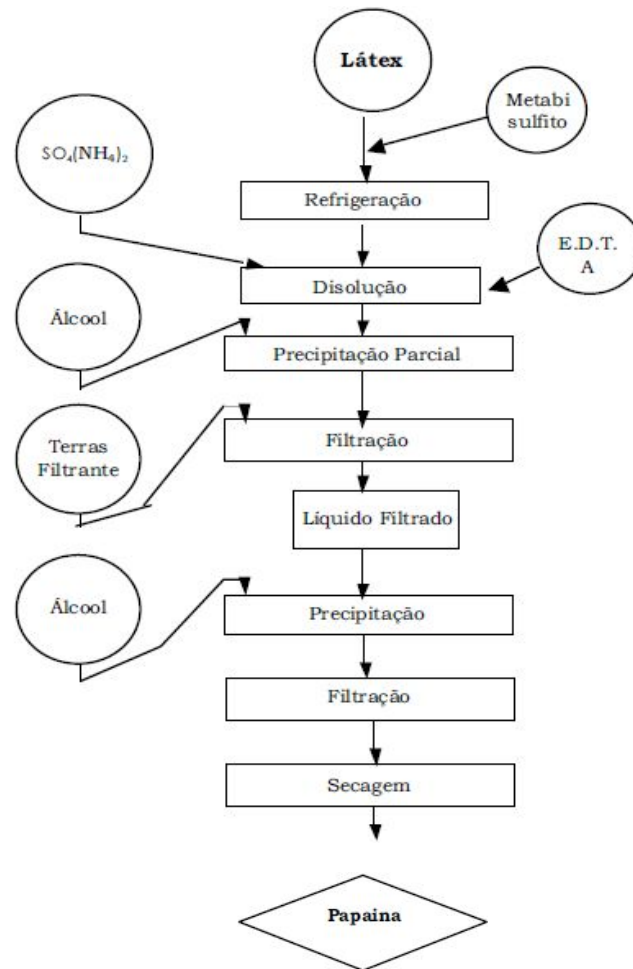
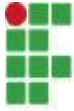
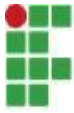


Figura 5 - Processo de obtenção da papaína. Fonte: Andrade-Mahecha, Morales-Rodríguez e Martínez-Correa (2011).

Mahecha et al. (2011) obtiveram produto purificado a partir de extratos de papaia e demonstraram a atividade enzimática pelo método de tirosina, utilizando caseína como substrato a 37 °C e pH 8,2. O método consiste na quantificação de tirosina na presença de caseína na reação, visto que durante a hidrólise da proteína, a tirosina é liberada como produto e pode ser quantificada por espectrofotometria em 280 nm.

Entre as metodologias para alcançar os objetivos de separação e purificação de papaína a partir de fontes vegetais, citam-se a precipitação, centrifugação, clarificação, e diálise, seguidos de cromatografia e eletroforese (ANTUNES et al., 2017).

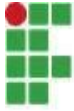
Monti et al. (2000) obtiveram a papaína do látex fresco de *Carica papaya* por



método de eletroforese. A enzima foi extraída a partir de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), pH 7,0, a qual foi adicionado ao látex fresco até alcançar concentração final de 1 mM. A mistura foi mantida sob nitrogênio por 1 hora à temperatura ambiente com agitação constante. Foi obtida a cristalização da papaína por meio da agitação do extrato em pH 9,0 em banho de gelo a 0 °C. Foi obtido um total de 1396,0 mg de papaína a partir de 927,0 g de látex fresco, com um valor de 1,51 mg de papaína por g de látex. Os autores submeteram uma outra fração da mistura a borbulhamento com nitrogênio e obtiveram 1238,0 mg de papaína a partir de 510,0 g de látex fresco, totalizando 2,43 mg de papaína por g de látex, pela conseqüente melhora na cristalização espontânea da papaína. Dessa forma, constataram que a cristalização pelo método de borbulhamento com nitrogênio apresenta melhores resultados, sendo mais indicado para o processo.

Nitsawang et al. (2006) verificaram que a eficiência na obtenção de papaína a partir de extração aquosa bifásica (*two-phase extraction-TPE*), utilizando-se apenas polímero, sal e água. Nesse método, após a criação de duas fases aquosas, a papaína migra para a fase mais concentrada em polímero. A solução é agitada e centrifugada para separação das fases. As frações diluídas contendo papaína são unidas, dialisadas e liofilizadas para obter um pó puro de papaína. O processo teve bons resultados, com a obtenção de 100% de pureza e 80% de recuperação da enzima, indicando o sucesso do novo método (NITSAWANG et al., 2006; MOTA et al., 2017).

Paul et al. (2013) extraíram a papaína a partir do látex fresco do fruto verde de *Carica papaya*, colhido pela manhã, horário com maior umidade. Os autores realizaram incisões (com lâminas) de até 2 mm no fruto sem casca, para não contaminar o látex com amido ou suco da polpa do fruto. O produto foi armazenado a -20 °C com adição de 0,3 M de NaOH para evitar a oxidação. Após a coleta, os autores separaram o látex de impurezas com o uso de peneiras com malhas. Em seguida houve a mistura do látex com metabissulfito de potássio. Seguiu-se novamente o processo de separação com peneiras para remover materiais estranhos. O produto obtido foi misturado com resina, seguindo-se centrifugação



para separar a resina do látex liquefeito. O produto foi mantido em armazenamento frio para evitar a fermentação. Posteriormente realizaram a purificação do extrato pelo método *Aqueous Two-Phase System* (ATPS). Assim, frisaram a importância das etapas anteriores à extração, visto que há diminuição do fluxo de látex em ambientes de baixa umidade, com bons resultados quanto à atividade enzimática.

