



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

NATALIA DE OLIVEIRA PEREIRA

**EXTRAÇÃO DE PAPAÍNA PRESENTE NO LÁTEX DA CASCA DO
MAMÃO, AVALIAÇÃO ENZIMÁTICA E MICROBIOLÓGICA**

Assis – SP
2015

NATALIA DE OLIVEIRA PEREIRA

**EXTRAÇÃO DE PAPAÍNA PRESENTE NO LÁTEX DA CASCA DO
MAMÃO, AVALIAÇÃO ENZIMÁTICA E MICROBIOLÓGICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Química e Bacharel em Química Industrial do Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA e a Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA, como requisito parcial à obtenção do Certificado de Conclusão

Orientanda: Natalia de Oliveira Pereira

Orientadora: Professora Gilcelene Bruzon

Assis – SP

2015

FICHA CATALOGRÁFICA

PEREIRA, Natalia Oliveira

EXTRAÇÃO DE PAPAÍNA PRESENTE NO LÁTEX DA CASCA DO MAMÃO, AVALIAÇÃO ENZIMÁTICA E MICROBIOLÓGICA / NATALIA DE OLIVEIRA PEREIRA. FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DO MUNICÍPIO DE ASSIS – ASSIS – SP, 2015.

57p.

Orientadora: Professora Ms. Gilcelene Bruzon
Trabalho de Conclusão de Curso Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA

1. extração da papaína. 2. papaína

CDD: 660
Biblioteca da FEMA

EXTRAÇÃO DE PAPAÍNA PRESENTE NO LÁTEX DA CASCA DO MAMÃO, AVALIAÇÃO ENZIMÁTICA E MICROBIOLÓGICA

NATALIA DE OLIVEIRA PEREIRA

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

Orientadora: Professora Ms. Gilcelene Bruzon

Analisador: Professor Ms. Marcelo Silva Ferreira

**Assis – SP
2015**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe, pois dela veio o maior de todos os incentivos, para que eu lutasse e conquistasse, não só o sonho da graduação, mas todos os outros sonhos e ainda todos os meus projetos de vida pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da minha vida e por me permitir todos os dias acordar e ter saúde para seguir trilhando meu caminho e indo atrás de todos os meus sonhos.

Agradeço também a minha Professora e Orientadora, Mestre Gilcelene Bruzon por todo apoio, incentivo e orientação para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos, por entenderem que sempre que precisei ou não, estiveram por perto, são a família que Deus me permitiu escolher. Em especial à Camila, Fabio, Mayara e Tiago, meus amigos de classe, que me ajudaram e apoiaram muito na realização deste trabalho.

E aos meus familiares, pois sem eles hoje eu não estaria onde estou, meus exemplos de boa conduta e índole que vou sempre seguir e os levarei para a vida toda.

Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes.

Marthin Luther King
(1929-1968)

RESUMO

Enzimas são um grupo de substâncias orgânicas de natureza normalmente protéica com atividade intra ou extracelular com funções catalisadoras, que em reações químicas sem a sua presença, dificilmente aconteceriam. Possui grande espectro de especificidade. As amidas, peptídeos, ésteres e tioésteres são todos susceptíveis pela hidrólise catalítica da papaína. A Papaína é uma enzima alcalóide extraída do látex do mamão. Tem propriedades bactericidas, bacteriostática e antiinflamatórias, que reduzem a inflamação no organismo, ajudando na digestão e na cicatrização de queimaduras em conjunto com as vitaminas C e E. Também possui substâncias não tão benéficas que podem ocasionar o aborto em caso de gravidez. A quantidade de papaína presente no mamão depende de sua espécie e ainda pode ser encontrada nas folhas e caule e semente do fruto do mamoeiro. Este trabalho teve como objetivo a extração, análise qualitativa e avaliação a ação bactericida da papaína presente no látex de frutos de mamão (*Carica papaya L.*) através de incisões na casca do fruto verde. Foram realizados 3 testes utilizando o látex do mamão (extrato bruto). No teste 1 foi feita uma análise qualitativa da presença da enzima utilizando biureto, no teste 2 foi realizado ensaio de Atividade Enzimática utilizando gelatina e no teste 3 foi realizado ensaio da Atividade Bactericida em *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Verificou-se no teste 1 a presença real da enzima. No teste 2, pode-se observar que através da catálise, o colágeno não sofreu hidrólise. Já no teste 3, verificou-se que *Staphylococcus aureus* foi inibida pelo extrato bruto da papaína, formando halo, o que não ocorreu com *Escherichia coli* que não foi inibida.

Palavras-chave: Enzima, extração da papaína, papaína.

ABSTRACT

Enzymes are a group of organic substances usually protein nature with intracellular or extracellular activity with catalytic functions, which in chemical reactions without you hardly happen. It has great specificity spectrum. Amides, peptides, esters and thioesters are all likely by the catalytic hydrolysis of papain. The Papain is an enzyme extracted alkaloid papaya latex. It has bactericidal, bacteriostatic and antiinflammatory properties, which reduce inflammation in the body, helping in digestion and in healing of burns together with the vitamins C and E. It also has not as beneficial substances that can cause abortion during pregnancy. The amount of this papain in papaya depends on its type and can still be found in the leaves and stems and fruit of papaya seed. This study aimed to extraction, qualitative analysis and evaluation bactericidal action of papain present in papaya fruits latex (*Carica papaya L.*) through incisions in the bark of the green fruit. 3 tests were performed using the papaya latex (crude extract). In test 1 was carried out a qualitative analysis of the presence of the enzyme using biuret in Test 2 was conducted enzyme activity assay using gelatin and Test 3 test was performed on the bactericidal activity *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. It was found in actual test 1 the presence of the enzyme. In test 2, it can be seen that through catalysis, the collagen did not undergo hydrolysis. Since the third test, it was found that *Staphylococcus aureus* was inhibited by papain crude extract of forming halo, which was not observed in *Escherichia coli* was not inhibited.

Keywords: enzyme, extraction of papain, papain.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Produtos Naturais	17
Figura 2.	Mamoeiro	21
Figura 3.	Países produtores de mamão	23
Figura 4.	Mapa do estado do Paraná	25
Figura 5.	Representação de uma hidrólise protéica catalisada por uma protease.....	28
Figura 6.	Exemplo de reação de Hidrolase	29
Figura 7.	Estrutura da protease	29
Figura 8.	Exemplo de Ligase	30
Figura 9.	Estrutura Succinil-COA sintetase de Escherichia coli	30
Figura 10.	Exemplo de reação de Oxidoreductase	30
Figura 11.	Estrutura da desidrogenase	30
Figura 12.	Exemplo de reação de Transferase	31
Figura 13.	Estrutura da Tirosina quinase	31
Figura 14.	Exemplo de reação de Liase	31
Figura 15.	Exemplo de reação de Isomerase	32
Figura 16.	Molécula de papaína	33
Figura 17.	Célula vegetal vista em corte	34
Figura 18.	Célula animal vista em corte	35
Figura 19.	Fruto com incisões	44
Figura 20.	Extrato bruto	44
Figura 21.	Extrato mantido sob refrigeração	45
Figura 22.	Amostra na centrífuga	45
Figura 23.	Tubo com a amostra, precipitado visível	46
Figura 24.	Precipitado da amostra	46
Figura 25.	Sobrenadante	46
Figura 26.	Amostras após adição de biureto	47
Figura 27.	Precipitado contendo a enzima	47
Figura 28.	Gelatina	48
Figura 29.	Gelatina solubilizada	48

Figura 30. Tubos com extrato bruto e água	49
Figura 31. Tubos com extrato bruto e água e gelatina solubilizada	49
Figura 32. Tubos com canudos imersos	49
Figura 33. Tubos após refrigeração	50
Figura 34. Placa de Petri com <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Figura 35. Placa de Petri com <i>Escherichia coli</i>	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sequência de tubos observados/analísado no experimento	38
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 PRODUTOS NATURAIS	17
2.1 DEFINIÇÃO	17
2.2 HISTÓRICO	18
2.3 IMPORTÂNCIA	18
3 MAMÃO, ORIGEM E HISTÓRICO	20
3.1 HISTÓRICO	20
3.2 ORIGEM	21
3.3 CULTIVO DO MAMÃO NO MUNDO	23
3.4 CULTIVO DO MAMÃO NO BRASIL	24
3.5 APLICAÇÕES	26
4 ENZIMAS	27
4.1 HISTÓRICO	27
4.2 TIPOS DE ENZIMAS	29
4.2.1 Hidrolases	29
4.2.2 Ligases	29
4.2.3 Oxidoredutases	30
4.2.4 Transferases	31
4.2.5 Liasas	31
4.2.6 Isomerases	32
4.3 PAPAÍNA COMO ENZIMA	32
4.3.1 Características	32
4.3.2 Aplicações	33
4.3.3 Obtenção a partir de tecidos animais e células vegetais	34
5 APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO	36
5.1 AULA EXPERIMENTAL	36
5.2 PARTE EXPERIMENTAL	37
5.2.1 Material	37
5.2.2 Procedimento experimental	38
5.3 QUESTÕES PROPOSTAS	39
6 MATERIAIS E MÉTODOS	40
6.1 MATERIAL	40
6.2 PROCEDIMENTO	41
6.2.1 Extração	41
6.2.2 Teste Qualitativo – Biureto	41
6.2.3 Teste de Atividade Enzimática	42

