



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

TIAGO AUGUSTO TURIM

AÇÃO DA PROTEASE DO MAMÃO NO COMBATE A CASPA

Assis

2015

TIAGO AUGUSTO TURIM

AÇÃO DA PROTEASE DO MAMÃO NO COMBATE A CASPA

Trabalho de conclusão do curso de Química Industrial apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação.

Orientador: GILCELENE BRUZON

Área de Concentração: Ciências Exatas e da Terra

Assis

2015

FICHA CATALOGRÁFICA

TURIM, Tiago Augusto
Ação da Protease do mamão no Combate a caspa / Tiago Augusto
Turim. Fundação Educacional do Município de Assis- Assis, 2015.
39p

Orientador: Gilcelene Bruzon
Trabalho de conclusão de Curso- Instituto Municipal de Ensino
Superior de Assis- IMESA.

1. Caspa. 2. *Malassezia spp.* 3. Papaína.

CCD: 660
Biblioteca da FEMA

RESUMO

A papaína é uma enzima proteolítica presente no mamoeiro *Carica Papaya* Linn, muito encontrado no Brasil. Em aplicações farmacêuticas a papaína é utilizada na cicatrização de feridas principalmente as crônicas, atuando no tecido desvitalizado e necrose, sem alterar o tecido sadio, pode também ser utilizada em formulações cosméticas para a hidratação, aumento da penetração de princípios ativos e diminuição da velocidade de crescimento do cabelo. O objetivo deste trabalho é a preparação de uma solução enzimática constituída à base de papaína presente no látex do mamoeiro e examinar sua aplicação no couro cabeludo para retirada da caspa, observando a atividade catalítica pelos métodos de ninhidrina e biureto e analisar a ação da enzima contra o fungo causador da caspa. A identificação da presença de aminoácidos resultante da catalise pelo método de ninhidrina, foi feita com uma solução reveladora 0,1% de ninhidrina em acetona e pelo método de biureto, com soluções de NaOH 20% e CuSO₄ 0,25 mol/L. A avaliação da enzima contra o fungo da caspa, foi feita pelo isolamento do fungo presente no couro cabeludo e aplicação do teste de halo. O método de halo com papaína comercializada apresentou efetividade contra o fungo da região capilar, sendo que os testes de ninhidrina e biureto demonstraram a presença de grupos protéicos mesmo quando diluídos. Porém ainda tem-se a necessidade de estudos mais aprimorados, para verificar a real eficiência catalítica da enzima em relação às células do couro cabeludo.

Palavras-chave: Caspa; *Malassezia spp*; Papaína

ABSTRACT

Papain is a proteolytic enzyme present in papaya *Carica Papaya* Linn, very found in Brazil. In pharmaceutical applications, papain is used in healing, especially chronic wounds, acting in the devitalized tissue and necrosis, without changing the healthy tissue, may also be used in cosmetic formulations for hydration, increased penetration of active ingredients and decrease the speed of growing of the hair . The objective of this work is the preparation of an enzyme solution calculated based on this papain in papaya latex and examine its application to the scalp to remove dandruff, noting the catalytic activity by the methods of ninhydrin and biuret and analyze the action of the enzyme against the fungus that causes dandruff. The identification of the presence of amino acids resulting from catalysis by the ninhydrin method was performed with a developing solution 0.1% ninhydrin in acetone and the biuret method, with solutions of NaOH 20% CuSO₄ and 0.25 mol / L. The evaluation of the enzyme against the fungus dandruff was taken by the fungus present on the scalp and isolation halo application test. The method halo marketed papain were effective against fungus capillary region, wherein the biuret and ninhydrin test showed the presence of protein groups even diluted. However still has the need for improved studies to verify the actual catalytic efficiency of the enzyme in relation to the cells of the scalp.

Keywords: Dandruff; *Malassezia spp*; Papain

AÇÃO DA PROTEASE DO MAMÃO NO COMBATE A CASPA

TIAGO AUGUSTO TURIM

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação, analisado pela seguinte comissão examinadora:

Orientadora: Professora Ms. Gilcelene Bruzon

Analizador: Professor Ms. Marcelo Silva Ferreira

Assis – SP

2015

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Estruturas da pele.	14
Figura 2- Camadas da epiderme	15
Figura 3-Forma geral dos aminoácidos	21
Figura 4- Estrutura dos 20 aminoácidos	22
Figura 5-Formação da estrutura Primária da proteína	23
Figura 6- Estrutura (a), alfa-hélice e estrutura (b), folha beta pregueada	23
Figura 7- Formação da estrutura quaternária	24
Figura 8-Exemplo de reação sem catalisador e de uma com catalisador enzimático	26
Figura 9- Estrutura papaína	29
Figura 10- Mecanismo catalítico da papaína	30
Figura 11-. Formação da ligação peptídica	31
Figura 12- Representação de uma hidrólise protéica catalisada por protease	32
Figura 13-controle negativa gelatina (a) e controle com a enzima e a gelatina (b).....	35
Figura 14- introdução dos canudos para avaliar a viscosidade dos tubos.	36
Figura 15- tubo (a) sem presença de gelificação, tubo (b) gelificado.	37
Figura 16- Teste de revelação contendo solução com a lavagem, e uma solução em branco.....	42
Figura 17- Teste de Revelação contendo lavagem com extrato papaína comercializada, lavagem com látex e solução em branco.	43
Figura 18- Solução da lavagem (1); mistura de referência (A); mistura com lavagem (B); mistura com o látex (C); mistura com a clara do ovo (D)- (2).....	43

Figura 19- Solução de Referência (B); Lavagem contendo extrato de papaína comercializada (L); solução contendo látex (M); solução contendo papaína comercializada extraída (Ex).....	44
Figura 20- Teste de halo com látex do mamão, sem a formação de halo de inibição.....	45
Figura 21- Teste de halo com látex do mamão, sem a formação de halo de inibição.....	46
Figura 22-Placa com Agar e Papel.....	47
Figura 23- placa com Agar, papel e o fungo.....	48
Figura 24- Controle placa com Agar e o fungo.....	49
Figura 25- Placa com Agar.....	49
Figura 26- Teste de halo com papaína comercial extraída. Podendo ser observado a formação do halo de inibição.....	50

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. PELE	14
2.1 Cabelos e folículos	16
2.1.1 Glândulas sebáceas	17
2.1.2 Glândulas sudoríparas.....	17
2.2 ALTERAÇÕES DERMATOLÓGICAS	17
2.2.1 Caspa	17
2.2.2 Micoses	18
2.2.3 Dermatites	18
2.2.4 Dermatite seborreica	18
2.2.5 Dermatite de contato	19
3. XAMPU ANTICASPA	20
4. AMINOÁCIDOS E PROTEÍNAS	21
4.1 AMINOÁCIDOS.....	21
4.2 ESTRUTURA PRIMÁRIA DA PROTEÍNA	22
4.3 ESTRUTURA SECUNDÁRIA DA PROTEÍNA.....	23
4.4 ESTRUTURA TERCIÁRIA DA PROTEÍNA.....	24
4.5 ESTRUTURA QUATERNÁRIA DA PROTEÍNA	24
4.6 DOMÍNIOS	24
5. ENZIMAS	25
6. PAPAÍNA	27
6.1 ESTRUTURA MOLECULAR	27
7. APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO	31
7.1 ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DA ENZIMA PRESENTE NO MAMÃO.	31
7.1.1 MATERIAIS E REAGENTES	33
7.1. 2 PROCEDIMENTO	34
8. MATERIAIS E METODOS	38
8.1 MÉTODO DE NINHIDRINA.....	38
8.1.1. Materiais	38
8.1.2. Método	39
8.2. MÉTODO DE BIURETO.....	39
8.2.1. Materiais	40
8.2.2. Métodos	40
8.3. AVALIAÇÃO DA ENZINA NO COMBATE A CASPA.....	30
8.3.1. Teste	30
9. RESULTADOS DISCUSSÕES	42
9.1 MÉTODO DE NINHIDRINA.....	42
9.2 MÉTODO BIURETO	43

9.3. TESTE DA ENZIMA CONTRA O FUNGO.....	45
10. Conclusão.....	51
REFERÊNCIAS	52

1. INTRODUÇÃO

A pele tem grande importância na proteção da integridade física e biológica do corpo, com suas estruturas anexas - pelo e unha, juntamente com músculos, glândulas e nervos que compõem o sistema tegumentar. Este sistema mantém a temperatura corpórea constante e fornece várias informações sensoriais sobre o ambiente.

A pele com suas várias atribuições é capaz de sinalizar problemas imunológicos, de se renovar constantemente, de cicatrizar quando cortada e de expandir durante o crescimento (MIURA, DANIELYURI, 2012). Por este órgão se localizar em uma parte externa, pode ser danificado; mecânica, química, biologicamente e por radiação, estando assim mais exposta agressões, como cortes, contusões, queimadura, mordida e picada de insetos (RABITO, TRUITI, 2009).

Alterações dermatológicas são extremamente frequentes, e estas podem ser ocasionadas por fungos, como a *Malassezia spp*, um componente microbiota normal da pele e do couro cabeludo, e apesar de não digerir a queratina presente na pele, utiliza restos epiteliais e produto de excreção para seu desenvolvimento (RABITO, TRUITI, 2009). Outras prováveis causas das alterações podem estar relacionadas com a dermatite seborréica sendo uma intensificação da descamação do tecido do couro cabeludo (caspa), podendo atingir outras regiões da pele (MACHADO, 2008).

O crescimento acelerado de um fungo comensal leveduriforme, *Pityrosporum ovale* (Malassezia), está relacionado à formação da caspa, umas das alterações mais frequentes que acometem o couro cabeludo. Estima-se que 50% da população adulta apresentam este problema, que se caracteriza pela descamação excessiva, difusa e visível da região capilar, normalmente apresentando irritações e coceira local (RABITO.;TRUITI.,2009).

A dermatite seborréica é o aumento do teor de lipídeos na pele ficando mais lisa, brilhante, untuosa e dilatando os poros foliculares, sendo que algumas áreas do corpo são mais ricas em sebo e promovem o crescimento do fungo *Malassezia spp*, estando este envolvido na patogênese da dermatite seborréica e a gravidade da doença correlacionada com a quantidade de micro-organismos presentes (SALGADO, 2008).

A caspa da mesma forma que as micoses não apresenta risco vital a saúde, mas sua presença pode ocasionar uma baixa auto-estima, prejudicando a qualidade de vida das pessoas. Seu tratamento é executado com produtos para cuidados diários do cabelo, denominados anticaspa, que também contem agentes antifúngicos para o controle do fungo (RABITO.;TRUITI.,2009).

Os xampus direcionados para o tratamento da caspa podem levar a riscos, pois grande parte dos produtos contem sulfato de selênio e zinco piridine que podem desencadear dermatite de contato (APOLINÁRIO, et al, 2011).

A uma tendência mundial na incorporação de xampu e demais formulações cosméticas de extratos vegetais, que devem ser padronizados exigindo um rigoroso estudo das plantas que o compõe, originando assim os fitocosméticos. Nos últimos anos tem se evidenciado o aumento no estudo de plantas recomendadas pela medicina popular, aumentando a procura sobre informações comprovadas cientificamente. As formulações de xampus estão cada vez mais sendo utilizadas em combinações com extrato vegetal, com objetivo de atingir um numero maior de pessoas que procuram na natureza uma alternativa menos agressiva e mais efetiva (CUNHA.: SILVA, 2009).

A utilização de enzima proteolítica, como papaína adicionada em formulações cosméticas, vem sendo investigadas por muitos pesquisadores que encontram resultados positivos em relação a hidratação, aumento da penetração de princípios ativos e uma diminuição na velocidade de crescimento do cabelo (PINTO, et al, 2011).

A papaína tem sua aplicação farmacêutica na cicatrização de feridas principalmente as crônicas. O látex do mamoeiro *Carica papaya Linn*, muito encontrado no Brasil, apresenta uma mistura complexa de enzimas proteolíticas e peroxidases, causam a proteólise, degradação da proteína em aminoácido, do tecido desvitalizado e da necrose, sem alterar o tecido sadio. Isso se deve a uma antiprotease plasmática, a alfa₁-antitripsina, uma globulina humana, presente no tecido sadio que inativa essa protease. Podendo assim ser utilizada em diversas fases do processo de reparo tecidual em diferentes concentrações (LEITE, et al., 2012).

