



**UNIVERSIDADE  
FERNANDO  
PESSOA**

## **ENZIMAS PROTEOLÍTICAS: PROPRIEDADES QUÍMICAS, PRODUÇÃO E APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA**

[Proteolytic enzymes: Chemical properties, production, and biotechnological application]

Trabalho de Projeto

[Licenciatura em Ciências da Nutrição]

Inês Ferreira Tomás

Orientadoras:

Prof<sup>ª</sup> Doutora Ana Cristina Vinha

Prof<sup>ª</sup> Doutora Carla Sousa Silva

Janeiro 2026



# **ENZIMAS PROTEOLÍTICAS: PROPRIEDADES QUÍMICAS, PRODUÇÃO E APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA**

[Proteolytic enzymes: Chemical properties, production, and biotechnological application]

Trabalho de Projeto

[Licenciatura em Ciências da Nutrição]

Inês Ferreira Tomás

Orientadoras:

Prof<sup>a</sup> Doutora Ana Cristina Vinha

Prof<sup>a</sup> Doutora Carla Sousa Silva

Janeiro 2026

Aos meus pais, deixo o meu mais sincero agradecimento por todo o investimento, paciência, apoio e amor incondicionais, pilares fundamentais desta conquista.

Ao meu irmão, agradeço por, à sua maneira tão especial, sempre acreditar que tudo aquilo a que eu me dedicaria, eu faria da melhor forma.

Ao meu namorado, agradeço por nunca duvidar das minhas capacidades e por me recordar, nos momentos mais desafiantes, que sou capaz de ir sempre mais além.

À minha colega de turma Ana, agradeço todo o apoio e presença ao longo do meu percurso académico, que tornaram esta caminhada mais leve e especial.

## **Agradecimentos**

À Prof. Doutora Ana Cristina Vinha e à Prof. Doutora Carla Sousa, minha orientadora e coorientadora respetivamente, expresso a minha profunda gratidão pela ajuda constante, pela partilha generosa de conhecimentos e pela disponibilidade demonstrada ao longo de todo este trabalho. Em especial, à Prof. Doutora Ana Cristina Vinha, que foi, além de uma fonte inesgotável de saber, uma verdadeira inspiração. A sua presença, sempre acolhedora, representou um ombro amigo, uma palavra de motivação e um incentivo constante em cada etapa deste percurso.

Aos restantes docentes do ciclo de estudos, agradeço por todo o conhecimento transmitido e pela dedicação que contribuíram significativamente para a minha formação.

## **Resumo**

As enzimas proteolíticas, ou proteases, constituem um dos grupos enzimáticos mais importantes na biotecnologia alimentar devido à sua capacidade de hidrolisar proteínas e modificar as propriedades funcionais dos alimentos. Estas enzimas podem ter origem animal, vegetal ou microbiana, apresentando características estruturais e catalíticas distintas que determinam a sua aplicabilidade industrial. Quimicamente, funcionam como hidrolases, classificadas de acordo com o seu centro ativo (serina, cisteína, ácido aspártico, metaloproteases) ou quebrando grupos funcionais amino e carboxilo das extremidades. Estas enzimas são fundamentais em vários processos fisiológicos, tais como digestão, sinalização celular, síntese proteica e são vitais em diversas indústrias e na medicina, regulando processos biológicos fundamentais. Este trabalho baseou-se numa metodologia de revisão bibliográfica, focando-se na relevância das proteases como ferramentas determinantes para a inovação alimentar, permitindo o desenvolvimento de produtos com maior valor nutricional, melhoria da textura e digestibilidade, além de contribuírem para processos produtivos mais sustentáveis. Os avanços recentes apontam para a expansão das aplicações destas enzimas, nomeadamente na produção de peptídeos bioativos e na valorização de resíduos agroindustriais, reforçando o seu papel estratégico na indústria alimentar moderna.