6.2.4	Teste de Atividade Bactericida	42
7	RESULTADOS E DISCUSSÕES	44
7.1	EXTRAÇÃO DA PAPAÍNA DO LÁTEX DO MAMÃO	44
7.2	TESTE DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA	48
7.3	TESTE DE ATIVIDADE BACTERICIDA	50
8	CONCLUSÃO	52
9	REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

Enzimas são um grupo de substâncias orgânicas de natureza normalmente protéica (existem também enzimas constituídas de RNA 1 , as ribozimas), com atividade intra ou extracelular que têm funções catalisadoras, catalisando reações químicas que, sem a sua presença, dificilmente aconteceriam. Isso é conseguido através do abaixamento da energia de ativação necessária para que se dê uma reação química, resultando no aumento da velocidade da reação e possibilitando o metabolismo dos seres vivos. A capacidade catalítica das enzimas torna-as adequadas para aplicações industriais, como na indústria farmacêutica ou na alimentar (LEHNINGER, 2006). Na culinária é utilizada como amaciante de carnes.

A Papaína é uma enzima alcalóide extraída do látex do mamão, em alguns casos este alcalóides são de extrema importância principalmente se consumidos em pouca quantidade (AMARAL, 2008). É usada em testes com imunoglobulinas, e na indústria farmacêutica, vem sendo usada associada a um curativo (esparadrapo + gaze) como um acelerador do processo de cicatrização, muito utilizado em tratamentos de úlceras de decúbito (CAPUCHO, 2007).

A papaína tem propriedades bactericidas, bacteriostática e antiinflamatórias, que reduzem a inflamação no organismo, ajudando na digestão e na cicatrização de queimaduras em conjunto com as vitaminas C e E. Porém, possui substâncias não tão benéficas que podem ocasionar o aborto em caso de gravidez (OLIVEIRA, 2007).

O mamoeiro cultivado comercialmente (*Carica papaya L.*) pertence a família Caricaceae, a qual esta dividida em quatro gêneros, com trinta espécies: *Carica* (21 espécies) *Jacaratia* (6 espécies), *Cylicomorpha* (2 espécies) e *Jarilla* (1 espécie). Seu centro de origem é, muito provavelmente, o noroeste da América do Sul vertente oriental dos Andes, ou mais precisamente, a Bacia Amazônica Superior onde a diversidade genética é máxima, o que caracteriza o mamoeiro como uma planta tipicamente tropical (TRINDADE, 2000). A quantidade de papaína presente no mamão depende de sua espécie e ainda pode ser encontrada nas folhas e caule do mamoeiro além da semente do fruto.

O objetivo deste trabalho é a extração do extrato bruto para análise qualitativa e avaliação da ação bactericida da papaína presente no látex de frutos de mamão (*Carica papaya L.*) através de incisões na casca do fruto verde.

2 PRODUTOS NATURAIS

Os produtos naturais sempre foram utilizados pela humanidade. A busca por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais. A história do desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental é rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa, merecendo destaque a civilização Egípcia, Greco-romana e Chinesa. A medicina tradicional chinesa desenvolveu-se com tal grandiosidade e eficiência que até hoje muitas espécies e preparados vegetais medicinais são estudados na busca pelo entendimento de seu mecanismo de ação e no isolamento dos princípios ativos (VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

A flora brasileira é considerada a mais rica do mundo com cerca de 56.000 espécies de plantas e entre 12,5 e 13,5 mil espécies de fungos. No entanto, com exceção de espécies de importância medicinal, muito pouco conhecemos a respeito da composição química de 99,6 % das espécies de plantas nacionais (DOMINGUES, et al, 2011).

2.1 DEFINIÇÃO

São produtos isentos de ingredientes químicos como corantes, conservantes, aromas e sabores artificiais (figura 1).



Figura 1. Produtos Naturais (In: www.portal.anhembibr.com.br)

Esses produtos podem não apresentar uma redução significativa no índice de gorduras e calorias, mas são muito mais saudáveis do que os produtos normais já que não apresentam nenhuma química em sua composição que podem dar reações alérgicas e ainda prejudicar o funcionamento do nosso organismo.

A ingestão desses produtos pode ajudar a retardar o processo de envelhecimento, porque não possuem agentes liberadores de radicais livres como a maioria dos produtos químicos e são muito mais saborosos e nutritivos (RELVA VERDE, 2011).

2.2 HISTÓRICO

Na Idade Antiga, além de técnicas medicinais, muitos venenos foram descobertos na natureza e utilizados para fins de defesa, caça e mesmo ilícitos, como a utilização do veneno de Hemlock (*Conium maculatum*) na execução de prisioneiros.

A natureza sempre despertou no homem um fascínio encantador, não só pelos recursos oferecidos para sua alimentação e manutenção, mas por ser sua principal fonte de inspiração e aprendizado. A busca incessante pela compreensão das leis naturais e o desafio de transpor barreiras à sua sobrevivência, como o clima e as doenças, levaram o homem ao atual estágio de desenvolvimento científico, mesmo após o avanço tecnológico observado nos dias de hoje (VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

O uso de produtos naturais tem se tornado cada vez mais comum no dia a dia da população. A cada nova pesquisa, descobrem-se novas vantagens no uso desses produtos que são a nova tendência do momento (FORMIGA, s/d).

2.3 IMPORTÂNCIA

A importância dos produtos naturais é inestimável. Esta afirmação é facilmente comprovada quando se analisa os números de medicamentos obtidos direta ou indiretamente a partir de produtos naturais. A terapêutica moderna, composta por

medicamentos com ações específicas sobre receptores, enzimas e canais iônicos, não teria sido possível sem a contribuição dos produtos naturais (FORMIGA, s/d).

Mas é preciso ter muito cuidado porque muitos produtos comercializados sob o manto do natural apresentam também alguns inconvenientes aos quais é recomendável prestar atenção, não tanto para eliminá-los da dieta, mas para moderar seu consumo (MENARGUEZ, MORENO, 2014).

3 MAMÃO, ORIGEM E HISTÓRICO

3.1 HISTÓRICO

Nativo da América Central, o mamão provavelmente surgiu da fusão espontânea de outras espécies da região. Já apreciado pelos índios da América Latina, a fruta encantou os colonizadores europeus que aqui chegaram. Foi chamado de “fruta dos anjos”, por Cristóvão Colombo. Os espanhóis e portugueses levaram o mamão para as Filipinas, para a Índia e para alguns países da África. No final do século XVII, já era cultivado na maioria das regiões tropicais do mundo (CLUBE DA FRUTA, s/d).

No século XX o mamão papaia foi introduzido nos Estados Unidos, e é cultivado no Havaí, o maior produtor norte-americano da fruta. Mundialmente, os maiores produtores de mamão são Brasil, Nigéria, Índia, México, Indonésia, Etiópia, Congo, Peru, China e Colômbia. Consumido preferencialmente ao natural e em sua forma mais doce (quando está bem maduro) no Brasil, o mamão é usado em outros lugares, como nos países asiáticos e nas Antilhas, para o preparo de pratos salgados (CLUBE DA FRUTA, s/d).

A cultura do mamoeiro no Brasil ocupa uma área de cerca de 36,5 mil hectares, sendo considerado o maior produtor mundial. A evolução da cultura se dá desde sua introdução na região de Monte Alto-SP, que já foi considerada a capital brasileira do mamão, até a sua consolidação nos Estados da Bahia, Espírito Santo, Rio Grande do Norte e Ceará, considerados como os maiores produtores nacionais (SERRANO; CATTANEO, 2010).

Desde meados do século XX até hoje, verificamos que mudanças significativas ocorreram, alicerçadas pela pesquisa, as quais fizeram com que deixássemos de produzir frutas somente para atender ao mercado nacional para se transformar, além do maior produtor, também no segundo maior exportador mundial. Assim, verificou-se, a partir do início da década de 90, um crescente aumento nas exportações brasileiras de papaya, culminando, em 2008, com um volume de cerca de 30 mil toneladas, gerando uma receita de US\$38,6 milhões. Passamos a produzir frutos de

alta qualidade tanto para as variedades de mamão pertencentes ao grupo 'Solo' (frutas pequenas) quanto para as cultivares do grupo 'Formosa' (frutas maiores), em que pese estes últimos serem oriundos de sementes híbridas importadas (SERRANO; CATTANEO, 2010).

A seguir, na figura 2, é mostrado um mamoeiro com seus frutos.



