

EXTRAÇÃO DA PAPAÍNA E PRODUÇÃO DE BIOPLÁSTICO PARA TRATAMENTO ALTERNATIVO DE FERIDAS

Fernanda Kobus dos Santos¹, Bruna Fernanda dos Santos Sabatke², Livia Souza da Cunha³, Michelli Aparecida Bertolazo⁴, Paula Mattanna⁵

Resumo

Originada pelo mamoeiro *Carica papaya L.*, a papaína é uma enzima com ação proteolítica, extraída do látex do mamão. Essa enzima vem sendo estudada pelo seu potencial no processo de cicatrização de feridas, regeneração tecidual, ação bacteriostática, bactericida anti-inflamatória e debridante em tecidos necrosados. O bioplástico é um polímero utilizado como alternativa para redução dos impactos ambientais, podendo ser obtido a partir de matéria orgânica e microrganismos. O objetivo do estudo foi a extração da enzima papaína do mamão *Carica papaya L.* e produção do bioplástico para cicatrização de feridas. A extração da papaína ocorreu a partir do mamão verde da espécie *Carica papaya L.*, com utilização dos solventes EDTA, sulfato de amônio e etanol 96% sendo em seguida liofilizada e caracterizada com testes organolépticos, solubilidade, pH, umidade, cinzas e atividade enzimática. Após a extração da papaína, foi produzido um bioplástico para ser aplicado sobre a pele lesionada como curativo alternativo. Os resultados obtidos para as análises organolépticas foram cor bege claro, odor característico e aspecto amorfo, solubilidade parcial apenas em um dos solventes testados, pH 4,5, umidade 6,94%, cinzas 12,01% e atividade enzimática (Upe) 90,9. Conclui-se que a extração da papaína juntamente com a produção do bioplástico foi satisfatória.

Palavras-chave: Papaína. Bioplástico. Enzima.

Abstract

Originated by papaya *Carica papaya L.*, papain is an enzyme with proteolytic action, extracted from papaya latex. This enzyme has been studied for its potential in the process of wound healing, tissue regeneration, bacteriostatic action, anti-inflammatory bactericide and debridant in necrotic tissues. Bioplastic is a polymer used as an alternative to reduce environmental impacts, and can be obtained from organic matter and microorganisms. The objective of the study was to extract the enzyme papain from papaya *Carica papaya L.* and bioplastic production for wound healing. The papaya extract was obtained from the papaya L. green papaya, using EDTA, ammonium sulphate and ethanol solvents 96% and then lyophilized and characterized with organoleptic tests, solubility, pH, moisture, ashes and enzymatic activity. After papain extraction, a bioplastic was produced to be applied to the injured skin as an alternative dressing. The results obtained for the organoleptic analyzes were light beige, characteristic odor and amorphous appearance, partial solubility only in one of the solvents tested, pH 4.5, humidity 6.94%, ash 12.01% and enzymatic activity (Upe) 90,9. It is concluded that the extraction of papain together with the production of the bioplastic was satisfactory.

Keywords: Papain. Bioplastic. Enzyme.

1 Introdução

Originada a partir do látex do fruto verde do mamoeiro *Carica papaya L.*, a papaína é uma enzima capaz de fazer quebras de ligações peptídicas originando compostos simples, como

1 Acadêmicas do curso de Biotecnologia da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR) Endereço para correspondência: fernandakobussantos@gmail.com

2 Acadêmicas do curso de Biotecnologia da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR)

3 Acadêmicas do curso de Biotecnologia da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR)

4 Docentes do curso de Biotecnologia da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR)

5 Docentes do curso de Biotecnologia da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR)

aminoácidos e peptídeos. No comércio, a enzima é apresentada na forma de pó higroscópico, com odor característico e coloração variando do branco ao bege amarelado, com atividade proteolítica atuando em uma faixa de pH de 3,5 a 9 com pH ótimo entre 5 à 8 e temperatura ótima entre 65°C a 80°C, sendo solúvel em água e parcialmente solúvel em álcool, clorofórmio e éter (BORELLA *et al.*, 2015; PINTO, 2005; MONETTA, 1987).