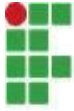
Uma técnica biotecnológica interessante e importante na obtenção de bioprodutos a partir de reações enzimáticas é a imobilização de enzimas. Esta técnica permite a recuperação e a reutilização de enzimas para tornar o processo mais economicamente viável, o que é significativo considerando-se o alto custo de catalisadores biológicos. A imobilização enzimática tem sido considerada a técnica mais promissora para tornar competitiva a aplicação de enzimas em larga escala. Ressalta-se que esta técnica pode ser utilizada em conjunto com avanços na área de estabilização de proteínas obtidas pela engenharia de proteínas, biologia molecular e biologia computacional (SOUZA et al., 2017).

Gu et al. (2018) avaliaram a imobilização de papaína por meio do uso de tecnologia de transportadores quelantes de metais magnéticos porosos e verificaram propriedades, estabilidade e atividade enzimática superior desta enzima imobilizada quando comparados a enzima livre. Desta forma, esta tecnologia demonstrou futuro promissor em biotecnologia, pois permitiu a fácil imobilização de enzimas por meio de uma maneira simples e eficiente, devendo ser amplamente utilizada na imobilização de enzimas.

Portanto, evidenciados diversos processos referentes à extração, purificação e cristalização da papaína, torna-se papel do pesquisador escolher o melhor método a ser utilizado em sua pesquisa, a fim de garantir os melhores resultados de concentração enzimática.

2.4.2 Aplicações da papaína

Capucho (2007) aponta que a enzima é utilizada na indústria de alimentos como amaciante de carnes, na fabricação de queijos e biscoitos. Cruz et al. (2008) salientam a capacidade de reduzir a viscosidade na fabricação de cervejas e



fortificação de bebidas.

A papaína também atua como agente potencializador de degradação proteica em detergentes pela degradação proteica, facilitando o processo de limpeza (CAPUCHO, 2007).

Na área odontológica, Cruz et al. (2008) aponta que a papaína tem potencial de redução significativa de inflamação de edema pós-cirúrgico dental com o emprego da papaína. Na indústria têxtil, as peptidases, dentre elas a papaína, podem atuar no tratamento das fibras da seda (CRUZ et al., 2008).

Como é uma protease, pode ser utilizada como de auxiliar na digestão de proteínas da dieta. Durante o processo digestivo, auxilia no processo de absorção pela hidrólise de proteínas para que seus aminoácidos possam ser absorvidos e reaproveitados pelo organismo (LIMA et al., 2008).

Leipner et al. (2001) apontam que proteases administradas por via oral apresentam efeito analgésico e antiinflamatório em pacientes com problemas reumáticos.

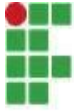
Na aplicação tópica sua principal aplicação é na área médica para desbridamento de tecidos desvitalizados, acelerando o processo de cicatrização de feridas e queimaduras (FERREIRA et al., 2005).

Monetta (1987) aponta que seu uso no tratamento tópico de feridas não oferece risco ao paciente, visto que a enzima degrada apenas o material proteico não desejável, não causando danos ao tecido saudável.

Konno et al. (2004) verificaram que em algumas espécies de *C. papaya* o látex vegetal e suas proteínas - proteases de cisteína em particular, fornecem às plantas um mecanismo de defesa geral contra insetos herbívoros. Assim, estudam possíveis aplicações agroindustriais da papaína.

A papaína pode ser utilizada na obtenção de produtos e moléculas, Vermelho et al. (2008) apontam a aplicação da papaína na produção laboratorial de dipeptídeos e tripeptídeos a partir dos aminoácidos por inversão da reação de hidrólise.

A utilização da papaína e peptidases em geral apresentam boas perspectivas



no cenário mundial, pois são responsáveis por reações cruciais ao metabolismo celular (SANTOS et al., 2017). Dessa forma, a enzima ganha espaço no mercado cosmético, na formulação de produtos com finalidades estéticas, especialmente *peelings* e depilatórios (TRAVERSA, 2003).

2.4.3 Aplicações cosméticas da papaína

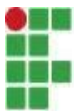
A papaína é utilizada como agente de importância cosmética em várias partes do mundo há décadas. Scheidegger (1989) aponta seu uso na obtenção de produto cosmético hidratante a partir do colágeno e de aminoácido lipofílico alquil éster acídico por meio da ação desta enzima.

Traversa (2003) constatou eficácia depilatória da papaína sobre o folículo piloso. O estudo foi desenvolvido em camundongos, porém apresentou bons resultados e potencial utilização em humanos. A enzima é capaz de dissolver o pelo, quebrando proteínas queratínicas.

De acordo com Gonçalves (2006) o processo de esfoliação, também denominado *peeling* (do inglês *to peel* - esfoliar), retira as células mortas da superfície, diminuindo a espessura da camada córnea que impedem a renovação celular, promovendo então o rejuvenescimento da pele.