Figura 2. Mamoeiro (In: www.sites.google.com/site/ap37frutagua/revista-frutagua/imagens)

3.2 ORIGEM

O mamão (*Carica papaya L.*), provavelmente é originário das planícies do leste da América Central, do México ao Panamá. Suas sementes foram distribuídas para o Caribe e o sul da Ásia durante a exploração espanhola no século XVI, de onde se espalhou para a Índia, Pacífico e África. O mamão é hoje cultivado em todos os países tropicais e muitas regiões sub-tropicais do mundo (RIGOTTI, 2014).

Os frutos estão prontos para colheita de cinco a seis meses após a floração, que ocorre cinco a oito meses após a germinação das sementes. Os frutos variam em tamanho, 7-30 cm de comprimento e variam em massa de cerca de 250 a 3000g. Os frutos são arredondados a ligeiramente ovais, os frutos das árvores do sexo feminino são esféricos, considerando que a forma dos frutos, das árvores hermafroditas são afetadas por fatores ambientais, principalmente temperatura, que modificam a

morfologia floral durante o desenvolvimento precoce da inflorescência. O fruto maduro tem casca lisa, amarela ou alaranjada. Dependendo do cultivar, a espessura da polpa varia de 1,5 a 4 cm e a cor pode ser do amarelo-pálido ao vermelho. Frutos maduros contêm numerosas sementes de coloração cinzento-negro, esféricas de 5 mm de diâmetro. Um pomar com plantas femininas necessita de mamoeiros masculinos - em 10-12% dos indivíduos - uniformemente distribuídos no pomar para assegurar a produção (RIGOTTI, 2014).

A cor da polpa é outra característica importante, sendo preferidos os frutos que apresentam coloração vermelho ou vermelho-rosado.

A determinação do estágio de maturação para colheita varia conforme o tipo de mercado a que se destinam os frutos. Consideram-se os seguintes estágios:

Estágio 0 - fruto crescido e desenvolvido (100% verde);

Estágio 1 - fruto com até 15% da superfície amarela;

Estágio 2 - frutos com até 25% da superfície amarela (1/4 madura);

Estágio 3 - frutos com até 50% da superfície amarela;

Estágio 4 - frutos com 50 a 75% da superfície amarela;

Estágio 5 - frutos com 100% da superfície amarela.

Os frutos destinados à exportação são colhidos no estágio 2, principalmente os destinados para os Estados Unidos, enquanto para a Europa, colhe-se até o estágio 4. Para o mercado interno, varia conforme a distância do mercado consumidor e o tempo para comercialização da fruta (SEBRAE, 2015).

A casca de mamão é eficiente para amaciar carnes mais fibrosas. A papaína, enzima presente na casca do mamão, tem o poder de quebrar as moléculas de proteína das fibras musculares e do tecido conjuntivo das carnes, que são responsáveis pela maior dureza do alimento (CLUBE DA FRUTA, s/d).

3.3 CULTIVO DO MAMÃO NO MUNDO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma das fruteiras mais comuns em quase todos os países da América Tropical. Foi amplamente distribuído em várias regiões tropicais, estendendo-se a 32° de latitude norte e sul, com possível introdução no Brasil em 1587. É considerada como uma das fruteiras mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Seus frutos, conhecidos como mamão ou papaya, são excelentes fontes de cálcio, pró-vitamina A e vitamina C (ácido ascórbico), por isso são amplamente utilizados em dietas alimentares.

A produção mundial de mamão representa 10% da produção mundial de frutas tropicais, girando em torno de 8 milhões de toneladas, das quais 39% são produzidas na América Latina e Caribe (SERRANO; CATTANEO, 2010).

A figura 3 mostra os principais países produtores de mamão.



Figura 3. Países produtores de mamão (In: RIGOTTI, 2014)

3.4 CULTIVO DO MAMÃO NO BRASIL

O Brasil é o maior produtor mundial de mamão, participando com 31,6% da oferta mundial. De uma forma geral, as cultivares de mamão mais exploradas no Brasil são classificadas em dois grupos, conforme o tipo de fruto: Solo e Formosa, dando-se preferência a variedades de polpa vermelho alaranjada. No país, o mamoeiro é cultivado em quase todos os Estados, merecendo destaque a Bahia, Espírito Santo e Ceará. O Estado da Bahia, em 1998, participou com cerca de 56,7% da produção e 65,3% da área colhida do país (IBGE/PAM, 2000). A microrregião do extremo Sul da Bahia é responsável por, aproximadamente, 97% do total produzido no Estado, com áreas em franca expansão (FRAIFE FILHO et al, 2001).

O mamão é cultivado em quase todo o território brasileiro, tendo como principais produtores os Estados da Bahia e Espírito Santo, que são responsáveis por mais de 80% da produção nacional. No Brasil, são cultivados três diferentes tipos de mamão: o comum, o papaia (solo e sunrise-solo) e o formosa (BRASIL, 2011).

Os elementos climáticos que mais influenciam o mamoeiro são temperatura do ar, disponibilidade de água durante o ciclo e umidade relativa do ar. A cultura desenvolve-se, satisfatoriamente, em locais com temperatura média anual de 25°C, com limites entre 21°C e 33°C, e precipitação pluviométrica de 1500 mm anuais, mensalmente bem distribuída. O mamoeiro é extremamente sensível às geadas, sendo que baixas temperaturas reduzem o desenvolvimento da planta, afetando o volume e a quantidade da produção. Os solos de textura média, profundos, permeáveis e com bom teor de matéria orgânica são os mais indicados para o cultivo do mamoeiro (BRASIL, 2011).

A maioria dos municípios do estado do Paraná são aptos a produção do mamão, pois possuem risco climático dentro dos parâmetros estabelecidos, para o cultivo do mamoeiro.

Na figura 4 está demonstrado o mapa do Paraná e a localização da cidade de Andirá.

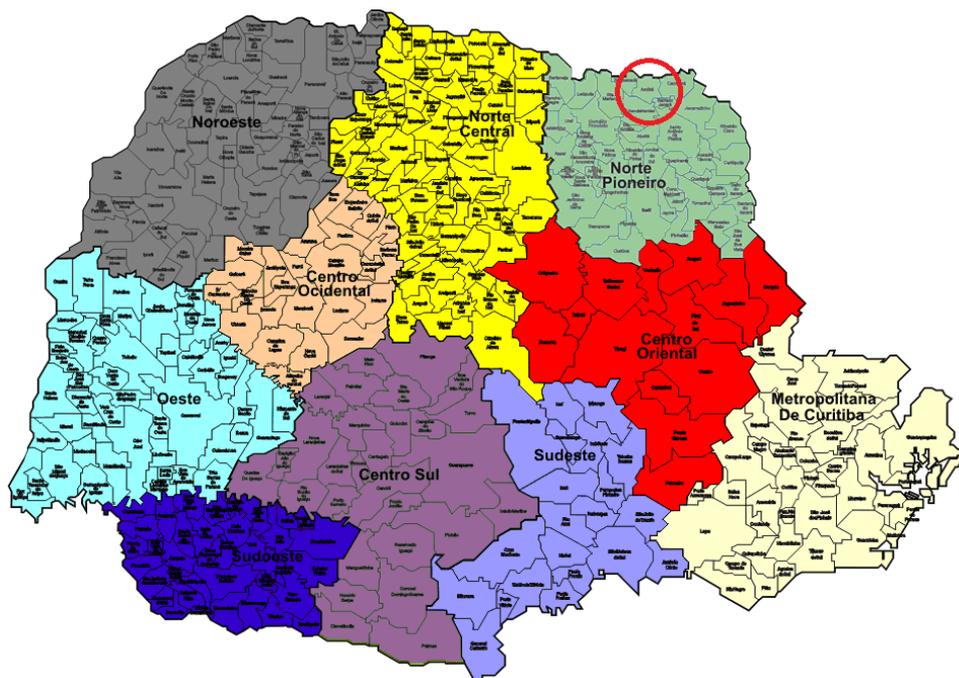


Figura 4. Mapa do estado do Paraná (In: www.comunicandopararefletir.blogspot.com)

Os critérios para o cultivo em regime de sequeiro, com baixo risco climático são: déficit hídrico anual de 80 mm, com temperatura média de 19°C, risco de geada em torno de 25% e altitude menor que 500 metros.

Foram considerados aptos ao cultivo do mamoeiro os municípios que apresentaram em, pelo menos, 20% de sua superfície condições dentro dos critérios estabelecidos em, no mínimo, 80% dos anos avaliados (BRASIL, 2011).

O mamoeiro apresenta exigências nutricionais crescentes e contínuas durante o primeiro ano, atingindo o máximo aos doze meses após o plantio (COELHO; OLIVEIRA, 2004). Essas exigências podem variar entre plantas de diferentes genótipos, em função de seu comportamento vegetativo e da dinâmica de nutrientes dos demais órgãos para as folhas e frutos (ARAÚJO et al., 2005). De acordo com Trindade (2000), o nitrogênio é o segundo elemento mais exigido pelo mamoeiro, sendo muito importante o seu suprimento durante os períodos iniciais de crescimento, e a sua demanda é crescente e constante durante todo o ciclo de vida da planta (BRASIL, 2011).