O látex bruto seco em pó é comumente descrito como papaína. O látex fresco apresenta uma alta atividade proteolítica, sendo que mais da metade da proteína total contida no látex é inicialmente ativa, porem facilmente inativa pela oxidação.

Por essa razão os compostos com a papaína não são armazenadas por longo período e frequentemente perdem a sua atividade em poucos meses. Por outro lado pode se extrair a papaína de quase todas as partes da planta, com exceção das raízes, contendo quantidades significativas da enzima papaína (PARK, YONG KUN.,2001).

Uma técnica para aumentar a estabilidade da papaína, se baseia na modificação da estrutura da enzima de forma a proteger o seu sítio ativo de hidrólise. Há muitos métodos para modificar a estabilidade das enzimas, considerando sua ação específica, estas modificações podem conduzir a alterações quando este é adicionado a formulações farmacêuticas ou cosméticas. Estudos mostram que a estabilidade da papaína adicionada em formulações de gel tem um aumento significativo quando mantido sobre refrigeração, mantendo-se 70% da sua atividade inicial por quase dois meses (PINTO, et al, 2011).

O objetivo deste trabalho é a preparação de uma solução enzimática constituída à base de papaína presente no látex do mamoeiro e examinar sua aplicação no couro cabeludo para retirada da caspa, observando a atividade catalítica pelos métodos de ninhidrina e biureto e analisar a ação da enzima contra o fungo causador da caspa.

2. PELE

A pele é o maior órgão do corpo humano sua extensão representa aproximadamente 2 m², peso corpóreo estimado de 4 Kg. Estando relacionada com funções biológicas e bioquímicas, transmitindo um terço da circulação sanguínea, apresentando diferentes espessuras dependendo da região do corpo (mais espessas nas palmas das mãos ou plantas dos pés e extremamente fina como as pálpebras), com várias extensões, como as glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas, folículos pilosos (figura 1) (SALGADO, 2008).

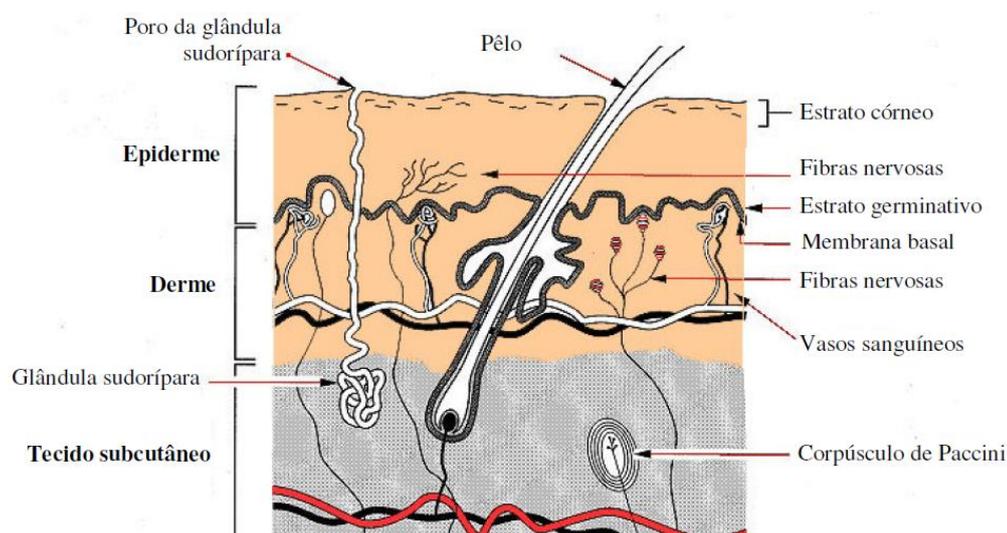


Figura 1- Estruturas da pele (in:SALGADO, 2008).

A um grande numero de estruturas teciduais, que se interrelacionam para se adequar ao desenvolvimento da pele, protegendo o organismo contra substâncias lesivas e contra desidratação, auxiliando na regulagem da temperatura do corpo, excretando água, gordura e algumas outras substâncias e constituindo o mais extenso órgão sensorial corpóreo, para recepção de estímulos térmicos, dolosos e de sensibilidade ao toque. Além de produzir vitamina D3, formada na epiderme pela absorção de raios ultravioletas (MACHADO, 2008).

A pele divide-se em três camadas: epiderme, derme e hipoderme. O manto hidrolípido é considerado como uma 4^a camada, a mais externa.

A epiderme é a derme funcionam em harmonia com influências opostas. A derme com sua função fixa na pele, enquanto a epiderme se renova constantemente (SALGADO, 2008).

A epiderme (figura 2) encontra-se na região mais externa da pele, composta por diferentes tipos de células: queratinócitos, melanócitos, células de langerhans. Esta é formada por camadas, e conforme as camadas mais externas são eliminadas, outras camadas mais profundas são reconstituídas por divisão celular. Suas camadas são denominadas: germinativa, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea (figura 2) (MIURA, DANIEL YURI, 2012).

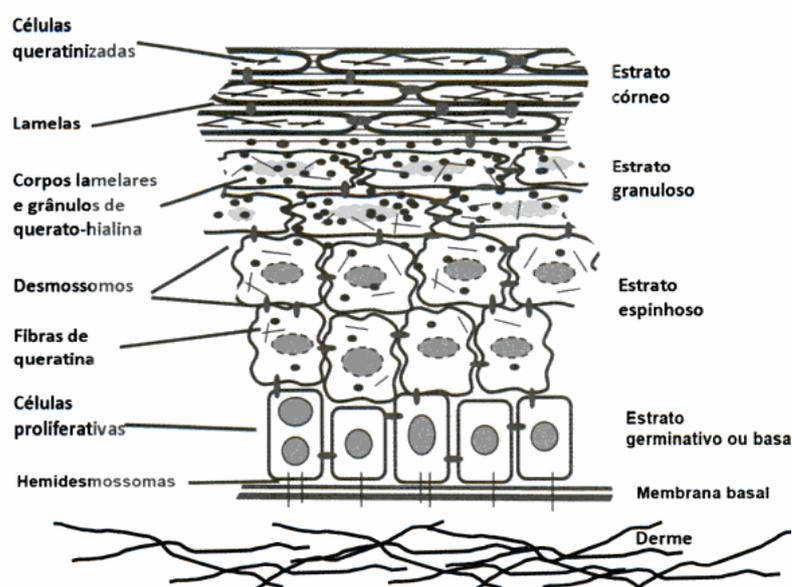


Figura 2- Camadas da epiderme (in:HARRIS, 2009)

Estando na parte mais profunda a camada germinativa, fazendo limite com a derme, enquanto a córnea sendo a camada mais superficial. A córnea é formada por células escamosas, queratinizadas, impermeáveis, que proporcionam proteção contra traumas físicos e químicos. A grande quantidade de queratinócitos, unidos uns aos outros, fornecem barreiras contra lesões, contaminações e a luz (MIURA, DANIEL YURI, 2012).

O principal componente da epiderme dos vertebrados é a alfa-queratina, formando estruturas como: cabelo, lã, chifres, unhas, cascos, bicos e penas. Sendo que esta proteína forma ligações de dissulfeto entre resíduos de cisteína de cadeias

polipeptídicas ou fibras adjacentes, obtendo assim fibras de grande resistência. A forma de distribuição destas ligações determina o formato da ondulação do cabelo e da lã (MARZZOCO.;TORRES, 1999).

A epiderme não apresenta vasos sanguíneos, pois se houvesse ficaria mais exposta a micro-organismos. Os nutrientes e oxigênio necessários são transmitidos por difusão, pelos vasos sanguíneos da derme (MACHADO, 2008).

A derme é uma camada espessa dos tecidos conjuntivos, formada por variados tipos de células, incluindo fibroblasto e fibrócitos, macrófagos, mastócitos e leucócitos sanguíneos, particularmente neutrófilos eosinófilos, linfócitos e monócitos (MIURA, DANIEL YURI, 2012). Apresentando uma espessura de 0,2-0,3cm, contem duas zonas distintas: zona papilar se localizando em uma camada mais externa, onde é formada saliências na base epitélio (papilas dérmicas), e zona reticular localizada em uma camada mais interna, onde predomina as fibras elásticas e feixes de colagénio de grande espessura disperso em uma substância coloidal amorfa (substância fundamental). A derme tem em sua maior parte de formação as células fibroblastos que sintetizam o colagénio e a elastina. E devido a sua composição, a derme é responsável pela elasticidade e flexibilidade da pele. Nessa também se encontram os anexos da pele vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos. Sendo assim uma fonte de nutrientes para a epiderme, uma barreira contra infecções e uma região de armazenamento de água (SALGADO, 2008).

Hipoderme ou tecido subcutâneo é a camada mais interna da pele, sendo um tecido muscular e gordo, formada por rede de células adiposas ligadas à derme por fibras de colagénio, funcionando com isolante termico e protegendo contra choques mecânicos e atuando como reserva energética (SALGADO, 2008).

2.1. Cabelos e folículos

Os cabelos e pelos corporios são formados em estruturas chamadas de folículos, os quais estão distribuídos por toda a superfície do organismo, exceto nas palmas das mão e plantas dos pés (pele glabra). Os folículos capilar se desenvolvem com crescimento curvado de células epidermais anexadas a derme ou hipoderme, sendo canalizado para formar uma estrutura imóvel da raiz (HARRIS, 2009).

Em média, o ser humano possui 40-70 folículos de cabelo e 200-250 glândulas sudoríparas/ cm², ocupando apenas 0,1% da superfície corpórea total (SALGADO, 2008).

2.1.1. Glândulas sebáceas

As glândulas sebáceas normalmente estão associadas a folículos pilosos, em algumas regiões como pálpebras, mamilos e mucosas, se originando de forma independente e drenam seu conteúdo para a superfície da pele (HARRIS, 2009). Estas glândulas liberam sebo, constituídos por glicerídeos, ácidos gordos livres, colesterol, ésteres de colesterol, ésteres de cera e esqualeno. Funcionando como um lubrificante para pele e uma fonte de lipídeos para o estrato córneo, mantendo a acidez da superfície exterior da pele (SALGADO, 2008).

2.1.2. Glândulas sudoríparas

As glândulas sudoríparas atuam no controle da temperatura corpórea ocorrendo tanto pela perda de água transepidermal como pela sudorese, sendo uma secreção intensa, resultante do estímulo de glândulas écrinas, apócrinas e apoécricas, presente em todo o organismo humano (HARRIS, 2009).

2.2. ALTERAÇÕES DERMATOLÓGICAS

2.2.1. Caspa

A caspa está relacionada com a proliferação excessiva do fungo comensal leveduriforme, pityrosporum (Malassezia) ovale. E este fungo estando diretamente correlacionado com outras doenças da pele (RABITO.;TRUITI,2009). Há cabeça apresenta cerca de dez milhões de Malassezia globosa, estando o homem mais suscetível ao fungo. E este está relacionado geneticamente com a levedura, se alimentando do sebo, a secreção das glândulas sebáceas. Por não conseguir produzir ácido graxo essencial à sua sobrevivência o fungo produz oito tipos de lipase e três fosfolipases, para modificar o sebo, criando ácido oléico, e este ácido entra na pele desencadeia uma renovação celular mais acelerada, causando a

caspa (DAWSON, 2007).Podendo variar desde uma fina descamação, até a formação de grandes crostas no couro cabeludo. Um sintoma frequente nas regiões afetadas pode ser o prurido, variando de intensidade dependendo da localidade (SALGADO, 2008).

O fator desencadeante da caspa ainda não foi descoberto, mais o que se sabe é que ela é suscetível às mudanças bruscas ou constantes de temperatura. Stress, alterações hormonais, no caso masculino, o excesso de testosterona aumenta a atividade da glândula sebácea; exposição excessiva a alta temperatura, excesso de química, utilização inadequada de produtos e fatores alérgicos (MACHADO, 2008).