O principal componente a ser hidrolisado no estrato córneo é a queratina, caracterizada como uma proteína fibrosa produzida nos queratinócitos, que apresenta formato cilíndrico e baixa solubilidade em água. É encontrada nos mamíferos na pele, unha e pelos. Na superfície epitelial, esta proteína possui baixo conteúdo hídrico, levando ao aspecto rugoso e sem vitalidade da pele (FRANCISCO; FRANÇA; JASINSKI, 2007).

Hara et al. (2014) verificaram aumento da atividade hidrolítica de queratina pela papaína quando veiculada com dextrano devido a manutenção da hidratação da formulação. O uso cosmético da papaína é embasado porque por meio de sua ação na pele há a remoção da epiderme antiga na superfície dela e o novo tecido dérmico cresce suavemente a partir do interior da pele.

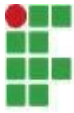


Lopes et al. (2008) utilizaram micrografias obtidas por meio de microscopia de transmissão eletrônica e verificaram que uma solução papaína 0,2% (p /v) promoveu digestão proteolítica das primeiras camadas do estrato córneo da pele obtida por meio cirurgia plástica de seios (análise *in vitro*). A enzima também induziu a reticulação na região de corneossomas. Nas amostras tratadas, após 48h, o estrato córneo foi recuperado. Os autores apontam que a papaína pode ser usada com segurança devido à reversibilidade da função de barreira do estrato córneo.

Como apresentado, a papaína possui ampla aplicação cosmética, já que atualmente a busca por meios alternativos e naturais em formulações para esta área levou ao consumo enzimático para estes fins. Dessa forma, a enzima exibe potencial farmacêutico e na indústria cosmética, sendo necessária assim a verificação de eficácia e segurança nas formulações.

2.4.4 Papaína: Segurança Relacionada ao Uso

Estudos sobre os possíveis prejuízos à saúde a partir da ingestão ou aplicação da papaína são elaborados para avaliar o risco da sua utilização, como também verificar se é passível de aprovação pelos órgãos reguladores de cada país. Stremnitzer et al. (2015) analisaram o potencial de sensibilização da papaína, seus efeitos sobre a pele como barreira e sobre o recrutamento de células imunitárias. Os autores verificaram que a papaína induz à desorganização das proteínas de adesão em queratinócitos humanos. Mesmo em baixas concentrações ($1 \mu\text{gml}^{-1}$), esta enzima causou degradação das junções compactas das proteínas TJ zônula occludens-1, claudina-4, e ocludina em queratinócitos *in vitro*. Assim, partir da degradação das células TJ, a papaína afeta a barreira da pele aumentando perda de água transepidérmica, induzindo vasodilatação. Isso indica que quando aplicada topicamente, a papaína exibiu um elevado potencial inflamatório epicutâneo, recrutando neutrófilos, mastócitos e células CD3-positivas e por indução de uma resposta de anticorpo. Desta forma, a papaína possui características para agir como um forte alérgeno para a pele, o que leva à necessidade de criar formulações que mantenham sua atividade enzimática, mas que reduzam os efeitos colaterais a



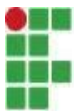
níveis toleráveis.

Agências internacionais de regulação como a FDA (*Food and Drug Administration*) limitaram o uso da papaína no comércio, apontando como argumentos o desconhecimento de suas contraindicações e possíveis danos à saúde, sendo necessária aprovação prévia para sua comercialização. Apesar de muitas pesquisas indicarem boas respostas ao seu uso, ainda não são bem conhecidos os riscos e reações adversas para uso tópico. A mesma agência, em edital publicado em 2015, indica que historicamente a comercialização de produtos contendo sua formulação era realizada mediante processos sem aprovação sanitária (FDA, 2015).

A hipersensibilidade devido ao uso desta enzima pode resultar em hipotensão cardiovascular, taquicardia e reações anafiláticas, requerendo até tratamento imediato com epinefrina. Pacientes alérgicos ao látex e à papaia tem potencial alergênico para a enzima, já que esta é extraída justamente destes meios. Estima-se que existiam cerca de 35 produtos comercializados não aprovados pela FDA em 2015, incluindo produtos como Accuzyme, Allanfil, Allanzyme, Ethezyme, Gladase, Kovia, Panafil, Pap Urea, e Ziox. Até então, não havia nenhum produto aprovado pela instituição (FDA, 2015).

Os medicamentos tópicos contendo papaína são usados para a remoção de tecidos mortos ou contaminados em lesões agudas e crônicas, como úlceras diabéticas, úlceras por pressão, úlceras varicosas e feridas infectadas traumáticas. Em sua composição, esses produtos combinam papaína com outros ingredientes ativos, como ureia, complexo de clorofila-cobre e clorofilina sódica de cobre, que se destinam a promover a remoção de tecido cutâneo não saudável, controlar a inflamação local, reduzir odores de feridas e reidratar a pele (FDA, 2015).