3.5 APLICAÇÕES

Economicamente, o mamão é amplamente cultivado para o consumo in natura e para uso em sucos, doces e geléias de frutas secas e cristalizadas. Nutricionalmente, o mamão é uma boa fonte de cálcio e uma excelente fonte de beta-caroteno, vitaminas A, C e do complexo B, fonte de sais minerais como cálcio, potássio e magnésio. O mamão também tem vários usos industriais, suas folhas e frutos produzem diversas proteínas e alcalóides com importantes aplicações farmacêuticas e industriais. Destes, no entanto, a papaína, uma enzima proteolítica particularmente importante que é produzida no látex leitoso de frutos de mamão verde (mamão maduro não contém látex ou papaína). Evolutivamente, a papaína pode ser associada como proteção contra predadores frugívoros e herbívoros (RIGOTTI, 2014).

4 ENZIMAS

4.1 HISTÓRICO

Entre o final do século XVII e início do século XVIII, já era possível saber que secreções estomacais eram capazes de digerir a carne, era também conhecida a conversão de amido a açúcares pela saliva e extratos vegetais. O mecanismo subjacente a estas transformações não era, no entanto, conhecido (CARDOSO, s/d).

As enzimas foram descobertas no século XIX, aparentemente por Pasteur, que concluiu que a fermentação do açúcar em álcool pela levedura é catalisada por fermentos. Ele postulou que esses fermentos (as enzimas) eram inseparáveis da estrutura das células vivas do levedo. Pasteur declarou que "a fermentação alcoólica é um ato correlacionado com a vida e organização das células do fermento, e não com a sua morte ou putrefação" (DUBOS, 1951).

Em 1878, Wilhelm Kühne empregou pela primeira vez o termo "enzima" para descrever este fermento, usando a palavra grega ενζυμων, que significa "enzima". O termo passou a ser mais tarde usado apenas para as proteínas com capacidade catalítica, enquanto que o termo "fermento" se refere à atividade exercida por organismos vivos.

Em 1897, Eduard Buchner descobriu que os extratos de levedo podiam fermentar o açúcar até álcool e provou que as enzimas envolvidas na fermentação continuavam funcionando mesmo quando removidas das células vivas. Esta descoberta valeu-lhe o prêmio Nobel de Química em 1907.

Restava determinar qual a natureza das enzimas. Alguns afirmavam que as proteínas, associadas à atividade enzimática, apenas eram o suporte da verdadeira enzima, e, por si próprias, incapazes de catálise. Em 1926, James B. Sumner purificou e cristalizou a urease, mostrando tratar-se de uma proteína pura, e fez o mesmo, em 1937, para a catalase. A prova final foi feita por Northrop e Stanley em 1930, com o estudo de três enzimas digestivas, a pepsina, a tripsina e a quimotripsina, pelo que receberam o Prêmio Nobel da Química em 1946.

Nas células, as enzimas estão envolvidas em todos os processos bioquímicos. Para atuar corretamente, porém, precisam de condições específicas, pois são ativas apenas em uma faixa estreita de acidez-alcalinidade (pH) e são sensíveis a mudanças nesse fator e na temperatura do meio (MUSSATTO, 2015).

Os micro-organismos são a principal fonte de enzimas de aplicação industrial, mas diversas podem ser obtidas de animais (pancreatina, tripsina, quimotripsina, pepsina, renina e outras) ou vegetais (papaína, bromelina, ficina e outras). Hoje, porém, como é possível modificar geneticamente os micro-organismos para que forneçam qualquer enzima, a tendência é substituir as produzidas por vegetais e animais pelas de origem microbiana (MUSSATTO, 2015).

Algumas enzimas são capazes de quebrar ligações peptídicas de cadeias protéicas, sendo denominadas assim de proteases. A representação de uma reação catalisada por essas enzimas pode ser verificada logo abaixo, na Figura 5.

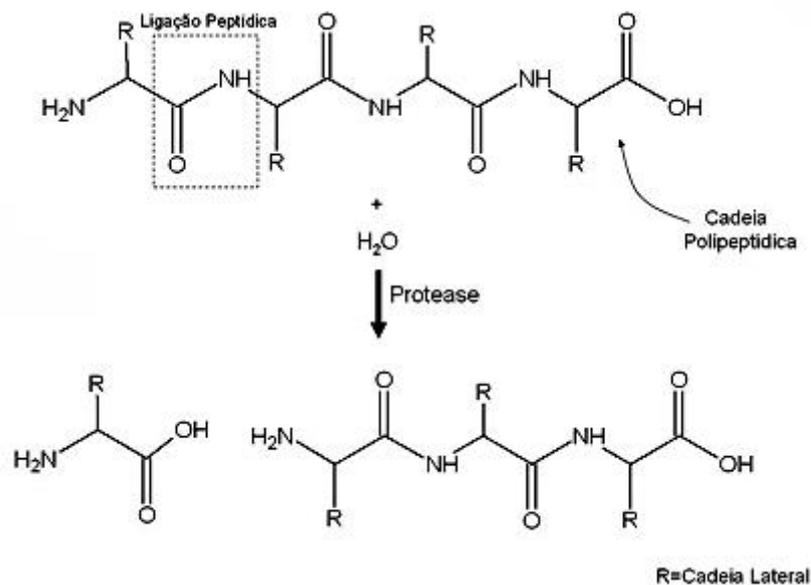


Figura 5. Representação de uma hidrólise protéica catalisada por uma protease (In: LIMA et al, 2008)

Esta reação é catalisada pela protease é uma reação de hidrólise da cadeia polipeptídica (substrato), na qual aminoácidos e cadeias polipeptídicas menores podem ser gerados como produtos imediatos da reação (LIMA et al, 2008).

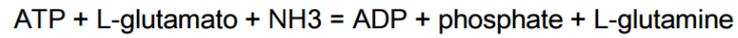


Figura 8. Exemplo de Ligase (In: BIANCONI, s/d)

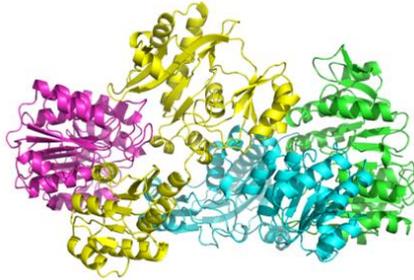


Figura 9. Estrutura Succinil-COA sintetase de Escherichia coli (In: www.wikiwand.com)

4.2.3 Oxidoreduases

São responsáveis por efetuar a transferência de elétrons, o que podemos definir como oxi-redução (figura 8). Por exemplo, desidrogenases (figura 10 e 11).

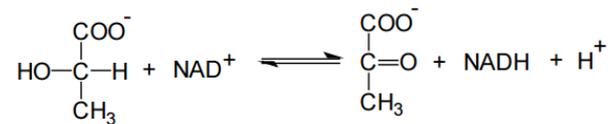


Figura 10. Exemplo de reação de Oxidoreduase (In: BIANCONI, s/d)

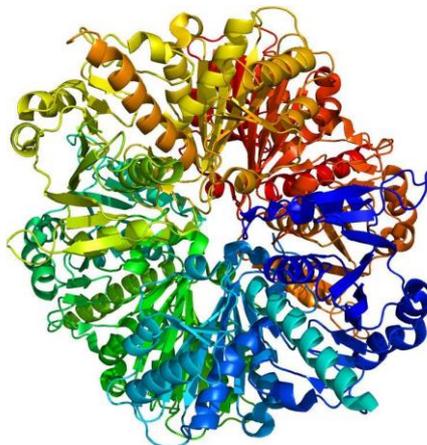


Figura 11. Estrutura da desidrogenase (In: www.lookfordiagnosis.com)

4.2.4 Transferases

São aquelas enzimas que tem como finalidade realizar a translocação de grupos funcionais como grupamento amina, carbonila, carboxila, fosfato, de uma molécula para outra. Podemos citar como exemplo a quinase (figura 12 e 13).

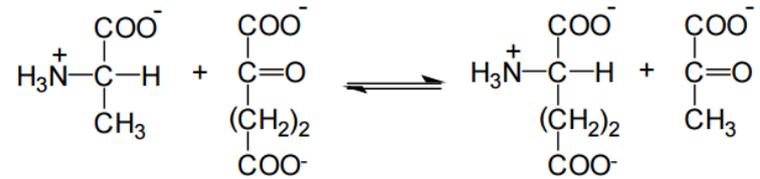


Figura 12. Exemplo de reação de Transferase (In: BIANCONI, s/d)

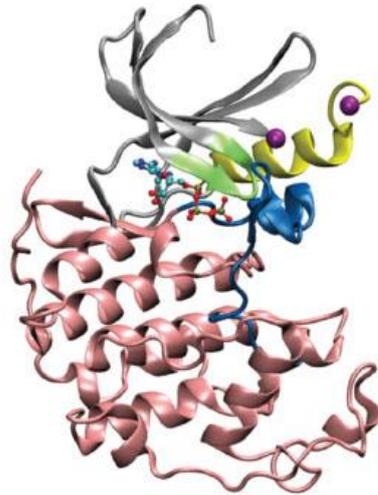


Figura 13. Estrutura da Tirosina quinase (In: www.scielo.br)

4.2.5 Liases

Atuam na remoção de molécula de água, gás carbônico e amônia, a partir da ruptura de ligações covalentes. A descarboxilase pode ser dada como um exemplo de liases (figura 14).