2.2.2. Micoses

A maior parte das micoses que atingem a pele é causada por fungos comensais, transmitido ocasionalmente por contato direto. Os fungos filamentosos dermatófitos *Trichophyton*, *Microporum* e *Epidermophyton*, e os leveduriformes do gênero *cândida*, agente etiológicos dessas micoses, conseguem digerir a queratina presente na pele juntamente com seus anexos.

A *Malassezia spp*, também agente da micose superficial estrita, é um microbiota normal da pele e do couro cabeludo, que apesar de não consumir queratina, utiliza restos epiteliais e produto de excreção para se desenvolver (RABITO.;TRUITI.,2009).

2.2.3. Dermatites

A dermatite é uma inflamação na pele, podendo ocorrer na epiderme, derme ou em ambas. Sendo classificada em dermatite específica (com aparência histológica e clínica característica) e não específica (sem aparência histológica e clínica característica).

2.2.4. Dermatite seborreica

A dermatite seborreica classificada como não específica, consiste no aumento do teor de lipídeos na pele ficando mais lisa, brilhante, untuosa e dilatando os poros foliculares. A origem da seborréia é desconhecida, porem algumas alterações no

sistema imunológico possam ser a causa do aparecimento. Sendo que algumas áreas do corpo são mais ricas em sebo e promovem o crescimento do fungo *Malassezia furfur*, estando este envolvido na patogênese da dermatite seborréica e a gravidade da doença correlacionada com a quantidade de micro-organismos presentes (SALGADO, 2008).

2.2.5 Dermatite de contato

Dermatite de contato classificada como não específica frequente nos países industrializados, distinguindo-se em dois tipos. Dermatite de contato irritativa é decorrente dos efeitos tóxicos e pró-inflamatórios de xenobióticos capazes de ativar a imunidade inata da pele. Dermatite de contato alérgica requer a ativação da imunidade adquirida antígeno – específica levando ao desenvolvimento de células T efetoras, que são mediadoras das inflamações cutâneas (HENNINO, et al, 2005).

A dermatite de contato alérgica é a mais frequente das dermatites de contato, ocasionada pelo contato excessivo da pele com substâncias químicas não protéicas, denominadas haptenos (HENNINO, et al, 2005).

3. XAMPU ANTICASPA

A principal causa da ocorrência da caspa é a irritação do couro cabeludo. Acreditando-se que o desencadeador desta irritação possa ser o fungo *Malassezia furfur*, presente no couro cabeludo. E tem sido demonstrado que este fungo é capaz de gerar lipídeos livres a partir do sebo humano (CUNHA.: SILVA, 2009). O tratamento contra a caspa é realizado com modernos antifúngicos, que possuem amplo espectro de ação e alto poder fungicida, como os imidazólicos (OLIVEIRA.: FARIA, 2013). D-Pantenol, ou pró-vitamina B5, são usados para o tratamento do cabelo, e são os precursores do ácido pantotênico, e vitaminas essenciais para a manutenção da saúde da pele e do cabelo ou ainda compostos com atividades antifúngicas para tratamento da caspa e seborréia. Sendo que a maior parte das medicações de uso tópico é empregada por meio de xampu, loções capilares ou cremes. O tratamento da caspa realizado com xampus específicos pode remeter a riscos, já que grandes partes destes produtos contêm ativos como sulfato de selênio e zinco piridine que podem desencadear dermatite de contato (APOLINÁRIO, et al, 2011). As formulações de xampu estão cada vez mais sendo utilizadas em combinações com extratos vegetais, com a finalidade de obter formulações que possam atender um número cada vez maior de pessoas que procuram na natureza uma alternativa mais efetiva e com menor agressividade (CUNHA.: SILVA, 2009).

4. AMINOÁCIDOS E PROTEÍNAS

As proteínas constituem o componente celular mais abundante, sendo uma molécula com várias formas e funções. Desempenhando funções estruturais e dinâmicas (MARZZOCO.;TORRES, 1999). O nome proteína vem do grego *protios*, de primeira classe, sendo atribuída pelo bioquímico holandês G. J. Mulder no ano de 1838. Reconhecendo ser uma classe de substância de grande importância (BENNET, 1971).

“Existe nos animais e nas plantas uma substância que sem dúvida é a mais importante das substâncias conhecida na matéria viva, e sem a qual a vida seria impossível em nosso planeta. Denominado como proteína” (BENNET, 1971, p. 13).

Todos os variados tipos de proteínas são polímeros de apenas 20 aminoácidos (DEVLIN, 2008). A possibilidade de existirem proteínas diferentes, constituídas por estes aminoácidos é relativamente grande, sendo que estes podem se repetir mais de uma vez na formação da proteína, aumentando a probabilidade de construção de moléculas diferentes (MARZZOCO.;TORRES, 1999).

4.1. AMINOÁCIDOS

Aminoácidos (como na figura 3) são compostos que apresentam tanto grupos carboxila- (COOH) como um grupo amina- (NH₂) (BENNET, 1971):

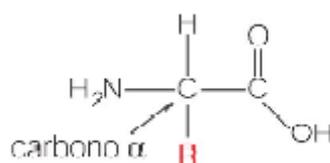


Figura 3-Forma geral dos aminoácidos (in: JUNIOR, 2006).

A única exceção nos aminoácidos é a prolina, que contém um grupo imino (-NH-) em vez do amina (MARZZOCO.;TORRES, 1999).

A figura 4 mostra os vinte aminoácidos que podemos encontrar.

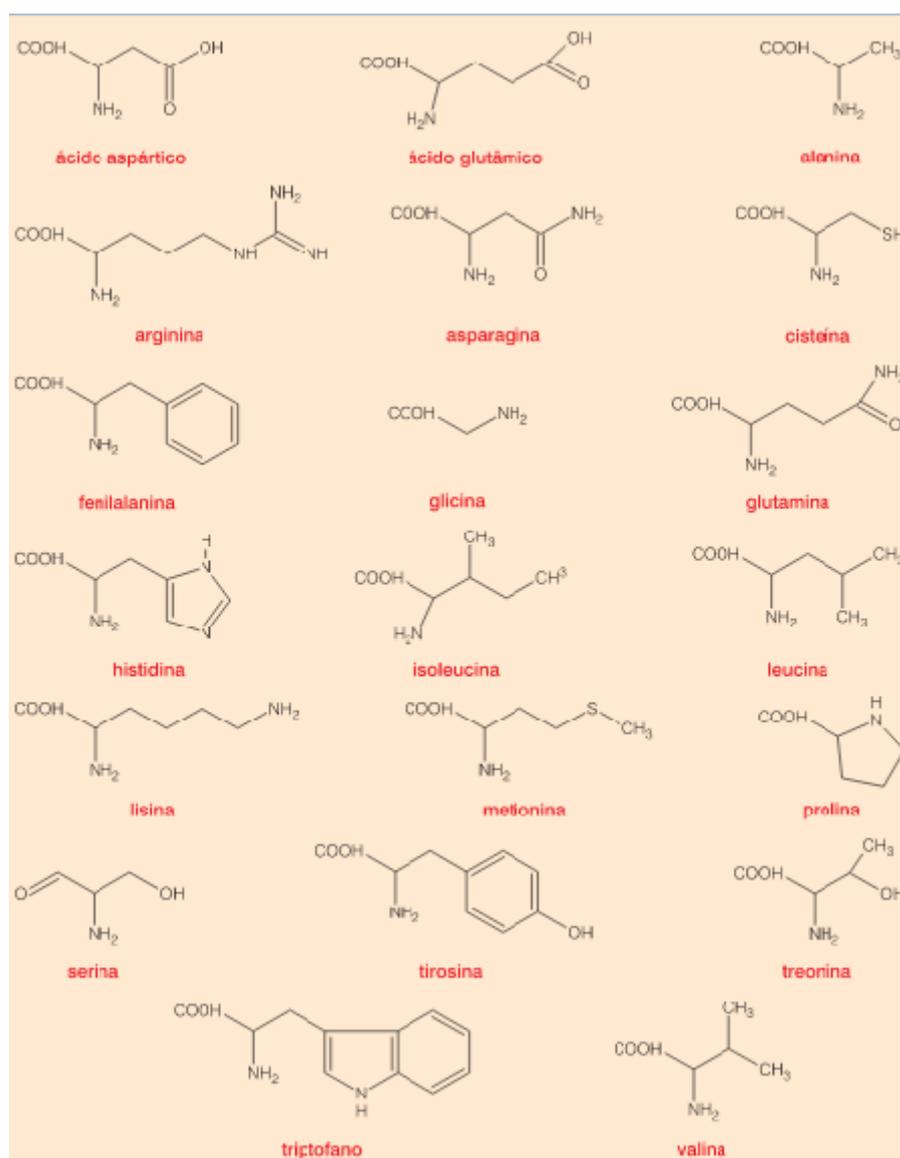


Figura 4- Estrutura dos 20 aminoácidos (in: JUNIOR.: FRANCISCO, 2006).

4.2. ESTRUTURA PRIMÁRIA DA PROTEÍNA

Os aminoácidos formam macromoléculas pela ligação entre carbono e nitrogênio, denominada ligação peptídica, sendo a ligação de um grupo carboxila de um aminoácido com um grupo amino de outro, e a exclusão intermolecular de uma molécula de água. Esta reação leva formação de uma cadeia polipeptídica, denominada de estrutura primária da proteína conforme demonstrado na figura 5 a seguir: (ALMEIDA, 2013).

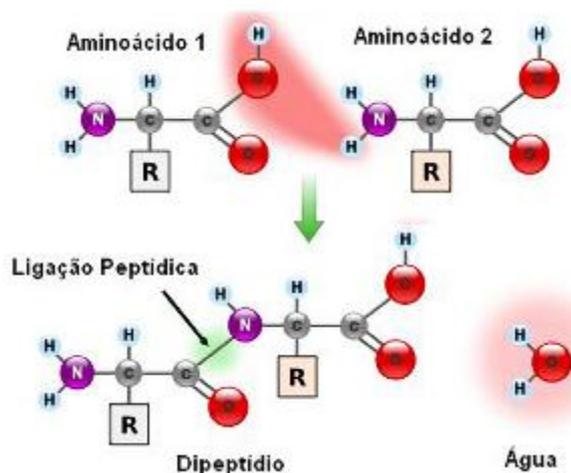


Figura 5-Formação da estrutura Primária da proteína (in: ALMEIDA.; CANESIN, 2013).

4.3. ESTRUTURA SECUNDÁRIA DA PROTEÍNA

A estrutura secundária da proteína é uma estrutura bidimensional formada pela sequência da cadeia polipeptídica, com duas organizações estáveis, ocorrem por interação lateral de segmento de uma cadeia polipeptídica e cadeias diferentes, e o enrolamento da cadeia ao redor de um eixo. Estas conformações são denominadas como folha beta pregueada e alfa-hélice (MARZZOCO.;TORRES, 1999).

A figura 6 mostra as estruturas secundárias da proteína.

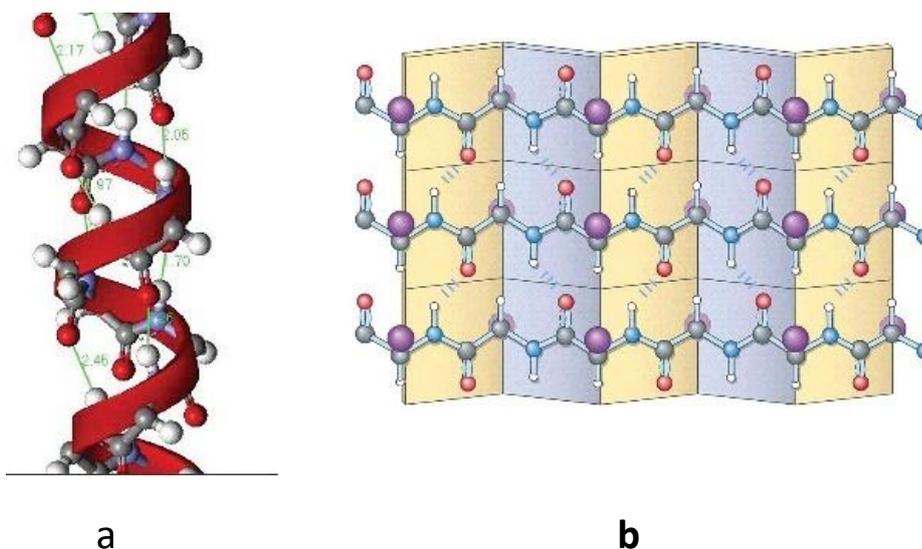


Figura 6- Estrutura (a), alfa-hélice e estrutura (b), folha beta pregueada (In: JUNIOR, 2006).