**Palavras-chave:** Péptidos bioativos; Proteases; Biotecnologia alimentar; Segurança tecnológica.

## **Abstract**

Proteolytic enzymes, or proteases, constitute one of the most important enzyme groups in food biotechnology due to their ability to hydrolyze proteins and modify the functional properties of foods. These enzymes may be of animal, plant, or microbial origin, exhibiting distinct structural and catalytic characteristics that determine their industrial applicability. Chemically, they function as hydrolases and are classified according to their active site (serine, cysteine, aspartic acid, metalloproteases) or by breaking off amino and carboxyl functional groups at the ends. These enzymes are essential in several physiological processes, including digestion, cellular signaling, and protein synthesis, and they are vital in several industries and in medicine, where they regulate fundamental biological processes. This work was based on a literature review methodology, focusing on the relevance of proteases as key tools for food innovation, enabling the development of products with higher nutritional value, improved texture and digestibility, while also contributing to more sustainable production processes. Recent advances point to the expansion of applications of these enzymes, particularly in the production of bioactive peptides and the valorization of agro-industrial residues, reinforcing their strategic role in the modern food industry.

**Keywords:** Bioactive peptides; Proteases; Food biotechnology; Technological security.



# Índice

Resumo.....	III
Abstract .....	V
1. Introdução .....	1
2. Metodologia .....	2
3. Enzimas Proteolíticas.....	3
3.1 Proteases de origem animal.....	4
3.2 Proteases de origem vegetal.....	5
3.3 Proteases de origem microbiana .....	6
3.4 Síntese comparativa .....	6
4. Aplicações das Proteases na Indústria Alimentar.....	9
4.1 Laticínios.....	9
4.2 Carnes.....	11
4.3 Panificação .....	12
4.4 Hidrolisados Proteicos .....	13
5. Tendências Atuais e Perspetivas Futuras.....	16
6. Conclusão.....	17
7. Bibliografia .....	19
Apêndice .....	23

## Índice de Figuras

Figura 1.....	7
---------------	---

## **1. Introdução**

As proteínas são macronutrientes essenciais entre os diferentes grupos alimentares necessários para o bom funcionamento e desenvolvimento do organismo. São os principais componentes de diversas matérias-primas, incluindo fontes agrícolas (plantas e animais), marinhas (por exemplo, peixe) e microbianas (por exemplo, fungos/microfungos/cogumelos e algas) que desempenham funções biológicas e tecnológicas (Day et al., 2022). As enzimas, inseridas no grupo das proteínas, são substâncias de origem biológica que desempenham um papel fundamental em praticamente todas as reações químicas do organismo. Entre elas, as enzimas proteolíticas, também conhecidas como proteases, são responsáveis pela quebra das proteínas em moléculas menores, como péptidos e aminoácidos, que são essenciais para inúmeros processos metabólicos, incluindo a digestão e o aproveitamento dos nutrientes (Tavano et al., 2018).

As proteases estão presentes em animais, plantas e microrganismos, e o interesse científico e industrial por estas enzimas tem aumentado significativamente nas últimas décadas (Song et al., 2023). A sua importância deve-se não só ao papel biológico, mas também às suas amplas aplicações biotecnológicas, especialmente na indústria alimentar, onde são utilizadas na produção de queijos, no amaciamento de carnes, na clarificação de bebidas, na fermentação de produtos lácteos e na elaboração de hidrolisados proteicos.

Na área das Ciências da Nutrição, o estudo das enzimas proteolíticas é de grande relevância, uma vez que estas contribuem para melhorar a digestibilidade das proteínas e aumentar o valor nutricional dos alimentos, além de possibilitarem o desenvolvimento de produtos funcionais com benefícios para a saúde (Ketemepi et al., 2025).

Assim, compreender as suas propriedades químicas, métodos de produção e aplicações biotecnológicas torna-se fundamental para o avanço da inovação da indústria alimentar.

O presente trabalho pretende analisar estas características, destacando a importância das proteases em contextos nutricionais e industriais, classificando-as segundo a sua origem: vegetal, animal e microbiana.

## **2. Metodologia**

A pesquisa bibliográfica foi realizada principalmente em bases de dados científicas reconhecidas, nomeadamente PubMed, Science Direct, Scopus, MDPI e Google Académico. Foi elaborada uma lista de termos relevantes, a partir da qual se construíram diversas combinações de palavras-chave, em português e inglês, com o objetivo de maximizar a sensibilidade e abrangência da pesquisa.