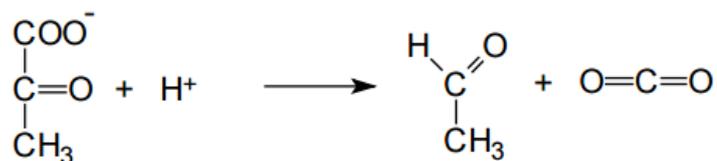


Figura 14. Exemplo de reação de Liase (In: BIANCONI, s/d)

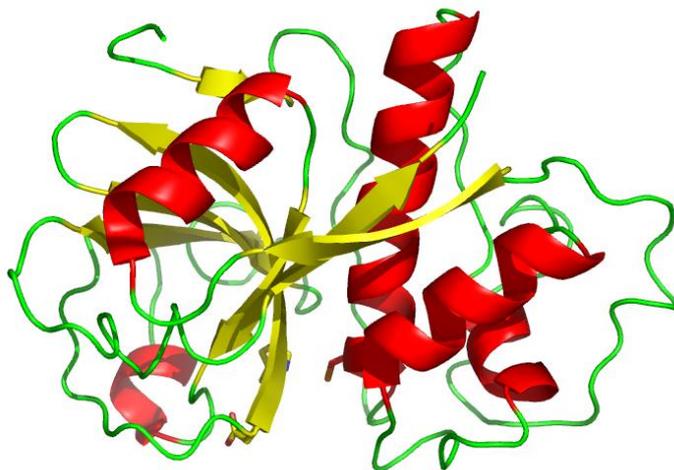


Figura 16. Molécula de papaína (In: umblogmuitopipi.blogspot.com)

As proteases hidrolizam ligações peptídicas, amidas e ésteres, especialmente em ligações envolvendo aminoácidos básicos, como a leucina ou a glicina (MARTINDALE, 2005). A principal aplicação da papaína na medicina é como agente de desfibridamento de tecido necrosado, auxiliando e acelerando o processo de cicatrização (CAPUCHO, 2007).

4.3.2 Aplicações

Seu importante uso comercial deve-se as variá aplicações nas indústrias farmacêuticas, têxteis, alimentícias e cosméticas. Entretanto, a papaína tem variados usos em bebidas, alimentos e farmacêutica, incluindo na produção de gomas de mascar, amaciante de carnes, preparações de drogas de várias doenças digestivas e no tratamento de feridas gangrenosas. Papaína também tem sido utilizada na indústria têxtil, para gomagem e amolecimento de seda e lã e na indústria de cosméticos, em sabonetes e xampu. As áreas de produção estão localizadas na sua maioria em países tropicais e sub-tropicais (RIGOTTI, 2014).

4.3.3 Obtenção a partir de tecidos animais e células vegetais

Ainda se produz um número importante de enzimas de tecidos animais e vegetais, por exemplo, a renina que é usada na elaboração de queijos, as proteases vegetais usadas em antiinflamatórios e as amilases usadas na preparação de mostos de cerveja (COELHO, s/d).

As enzimas de origem vegetal são produzidas em grande parte como subprodutos da atividade agrícola como a papaína que é obtida através do látex do mamão e a bromelina obtida através do talo da pinha (COELHO, s/d).

As células vegetais (figura 17): providas de uma rígida parede celular de natureza celulósica, são muito sensíveis aos esforços de corte, podendo ser eficientemente extraídas em moinhos convencionais.

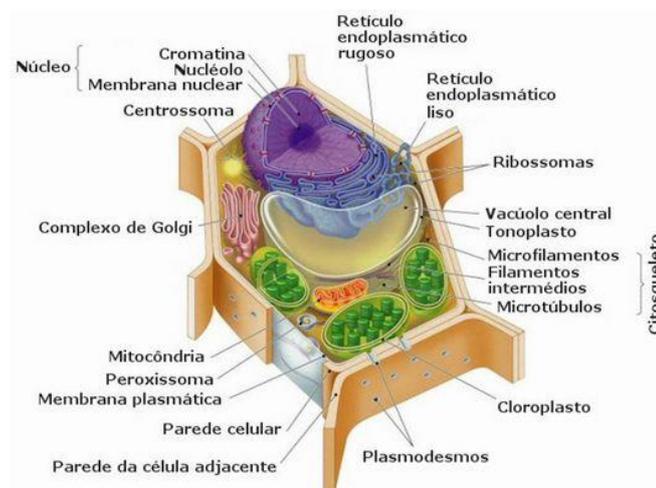


Figura 17. Célula vegetal vista em corte (In: COELHO, s/d)

As enzimas de tecidos requerem um processo de ruptura celular para a sua recuperação. A extração é uma operação simples e de baixa incidência no custo de produção (COELHO, s/d).

As células animais (figura 18): desprovidas de parede celular podem ser facilmente rompidas (corte ou choque osmótico).

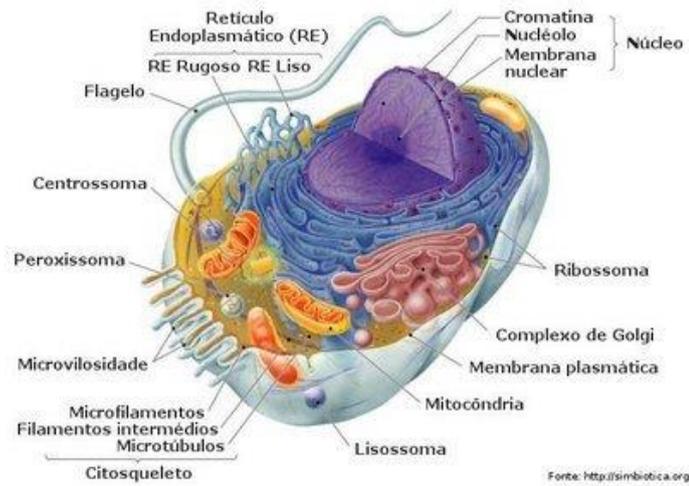


Figura 18. Célula animal vista em corte (In: COELHO, s/d)

5 APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO

Atualmente, a maior dificuldade que os professores enfrentam em sala de aula é conseguir prender a atenção de seus alunos, pois são variados os motivos que deixam os mesmos dispersos e com falta de interesse nos estudos. Implantar aulas práticas seria uma maneira interessante e fácil de demonstrar aos alunos os conceitos de cada matéria a ser ensinada.

A Química visa o aprendizado na área de ciências da natureza, matemática e suas tecnologias e na qualidade da disciplina para o desenvolvimento intelectual dos alunos. Porém, os Parâmetros Curriculares Nacionais (PCNs) de química, estão preocupados diante das dificuldades impostas por alunos em aprender química, da importância em estudar esta disciplina, levando em consideração que a dificuldade diante o conceito também está relacionado do modo que o conhecimento é transmitido para o aluno (PAZ et al, s/d)

Estudar Química sem uma orientação didática pode ser uma atividade exaustiva para os alunos, considerando as vastas infinidades de símbolos que será abordado ao longo dessa ciência. Muitos alunos por sua vez entram em um processo de decorar os símbolos e formulas, desde modo é de suma importância que o ensino de química seja relevante aos estudantes. O professor tem a necessidade de buscar um recurso para facilitar a aprendizagem e tornar as aulas de química mais agradáveis e dinâmicas para os alunos, dentre os recursos utilizaremos essa abordagem da química com o cotidiano do aluno através dos estudos de aulas práticas (MEDEIROS et al, s/d).

5.1 AULA EXPERIMENTAL

A gelatina, que servirá como modelo protéico de substrato nesse experimento, é um produto comercial obtido a partir da hidrólise parcial do colágeno. O colágeno é uma proteína presente em tecidos conjuntivos, como os tendões e as cartilagens, na matriz orgânica dos ossos e na córnea dos olhos. Quando hidratada, a gelatina

forma uma estrutura definida como gel. Para a obtenção de um gel transparente, homogêneo e flexível a partir da gelatina, é preciso reduzir a temperatura da solução em menos de 30°C.