A ANVISA, permite e assegura o uso da papaína como sendo de baixo risco à saúde humana pelo consumo alimentício. A Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 53, de 7 de outubro de 2014, dispõe uma lista de enzimas com suas respectivas fontes de obtenção, aditivos alimentares e veículos autorizados em preparações enzimáticas para uso como coadjuvante de tecnologia na produção de alimentos em



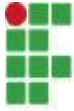
geral. A papaína se encontra nesta lista na área de enzimas de origem vegetal, sendo obtida pelo caule, folhas e frutos de plantas da família Caricaceae, como *Carica papaya* e *Ananas bracteatus* (ANVISA, 2014).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A biotecnologia surgiu há séculos a partir da fermentação de pães e queijos, todavia seu desenvolvimento nos últimos séculos proporcionou uma gama de aplicações nas mais diversas áreas, como na enzimocosmética, que é uma área que integra enzimas e cosméticos, utilizando majoritariamente as propriedades das proteases, visto o extenso leque de aplicações destas. A protease papaína é de fundamental importância nos mais diversos setores industriais, como o alimentício, medicinal, têxtil, e como abordado neste trabalho, o cosmético. O técnico em biotecnologia pode atuar nos processos de extração e purificação de enzimas, bem como no seu processamento e aplicações. A papaína tem reconhecimento majoritário na atuação medicinal como desbridante de feridas, entretanto possui outras aplicações relevantes, como na cosmética, atuando em formulações de *peelings* e cremes depilatórios.

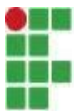
A partir dessa revisão de literatura constatou-se que a conformação estrutural e química da papaína a confere propriedades que são de interesse na cosmetologia, visto que essa cisteíno-protease tem ganhado espaço no mercado, resultando em produtos de elevado valor científico agregado. Conclui-se que a atividade catalítica da papaína associada às propriedades proteolíticas a capacita para aplicação na cosmética pela degradação de proteínas presentes na epiderme, agindo como um *peeling* enzimático por meio de sua aplicação tópica, catalisando a quebra de proteínas queratínicas responsáveis pela má aparência estética.

Dessa forma, frisa-se a importância da participação da biotecnologia no desenvolvimento de novos estudos com a finalidade de explorar todos os recursos aplicáveis da papaína, conhecendo sua estrutura química, sendo essencial para compreender seu mecanismo de ação. Além disso, é necessária a avaliação do seu



potencial alergênico, visto que na literatura, atualmente, são encontrados poucos estudos sobre a verificação das suas contraindicações e efeitos negativos à saúde humana.

Espera-se que as ferramentas e profissionais que atuam com biotecnologia possam desenvolver e lançar produtos inovadores baseados em papaína em diversas áreas, particularmente na cosmética.



REFERÊNCIAS

ABIHPEC. Anuário de 2016. Disponível em: <https://abihpec.org.br/ABIHPEC_2016/Anuario2016_DIG.html#p=58> . Acesso em 29 out. de 2018.

ALMEIDA, Ada Regina Trindade de; SALIBA, Ana Flávia Nogueira. Hialuronidase na cosmiaatria: o que devemos saber?. **Surg Cosmet Dermatol**. v. 7, . 197-204. 2015. Disponível em: <<http://www.surgicalcosmetic.org.br/detalhe-artigo/414/Hialuronidase-na-cosmiatria--o-que-devemos-saber->>. Acesso em 23 out. 2018.

ALMEIDA, Anna Beatriz; DIAS, Rosaria de Mello; NASCIMENTO, Tânia do. Clonagem: criador e criaturas rumo a mundos possíveis. **História, ciências e saúde**. Vol. IV. 1997. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/hcsm/v4n1/v4n1a06.pdf>> . Acesso em 12 out. 2018

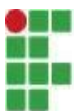
ANDRADE-MAHECHA, M. M; MORALES-RODRIGUEZ, O.; MARTINEZ-CORREA, H. A. Estudo do processo de extração de papaína a partir do látex do fruto de mamão (*Carica papaya L.*) cv. Maradol. **Acta Agronómica**, v. 60 (3), p. 218-224, 2011.

ANTUNES, R. F. Enzimas vegetais: extração e aplicações biotecnológicas. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**. Goiás, v. 29, pp. 181-198, 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/320028167_ENZIMAS_VEGETAIS_EXTRACAO_E_APLICACOES_BIOTECNOLOGICAS>. Acesso em 29 out. 2018.

ANUNCIATO, Talita Pizza. **Nutricosméticos**. 2011. 23 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - USP, Ribeirão Preto, 2011. Disponível em: <https://www.google.com.br/search?ei=iuHFW-q2MoiGwQSntYQ4&q=ANUNCIATO%2C2011&oq=ANUNCIATO%2C2011&gs_l=psy-ab.3...3408.4410.0.4875.5.5.0.0.0.0.143.601.0j5.5.0....0...1c.1.64.psy-ab..0.4.479...0j38j0i30k1j0i10i30k1j0i22i30k1j33i160k1.0.SHFGI9i7AyE#>. Acesso em: 20 set. 2018.

ARAÚJO, E. Q. X. PAPAÍNA-UREIA COMO AGENTE DESBRIDANTE: REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v.38, n.3, p.636-646, 2014.

BALLS, L. H, THOMPSON, R. R. Crystalline Papain. **Science**. v. 86, pp. 379, 1937. Disponível em: <<http://science.sciencemag.org/content/86/2234/379.1>>. Acesso em: 11 out. 2018.



BARBOSA, Fernanda de Souza. **Modelo de impedância de ordem fracional para a resposta inflamatória cutânea.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2011.