As palavras-chave utilizadas incluíram: “*enzimas proteolíticas*”, “*proteases*”, “*biotecnologia alimentar*”, “*proteases microbianas*”, “*proteases vegetais*” e “*peptídeos bioativos*”.

Foram considerados todos os artigos considerados relevantes para o tema, independentemente da sua tipologia. Para cada artigo selecionado, foram registados o título, os autores, o ano de publicação e o tipo de documento.

Após a seleção inicial, procedeu-se à leitura dos resumos, tendo sido excluídos os artigos com enfoque exclusivamente farmacológico ou clínico, os estudos sem relação com aplicações alimentares ou no âmbito da biotecnologia alimentar, os trabalhos duplicados entre bases de dados e as publicações sem acesso ao texto completo.

### **3. Enzimas Proteolíticas**

As enzimas proteolíticas, ou proteases, são biomoléculas essenciais presentes em todos os organismos vivos, incluindo microrganismos, plantas e animais, devido ao seu papel na degradação de proteínas e na regulação de processos celulares (Song et al., 2023; Razzaq et al., 2019). Embora comumente conhecidas como proteases, a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular, recomenda o termo peptidases (Theron & Divol, 2014). As proteases são utilizadas em diferentes áreas há muito tempo e tudo para benefício da população em geral. Há centenas de anos, os humanos convertiam o leite em coalhada armazenando-o em bolsas feitas de estômago de vitelo. O coalho, cujo principal componente é a quimosina, uma protease, é responsável pela conversão do leite em coalhada. Igualmente, as proteases alcalinas começaram a ser incluídas na indústria dos curtumes, no processo do tratamento do couro, fornecendo uma alternativa ecológica aos produtos químicos agressivos ou tóxicos (Putri & Frannita, 2023). Com a crescente preocupação com a redução do impacto das indústrias no ambiente, observa-se uma mudança visível para processos menos intensivos em produtos químicos. Na verdade, os diferentes tipos de proteases possuem diferentes mecanismos de ação e processos biológicos, aumentando as suas aplicações industriais, como é o caso das proteases extracelulares que são reconhecidas por apresentarem elevado valor comercial pelas suas diversas aplicações em setores industriais distintos.

No que toca à classificação das proteases estas podem ser divididas como endopeptidases ou exopeptidases, com base no local de ação no substrato. As exopeptidases quebram a ligação peptídica junto às extremidades amino ou carboxilo do substrato e são classificadas como aminopeptidases ou carboxipeptidases, respetivamente (Claushuis et al., 2023), enquanto as endopeptidases quebram ligações peptídicas internas, originando peptídeos de menor tamanho, através do reconhecimento das sequências específicas ou tipos de aminoácidos no interior da proteína (Claushuis et al., 2023). Com base no grupo funcional presente no centro ativo, as endopeptidases agrupam-se em serina-proteases, aspartil-proteases, cisteína-proteases e metaloproteases.

### **3.1 Proteases de origem animal**

As proteases de origem animal foram historicamente as primeiras a ser utilizadas em processos alimentares e industriais, sobretudo devido ao seu papel fisiológico bem conhecido na digestão das proteínas. Estas enzimas são maioritariamente extraídas de órgãos digestivos de vertebrados, como o estômago e o pâncreas, incluindo-se aqui as proteases de serina e de aspartato. Estas últimas, diferenciadas pelo aminoácido crucial presente no seu centro ativo, serina (Ser) e ácido aspártico (Asp) respetivamente, ambas fundamentais para a digestão e regulação, quebram ligações peptídicas de maneiras distintas, sendo as serinas mais comuns em processos fisiológicos controlados (como coagulação) e as aspartato-proteases (como pepsina) em ambientes ácidos, (Neurath, 1999). Entre as proteases animais mais conhecidas destacam-se a pepsina, a tripsina, a quimotripsina e a renina (quimosina). A pepsina é uma protease aspártica ativa em meio ácido, presente no estômago dos vertebrados, capaz de hidrolisar proteínas alimentares em peptídeos menores (Fu et al., 2021). A tripsina e a quimotripsina são proteases de serina produzidas pelo pâncreas, com elevada especificidade para determinadas ligações peptídicas, desempenhando um papel central na digestão intestinal das proteínas (Neurath, 1999).