4.4. ESTRUTURA TERCIÁRIA DA PROTEÍNA

Estrutura terciária refere-se ao dobramento final da cadeia polipeptídica, pela interação das regiões estruturais regulares (alfa-hélice, folha beta pregueada), ou com regiões de estrutura sem definição (MARZZOCO.;TORRES, 1999).

4.5. Estrutura Quaternária da Proteína

A estrutura quaternária (figura 7) é a junção de duas ou mais cadeias polipeptídicas, para compor uma proteína funcional oligomérica (CHAMPE.:RICHARD, 2002).

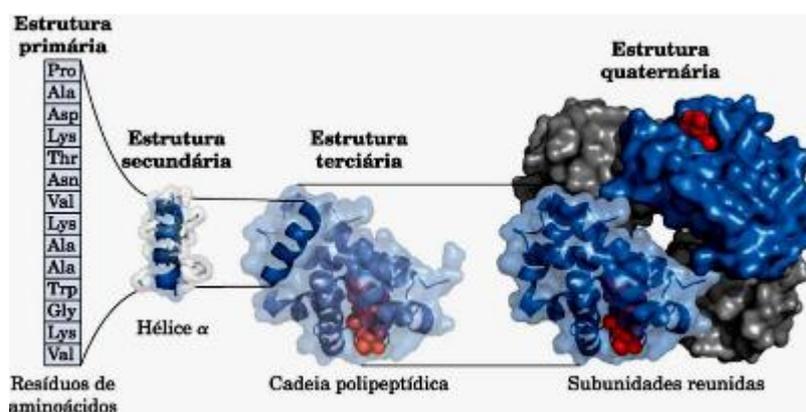


Figura 7- Formação da estrutura quaternária (In: ALMEIDA.; CANESIN, 2013).

4.6. DOMÍNIOS

Os domínios são unidades fundamentais e de estrutura tridimensional de um polipeptídeo. As cadeias polipeptídicas longas (maiores que 200 aminoácidos) se dobras em dois ou mais domínios (CHAMPE.: RICHARD, 2002). O grau de interação entre os domínios pode variar desde um domínio independente, relacionados por um segmento flexível, ou um domínio separado por uma fenda estreita, e até aquele com contatos muito próximos. Por exemplo, nas enzimas, que estabelecem ligações com moléculas de substrato nas fendas situadas entre domínios (MARZZOCO.;TORRES, 1999).

5. ENZIMAS

Enzimas são proteínas que catalisam reações biológicas. Aumentam a velocidade de conversão de substrato em produto, reconhecendo os substratos específicos na presença de estruturas semelhantes para produzir um produto específico. Há seis classes de enzimas, e cada uma desta é responsável pela catalise de uma reação química diferente (tabela 1) (DEVLIN, 2008).

1. Óxido-redutase	4. Transferases
Oxidases	Transaldolase e transcetolase
Catalase	Fosfomutases
2. Hidrolases	5. Liases
Peptidases	Aldoolases
Amidases	Hidratases
Fosfatases	Sintases
3. Isomerases	6. Ligases
Racemases	Sintetases
Epimerases	Carboxilases
Isomerases	

TABELA 1. Sumário das classes de Enzimas e principais subclasses (In: DEVLIN, 2008).

A papaína é uma enzima classificada como uma cisteína protease da família C1 à papaína pertence á classe das enzimas proteolíticas, consistindo em uma única cadeia polipeptídica com 212 resíduos de aminoácidos (MIURA, 2012).

As enzimas aumentam a velocidade da reação diminuindo a energia de ativação. A figura 8 mostra o gráfico de uma reação na presença e na ausência de catalisador.



Figura 8-Exemplo de reação sem catalisador e de uma com catalisador enzimático (In: LIMA, 2008).

Uma enzima é muito maior que seu substrato, e a parte da enzima onde o substrato se liga é denominado centro ativo (ou sítio ativo). O centro ativo é formado por resíduos de aminoácidos, aproximados um dos outros pelo dobramento da cadeia polipeptídica, que estabelece a estrutura terciária da proteína. A enzima é formada por uma cavidade definida, permitindo reconhecer seu substrato, e para molécula ser aceita como substrato, esta deve ter forma espacial adequada, para alojar-se no centro ativo, e ter grupo químico capaz de estabelecer ligações precisas com os radicais do centro ativo (MARZZOCO.;TORRES, 1999).

6. PAPAÍNA

A papaína é uma enzima presente no látex do mamoeiro *Carica papaya Linn*, muito encontrado no Brasil, apresentando uma mistura complexa de enzimas proteolíticas e peroxidases (LEITE, et al., 2012). Estas que são capazes de hidrolisar polipeptídeos, amidas e ésteres, principalmente nas reações envolvendo aminoácidos básicos, leucina ou glicina, obtendo peptídeos de baixo peso molecular (MIURA, 2012). Por suas características a papaína é empregada em várias áreas de atuação como na indústria alimentícia na estabilização de cerveja e no amaciamento de carne, na indústria farmacêutica no tratamento de problemas digestivos e tratamento de lesões cutâneas e na produção de cosméticos para clareamento de pele, entre outras inúmeras formas de utilização (MIURA, 2012).

6.1. ESTRUTURA MOLECULAR

A papaína (figura 9) foi a primeira enzima da família a ter sua estrutura estudada tridimensionalmente por cristalografia de raios-X, sendo hoje o membro mais estudado da família, enzimas com características desta família são descritas como papain-like (do tipo papaína) (GAMBÔA, 2010).



A tabela 3 abaixo traz algumas propriedades físicas da papaína.

Propriedades físicas	Características
Solubilidade	Parcialmente solúvel em água e glicerol. Insolúvel em álcool, éter e clorofórmio
Massa molecular	23.406Da
Ponto isoelétrico	pH 8.75
λ_{max}	278 nm
Temperatura ótima para atividade enzimática	65°C
Faixa de pH ótimo para atividade enzimática	5,0 – 7,0
Apresentação	Pó amorfo de cor branca leitosa, com odor forte e característico, similar ao enxofre.

Tabela 3 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DA PAPAÍNA

Classificada como uma cisteína protease da família C1 a papaína pertence à classe das enzimas proteolíticas, consistindo em uma única cadeia polipeptídica com 212 resíduos de aminoácidos (MIURA, 2012). A estrutura tridimensional apresenta dois domínios separados por uma fenda, onde se encontra o sítio ativo. Domínio N-terminal consistindo principalmente de alfa hélice e domínio C-terminal contendo uma estrutura em barril beta (GAMBÔA, 2010). Sua estrutura possui um grupo nucleofílico tiol essencial, de resíduo Cys-25, e um imidasol de resíduo His-159, e uma cadeia lateral de resíduo Asn-175, sendo um sítio de ligação das cisteínas proteases. Os resíduos catalíticos da papaína são Cys-25, His-159, Asn-175 (MIURA, 2012).

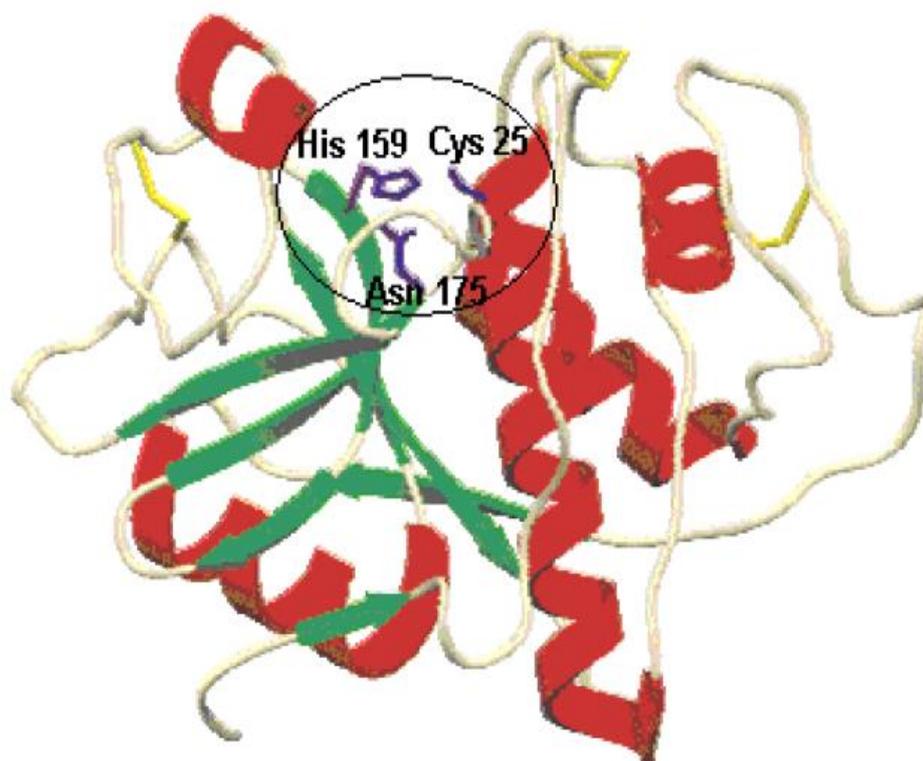


Figura 9- Estrutura papaína (in: GAMBÔA,2010).

Para sua atividade enzimática o grupo tiol do aminoácido cisteína (Cys-25) é fundamental (MIURA, 2012). Efetuando um ataque nucleofílico sobre a carbonila da ligação peptídica a ser hidrolisada formando um intermediário tetraédrico covalente entre a enzima e o substrato. O grupo imidazol da cadeia lateral histidina (His-159) recebe o hidrogênio na catálise. A asparagina (Asn-175) é o orientador do anel imidazólico da histidina. Na reação a porção C-terminal do substrato é liberado, e formando uma enzima acilada. Logo após em uma reação de deacilação, a acil-enzima reage com uma molécula de água liberando a parte N-terminal do substrato regenerando a enzima (GAMBÔA, 2010). A figura 10 mostra o mecanismo catalítico da enzima papaína.