As macromoléculas, como as que constituem as gomas, a gelatina ou a celulose, podem se ligar a moléculas de água, formando uma rede contínua que se estenderia em toda a massa da solução. Dessa forma, para se imobilizar uma grande quantidade de água, são necessárias pouquíssimas macromoléculas graças aos seus numerosos sítios hidrofílicos — os quais, nas proteínas, são responsáveis por interações químicas como as pontes de hidrogênio com as moléculas de água (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

Nesse experimento, portanto, poderá ser estudada a atividade de enzimas proteolíticas presente em alguns frutos, utilizando a gelatina como modelo protéico de substrato. O princípio desse método consiste em monitorar a gelificação, processo que depende da integridade das cadeias poliméricas da proteína. Caso haja alguma fragmentação nas cadeias poliméricas, a formação do gel ficará comprometida, uma vez que o processo de gelificação, conforme o descrito acima, não ocorrerá (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

5.2 PARTE EXPERIMENTAL

5.2.1 Material

- Abacaxi
- Mamão
- Morango
- Amaciante para carnes
- Peneira
- Liquidificador (ou mixer)
- Microondas (pode ser substituído por aquecimento a lamparina)

- Geladeira (pode ser substituído por banho de gelo)
- Gelatina sem sabor
- Tubos de ensaio
- Pipetas volumétricas (pode ser substituído por seringas graduadas)
- Espátula
- Faca
- Bastão de vidro
- Béquer 500 ml
- Canudos plásticos (para refrigerantes)
- Caneta esferográfica

5.2.2 Procedimento experimental

Preparar o suco das frutas previamente picadas, utilizando o liquidificador e um pouco de água. O suco deve ser peneirado e reservado. Em seguida, dissolver aos poucos o pó da gelatina em 200mL de água fria e colocar essa solução no forno de microondas por 30s, em potência alta. Preparar, então, a seqüência de tubos de ensaios descrita na Tabela 1.

Tubo	Composição	Teste
1	10 ml gelatina + 3 ml de água	Controle negativo
2	10 ml gelatina + 3 ml de suco de mamão	Mamão
3	10 ml gelatina + 3 ml de suco de morango	Morango
4	10 ml gelatina + 3 ml de suco de abacaxi	Abacaxi
5	10 ml gelatina + ponta de espátula para amaciante de carne dissolvida em 3 ml de água	Controle positivo

Tabela 1. Seqüência de tubos observados/analísado no experimento.

Devem ser preparados dois controles: um negativo e outro positivo. O controle negativo, produzido apenas com gelatina e água, funciona como o “padrão de não-

ocorrência de proteólise”. O controle positivo, feito com amaciante de carne que contém a enzima proteolítica papaína que hidrolisa a gelatina, funciona como o “padrão de ocorrência de proteólise”.

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

Para avaliar a viscosidade inicial do meio (antes da gelificação), introduz-se em cada tubo de ensaio um canudo plástico. Com uma caneta, anota-se no próprio tubo até onde os canudos se inseriram.

Feito isso, retirar os canudos e deixar os tubos à temperatura ambiente por 10 min. Depois desse período, os tubos deverão ser colocados na geladeira onde permanecerão por mais 20 min para que ocorra a gelificação. Após esse período, deve-se avaliar a gelificação, colocando novamente os canudos plásticos dentro dos tubos de ensaio e anotar, com uma caneta, até onde estes se inseriram no interior dos tubos.

5.3 QUESTÕES PROPOSTAS

Para verificar o aprendizado, pode-se elaborar alguns questionamentos, tais como:

- Quais as frutas utilizadas no experimento que apresentam enzima proteolítica? Como é possível chegar a essa conclusão?
- Quais variações poderiam ser feitas nesse experimento para evidenciar ainda mais o efeito da enzima? (sugestão: relacione tais variações com os fatores que afetam atividade enzimática).
- Qual seria o resultado esperado caso fosse utilizado suco de figo no experimento? Explique.
- Além das descritas no texto, para quais outros fins essas enzimas proteolíticas poderiam também ser utilizadas?
- Explique por que um fruto possui enzimas proteolíticas (relacionar com processo de amadurecimento).

6 MATERIAIS E MÉTODOS

Para alcançar o objetivo deste trabalho, utilizaram-se os seguintes materiais.

6.1 MATERIAL

- Frutos verdes de mamão
- Água
- Cloreto de sódio
- Centrífuga
- Tubos de ensaio
- Pipetas
- Espátula
- Becker
- Ágar
- Alça de Drigalski
- Caldo nutriente estéril
- Estufa
- Placas de Petri
- Discos de papel filtro
- Pinça
- Régua
- Autoclave

- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*
- Biureto
- Gelatina
- Freezer
- Canudos plásticos

6.2 PROCEDIMENTO

6.2.1 Extração

O látex foi obtido através de incisões longitudinais na casca do fruto verde do mamão. A partir de 10g de látex adicionou-se 20ml de água com 3g de cloreto de sódio e fez-se a centrifugação. Após este processo, obteve-se aproximadamente 26 ml de preparo enzimático, extraído do látex, a papaína bruta.

6.2.2 Teste Qualitativo – Biureto

É ampla a variedade de compostos capazes de reagir com proteínas e formar compostos coloridos. Uma reação geral que caracteriza ligações peptídicas é chamada reação de biureto (estrutura originada a partir da decomposição da ureia, quando submetida a temperatura de aproximadamente 180° C) que fornece resultado positivo nesse teste (PETKOWICZ, 2007).

O biureto, ao reagir com íons Cu^{2+} em meio alcalino, resulta em uma solução de coloração violeta, sendo este o princípio do método e é recomendado pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC) como método oficial (FERREIRA et al., 2007).

Para verificar se a enzima realmente está presente no látex extraído, foi realizado o teste de biureto. Separou-se o precipitado do sobrenadante da amostra obtido após a centrifugação colocando-os em béqueres diferentes e foi adicionado algumas gotas de biureto. O béquer contendo o precipitado adquiriu a coloração arroxeadada e o do sobrenadante não, pois a enzima fica apenas no precipitado.

6.2.3 Teste de Atividade Enzimática

Pesou-se 2g de gelatina incolor sem sabor e dissolveu-se em 20 ml de água destilada, em um béquer com a ajuda de um bastão de vidro. Após total solubilização a gelatina foi levada a estufa de banho maria à 60°C. A gelatina ficou na estufa até o momento da sua utilização.

Com a pipeta, colocou-se 2 ml do extrato bruto de papaína em um tubo de ensaio de 20 ml. Em outro tubo foi adicionado 2 ml de água. O tubo com extrato e o de água foram mantidos à temperatura ambiente. Em cada um dos tubos foi adicionado 10 ml da gelatina dissolvida e foram submetidos a uma pequena agitação para a mistura das substâncias. Após agitação, os tubos foram levados a refrigeração por aproximadamente 20 minutos.

6.2.4 Teste de Atividade Bactericida

Foi empregada a avaliação antimicrobiana *in vitro*, pelo teste da difusão em ágar *Brain Heart Infusion* (BHI), por se tratar de um método de prova qualitativa adequado para estudar a sensibilidade das bactérias de crescimento rápido. O diâmetro do halo de inibição expressa a difusão do agente, determinando o poder antimicrobiano do material testado (BRASIL, 2004).

Os micro-organismos foram semeados pela alça de platina em tubos de ensaio rotulados contendo cinco ml de caldo nutriente estéril e incubados a 36 °C por 24 horas. Após esse período, cada micro-organismo será semeado em duas placas de Petri, identificadas e esterilizadas, contendo ágar nutriente. Os micro-organismos

foram distribuídos, com alça de Drigalski estéril, por técnica de rolamento, em todo o meio de cultura.

Os discos estéreis de papel filtro de um centímetro (cm) de diâmetro foram embebidos nas soluções com auxílio de pinças estéreis, até a completa absorção dos produtos utilizados no ensaio e distribuídos nos meios de cultura, devidamente identificados e numerados.

Todas as placas foram colocadas em estufa bacteriológica a 36°C por 24h. Após este período, a leitura do resultado foi realizada a olho nu e foi medido o halo de inibição com régua (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2007).

7 RESULTADOS E DISCUSSÕES

7.1 EXTRAÇÃO DA PAPAÍNA DO LÁTEX DO MAMÃO

A partir de 11 mamões verdes (figura 19) foram obtidos aproximadamente 10 ml de extrato bruto de látex (figura 20). Conservados sob refrigeração até o momento de uso (figura 21).



Figura 19. Fruto com incisões



Figura 20. Extrato bruto



Figura 21. Extrato mantido sob refrigeração

Do extrato bruto, pesou-se 10,1987g e adicionou-se 20 ml de água mais 3,0188g de cloreto de sódio, agitou-se e foi submetido à centrifugação por 25 minutos (figura 22).



Figura 22. Amostra na centrífuga

Obteve-se então, o precipitado contendo a enzima (figura 23) que após separação do sobrenadante (figura 24 e 25), foi submetido ao teste de biureto para comprovação da presença da proteína.