BON, E. P. S., et al. Bioprocessos para a produção de enzimas. **Enzimas: Aplicações, Tecnologias e Mercado**, cap. 6. 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Paula_Sa-Pereira/publication/256221076_Bioprocessos_para_a_producao_de_enzimas/links/572761c208ae262228b44a3d/Bioprocessos-para-a-producao-de-enzimas.pdf>. Acesso em 3 out. 2018.

BORELLA, J.C.; STEVANATO, M.C.B. Análise sazonal da produção e da atividade enzimática de látex fresco coletado de frutos de plantas femininas e hermafroditas de mamão (*Carica papaya* L.). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.4, p.1112-1117, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722015000701112&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 10 out. 2018.

BRASIL, Ministério da Educação. Catálogo Nacional dos Cursos Técnicos. Brasília, 2016. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/index.php?option=com_docman&view=download&alias=41271-cnct-3-edicao-pdf&category_slug=maio-2016-pdf&Itemid=30192>. Acesso em 14 mar 2018.

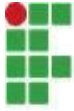
BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC Nº 343 de 13 dezembro de 2005.** Brasil, 2005. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/protocolo/pdfs/legislacao/rdc%20343.05.pdf>>. Acesso em: 20 ago. 2018

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta Pública nº 93 de 21 de dezembro de 2005.** Brasil, 2005. Disponível em: <[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[13128-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[13128-1-0].PDF)>. Acesso em 20 ago. 2018.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC Nº 3 DE 18 DE JANEIRO DE 2012.** Brasil, 2012. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0003_18_01_2012.pdf>. Acesso em: 17 out. 2018.

BRUNO, Alessandra Nejar; HORN, Ângelo Cássio Magalhães; LANDGRAF, Sharon Schilling. Introdução à biotecnologia. **Biotecnologia I: princípios e métodos**, cap 1. 2014. Disponível em: <http://srvd.grupoa.com.br/uploads/imagensExtra/legado/B/BRUNO_Alessandra_Nejar/Biotecnologia_I/Lib/Amostra.pdf>. Acesso em 22 set. 2018.

BUENDIA, Silvia Helena. **Avaliação in vitro do papel da catalase em diversas concentrações na adesividade do material restaurador à dentina clareada.** Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/36198351_Avaliacao_in_vitro_do_papel_d



a_catalase_em_diversas_concentracoes_na_adesividade_do_material_restaurador_a_dentina_clareada>. Acesso em 4 ago. 2018.

CALIXTO, Carolina Maria Fioramonti; CAVALHEIRO, Éder Tadeu Gomes. **Penicilina: Efeito do Acaso e Momento Histórico. Química Nova na Escola**, Vol. 34, N° 3, p. 118-123, AGOSTO 2012.

CAPUCHO, H. C. **Desenvolvimento de formulações tópicas tópicas contendo papaína para o tratamento de feridas**. 2007. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

CAREGNATTO, Bianca Daniele; GARCIA, Giselle Albino; FRANÇA, Ana Júlia Von Borel Du Vernay. **Estudo comparativo entre esfoliantes químicos e enzimáticos no processo de esfoliação facial**. 2011. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia em Cosmetologia e Estética) - Universidade do Vale do Itajaí, 2011. Disponível em: <<http://siaibib01.univali.br/pdf/Bianca%20Caregnatto,%20Giselle%20Albino%20Garcia.pdf>>. Acesso em 18 set. 2018.

CRUZ, M. E. M. et al. Enzimas em medicamentos e diagnóstico. **Enzimas em biotecnologia: produção, aplicação e mercado**, Rio de Janeiro: Editora Interciência; p 305-329, 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Manuela_Gaspar2/publication/268422657_ENZIMAS_EM_MEDICAMENTOS_E_DIAGNOSTICOS/links/54bcd060cf29e0cb04c33c6/ENZIMAS-EM-MEDICAMENTOS-E-DIAGNOSTICOS.pdf>. Acesso em 12 set. 2018.

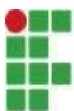
Dawkins G, Hewitt H, Wint Y, Obiefuna PC, Wint B. Antibacterial effects of *Carica papaya* fruit on common wound organisms. **West Indian Med J**, v. 52(4):290-2, 2003. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/8660827_Antibacterial_effects_of_Carica_papaya_fruit_on_common_wound_organisms> Acesso em 09 nov. 2018.

DELGADO, Clarissa Hamaio Okino. **Obtenção, caracterização e aplicação de lipases vegetais Utilizando subprodutos do processamento de laranja e manga para suco**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - UNESP, Botucatu ,SP, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/108799/000770999.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 20 out. 2018

ECOCERT DO BRASIL. Referencial ECOCERT: COSMÉTICOS NATURAIS E ORGÂNICOS. Disponível em: <<http://brazil.ecocert.com/index/>> . Acesso em 27 set. 2018.

EMBRAPA. **Enzimas: a chave da biotecnologia**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/8504625/enzimas-a-chave-da-biotecnologia>> Acesso em: 03 outubro de 2018.

EMILIANO, Aidiane; Guimarães, Fátima; NETZ, Dayse Janice Aguilar. **Biotecnologia na obtenção de ativos e excipientes cosméticos**. Itajaí, 2012.



Disponível em:
<<http://siaibib01.univali.br/pdf/Aidiane%20Emiliano,%20Fatima%20Guimaraes.pdf>>.
Acesso em 16 set. 2018.