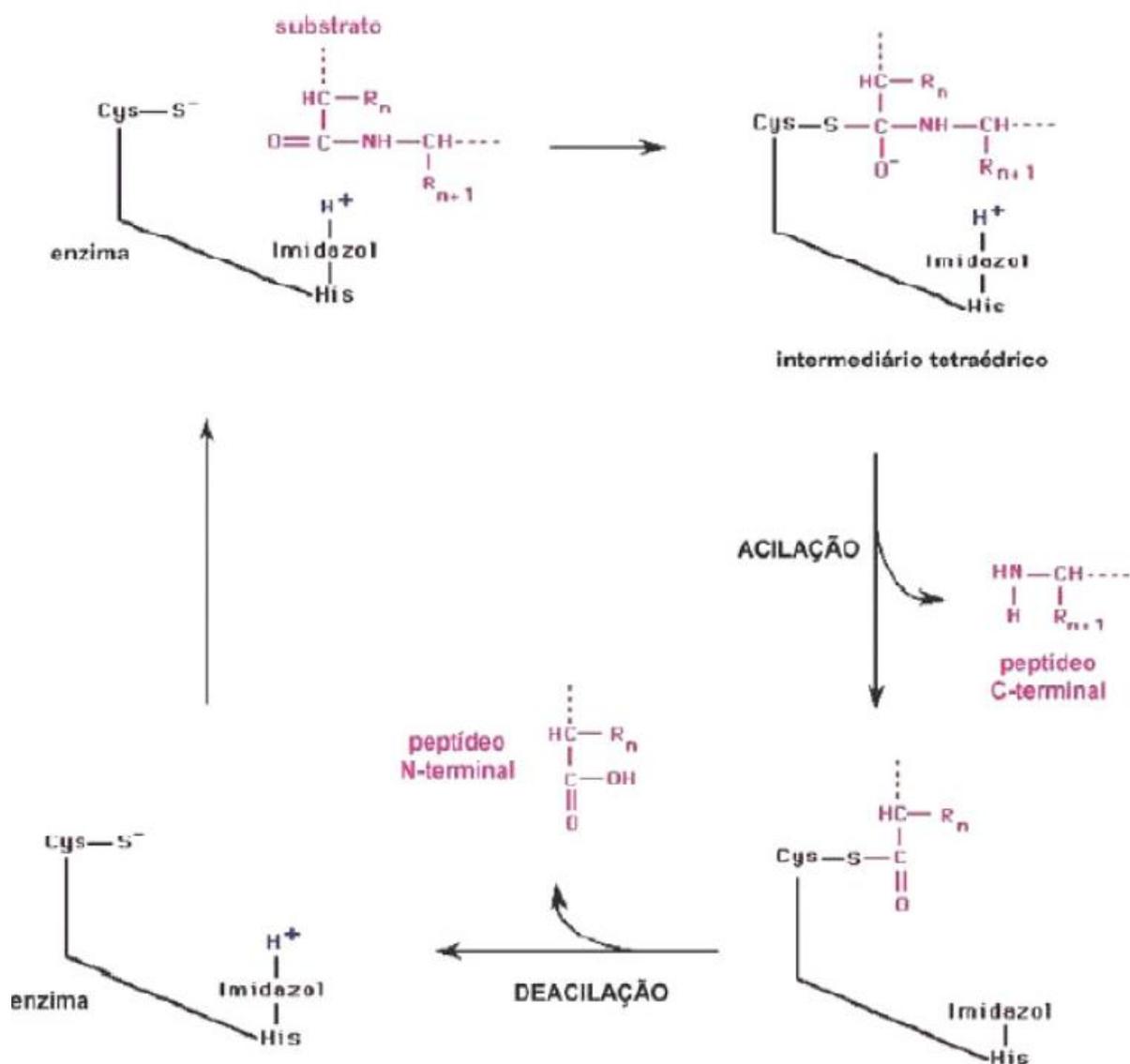


Figura 10- Mecanismo catalítico da papaína (in: GAMBÔA,2010).

7. APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO

A Bioquímica é uma área interdisciplinar que possui uma interface com a Química. Mas, este tema dificilmente é abordado nas aulas de química do ensino médio. Um dos principais objetivos de estudo da bioquímica são as proteínas, as biomoléculas mais abundantes nos seres vivos. Dentre das diferentes funções das proteínas no organismo destaca-se a sua atividade como enzima. Por tanto este trabalho tem como o objetivos a identificação da atividade proteolítica no mamão, utilizando como substrato protéico a gelatina, cuja integridade pode ser monitorada por meio de processo de gelificação, sendo um procedimento de fácil execução e com reagentes de baixo custo.

7.1. ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DA ENZIMA PRESENTE NO MAMÃO.

As proteínas são heteropolímeros formados por aminoácidos ligados covalentemente por ligações peptídicas (figura 11). Se diferenciando por ter funções biológicas: defesa, reserva e estrutural. As ligações entre os aminoácidos dão a molécula configuração espacial determinadas, como: estruturas secundárias, terciárias e quaternárias.

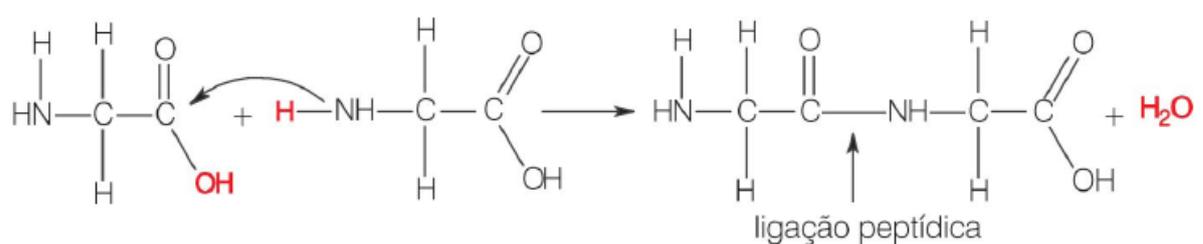


Figura 11-. Formação da ligação peptídica (in:JUNIOR, 2006).

A desnaturação de uma proteína ocorre pela ação de agentes físicos ou químicos, afetando a estrutura espacial, a ponto de ocasionar a perda da sua função biológica. Sua conformação nativa é destruída devido a quebra de ligações não-covalentes (as ligações peptídicas são mantidas), resultando em uma cadeia polipeptídica distendida. Os fatores que alteram a estrutura de uma proteína podem ser

deversificados, incluindo alterações na temperatura e no pH do meio, ação de solventes orgânicos, agentes oxidantes e redutores e até mesmo agitação intensa.

Entre as varias funções das proteínas no organismo, destaca-se a sua atividade como enzima ou catalisadores biológicos. Nessa função, sua ação consiste em acelerar a velocidade de uma reação química mediante a diminuição da energia de ativação da reação, sem que a enzima seja consumida no processo.

As enzimas capazes de quebrar ligações peptídicas de cadeias protéicas são denominadas proteases. A figura a seguir representa uma reação catalisada por enzima proteolítica.

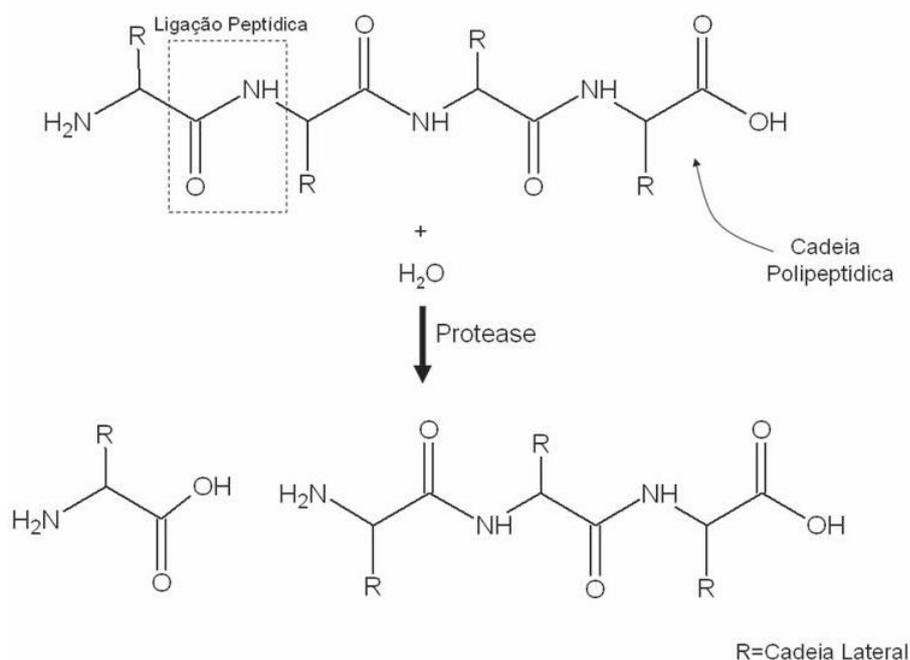


Figura 12- Representação de uma hidrólise proteica catalisada por protease (in:LIMA, 2008).

Enzimas proteolíticas são encontradas tanto em animais como em vegetais. Nos animais, elas participam de varios processo biológicos como: digestao proteica, a coagulação sanguínea, a morte celular e a deferenciação de tecidos. No processo digestivo sua atuação é importante pois hidrolisa a proteína da alimentação,

formando aminoácidos para serem absorvidos pelo organismo. Até mesmo as proteínas que constituem as células humanas são degradadas por complexos de proteases, e seus constituintes aproveitados pelo organismo.

Em vegetais as enzimas proteolíticas, estão relacionadas ao amadurecimento, germinação, diferenciação, morfogênese, morte celular, defesa da planta, entre outras. Algumas enzimas envolvidas no amadurecimento de frutos, podem ser extraídas em grande quantidade, tendo uma importância econômica.

7.1.1. MATERIAIS E REAGENTES

Tubos de ensaio;

Estante para tubo de ensaio;

Conta-gotas;

Pipeta graduada;

Mamão;

Gelatina sem sabor;

Água;

Microondas (pode ser substituído por aquecimento a lamparina) ;

Béquer;

Bastão de vidro;

Canudos plásticos (para refrigerante);

Caneta;

Liquidificador;

7.1. 2.PROCEDIMENTO

Preparou-se o suco do mamão no liquidificador, peneirou e reservou. Em seguida foi dissolvido o pó da gelatina aos poucos em 200ml de água fria, colocando a solução no forno microondas por 30s, em potência alta.

TUBO	COMPOSIÇÃO	TESTE
1	10mL gelatina + 3mL de água	Controle negativo
2	10mL gelatina + 3mL de suco de mamão	Mamão

Tabela 4- Sequência de tubos analisado no experimento.

Preparou-se dois controles um negativo contendo somente gelatina e água, e outro contendo a enzima proteolítica papaína que hidrolisa a gelatina.

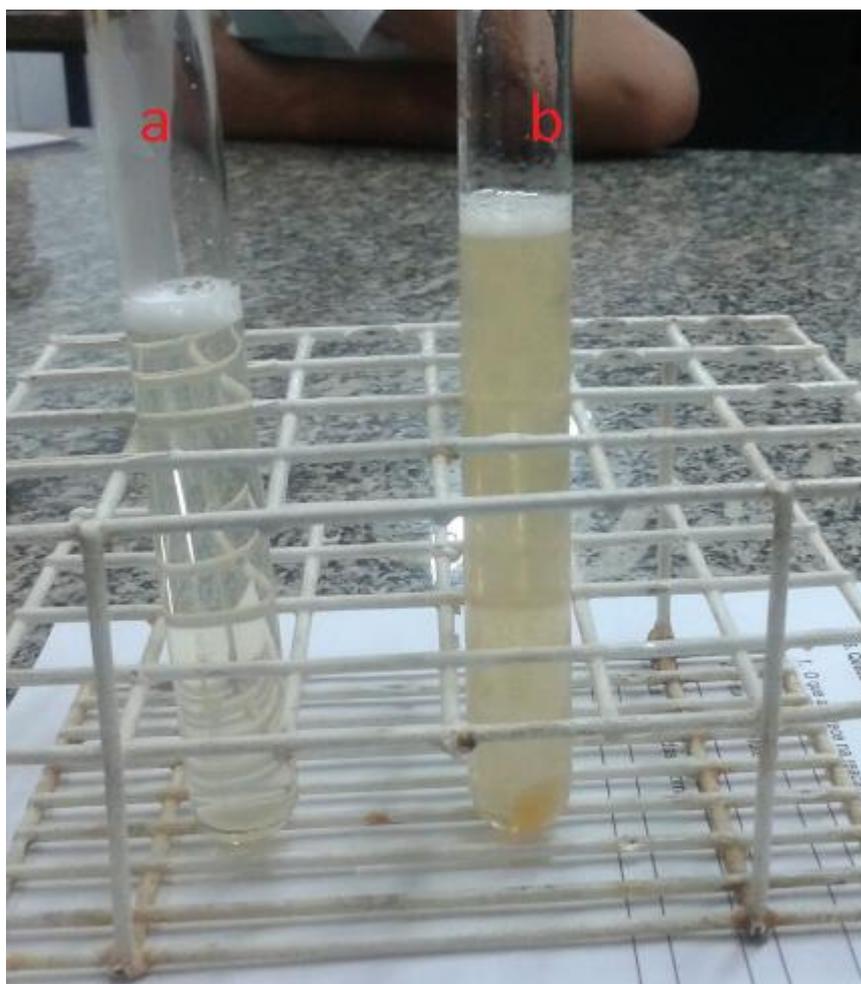


Figura 13-controle negativa gelatina (a) e controle com a enzima e a gelatina (b).

A ocorrência ou não da proteólise será avaliada por meio da gelificação, observada indiretamente pela viscosidade do meio, monitorada pela introdução dos canudos plásticos nos tubos de ensaio.

Para avaliar a viscosidade inicial (antes da gelificação), foi introduzido um canudo plástico em cada tubo de ensaio. Anotando no próprio tubo com uma caneta, até onde o canudo se inseriu.