Na indústria alimentar, a aplicação mais relevante das proteases de origem animal está associada à produção de queijo, através da utilização da renina, tradicionalmente extraída do estômago de vitelos. Esta enzima promove a coagulação do leite ao hidrolisar a caseína, permitindo a formação do coágulo lácteo (Tavano et al., 2018). No entanto, a utilização destas proteases tem vindo a diminuir devido a limitações associadas ao elevado custo de extração, variabilidade da atividade enzimática, risco de contaminação e questões éticas relacionadas com o bem-estar animal.

Atualmente, muitas destas enzimas são utilizadas sobretudo para fins analíticos, de investigação ou diagnóstico, sendo progressivamente substituídas por alternativas microbianas ou vegetais com características semelhantes, mas com maior viabilidade industrial (Song et al., 2023).

### 3.2 Proteases de origem vegetal

As proteases de origem vegetal representam uma alternativa relevante às enzimas animais, sendo amplamente estudadas devido à sua elevada estabilidade e diversidade catalítica. Estas enzimas encontram-se distribuídas em diferentes partes das plantas, como frutos, sementes, folhas, caules e látex, desempenhando funções relacionadas com o crescimento, defesa e maturação dos tecidos vegetais (Troncoso et al., 2022).

As proteases vegetais mais conhecidas pertencem maioritariamente à classe das cisteína-proteases, destacando-se a papaína, a bromelina e a ficina. A papaína é extraída do látex do fruto da papaia (*Carica papaya*) e apresenta elevada atividade proteolítica numa ampla faixa de pH e temperatura, o que a torna particularmente atrativa para aplicações industriais (Babalola et al., 2023). A bromelina, obtida do ananás (*Ananas comosus*), possui propriedades semelhantes à papaína e é amplamente utilizada na indústria das carnes, em especial no seu amaciamento e na produção de hidrolisados proteicos (Tavano et al., 2018; Troncoso et al., 2022). Um aspeto relevante das proteases vegetais é a possibilidade de uma única fonte vegetal conter múltiplas enzimas com diferentes especificidades catalíticas. Por exemplo, o látex da papaia contém várias cisteína-proteases, como a papaína, a quimopapaína e a caricaína, o que amplia o seu potencial biotecnológico (Babalola et al., 2023). Estudos recentes têm também identificado novas proteases vegetais com propriedades promissoras, como o extrato enzimático obtido a partir das folhas de *Bromelia serra*, que demonstrou elevada atividade proteolítica e potencial aplicação alimentar (Herrera et al., 2022).

Na indústria alimentar, as proteases vegetais são utilizadas principalmente no amaciamento de carnes, clarificação de bebidas, produção de hidrolisados proteicos e melhoria da digestibilidade das proteínas. Além disso, devido à sua origem natural e à perceção positiva por parte dos consumidores, estas enzimas são particularmente valorizadas em produtos alimentares considerados mais “naturais” ou minimamente processados (Chauhan & Rao, 2024).

### **3.3 Proteases de origem microbiana**

As proteases de origem microbiana constituem atualmente a principal fonte de enzimas proteolíticas utilizadas à escala industrial (Pessela et al., 2023). Os microrganismos, nomeadamente bactérias, fungos e leveduras, apresentam inúmeras vantagens relativamente às fontes animal e vegetal, incluindo o rápido crescimento, elevada produtividade, facilidade de manipulação genética e possibilidade de produção em condições controladas, através das suas capacidades de adaptabilidade a diferentes condições de pH e temperatura (Song et al., 2023; Chen et al., 2025). Assim, as proteases microbianas apresentam um amplo espectro de aplicações biotecnológicas na indústria alimentar, incluindo a produção de queijos, hidrolisados proteicos, fermentação de alimentos vegetais e clarificação de bebidas (Tavano et al., 2018; Christensen et al., 2022; Mamo & Assefa, 2018; Motta et al., 2023).