A papaína apresenta ação bacteriostática, bactericida, anti-inflamatória, proteolítica, além de agir como agente cicatrizante, e acelerar o crescimento tecidual, devido a essa variabilidade funcional e custo baixo esta enzima tem grande importância para as indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica. Na indústria alimentícia, uma das aplicações da enzima é na clarificação de cerveja, na indústria cosmética é empregado como esfoliantes e na farmacêutica, devido a sua ação cicatrizante, é utilizada para tratamento de peles lesionadas como curativo (BORELLA *et al.*, 2015; JUNIOR *et al.*, 2015, FERREIRA *et al.*, 2005).

No tratamento de peles lesionadas a enzima é utilizada de forma tópica para todos os tipos de feridas, em concentrações que dependem da fase que a lesão se encontra, de 2% a 3% em lesões com tecido de granulação, de 4% a 6% em exsudatos purulentos ou lesões com infecção, e de 8% a 10% para tecidos necrosados. A enzima age como agente debridante, e com sua ação antiinflamatória, acelera o processo de cicatrização retirando líquidos purulentos, fazendo com que não haja crescimento de microrganismos nas feridas em razão da redução do pH no leito, e estimulando as citocinas que conseqüentemente ativam a reprodução celular (ROCHA *et al.*, 2005; JUNIOR *et al.*, 2015; FERREIRA *et al.*, 2005).

A partir dessas qualificações, há cada vez mais pesquisas comprovando a eficácia dessa enzima sobre as lesões na pele e novas aplicações alternativas para a enzima, um exemplo disso seria a utilização da papaína juntamente com um bioplástico.

Os polímeros são macromoléculas formadas por uma sequência de cópias de unidades estruturais chamadas monômeros. Essas macromoléculas dão origem aos biopolímeros/bioplástico que são produzidos a partir de organismos vivos e de matérias-primas renováveis (RODRIGUES *et al.*, 2015; BORSCHIVER *et al.*, 2008).

O amplo emprego de produtos plásticos ou polímeros não biodegradáveis derivados do petróleo, um produto de origem não renovável, e o rejeito inapropriado desses materiais, provocam o aumento do impacto ambiental. Com isso surge a necessidade de utilizar produtos que diminuam ou eliminem os danos ao meio ambiente, sendo o bioplástico uma alternativa para este problema (BRITO *et al.*, 2011).

O bioplástico possui as mesmas características do plástico comum, porém é composto de matéria orgânica. Sua síntese pode se dar através de polímeros, como amido, cana-de-açúcar e cascas de batata, ou através da ação de microrganismos como bactérias, fungos e algas (BRITO *et al.*, 2011; SERAFIM *et al.*, [200-?]).

No mercado os polímeros mais empregados são os polihidroxicanoatos (PHAs), polilactato (PLA), poliglicolatos (PGA), polímeros de amido (PA) e goma xantana, os quais apresentam as

características necessárias para os setores econômicos, sendo elas, sobretudo ser biodegradável e produzir variados produtos a partir de matérias-primas renováveis (RODRIGUES *et al.*, 2015; BORSCHIVER *et al.*, 2008; SERAFIM *et al.*, [200-?]).

Este trabalho teve como objetivo realizar a extração da enzima papaína do mamão *Carica papaya L.* e produzir um bioplástico, que apresentasse ação enzimática em forma de curativo para tratamento alternativo de feridas.

2 Materiais e métodos

2.1 Obtenção do extrato bruto do fruto

Foram utilizados 3 mamões médios verdes, da espécie *Carica papaya L.*, os quais foram cortados ao meio, retiradas as sementes e picados em cubos. Em seguida, o mesmo foi transferido para o liquidificador com adição de água para solubilização, formando uma pasta homogênea alaranjada, que posteriormente foi armazenada a -5°C (MAHECHA *et al.*, 2011).