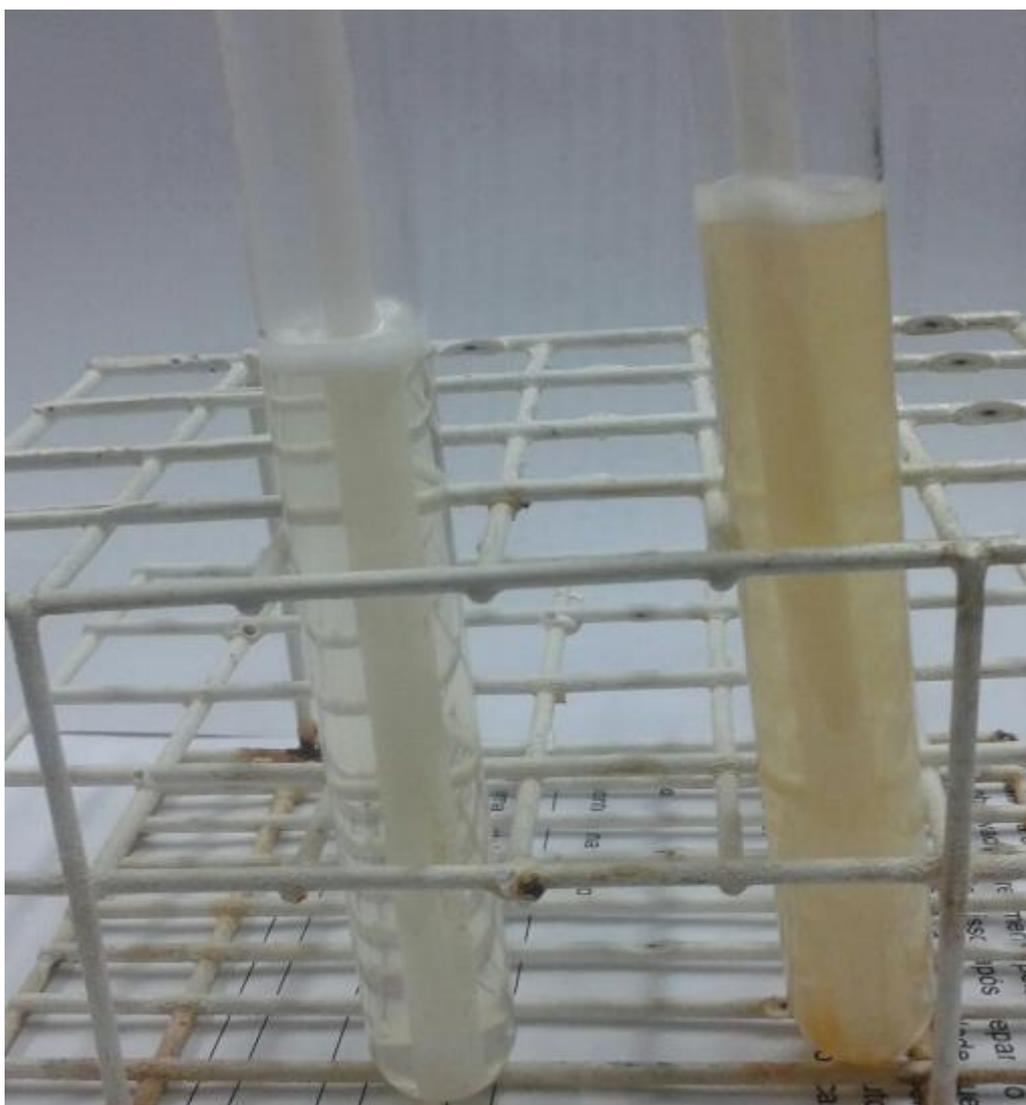


Figura 14- introdução dos canudos para avaliar a viscosidade dos tubos.

Feito isso, os canudos foram retirados e deixou-se os tubos à temperatura ambiente por 10 minutos, em seguida foram colocados os tubos na geladeira por 20 minutos para que ocorra a gelificação.

Após este período, foi avaliar a gelificação, colocando novamente os canudos plásticos dentro do tubo de ensaio e anotando com uma caneta até onde estes se inseriram.

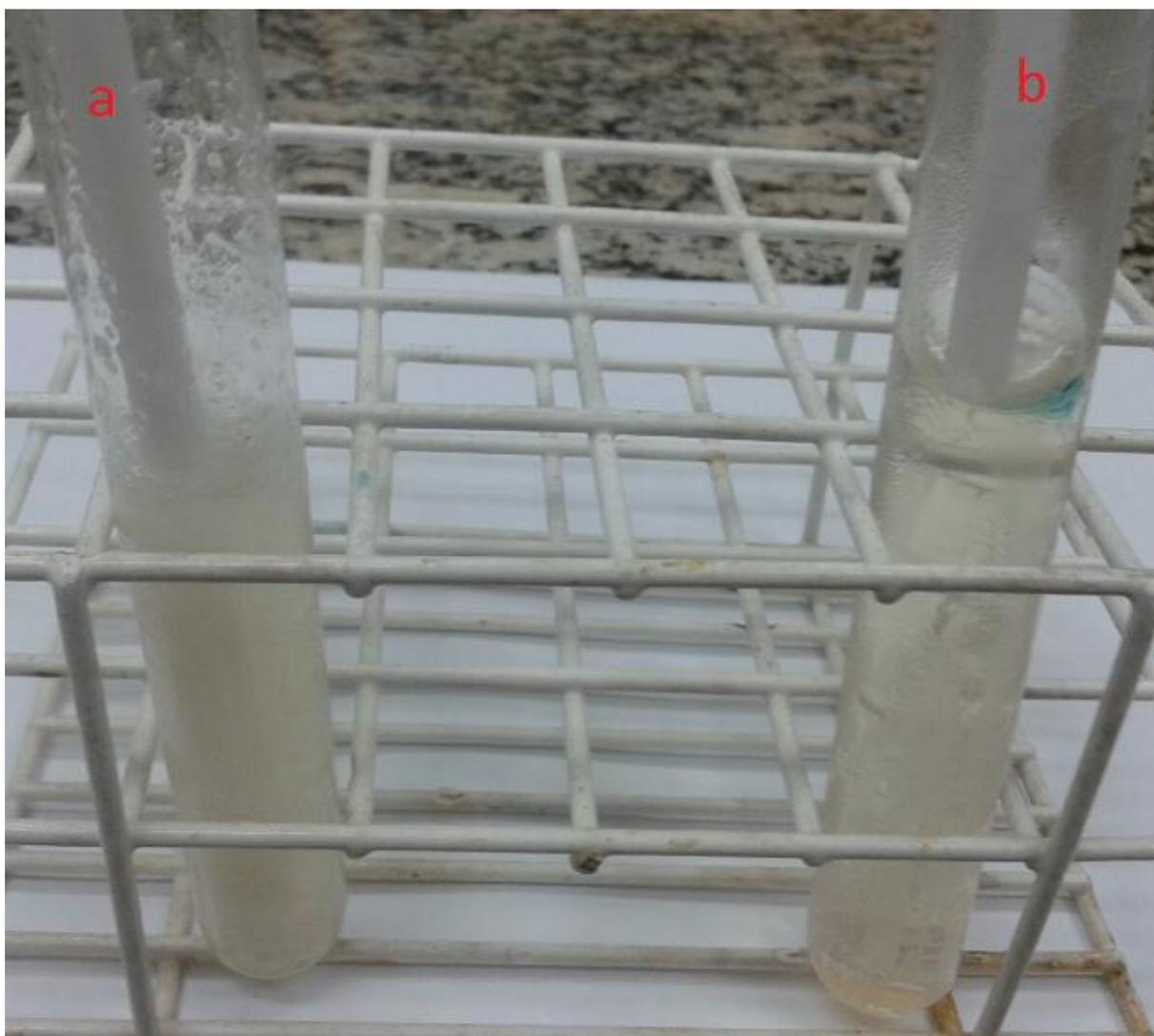


Figura 15- tubo (a) sem presença de gelificação, tubo (b) gelificado.

8. MATERIAIS E MÉTODOS

O extrato (látex ou solução 5% a 8%), contendo papaína foi aplicado na região capilar, e após trinta minutos foi feita a lavagem da área para remoção do extrato. A papaína comercializada foi introduzida no experimento para formular um comparativo com o látex em suas funcionalidades, demonstrando o real desenvolvimento para cada análise que esses foram submetidos. A solução da lavagem foi analisada por métodos de biureto e ninhidrina, para verificação da ocorrência da catalise das proteínas desta região.

8.1. MÉTODO DE NINHIDRINA

Este método foi baseado no experimento de separação de aminoácidos por cromatografia em papel, representado no livro métodos de laboratório em bioquímica (BRACHT.; ISHII-IWAMOTO, 2003).

8.1.1. Materiais

Solução contendo aminoácidos (lavagem);

Solução reveladora: ninhidrina a 0,1% em acetona;

Papel de Filtro;

Tubos Capilares;

Tesoura ;

Lápis;

Placa de petri;

Borrifador;

Capela com exaustor ;

Estufa;

Secador de cabelo;

8.1.2. Método

Com o auxílio de uma tesoura foi cortado um papel de filtro em tamanho 15x8 cm. Utilizando o tubo capilar, foi feita a aplicação da amostra sobre os pontos demarcados, tomando cuidado para que o tamanho da mancha não exceda 6mm de diâmetro. A amostra foi aplicada de quatro a cinco vezes sobre cada ponto. E secada a mancha de cada aplicação com secador de cabelo, para depois fazer uma nova aplicação.

Após a secagem do papel, foi borrifado a solução de ninhidrina 0,1% em acetona. Em seguida, colocou-se o papel em estufa a 100°C, de três a cinco minutos.

Cada aminoácido produziu uma mancha púrpura, com exceção da prolina (que é um iminoácido) que produz mancha amarela.

8.2. MÉTODO DE BIURETO

O método de biureto foi aplicado para determinar a concentração de proteínas. E apesar de ser um método rápido, utiliza reagentes de baixo custo e não apresenta variação na visualização de diferentes proteínas, esse método apresenta a desvantagem de baixa sensibilidade, pois os métodos que envolvem reação de biureto requer alta concentração de proteína na amostra. Esse método foi baseado na análise qualitativa de proteínas em alimentos por meio de reação de complexação do íon cúprico, representado na revista Química Nova na Escola (ALMEIDA.; CANESIN, 2013).

8.2.1. Materiais

NaOH (solução 20%);

CuSO₄ (solução 0,25 mol/L);

Clara de ovo;

Mamão verde;

Água;

Tubos de ensaio;

Estante para tubos;

8.2.2. Métodos

Para a aplicação da análise de biureto nas amostras, foi feita inicialmente a padronização dos reagentes, hidróxido de sódio (solução 20%); sulfato de cobre (solução 0,25mol/L). Após a padronização, foi feita análise de acordo com a sequência abaixo:

Solução referência (padrão de cor do reagente): em um tubo de ensaio adicionou-se 20 gotas de água, 20 gotas de solução de NaOH e 5 gotas de solução de CuSO₄. Misturando bem os reagentes e observando a coloração. A solução deve apresentar uma coloração característica do íon cúprico.

Solução contendo a lavagem: em um tubo de ensaio adicionou-se 20 gotas da lavagem, 20 gotas de solução de NaOH e 5 gotas de solução de CuSO₄. Misturando bem os reagentes e observando a coloração. Uma solução de cor violeta indica a presença da proteína.

Solução contendo látex do mamão: em um tubo de ensaio adicionou-se cinco gotas do látex do mamão, 20 gotas de solução de NaOH e 5 gotas de solução de CuSO₄. Misturando bem os reagentes e observando a coloração. Uma solução de cor violeta indica a presença da proteína.

Solução contendo clara do ovo: em um tubo de ensaio adicionou-se a clara do ovo, 20 gotas de solução de NaOH e 5 gotas de solução de CuSO₄. Misturando bem os reagentes e observando a coloração. Uma solução de cor violeta indica a presença da proteína.