FERNANDES, Patricia Machado Bueno et al. **Caracterização físico química e termodinâmica da enzima papaína em meios aquo orgânicos**. (Projeto de pós-graduação). UFES, Espírito Santo, 2018. Disponível em:
<<http://biotecnologia.ufes.br/pt-br/pos-graduacao/PPGBIOTEC/detalhes-do-projeto?id=8578&sort=desc&order=Papel>>

Ferreira A. M. et al. Revisão de estudos clínicos de enfermagem: utilização de papaína para o tratamento de feridas. **Rev Enferm**, UERJ, vol. 13, p.382-389, 2005. Disponível em: <<http://www.facenf.uerj.br/v13n3/v13n3a14.pdf>>.

FRANCISCO, Jéferson Luiz; FRANÇA, Karime Cruz; JASINSKI, Marcelo. DOSSIÊ TÉCNICO - Queratina. **SBRT - REDETEC**, Rio de Janeiro, 2007. Disponível em: <<http://www.sbirt.ibict.br/dossie-tecnico/downloadsDT/Mjky>>. Acesso em 29 set. 2018.

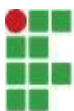
FREIRE, S. O. M. Benefícios da pesquisa biotecnológica cosmética com ênfase na área de terapia capilar. **Revista UNINGÁ Review**, v. 23, n.3, pp.13-19, Maringá, 2015. Disponível em:
<<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1659>>. Acesso em 13 out. 2018.

FRIEDRICH, J., H. GRADIŠAR, D. Mandin; CHAUMONT, J. P. Screening fungi for synthesis of keratinolytic enzymes. **Lett. Appl. Microbiol.** v. 28, p.127-130, 1999. Disponível em:
<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2672.1999.00485.x>>. Acesso em 17 out. 2018.

FUNDAÇÃO BIOMINAS. **Estudo de Empresas de Biotecnologia no Brasil**. 2007. Disponível em:
<<http://biominas.org.br/wp-content/uploads/2015/06/Estudo-de-Empresas-de-Biotecnologia-do-Brasil.pdf>>. Acesso em 4 set. 2018.

GALEMBECK, Fernando; CSORDAS, Yara. Cosméticos: a química da beleza. **Sala de Leitura**, Rio de Janeiro, p.1-38, 2012. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. 2012, Disponível em:
<http://web.ccead.puc-rio.br/condigital/mvsl/Sala%20de%20Leitura/conteudos/SL_cosmeticos.pdf> Acesso em: 16 out. 2018.

GALINDO-ESTRELLA, T. et al. Proteolytic activity in enzymatic extracts from *Carica papaya* L. cv. Maradol harvest byproducts. **Proc. Biochem.** v. 44(1), p. 77 - 82, 2009. Disponível em:
<https://www.researchgate.net/publication/223632257_Proteolytic_activity_in_enzymatic_extracts_from_Carica_papaya_L_cv_Maradol_harvest_by-products>. Acesso em: 10 out. 2018.



GONÇALVES, Águeda. Manual Técnico de Estética - Teoria e Prática para Estética. **Cosmetologia e Massage**, EFAPE. 2 edição. 2006. Disponível em: <<https://www.esteticistacomovoce.com.br/wp-content/uploads/2016/12/Manual-Tecnico-de-Estetica-Teoria-e-pratica-para-Estetica-Cosmetologia-e-Massage.pdf>>.

Acesso em 18 out. 2018.

GONZALEZ-PEREZ, Sol Elizabeth; COELHO-FERREIRA, Márlia; ROBERT, Pascale de; GARCES, Claudia Leonor López. Conhecimento e usos do babaçu (*Attalea speciosa* Mart. e *Attalea eichleri* (Drude) A. J. Hend.) entre os Mebêngôkre-Kayapó da Terra Indígena Las Casas, estado do Pará, Brasil. **Acta Bot. Bras.** Feira de Santana, vol.26, n.2, pp.295-308, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062012000200007>>. Acesso em: 5 jun. 2018

HARA, N.; MORISADA, S.; OHTO, K.; KAWAKITA, H. Papain Activity in Dextran Solution for Keratin Hydrolysis. **Advances in Enzyme Research**, Japão, v. 2, p. 49-53, 2014. Disponível em: <<https://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?paperID=4390>>. Acesso em: 24 jul. 2018.

ISO - Organização Internacional de Normalização. Disponível em: <<https://www.iso.org/obp/ui/#!iso:std:36437:en>>. Acesso em 15 ago. 2018.

IUBMB. **Enzyme Nomenclature**. Disponível em: <<https://www.qmul.ac.uk/sbcs/iubmb/enzyme/>>.

KAMPHUIS, I.G., KALK, K.H., SWART, M.B., DRENTH, J. Structure of papain refined at 1.65 Å resolution. **J. Mol. Biol.** v. 179 (2): p. 233-56, 1984. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=6502713>>

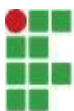
KENNEDY, P. **Preparando para o século XXI**. 1993.

KHAN, Muhammad Suleman; ROBERTS, Michael S. Challenges and innovations of drug delivery in older age. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X18302230>>. Acesso em: 29 out. 2018.

Kimmel JR, Smith EL. Crystalline Papain: I. Preparation, specificity and activation. **Journal of Biological Chemistry**. v. 207(2): p. 515-531, 1954. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13163037>>. Acesso em: 2 out. 2018.