2.2 Extração da papaína

A extração da papaína foi realizada conforme método apresentado por Mahecha *et al.* (2011), com modificações. Na extração da papaína, conforme Tabela 1 que descreve os reagentes, vidrarias e equipamentos utilizados, a pasta foi descongelada, retirado o excesso de água e transferida para dois beakers de 600 mL. Em seguida, para a eliminação de impurezas, foi adicionado sulfato de amônio anidro e EDTA até a solubilização por 10 minutos. Após a dissolução, juntamente com os dois reagentes, foi acrescentado o etanol 96% até que a concentração de álcool ficasse em 10%. Durante este processo houve precipitação parcial de uma pasta homogênea, que foi separada do líquido com impurezas através de filtração em papel filtro. A pasta precipitada foi transferida para outro Becker de 600 mL, no qual foi adicionado etanol 96% na proporção pasta:álcool de 1:3, por 10 minutos. Com este processo foi obtido um segundo precipitado, que foi separado do líquido através da filtração em papel filtro. O sólido obtido no final do processo, foi separado com pesos iguais em diferentes erlenmeyers e secado em liofilizador (Ílshin Freeze Dryer) por 4 dias.

Tabela 1: Vidrarias, reagentes e equipamentos utilizados para extração da enzima papaína.

VIDRARIAS	REAGENTES	EQUIPAMENTOS
Becker 600 mL	Sulfato de Amônio Anidro	Balança Analítica
Bastão de Vidro	EDTA	Papel Filtro
Erlenmeyers 250 ml	Etanol 96% (v/v)	Liofilizador
	Pasta de mamão	

2.3 Teste sensorial

Este teste foi realizado para identificação inicial da qualidade da enzima liofilizada, no qual foi colocada uma quantidade pequena da amostra sobre o papel filtro, e assim observadas características como odor, cor e aspecto (BORELLA *et al.*, 2015; CARDOSO, 2009).

2.4 Teste de solubilidade

Os testes de solubilidade foram realizados com água (H₂O), etanol (CH₃CH₂OH), bicarbonato de sódio (NaHCO₃), ácido clorídrico (HCl), hidróxido de sódio (NaOH), ácido sulfúrico (H₂SO₄). Na realização destes testes foram pesados 0,1g de amostra para 2 mL de cada solvente e observado se a amostra é solúvel, parcialmente solúvel ou insolúvel (BORELLA *et al.*, 2015; CARDOSO, 2009; MAHECHA *et al.*, 2011).

2.5 Teste de pH

O teste de pH foi realizado com o pHmetro (Quimis) previamente calibrado, com soluções aquosas de papaína a 2% (BORELLA *et al.*, 2015).

2.6 Determinação da umidade

A determinação foi feita através de secagem com calor, no qual se baseia na perda de peso do produto com aquecimento. Para o teste, cápsulas de porcelana foram previamente secas por 1 a 2 horas em estufa a 105°C, posteriormente colocadas em dessecador por 30 minutos para esfriar e anotados os pesos das cápsulas vazias. Em seguida, pesou-se 3g de amostra em 2 cápsulas distintas, na sequência levadas a estufa para secagem por 6 horas, resfriadas em dessecador por 30 minutos e anotados seus pesos (BORELLA *et al.*, 2015; CARDOSO, 2009).

2.7 Determinação da fração de cinzas

O procedimento consiste na determinação de perda de peso através do aquecimento a 550°C em mufla. Para este teste, utilizou-se 2 cadinhos previamente aquecidos, dessecados e posteriormente pesados em balança analítica. Em cada cadinho pesou-se 1g da amostra, que foram submetidos à incineração em placa de aquecimento. Após a formação de uma massa de cinzas, os cadinhos foram transferidos para mufla a 550°C e deixados até que o resíduo se torne branco ou cinza claro (CARDOSO, 2009).

2.8 Teste de atividade enzimática

A atividade enzimática se baseia no percentual de hidrólise de um substrato proteico. O teste foi baseado na metodologia descrita por Borella *et al.* (2015).

Para realização do teste preparou-se inicialmente uma solução de leite, utilizando-se 2,5g de leite em pó em 100 mL de água destilada. Após este procedimento em 10 mL da solução de leite foi adicionado 1g de amostra e 10g de Ácido Acético (0,01% p/p). Em seguida, o conteúdo foi agitado até a formação de coágulos e observado o tempo de coagulação, o qual foi utilizado para o cálculo da atividade enzimática (Upe – unidade de potência enzimática):

$$Upe = 1000 \times (E \times t)^{-1}$$

Onde:

E: miligramas de amostra usados para precipitar 10 mL do leite

t: min.