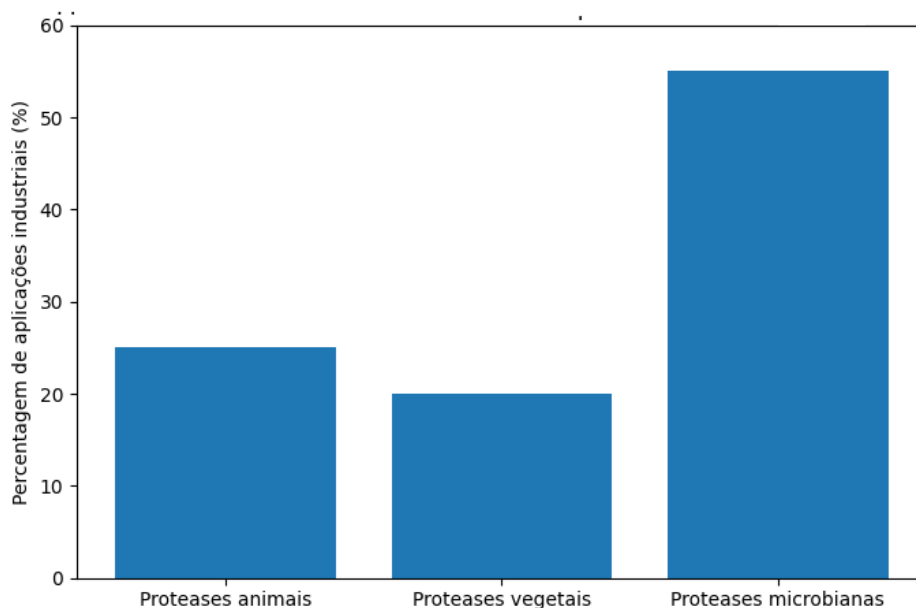
Estima-se que cerca de dois terços da produção comercial mundial de proteases seja proveniente de microrganismos, com destaque para géneros bacterianos, como *Bacillus*, *Lactobacillus* e *Pseudomonas*, e para os fungos filamentosos, de que são exemplo os *Aspergillus* e os *Rhizopus* (Tavano et al., 2018; Kieliszek et al., 2021; Song et al., 2023).

O desenvolvimento de enzimas microbianas com características específicas, como proteases ativas a baixas temperaturas (*cold-active enzymes*), representa uma área emergente com elevado potencial para aplicações alimentares mais eficientes e energeticamente sustentáveis (Hamid et al., 2022; Motta et al., 2023).

### **3.4 Síntese comparativa**

As proteases, independentemente da sua origem, desempenham funções essenciais na hidrólise de proteínas e apresentam propriedades bioquímicas que determinam a sua aplicabilidade em diferentes setores industriais e biotecnológicos. A comparação entre proteases de origem animal, vegetal e microbiana permite compreender melhor as vantagens e limitações de cada grupo, bem como as tendências atuais no seu uso industrial. A Figura 1 ilustra em percentagem a atual predominância das aplicações industriais das proteases segundo a sua origem.

**Figura 1.** Predominância das aplicações industriais das proteases de origem animal, vegetal e microbiana. Os valores apresentados (%) são indicativos e baseiam-se na tendência reportada na literatura (Ramkumar *Et Al.*, 2016; Chen *Et Al.*, 2025).



As proteases animais ocupam uma posição intermédia, sendo tradicionalmente utilizadas em áreas como a indústria de laticínios (ex.: quimosina). No entanto, o seu uso industrial tem diminuído por razões éticas, sanitárias e económicas, sendo gradualmente substituídas por alternativas mais sustentáveis e de produção menos dispendiosa (Tavano *et al.*, 2018). Apesar disso, continuam a ser importantes em áreas analíticas, farmacêuticas e em aplicações específicas da indústria alimentar.