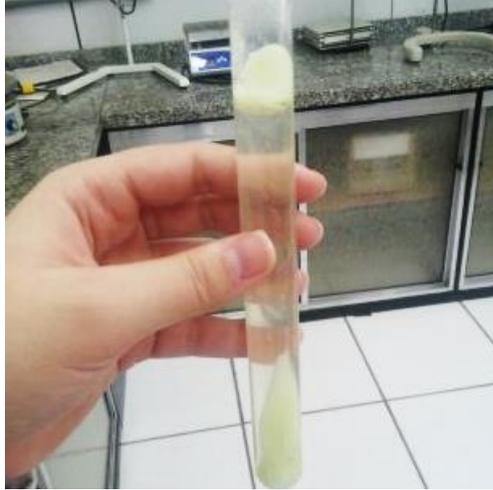


Figura 23. Tubo com a amostra, precipitado visível



Figura 24. Precipitado da amostra

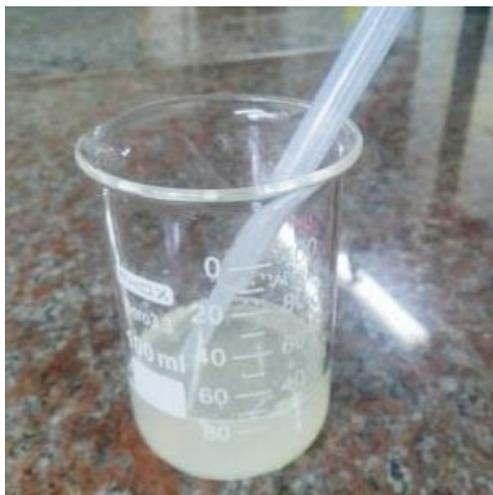


Figura 25. Sobrenadante

A presença da proteína foi confirmada pois a solução obtida apresentou coloração roxa como mostrado na figura 26.

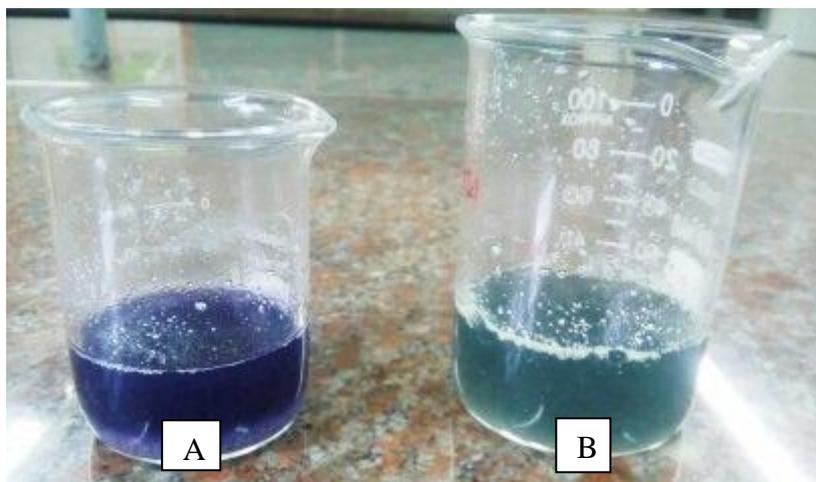


Figura 26. Amostras após adição de biureto A) Solução do precipitado contendo enzima; B) Solução do sobrenadante sem a presença de enzima

Como apenas a solução contendo precipitado apresentou a coloração para biureto, pode-se afirmar que na solução de sobrenadante não há presença de enzima.

A enzima não foi diluída, ficando visível no precipitado da amostra com a adição de biureto (figura 27).



Figura 27. Precipitado contendo a enzima

7.2 TESTE DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Foi pesado aproximadamente 2g de gelatina incolor e sem sabor em um béquer (figura 28) e feita sua solubilização com 20 ml de água com o auxílio de um bastão de vidro (figura 29) e levada em banho-maria até o momento do uso em estufa de 60°.



Figura 28. Gelatina



Figura 29. Gelatina solubilizada

Em um tubo de ensaio foi adicionado 3 ml de extrato bruto de papaína e em outro 3 ml de água (figura 30).



Figura 30. Tubos com extrato bruto e água

Em seguida, foi adicionado em cada tubo 10 ml de gelatina solubilizada e agitados para a mistura das substancias (figura 31). Com o auxílio de um canudo plástico imerso nos tubos podemos ver que ainda não houve gelatinização das substâncias (figura 32).

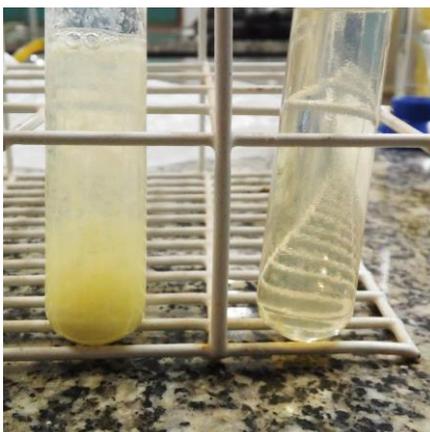


Figura 31. Tubos com extrato bruto e água e gelatina solubilizada

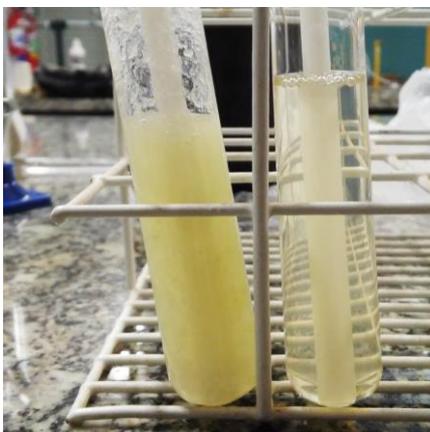


Figura 32. Tubos com canudos imersos

Os tubos foram mantidos a refrigeração por aproximadamente 20 minutos para a gelatinização das substâncias. Após este tempo, ao adicionar os canudos novamente, podemos observar que houve a completa solubilização do tubo contendo água e o tubo contendo o extrato permaneceu líquido (figura 33), isto se deve a catálise realizada pela enzima papaína que em contato com o colágeno da gelatina não hidrolisa.



Figura 33. Tubos após refrigeração

Hidrólise é uma ação enzimática que ocorre modificações químicas nos compostos para melhorar as propriedades funcionais das proteínas. Porém existem substâncias capazes de inibir ou retardar esta ação nos compostos, entre eles, podemos destacar o colágeno, que foi empregado neste trabalho na forma de gelatina, como um inibidor enzimático, pois o mesmo não permitiu a hidrólise da papaína. O mesmo pode ser observado no estudo feito por Pimentel (2011), que utilizou a bromelina como inibidor enzimático, obtendo resultados semelhantes.

7.3 TESTE DE ATIVIDADE BACTERICIDA

Após preparo dos meios e adicionados as placas de Petri, com os micro-organismos já inoculados a 24 horas, foi adicionado as placas os micro-organismos *Staphylococcus aureus* em triplicata e *Escherichia coli* também em triplicata.

Para o micro-organismo *Staphylococcus aureus*, a enzima se mostrou eficiente na inibição do crescimento desta bactéria, formando halo de 2mm (Figura 34).

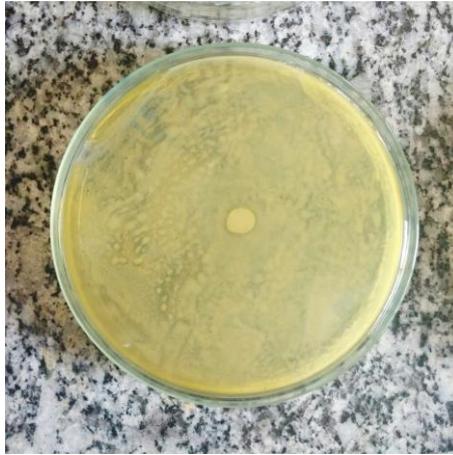


Figura 34. Placa de Petri com *Staphylococcus aureus*

Para o micro-organismo *Escherichia coli*, a enzima não foi eficiente na inibição do crescimento da bactéria, pois esta não formou halo e houve o crescimento bacteriano ao redor do papel (Figura 35).



Figura 35. Placa de Petri com *Escherichia coli*

De acordo com o estudo de Mota, Turrini e Poveda (2015), a ação antibacteriana da papaína é pouco estudada, mas seu potencial possui evidências científicas. Assim, necessitam-se estudos com variações de concentração tanto do inoculo, quanto do extrato bruto do mamão.

8 CONCLUSÃO

Após os testes realizados no extrato bruto da papaína conclui-se que o extrato possui a enzima papaína como foi comprovado a partir do teste de biureto. No teste de atividade enzimática, o extrato bruto da enzima mostrou-se capaz de realizar catálise, pois em contato com colágeno não foi hidrolisado. O extrato apresentou ação inibidora no crescimento de *Staphylococcus aureus*, mas não houve a mesma inibição com *Escherichia coli*. Assim há a necessidade de verificações futuras utilizando diferentes concentrações de micro-organismos para observar se o extrato não inibe completamente ou pode inibir pequenas concentrações do micro-organismo.