2.9 Produção do bioplástico

Para a produção do bioplástico, conforme Tabela 2 que apresenta as vidrarias, reagentes e equipamentos utilizados, pesou-se em um bécker 5 g de amido de milho, no qual foi acrescentado 40 mL de água destilada, 4 mL de glicerina 50%, 6 mL de HCl 0,1 M. Esta mistura foi agitada e aquecida em chapa aquecedora por 10 minutos a 60°C, até a formação de viscosidade. Em seguida, adicionou-se 2 mL de NaOH 0,1 M para que a viscosidade fosse reduzida, e transferiu-se o bioplástico para uma placa relógio para que secasse a temperatura ambiente (MALAJOVICH, [200-?]).

Tabela 2: Vidrarias, reagentes e equipamentos utilizados na produção do bioplástico com a enzima papaína liofilizada.

VIDRARIAS	REAGENTES	EQUIPAMENTOS
Bécker	Água destilada	Termômetro
Pipetas graduadas	Glicerina 50% (v/v)	Chapa Aquecedora
Bastão de vidro	Ácido Clorídrico 0,1 M (HCl)	Balança Analítica
Proveta	Hidróxido de Sódio 0,1 M (NaOH)	
Placa relógio	Amido de Milho	
	Papaína Liofilizada	

3 Resultados e discussão

3.1 Teste sensorial

A amostra em análise apresentou coloração bege claro, odor característico e aspecto amorfo.

Os resultados alcançados a partir do teste sensorial (Tabela 3) demonstraram que a amostra avaliada obteve as mesmas características descritas na literatura e são semelhantes ao padrão descrito por Borella *et al.* (2015), no qual avaliou em sua pesquisa, 4 amostras distintas da enzima

papaína presentes no mercado, descrevendo as características físico-químicas (pH, solubilidade, % de umidade), propriedades organolépticas, microbiológicas e enzimáticas (ASH *et al.*, 1996).

Tabela 3: Características organolépticas da enzima papaína liofilizada, comparados ao padrão obtido por Borella *et al.* (2015).

	AMOSTRA	Borella et al. (2015). (PADRÃO)
COR	Bege Claro	Bege Claro
ODOR	Característico	Característico
ASPECTO	Amorfo	Amorfo

3.2 Teste de solubilidade

A amostra avaliada demonstrou características de solubilidade semelhantes e diferentes dos padrões de Borella *et al.* (2015) e Mahecha *et al.* (2011), conforme Tabela 4. Estes últimos autores extraíram a papaína a partir do látex do mamão (*Carica papaya* L.), testando diferentes concentrações de látex:álcool, tipos de secagem e caracterizando a enzima por distintos testes, como físico-químicos (umidade, cinzas, pH, solubilidade), microbiológicos e de atividade enzimática.

O extrato obtido da amostra apresentou insolubilidade em água, diferentemente dos resultados dos autores Borella *et al.* (2015) e Mahecha *et al.* (2011), os quais demonstram solubilidade. Esta diferença pode ter ocorrido devido à incorporação do solvente a casca, o que mostra que o método de extração não é adequado quando se utilizam cascas. Para os solventes etanol 96%, ácido clorídrico, hidróxido de sódio e ácido sulfúrico o liofilizado apresentou insolubilidade o qual coincidiu com os resultados encontrados na literatura. Já no solvente bicarbonato de sódio, a amostra foi parcialmente solúvel igualmente a descrita por Mahecha *et al.* (2011)

Tabela 4: Teste de solubilidade da enzima papaína liofilizada em diferentes solventes, comparado a outros dois autores.