As proteases vegetais mostram menor representatividade relativa, apesar do interesse crescente devido à sua origem natural e aceitação em produtos “clean label”, apresentando propriedades altamente valorizadas pela indústria alimentar e farmacêutica (Herrera *et al.*, 2022; Troncoso *et al.*, 2022). Uma característica distintiva das proteases vegetais é a presença de múltiplas isoformas numa mesma fonte. Contudo, a variabilidade inerente às matérias-primas vegetais e a menor escalabilidade face a fontes microbianas podem limitar a produção em grande escala (Ramkumar *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2025).

As proteases microbianas apresentam a maior predominância de aplicações industriais, refletindo a sua elevada estabilidade, facilidade de produção em larga escala e ampla

versatilidade em distintas áreas como alimentar, química, farmacêutica, cosmética e biotecnologia) (Ramkumar et al., 2016; Razzaq et al., 2019; Christensen et al., 2022; Hamid et al., 2022).

## **4. Aplicações das Proteases na Indústria Alimentar**

Embora a aplicação das proteases seja muito diversa, neste capítulo serão mencionados os seus usos na área alimentar. Na verdade, estas enzimas desempenham um papel central na biotecnologia alimentar, sendo amplamente utilizadas para modificar estruturas proteicas, melhorar características sensoriais, potenciar a digestibilidade dos alimentos, desenvolver novos produtos e otimizar processos industriais (Tavano et al., 2018; Song et al., 2023; Chen et al., 2025). Proteases microbianas, em particular, emergem como as mais utilizadas devido à sua estabilidade, rendimento, especificidade de ação e baixo custo de produção (Razzaq et al., 2019; Pessela et al., 2023). Paralelamente, proteases vegetais como a papaína, ficina e bromelina continuam essenciais em processos que beneficiam da sua elevada capacidade catalítica e tolerância a variações de pH e temperatura (Troncoso et al., 2022; Herrera et al., 2022). Já as proteases animais, embora hoje menos utilizadas, mantêm importância em nichos tecnológicos, como a produção de determinados queijos ou hidrolisados específicos (Christopher & Kumbalwar, 2015).

No capítulo seguinte serão focadas algumas áreas industriais mais relevantes, enfatizando diferentes proteases utilizadas e/ou estudadas recentemente.

### **4.1 Laticínios**

Tal como referido anteriormente, as proteases desempenham um papel central na indústria de produtos lácteos, sendo amplamente utilizadas para modificar as propriedades físico-químicas e sensoriais das proteínas do leite, em particular as caseínas (Christopher & Kumbalwar, 2015). Durante a maturação, proteases endógenas e microbianas promovem a degradação gradual das proteínas do leite, originando peptídeos e aminoácidos responsáveis pelo desenvolvimento do sabor, aroma e textura do queijo (Kieliszek et al., 2021). A sua aplicação permite controlar processos como a coagulação, maturação, desenvolvimento de textura e formação de compostos de aroma, sendo essenciais na produção de diversos derivados lácteos.

A quimosina, uma aspartil protease, é a enzima que transforma o leite em queijo, hidrolisando a k-caseína, atacando as ligações Phe105-Met106 e libertando dois péptidos, um péptido solúvel, o glicomacropéptido e um péptido insolúvel. Este último,