9 REFERÊNCIAS

AFAQ, S.; IQBAL, J. Immobilization and stabilization of papain on chelating sepharose: a metal chelate regenerable carrier. **Electronic J. Biotech.** **4 (3):** 120 – 124, 2001.

AMARAL, Silvia. **Você sabe o que é a papaína?** 2008 – Disponível em: < http://www.silviaamaral.com.br/noticias2_detalhes.php?cod=88&tipo=artigos>. Acesso em: 15 mar. 2014

ARAÚJO, F. A. R.; MESQUITA, E. F.; CAVALCANTE, L. F.; GONDIM, S. C.; DANTAS, T. A.; CAVALCANTE, I. H. L. **Composição de macronutrientes em folhas de mamoeiro desenvolvido em solo com biofertilizante líquido.** In: **MARTINS, D. dos S. (Ed.). Papaya Brasil: mercado e inovações tecnológicas para o mamão.** Vitória, ES: INCAPER, 2005. p. 351-354.

BALBACH, Afons; BOARIM, Daniel S.F. **As frutas na medicina natural** – Edição Vida Plena – Itaquaquecetuba – SP, 2015.

BRACHT, A. e ISHII-IWAMOTO, E.L. **Métodos de laboratório em bioquímica.** São Paulo: Manole, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Secretaria de Política Agrícola. Portaria nº 247 de 18 de Julho de 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Detecção e identificação de bactérias de importância médica: módulo V. Brasília: ANVISA; 2004.

CAPUCHO, Helaine. **Desenvolvimento de formulações tópicas contendo papaína para o tratamento de feridas.** 2007, 123p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, São Paulo, 2007.

CARDOSO, Rejane. **Histórico das Enzimas.** Disponível em < <http://arquivos-serbiologia.blogspot.com.br/2009/12/historico-das-enzimas.html>>. Acesso em: 17 jul. 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; informational supplement seventeenth edition. Document M100-S17. NCCLS. 2007;27(1):1-173

CLUBE DA FRUTA. **Mamão.** Disponível em <<http://clubedafrutabh.com.br/plus/modulos/conteudo/?tac=mamao>>. Acesso em: 15 jul. 2015.

COELHO, E. F.; OLIVEIRA, A. M. G. Fertirrigação do mamoeiro. In: MARTINS, D. dos S. **Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno.** Vitória: INCAPER, 2004. p. 237-250.

COELHO, Maria Alice Zarur; AMARAL, Priscilla Filomena Fonseca. **Produção de Enzimas** – Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, s/d.

DOMINGUES, R.J.; YOUNG, M.C. M.; TÖFOLI, J.G.; MATHEUS, D.R. **Avaliação do potencial antifúngico de extratos de plantas e de basidiomicetos nativos sobre Colletotrichum acutatum, Alternaria solani e Sclerotium rolfsii.** *Summa Phytopathologica*, Vol 37, Nº3, p.149-151, 2011.

DUBOS, J. Louis **Pasteur: Free Lance of Science, Gollancz.** in K.L. Manchester (1995), Louis Pasteur (1822–1895) – Chance and the prepared mind, Trends in Biotechnology, p.511-515, 1951.

FERREIRA, R.B.; FRANZINI, V.P. e GOMES NETO, J.A. Determinação de biureto em ureia agroindustrial por espectrofotometria. **Eclética Química.** Vol 32, Nº 1, p. 43-48, 2007.

FRAIFE FILHO, Gilberto de Andrade; DANTAS Jorge Luiz Loyola; LEITE, José Basílio Vieira; OLIVEIRA, João Roberto Pereira. Avaliação de variedades de mamoeiro no extremo sul da Bahia. **Magistra**, Vol 13, Nº 1, jan./jun., 2001.

FORMIGA, Suzana da Silveira. **Produtos Naturais são tendência em tratamentos de saúde.** Disponível em: <<https://phmagistral.wordpress.com/2014/09/12/produtos-naturais-sao-tendencia-em-tratamentos-de-saude/>>. Acesso em: 15 jun. 2015.

IBGE. Censo agropecuário. [S.I.], 2000. Disponível em <<http://www.sidra.ibge.gov.br/cgi-bin/prtaqbl>>. Acesso em: 10 jun. 2014.

JUNIOR, Marcos. **Enzimas – Funções e classificação** – Disponível em: <<http://www.estudopratico.com.br/enzimas-funcoes-e-classificacao/>>. Acesso em: 20 abr. 2015.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de Bioquímica** – 4. ed. São Paulo: Editora Sarvier, 2006.

LIMA, Silvio Luís Toledo; JESUS, Marcelo Bispo; SOUSA Roberta Regina Ruela; OKAMOTO André Kimura; LIMA, Renata; FACETO Leonardo Fernandes. Estudo da Atividade Proteolítica de Enzimas Presentes em Frutos. **Química Nova na Escola**. Nº 28, Maio, 2008, p.47-49.

MARTINDALE. **The complete Drug reference**. 34^a ed. Londres, p. 1727-1728, 2005.

MEDEIROS, A. S.; MORAIS, A. E. R.; LIMA, S. L. C.; REINALDO, S. M. A. S.; FERNANDES, P. R. N. Importância das aulas práticas no ensino de Química. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO IFRN. **Anais do IX Congresso de Iniciação Científica do IFRN – Tecnologia e Inovação para o Seminário**, p.1881-1886.

MENARGUEZ , Ana Torres; MORENO, Ana G. **O natural é sempre bom? Cinco alimentos que questionam isso**. Disponível em: <http://brasil.elpais.com/brasil/2014/09/10/sociedad/1410339932_024093.html>. Acesso em: 15 jul. 2015.

MOTA, Valéria Siqueira; TURRINI, Ruth Natalia Teresa; POVEDA, Vanessa de Brito. Atividade antimicrobiana do óleo de Eucalyptus glóbulos, xilitol e papaína: estudo piloto. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, vol. 49, 2015, p. 216-220.

MUSSATTO, Solange Inês; FERNANDES, Marcela; MILAGRES, Adriane Maria Ferreira. Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo – **Enzimas** – Disponível em: <<http://cienciahoje.uol.com.br/revista-ch/revista-ch-2007/242/enzimas-poderosa-ferramenta-na-industria>>. Acesso em: 20 abr. 2015

PAZ, Gizeuda de Lavor; PACHECO, Hilana de Farias; NETO, Cícero O. Costa; CARVALHO, Rita C. P. Santos. **Dificuldade no Ensino Aprendizagem de Química no Ensino Médio em Algumas Escolas Públicas da Região Sudeste de Teresina**.

- PETKOWICZ, C.L.O. **Bioquímica: aulas práticas**. 7. ed. Curitiba: Ed. UFPR, 2007.
- PIMETEL, Shirlei Maria Recco. **Identidade dos Seres Vivos**. Aula 2. Campinas: Embriao, 2011.
- OLIVEIRA, Juliana T. C. **Revisão Sistemática de literatura sobre o uso terapêutico do ozônio em feridas**. 2007, 256p. (Dissertação (pós-Graduação) – Universidade de São Paulo – Escola de Enfermagem, São Paulo, 2007.
- RAW, I; MENNUCCI, L. e KRASIL-CHIK, M. **A biologia e o homem**. São Paulo: Edusp, 2001.
- RELVA VERDE, Produtos Naturais. **Qual a diferença entre produtos naturais, orgânicos e integrais?** – Disponível em: <<http://www.relvaverde.com.br/saude/qual-a-diferenca-entre-produtos-naturais-organicos-e-integrais>>. Acesso em: 15 jul. 2015.
- RIBEIRO, E.P. e SERAVALLI, E.A.G. **Química de alimentos**. São Paulo: Ed-gard Blucher, 2004
- RIGOTTI, Marcelo. **Cultura do Mamoeiro** – Disponível em: <<http://www.portaldahorticultura.xpg.com.br/CulturadoMamoeiro.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2014
- SAID, S.; PIETRO, R.C.L.R. **Enzimas como agentes biotecnológicos**. Ribeirão Preto: Legis Summa, 2004.
- SEBRAE NACIONAL. **O cultivo e o mercado do mamão** – Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/O-cultivo-e-o-mercado-do-mam%C3%A3o>>. Acesso em: 23 mar. 2015
- SERRANO, L.A.L.; CATTANEO, L.F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, vol 32, nº 3, 2010. Texto de capa.
- THIS, H. **Um cientista na cozinha**. 3ed. São Paulo: Ática, 1998
- TRINDADE, A.V. **Mamão produção: aspectos técnicos**. Brasília: EMBRAPA. Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 77p.

VIEGAS JR, Cláudio; BOLZANI, Vanderlan da Silva; BARREIRO, Eliezer J. Os Produtos Naturais e a Química Medicinal Moderna. **Química Nova**, Vol 29, Nº 2, janeiro, 2006, 326-337p.