	AMOSTRA	Borella et al. (2015). (PADRÃO)	Mahecha et al. (2011). (PADRÃO)
ÁGUA	Insolúvel	Solúvel	Solúvel
ETANOL 96%	Insolúvel	Insolúvel	-
BICARBONATO DE SÓDIO	Parcialmente Solúvel	-	Parcialmente Solúvel
ÁCIDO CLORÍDRICO	Insolúvel	-	Insolúvel
HIDRÓXIDO DE SÓDIO	Insolúvel	-	Insolúvel
ÁCIDO SULFÚRICO	Insolúvel	-	Insolúvel

3.3 Teste de pH

Conforme observado na Tabela 5 a análise da amostra apresentou pH mais ácido (4,5) quando comparada aos valores padronizados na farmacopeia americana (United States Pharmacopeial

Convention), a qual indica variação de pH entre 4,6 a 6,2 e aos autores Borella *et al.* (2015), Mahecha *et al.* (2011) e Paques (2005) que avaliou em sua pesquisa, o reaproveitamento da casca do mamão formosa para extração de enzimas hidrolíticas e caracterizando-as quanto a estabilidade, pH, temperatura, reações de hidrólise e esterificação. Esta acidez pode ter ocorrido devido a variação de pH dos frutos, época de colheita, tipos de solo, presença de solventes incorporados na amostra.

Tabela 5: Determinação de pH em soluções de papaína a 2%, comparados ao pH dos padrões de outros autores.

	AMOSTRA	Borella et al. (2015). (PADRÃO)	Mahecha et al. (2011). (PADRÃO)	Paques (2005).
pH	4,5	5,18	5,09	5,23

3.4 Determinação da umidade e cinzas

O resultado obtido, em duplicata, a partir do teor de umidade da amostra foi de 6,94% (Tabela 6), mostrando-se superior aos valores apresentados por Borella *et al.* (2015) e Mahecha *et al.* (2011).

Tabela 6: Resultados dos valores de umidade e cinzas obtidos da amostra liofilizada, comparados a outros dois autores.

	Amostra	Borella et al. (2015). (PADRÃO)	Mahecha et al. (2011). (PADRÃO)
Média em % de umidade	6,94%	3,50%	6,00%
Desvio padrão da umidade*	0,14	-	-
Média em % de cinzas	12,01%	-	9,46%
Desvio padrão de cinzas*	0,12	-	-

* Os dois autores não apresentaram os valores de desvio padrão.

Este valor de umidade encontra-se dentro do padrão descrito na farmacopeia americana (United States Pharmacopeial Convention) de até 7,0%, sendo assim o valor adquirido não altera a estabilidade e armazenagem do produto.

A análise determinada pelo teor de cinzas da amostra, em duplicata, foi de 12,01%, enquanto que o valor descrito por Mahecha *et al.* (2011) foi de 9,46%. Esta diferença pode ser devido ao processo de extração da enzima, o qual empregou EDTA que atua como agente quelante formando um complexo com íons metálicos.

3.5 Teste de atividade enzimática

O valor obtido de Upe para a amostra foi de 90,9 valor que se encontra superior ao de Borella *et al.* (2015). A diferença na atividade enzimática pode ocorrer devido a temperatura do local da reação, concentração da enzima presente na solução e uma maior concentração da enzima papaína no extrato testado.

Tabela 7 – Valores obtidos para atividade enzimática em comparação ao padrão descrito por Borella *et al.* (2015).

	Amostra	Borella et al. (2015). (PADRÃO)
Atividade enzimática (Upe)	90,9	69,5

3.6 Desenvolvimento de bioplástico com enzima papaína

O bioplástico teve como finalidade a utilização da enzima papaína como um método alternativo para curativos, empregados na cicatrização de peles lesionadas. A figura 1 representa o produto final, que após a secagem demonstrou cor alaranjada, superfície áspera, sem dissolução em água, pouca maleabilidade e aderência na pele.

As alternativas para a produção do bioplástico com a enzima papaína seriam a não utilização de ácidos e bases na composição o que o tornaria menos agressivo a pele, torná-la menos áspera, melhor dissolução em água consequentemente adquirindo maior aderência e maleabilidade.