KONNO, K et al. Papain Protects Papaya Trees from Herbivorous Insects: role of cysteine proteases in latex. **The Plant Journal**, 2004, v. 37(3). Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-313X.2003.01968.x>>. Acesso em: 2 ago. 2018.

KRISHNA, K.L.; PARIDHAVI, M.; PATEL, JAGRUTI A. Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of Papaya (*Carica Papaya Linn*). **Natural Product Radiance**, Índia, vol 7 (4), p. 364-373, 2008 Disponível em:



<<http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/5695/1/NPR%207%284%29%20364-373.pdf>>. Acesso em 5 set. 2018.

LEIPNER, J. et al. Therapy with proteolytic enzymes in rheumatic disorders. **BioDrugs**, v. 15 779-789, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11784210>>. Acesso em 21 set. 2018.

LEITE, A. P. et al. Uso e efetividade da papaína no processo de cicatrização de feridas: uma revisão sistemática. **Rev Gaúcha Enferm**, Porto Alegre, v. 33 (3), p. 198-207, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-14472012000300026> . Acesso em 8 set. 2018.

LEONARDI, Gislaiane Ricci; GASPAR, Lorena Rigo e CAMPOS, Patrícia M. B. G. Maia. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **An. Bras. Dermatol.** Rio de Janeiro, vol.77, n.5, pp.563-569, 2002. Disponível: em <<http://dx.doi.org/10.1590/S0365-05962002000500006>>. Acesso em: 5 jun. 2018.

LIMA, S. L. T. et al. Estudo da Atividade Proteolítica de Enzimas Presentes em Frutos. **Química Nova na Escola**, v. 28, 2008. Disponível em: <<http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc28/11-EEQ-6906.pdf>> . Acesso em 3 set. 2018

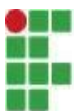
LOPES, P. S.; RUAS, G. W.; BABY, A. R.; PINTO, C. A. S. O.; WATANABE, I.; VELASCO, M. V. R, KANEKO, TM. In vitro safety assessment of papain on human skin: A qualitative Light and Transmission Electron Microscopy (TEM) study. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, São Paulo, v. 44 (1), p. 151- 156, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322008000100017> . Acesso em: 19 jul. 2018.

LYRIO, E. S. et al. Recursos vegetais em biocosméticos: conceito inovador de beleza, saúde e sustentabilidade. **Natureza on line**, Vila Velha, vol 9 (1), p 47-51, 2011. Disponível em: <http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/10_LyrioESetal_4751.pdf> . Acesso em: 5 set. 2018.

MONETTA, L. Uso da papaína nos curativos feitos pela enfermagem. **Rev. Bras. Enf.**, Brasília, v. 40 (1), p. 66-73, 1987. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/reben/v40n1/v40n1a12.pdf>>. Acesso em: 24 mai. 2018.

MONTANARI, T. **Histologia**: texto, atlas e roteiro de aulas práticas. 3.ed. Porto Alegre: Ed. da autora, 2016, p 169-175. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/livrodehisto>>. Acesso em 4 set. 2018.

MONTI, Rubens; BASÍLIO, Carmelita A.; TREVISAN, Henrique C.; CONTIERO, Jonas. **Purificação de papaína de látex fresco de carica papaya**. Braz. arco. biol. technol., Curitiba, v. 43 n.5, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132000000500009> . Acesso em 29 out. 2018.



MOTA et al. Evolução histórica dos métodos de extração da papaína: uma revisão da literatura sobre a purificação desta enzima. **Rev. Enf. FACIPLAC**, Brasília, v. 2, nº 3, 2017. Disponível em: <<http://revista.faciplac.edu.br/index.php/REFACI/article/view/395>>. Acesso em: 19 set. 2018

MUSSATO, Solange I; FERNANDES, Marcela; MILAGRES, Adriane M. F. Enzimas: Poderosa Ferramenta na Indústria. **Ciência Hoje**, v. 41, p. 28-33. 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/261709716_Enzimas_Poderosa_Ferramenta_na_Industria>. Acesso em 20 set. 2018.

Nitsawang, Sarote; Hatti-Kaul, Rajni; Kanasawuda, Pawinee. Purification of papain from *Carica papaya* latex: Aqueous two-phase extraction versus two-step salt precipitation. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39(5), p.1103-1107, 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014102290600086X>>. Acesso em: 7 out. 2018.

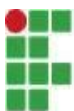
NOMINATO, Juliana; LUBI, Neiva. **Avaliação de conhecimento e interesse na utilização de nutricosméticos**. 2011. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011. Disponível em: <<http://tcconline.utp.br/media/tcc/2017/05/AVALIACAO-DE-CONHECIMENTO-E-INTERESSE-NA-UTILIZACAO-DE-NUTRICOSMETICOS.pdf>>. Acesso em 17 ago. 2018.

OpenStax College. **Biology - Enzymes**. Rice University. Houston, Texas. 2013. Disponível em: <https://cnx.org/contents/GFy_h8cu@9.85:MnC6GuJi@7/Enzymes#fig-ch06_05_02>. Acesso em: 12 out. 2018.

PAUL, BISWAJIT et al. Isolation, purification and modification of papain enzyme to ascertain industrially valuable nature. **International Journal of Bio-Technology and Research (IJBTR)**, v. 3, p. 11-22, 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/265173455_Isolation_purification_and_modification_of_papain_enzyme_to_asertain_industrially_Valuable_nature>. Acesso em 28 set. 2018.