8.3. AVALIAÇÃO DA ENZIMA CONTRA O FUNGO DA CASPA

Para o isolamento do fungo: Efetuou-se swab do couro cabeludo contendo a caspa em seguida foi aplicado em meio seletivo para o fungo.

Teste de Halo: A solução contendo enzima foi aplicada em disco de papel e em seguida colocada em placas contendo inóculo do fungo.

8.3.1. Teste

O micro-organismo foi semeado pela alça de platina em tubos de ensaio rotulados com cinco ml de solução estéril e incubados a 25°C por 72 horas. Após esse período, o micro-organismo foi semeado em duas placas de petri, identificadas e esterilizadas, contendo ágar ABG. O micro-organismo foi distribuído, com swab estéril, por técnica de rolamento, em todo o meio de cultura.

Os discos estéreis de papel filtro de um centímetro de diâmetro foram embebidos na solução com auxílio de pinça estéril, até a completa absorção dos produtos utilizados no ensaio e distribuídos no meio de cultura, devidamente identificado e numerado.

Todas as placas foram colocadas em estufa a 25°C por 120h. Após este período, a leitura do resultado foi realizada a olho nu e foi medido a halo de inibição com régua.

9. RESULTADOS E DISCUSSÕES

9.1 MÉTODO DE NINHIDRINA

O método de ninhidrina é utilizado para verificar a presença de aminoácidos em soluções desconhecidas. Sendo utilizado neste experimento para a verificação da presença de aminoácidos resultantes da catalise, nas soluções das lavagens, estas que contem os extratos (látex do mamão e papaína comercializada) adicionado na região capilar. Formando assim manchas púrpuras no papel filtro, resultante do processo da enzima aplicada no couro cabeludo, sendo demarcadas para serem identificadas pelos numeros (1,2,3,4), estes contendo as mesmas concentrações. Com a análise foi possível identificar a presença de aminoácidos nos extratos das lavagens com látex e papaína comercializada, assim como foi possível a visualização no experimento de separação de aminoácidos por cromatografia em papel, representado no livro métodos de laboratório em bioquímica (BRACHT.; ISHII-IWAMOTO, 2003). representado nas figuras 13 e 14,

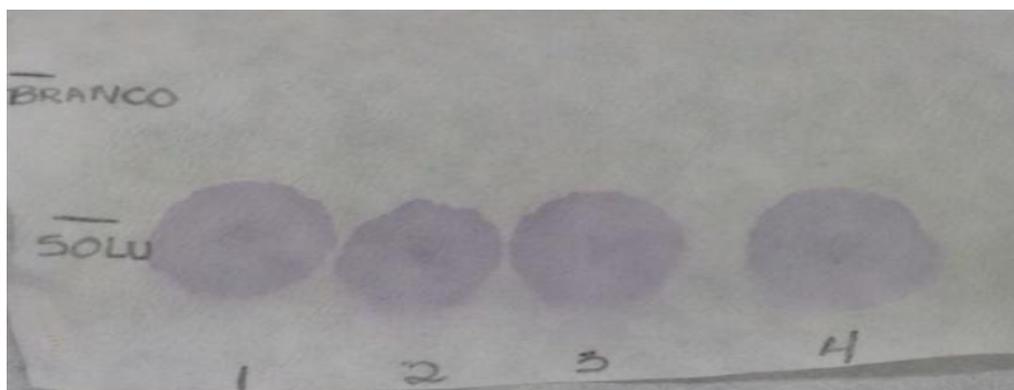


Figura 16- Teste de revelação contendo solução com a lavagem, e uma solução em branco.

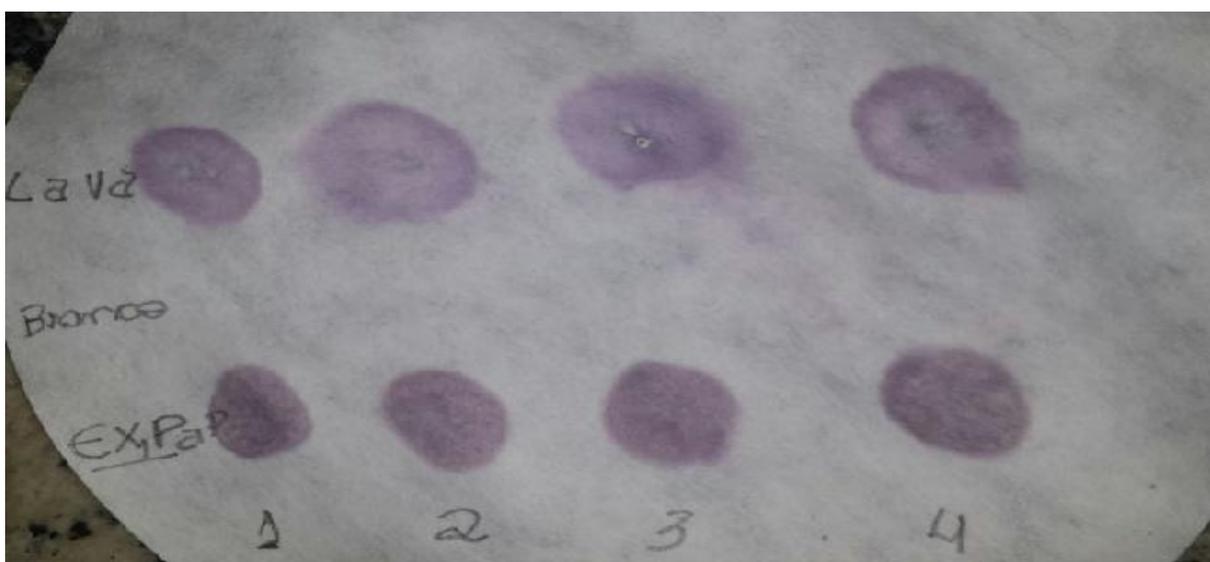


Figura 17- Teste de Revelação contendo lavagem com extrato papaína comercializada, lavagem com látex e solução em branco.

9.2. MÉTODO BIURETO

O método de biureto foi utilizado para verificação da presença de grupos protéicos nas amostras analisadas. Mostrando ser eficaz para visualização do conteúdo protéico, sendo que na figura 18,

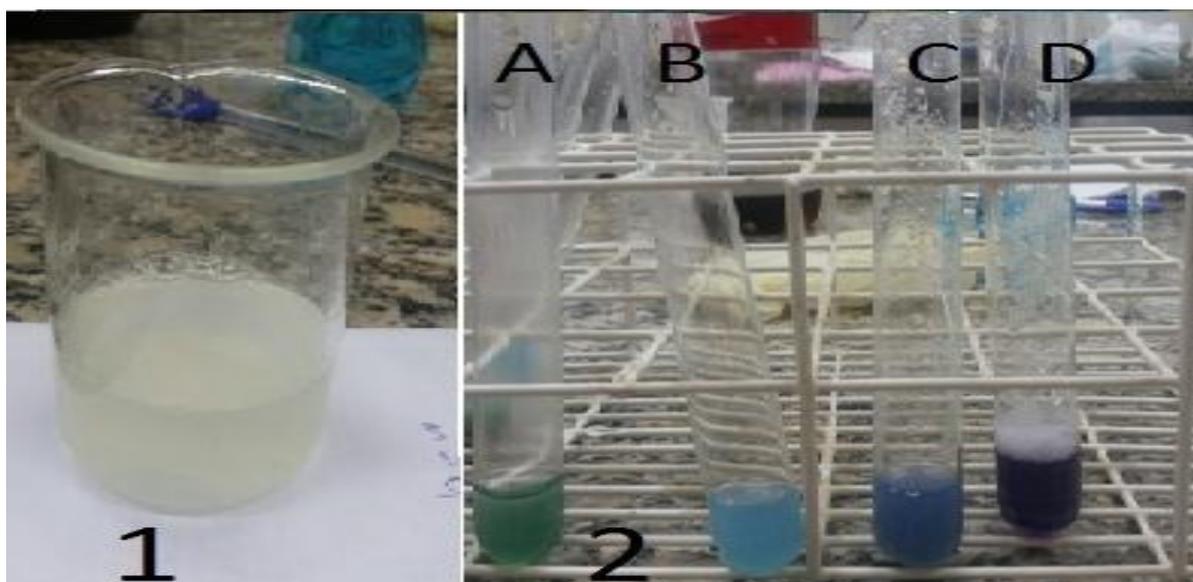


Figura 18- Solução da lavagem (1); mistura de referência (A); mistura com lavagem (B); mistura com o látex (C); mistura com a clara do ovo (D)- (2).

O tubo A contém a solução referencia, com água, sulfato de cobre e hidróxido de sódio, demonstrando a coloração inicial do experimento para a identificação de grupos protéico. O tubo B contém solução da lavagem onde pode ser visualizada a presença de grupos protéicos em baixa concentração, o tubo C contém o látex do mamão, onde pode visualizar uma concentração de grupo protéico maior que no tubo B, o tubo D contém clara do ovo servindo como referencia, demonstrando alta concentração de proteína. A figura 18-1 representa a lavagem da região capilar com o látex do mamoeiro sendo adicionado no tubo B da figura 18-2 para visualização de grupos protéicos presente no couro cabeludo.

Na figura 19,

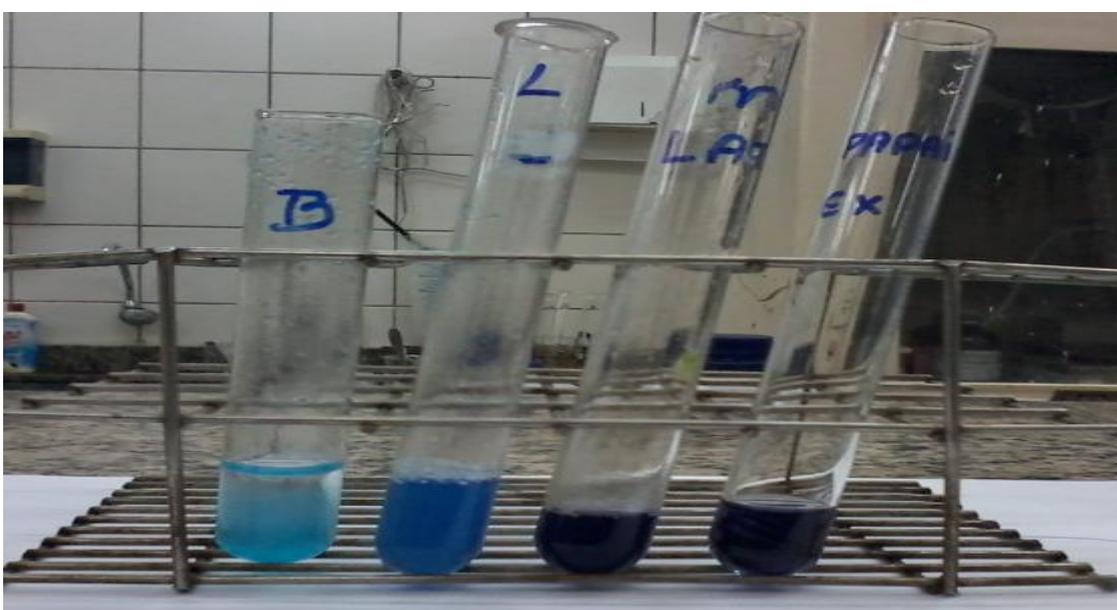


Figura 19- Solução de Referência (B); Lavagem contendo extrato de papaína comercializada (L); solução contendo látex (M); solução contendo papaína comercializada extraída (Ex).

O tubo B contém solução referencia com água sulfato de cobre e hidróxido de sódio onde serviu como base inicial para visualização de proteínas na analise, o tubo L contém lavagem com papaína comercializada, podendo ser observado a presença de grupos protéicos na solução, o tubo M contém látex do mamão e apresentou elevada concentração de proteínas, o tubo EX que contém papaína comercializada apresentou elevada concentração de proteína. Sendo que este experimento obteve uma variação na coloração, pois o método de biureto é sensível a concentração da amostra, sendo as lavagens as mais diluídas.

9.3. TESTE DA ENZIMA CONTRA O FUNGO

O teste de halo no presente trabalho teve como intuito a verificação da ação da enzima estudada presente nas soluções (látex do mamão e extrato da papaína comercializada), para a inibição dos microorganismos causadores da caspa. Foi observado que a placa que estava com o papel filtro embebido com látex do mamão não apresentou halo de inibição, e demonstrou a formação de uma cultura à parte sendo identificada pela coloração escura nas figuras 20 e 21.