Figura 1 – Foto do bioplástico produzido com a enzima papaína.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos conclui-se que, a extração da papaína foi efetiva, pois o teste de atividade enzimática demonstrou a presença da papaína no extrato liofilizado. A partir desta extração foi desenvolvido um bioplástico com características satisfatórias. Contudo, existe a necessidade de realizar modificações no processo de extração da enzima, como solventes que não sejam incorporados pela amostra e não alterem a solubilidade e pH, e modificações no produto final, como melhor aderência e maior maleabilidade. Ainda, para utilização do bioplástico como curativo precisam ser realizados estudos clínicos que comprovem a eficácia da enzima como curativo.

Referências

- ASH, J. E.; BUDAVARI, S.; O'NEILL, M.; SMITH, A.; HECKELMAN, P. E.; KINNEARY, J. *The Merck Index*. Chapman and Hall, 12.ed, p.1205, 1996.
- BORELLA, J. C.; PÁDUA, M. de.; STEVANATO, M. C. B. Estudo comparativo para avaliação da qualidade de amostras de papaína comercializadas por empresas fornecedoras de insumos farmacêuticos do estado de São Paulo. *Electronic Journal of Pharmacy*, vol.XII, núm.4, p.24-31, 2015.
- BORSCHIVER, S.; ALMEIDA, L. F. M.; ROITMAN, T. Monitoramento Tecnológico e Mercadológico de Biopolímeros. Rio de Janeiro, 2008.
- BRITO, G. F.; AGRAWAL P.; ARAÚJO E. M.; MÉLO T. J. A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, Campina Grande, vol.6.2, p.127–139, 2011.
- CARDOSO, C. M. Z. *Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para farmácia magistral*. São Paulo: Pharmabooks, 2009.
- FERREIRA A. M.; OLIVEIRA, K. A.; VIEIRA L. C.; ROL J. L. Revisão de estudos clínicos de enfermagem: utilização de papaína para o tratamento de feridas. *Revista Enfermagem*, Rio de Janeiro, p. 382-389, 2005.
- JUNIOR, L. C de. B.; FERREIRA, P. de. L. Cicatrização de feridas contaminadas tratadas com papaína. Ribeirão Preto, p.168-74, 2015.
- MAHECHA, M. M. A.; RODRÍGUEZ, O. M.; CORREA, H. A. M. Estudo do processo de extração de papaína a partir do látex do fruto de mamão (Carica papaya L.) cv. Maradol. *Acta Agronômica*, Colombia, vol.60, núm.3, p.219-225, 2011.
- MALAJOVICH, M. A. Bioplásticos. Guias de atividades. Biotecnologia: ensino e divulgação. Disponível em: <https://bteduc.com/guias/45_Bioplasticos_Amido_2.pdf>. Acesso em: 16 de maio de 2017.
- MONETTA, L. Uso da papaína nos curativos feitos pela enfermagem. *Revista Brasileira de enfermagem*, Brasília, p. 63-73, 1987.
- PAQUES, F. W. *Extração e caracterização da fração lipolítica de resíduos de processamento de mamão formosa*. 98 p. Dissertação (mestrado em Ciências de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- PINTO, C. A. S de. O. *Estudo comparativo da estabilidade de formulações cosméticas contendo papaína livre e modificada*. 145 p. Dissertação (mestrado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- ROCHA, R. P. de. A.; GURJÃO, W. S.; JUNIOR, L. C. B. Avaliação morfológica da cicatrização de lesões úlcéricas assépticas tratadas com soluções de papaína. *VII congresso virtual hispanoamericano de anatomía patológica y I congreso de preparaciones virtuales por internet*. 2005
- RODRIGUES, K.; LIMA, M.; GONZALES, M.; Kretzmann, N. Produção de bioplástico a partir da casca da batata (*Solanum tuberosum*). *XI Semana de Extensão, Pesquisa e Pós-Graduação - SEPesq Centro Universitário Ritter dos Reis XI Semana de Extensão, Pesquisa e Pós-Graduação SEPesq*. 2015
- SERAFIM, L. S.; LEMOS, P. C.; REIS, M. A. M. Produção de bioplástico por culturas microbianas mistas. [200-?].
- UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. The United States Pharmacopeia USP 27 The National Formulary NF 22. *Rockville, Maryland: United States Pharmacopeial Convention*, 2003.