PEREIRA, Natalia de Oliveira. **Extração de Papaína presente no látex da casca do mamão, avaliação enzimática e microbiológica**. 2015. 57 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Fundação Educacional do Município de Assis, Assis, 2015. Disponível em: <<https://cepein.femanet.com.br/BDigital/arqTccs/1211360171.pdf>>. Acesso em 21 set. 2018.

PINTO, C. A. S. O. et al. Comparative study of the stability of free and modified papain incorporated in topical formulations. **Braz. J. Pharm. Sci.**, São Paulo, v. 47, n. 4, p. 751-760, 2011. Disponível em:



<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-82502011000400012>. Acesso em: 29 ago. 2018.

RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M. S.; DESHPANDE, V. V. Molecular and biotechnological aspects of microbial peptidases. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 62. p 597–635, 1998. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC98927/>>. Acesso em 18 out. 2018.

SANTOS, A. F. et al. **Peptidases em biotecnologia: produção, aplicações e mercado**. Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria, vol. 4, p. 381 -438, São Paulo, 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/309737592_Peptidases_em_Biotecnologia_Producao_Aplicacoes_e_Mercado>. Acesso em: 16 set. 2018.

SCHÜLTZ, Camilo Pícolo; SCHAEFER, Murilo Maluche; FRANÇA, Ana Júlia Von Borel Du Vernay. **Linha do tempo: a história da higiene e do embelezamento**. Disponível em: <<http://siaibib01.univali.br/pdf/Camila%20Schutz,%20Murilo%20Schaefer.pdf>>. Acesso em 20 set. 2018.

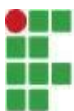
SENAI. **Revista Processos Químicos**. Departamento Regional de Goiás, v. 3, n.5, Goiânia, 2009. Disponível em: <http://bkp.sbqt-2015.net.br/arquivos/Anais/RPQ_sbqt_2015_especial_12NovV2.pdf>. Acesso em: 14 set. 2018.

Silva, Daniel Marcelino da. Análise e comparação das principais restrições químicas na formulação de cosméticos com base em legislações. Trabalho De Conclusão De Curso (Bacharelado Em Química) - Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Curitiba, 2017. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/9999/1/CT_COQUI_2017_1_3.pdf>. Acesso em 29 out. 2018.

SILVA, Elisângela Teixeira da. **Estabilização de proteases para aplicação tecnológica**. 2013. 70 f. Dissertação (mestrado em Desenvolvimento em Processos Ambientais) - Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2013. Disponível em: <http://www.unicap.br/tede//tde_arquivos/6/TDE-2013-10-29T140035Z-610/Publico/elisangela_teixeira_silva.pdf> Acesso em 8 ago. 2018.

Stremnitzer C, Manzano-Szalai K, Willensdorfer A, Starkl P, Pieper M, König P, et al. Papain degrades tight junction proteins of human keratinocytes in vitro and sensitizes C57BL/6 mice via the skin independent of its enzymatic activity or TLR4 activation. **J Invest Dermatol** 2015;135:1790e800. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25705851>>. Acesso em: 19 jul. 2018.

TEDESCO, Ionice Remião; ADRIANO, Jerusa; SILVA, Daniela da. **Produtos Cosméticos Despigmmentantes Nacionais Disponíveis no mercado**. UNIVALE, Itajaí-SC., 2006. Disponível em: <<http://siaibib01.univali.br/pdf/Ionice%20Remiao%20Tedesco.pdf>>. Acesso em 16 out. 2018.



TRAVERSA, E. Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo papaína e avaliação da sua eficácia depilatória sobre o folículo piloso. Dissertação (Mestrado). Programa de PósGraduação em Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2003.

TREMACOLDI, Célia Regina. Proteases e inibidores de proteases na defesa de plantas contra pragas. **Embrapa Amazônia Oriental**, p. 02-46, 1ª Edição, Belém, PA. 2009.

U.S. FOOD AND DRUGS ADMINISTRATION. **Questions and Answers about FDA's Enforcement Action Regarding Unapproved Topical Drug Products Containing Papain.** Disponível em: <<https://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/EnforcementActivitiesbyFDA/SelectedEnforcementActionsonUnapprovedDrugs/ucm119646.htm>> . Acesso em 3 out. 2018.

VERMELHO, A. B. et al. ENZIMAS PROTEOLÍTICAS: APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS. **Enzimas em biotecnologia**: produção, aplicações e mercado, v. 11, pp.273-287, Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/233727171_Enzimas_proteoliticas_Aplicacoes_biotecnologicas>. Acesso em: 12 ago. 2018.

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de bioquímica: a vida em nível molecular**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1167 p.

Yan-Jie Gu, Min-Liang Zhu, Yan-Li Li, Chun-Hua Xiong. Research of a new metal chelating carrier preparation and papain immobilization. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 112, p. 1175-1182. 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29454943>>. Acesso em: 22 out. 2018.

Comentários:

-resumo > melhorar para representar melhor o trabalho

- item metodologia (????)

- item extração e purificação (ser mais clara e concluir melhor)

- Aplicações: buscar explicar melhor as aplicações a fim de tornar uma informação mais compreensível a um público não tão especializado. Trazer os resultados mais práticos que a papaína pode resultar