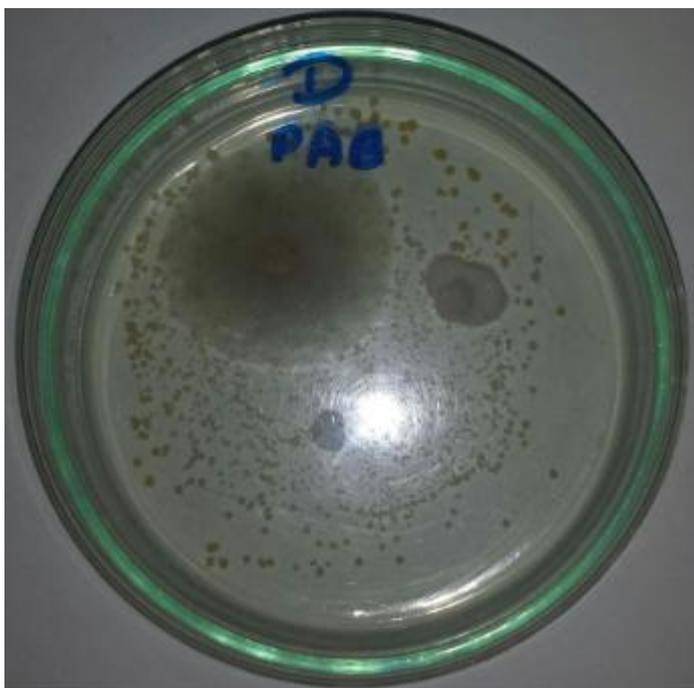


Figura 20- Teste de halo com látex do mamão, sem a formação de halo de inibição.



Figura 21- Teste de halo com látex do mamão, sem a formação de halo de inibição.

Foram feitas placas para visualização de contaminantes no experimento, controles onde poderiam ser vistos a formação de culturas se a análise estivesse contaminada, onde foram feitas placas com **Agar e o papel** para verificar se o papel continha contaminantes (figura 22),



Figura 22-Placa com Agar e Papel.

Placa com **Agar, fungo e com o papel**, para identificar se o papel poderia inibir o crescimento do fungo (figura 23),



Figura 23- placa com Agar, papel e o fungo.

Placa com **Agar e com o fungo** para verificar o crescimento do mesmo (figura 24),

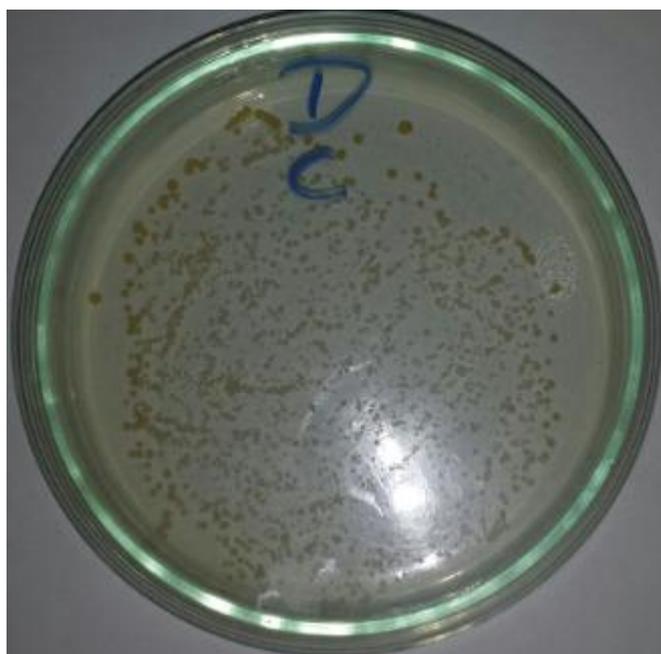


Figura 24- Controle placa com Agar e o fungo.

Placa somente com **Agar** para verificação se o meio não estava contaminado (figura 25).



Figura 25- Placa com Agar.

A placa contendo papaína comercializada apresentou halo de inibição, demonstrando uma efetividade contra o fungo presente no couro cabeludo (figura 26).



Figura 26- Teste de halo com papaína comercial extraída. Podendo ser observado a formação do halo de inibição.

O presente experimento de halo demonstrou que a papaína pode ser empregada para o tratamento dos fungos da região capilar. Sendo que o tratamento contra a caspa é realizado com modernos antifúngicos, que possuem amplo espectro de ação e alto poder fungicida, como os imidazólicos (OLIVEIRA: FARIA, 2013). Assim a papaína pode ser incorporada em formulações com extrato vegetais para o tratamento da caspa ou utilizada em solução, com concentração adequada para cada tipo de couro cabeludo. Sendo que a utilização em combinações com extratos vegetais vem crescendo, com a finalidade de obter formulações que possam atender um número cada vez maior de pessoas que procuram na natureza uma alternativa mais efetiva e menos agressiva (CUNHA.: SILVA, 2009).

10. Conclusão

Diante dos resultados apresentados, com o uso das soluções enzimáticas (látex do mamão e papaína comercializada), pode se concluir que a papaína extraída comercializada tem efetividade contra o fungo do couro cabeludo, o que não foi observado quando utilizado a solução com látex do mamão. Em relação à efetividade catalítica das soluções para a retirada da caspa, necessita de estudos mais aprimorados para concluir a real atividade da enzima nas células da região capilar, pois os métodos de ninhidrina e biureto demonstram a presença de grupos protéicos, podendo assim conter a presença da enzima sem possuir o resíduo celular (caspa), não servindo como parâmetro para o processo catalítico que o trabalho requereu em questão. Também necessitando de estudos para agregação e utilização da papaína e introdução do látex em formulações cosméticas, principalmente pela sua baixa estabilidade e o emprego da concentração adequada para o público em geral.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Vanessa Vivian.; CANESIN, Edmilson Antônio.; MICHELE, Rúbia.; Suzuki.; PALIOTO, Graciana Freitas. Análise qualitativa de proteínas em alimentos por meio de reação de complexação do íon cúprico. **Química nova na escola**, v. 35, nº1, FEV, 2013, p. 34-40.

APOLINÁRIO, ALEXSANDRA CONCEIÇÃO.; SOUZA, Maria Sallett Rocha.; SILVA, Paulo César Dantas.; PEDROSA, Michelle de Oliveira.; PACHÚ, Clésia Oliveira. Investigação de possíveis riscos à saúde advindos da utilização de cosméticos. **Revista brasileira de farmácia**, V. 92, Nº 4, SET, 2011.p. 323-326.

BENNET, Thomas Peter, **Tópicos modernos de bioquímica**, 1ª edição -1971. São Paulo, SP: Editora edgard blucher Ltda, 1971.

BRACHT, Adelar.; ishii-iwamoto, Emy Luiza, **Métodos de laboratório em bioquímica**, 1ª Edição- 2003. Barueri, SP: Editora Manole Ltda 2003.

Champe, Pamela C.; HARVEY, Richard A, **Bioquímica ilustrada**, 2ª Edição-2002. Santana, RS: Editora artmed S.A 2002.

CUNHA, Aline Roberta.; SILVA, Rafael Silveira.; CHORILLI, Marlus. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de formulação de xampu anticaspas acrescidas ou não de extrato aquosos de hipérico, funcho e gengibre. **Revista brasileira de farmácia**, V. 90, Nº 3, JUN, 2009.p. 190-195.

DAWSON, Thomas. **Cientistas decifram o dna do fungo causador da caspa**. BBC Brasil, São Paulo, Brasil Disponível em: <<http://saude.estadao.com.br/noticias/geral.cientistas-decifram-o-dna-do-fungo-causador-da-caspa,76403>> Acesso em: 20 JUN.2015.

DEVLIN, Thomas M.; MICHELACCI, Yara M, **Manual de bioquímica**, 6ª edição-2007. São Paulo, SP: Editora edgard blucher LTDA 2007.

GAMBÔA, Adriane Guimarães. **Utilização do inibidor de papaína extraído de sementes de *adenanthera pavonina* I. na purificação de proteases cisteínicas**. 2010. 62p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de ciências biológicas – universidade federal de Goiás, Goiânia, 2010.

HARRIS, Maria Inês Nogueira de Camargo. **Pele estruturas, propriedades e envelhecimento**. 3. ed. São Paulo: Editora senac, 2009.

JUNIOR, Wilmoernesto Francisco.; FRANCISCO, Welington. Proteínas: Hidrólise, precipitação e um tema para o ensino de química. **Química nova na escola**, V 24, NOV, 2006. P.12-16.

LEITE, Andréa pinto.; OLIVEIRA, beatriz gutton renaud baptista.; marja, soares ferreira.; barrocas, desirée lessa rodrigues. uso e efetividade da papaína no processo de cicatrização de feridas: Uma revisão sistemática. **Revista gaúcha de enfermagem**.v. 33, nº 3, SET, 2012.

LIMA, Silvio Luíz Toledo.; JESUS, Marcelo Bispo.; SOUSA, Roberta Regina Ruela.; OKAMOTO, André Kimura.; LIMA, Renata.; FRACETO Leonardo Fernandes. Estudo da atividade proteolítica de enzimas presentes em frutos. **Química nova na escola**, nº 28, MAI, 2008. p. 47-40.

MACHADO, Camila Machado,.; VIEIRA, Threicy Christine. **Disfunções do couro cabeludo: Uma abordagem sobre a caspa e dermatite seborreica**.curso de tecnologia em cosmetologia e estética da universidade do vale do Itajaí, Balneário Camburiú, Santa Catarina (Univali). disponível em: <<http://siaibib01.univali.br/pdf/Threicy%20Vieira%20e%20Camila%20Machado.pdf>> Acesso em: 25 ABR. 2014.

MARZZOCO, Anita,.; TORRES, Bayardo Baptista, **Bioquímica básica**, 2ª Edição – 1999. Rio de janeiro, RJ: Editora guanabara koogan S.A, 1999.

MIURA, Daniel Yuri. **Desenvolvimento farmacotécnico e estudo de estabilidade de géis de papaína destinados ao tratamento de feridas**. 2012. 101p. Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em ciências aplicadas a produtos para saúde, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal Fluminense. Niterói, Rio de janeiro, 2012.

OLIVEIRA, Mariana Almeida.: FARIA, Michelly-ross Basilio.: ANDRADE, Wanessa Machado.: FERNANDES, Cristiane Karla Caetano. Avaliação da estabilidade e atividade antifúngica de formulações de xampu anticaspa contendo piritionato de zinco e a influência da adição de extratos vegetais. **Revista Faculdade Montes Belos**. V. 6, Nº 1, 2013. p. 2-21.

PARK, Yong Kun. Biotecnologia Industrial- Produção de enzimas industriais de origem vegetal, 1ª edição – 2001. São Paulo, SP: Editora Edgard Blucher Ltda, 2001.

PINTO, Claudinéia Aparecida Sales de Oliveira.; LOPES, Patricia Santos.; SARRUF, Fernanda Daud.; POLAKIEWICZ, Bronislaw.; KANEKO, Telma Mary.; BABY, Andre Rolim.; VELASCO, Maria Valéria Robles. Estudo comparativo da estabilidade de

papaína livre e modificado incorporado em formulações tópicas. **Revista brasileira de ciências farmacêuticas**. V. 47, N° 4, OUT/DEZ, 2011.

RABITO, Mirela Fulgencio.;TRUITI, Maria Conceição Torrado. **Antifúngicos de uso tópico no tratamento de micoses cutâneas e caspa**. Universidade Estadual de Maringá-Maringá, Paraná, Brasil. Disponível EM:<<http://eduem.uem.br/ojs/index.php/ActaSciHealthSci/article/viewFile/6760/6760>>. ACESSO EM: 12 Abr.2014.

SALGADO, Ana Cristina Gomes Barros. **Desenvolvimento galénico de um gel para tratamento de dermatites no couro cabeludo**. 2008. 157p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Lisboa Faculdade de Farmácia Departamento de Tecnologia farmacêutica. Lisboa. 2008.