agrega-se a outras proteínas formando um gel que originará o queijo (Lai & Tsopmo, 2025). A pepsina, uma aspartil protease, também obtida do estômago de animais, é frequentemente utilizada com a quimosina (extratos enzimáticos tradicionais), formando o chamado coalho. Embora tenha menor especificidade, e ativando-se com ácido clorídrico (HCl) contribui para a coagulação do leite, influenciando os processos de proteólise durante a maturação, afetando a textura e o sabor do queijo. Estes extratos tradicionais são comumente usados na produção de queijos tradicionais e com denominação de origem protegida (DOP). No entanto, limitações associadas à disponibilidade, custo e questões éticas têm incentivado a procura de alternativas, como a cardosina A e B (*Cynara cardunculus*) são frequentemente comparadas à quimosina e à pepsina, respetivamente, dado que a cardosina B é menos seletiva que a A na hidrólise das caseínas (Almeida & Simões, 2018). No entanto, uma comparação entre a quimosina e as cardosinas mostra que estas últimas apresentam uma maior afinidade de peroxidação lipídica, o que leva ao aparecimento de sabores amargos. As sufidril proteases papaína (*Carica papaya*), bromelaína (*Ananas comosus*) e a ficina (*Ficus* spp.), têm sido estudadas como substitutos parciais ou totais do coalho animal, no entanto, as suas baixas especificidades podem resultar em proteólises excessivas originando sabores amargos e alterações indesejáveis na textura dos queijos (Nicosia et al., 2022). A actinidina, uma cisteína-protease, abundante no kiwi, apresenta características promissoras como agente coagulante do leite na tecnologia do queijo, garantindo uma capacidade de hidrólise específica e não desenvolvendo sabores indesejáveis, atribuídos a peptídeos amargos. Recentemente foi descoberta uma protease extraída da planta *Salpichroa organifolia*, capaz de hidrolisar as ligações Phe23-Phe24 e Trp164-Tyr165 na  $\alpha$ -caseína e a ligação Leu192-Tyr193 na  $\beta$ -caseína, impulsionando o processo de coagulação mais rápido (Rocha et al., 2024). Mazorra-Manzano et al. (2013) também evidenciaram as proteases extraídas do gengibre (*Zingiber officinale*), zingibaína, do melão (*Cucumis melo*), cucumisina, e do kiwi (*Actinidia deliciosa*), actinidina, revelando que a actinidina maior atividade coagulante em comparação com outros coagulantes vegetais e idêntica as proteases de origem animal.

Os coagulantes microbianos, as aspartil-proteases produzidas por *Rhizomucor miehei* e *Rhizomucor pusillus*, possuem uma estrutura tridimensional semelhante à da quimosina,

sendo capazes de hidrolisar, da mesma forma, a ligação Phe105-Met106 da  $\kappa$ -caseína (Aktayeva et al., 2018). Na verdade, estas enzimas constituem atualmente a principal alternativa às enzimas animais na indústria dos laticínios. Enzimas produzidas por microrganismos como *Mucor miehei*, e espécies de *Bacillus* e *Aspergillus*, apresentam elevada estabilidade, reprodutibilidade e possibilidade de produção em larga escala, para além de melhora a textura e digestibilidade dos produtos lácteos fermentados (Kieliszek et al., 2023).

## 4.2 Carnes

As proteases desempenham um papel fundamental na indústria das carnes, sendo amplamente utilizadas para melhorar a qualidade tecnológica, sensorial e funcional dos produtos cárneos. A sua ação incide principalmente sobre as proteínas miofibrilares e do tecido conjuntivo, permitindo a modificação da estrutura muscular, o aumento da maciez, a melhoria da capacidade de retenção de água e o desenvolvimento de características sensoriais desejáveis (Troncoso et al., 2022). Uma das aplicações mais relevantes das proteases na indústria cárnea é a amaciamento da carne. Enzimas como a papaína, bromelaína e ficina, de origem vegetal, bem como proteases microbianas, promovem a hidrólise de proteínas estruturais, como a miosina, a actina e o colagénio, reduzindo a dureza do tecido muscular. Este processo é particularmente importante para valorizar cortes menos nobres, aumentando a sua aceitabilidade comercial. Contudo, o controlo rigoroso da dose e do tempo de ação é essencial para evitar uma proteólise excessiva, que pode resultar em textura pastosa. O pH da carne fresca é neutro e, por isso, as proteases neutras podem ser as mais adequadas para os processos de hidrólise e o amaciamento da carne obtido por ação de proteases endógenas, especialmente catepsinas lisossómicas neutras e metaloprotease neutra/endopeptidase de cisteína (Madhusankha & Thilakarathna, 2021). As proteases neutras estão amplamente distribuídas entre as espécies de *Bacillus* e *Aspergillus*. A termolisina produzida por *Bacillus thermoproteolyticus*, é a protease neutra mais apelativa na engenharia biotecnológica (Song et al., 2023). Na verdade, as enzimas protease A e subtilisina obtidas de *Aspergillus oryzae* e *Bacillus subtilis*, respetivamente foram aprovadas e reconhecidas como seguras para utilização na indústria das carnes (Bureros et al., 2020).

As proteases também são utilizadas em processos de maturação e fermentação de produtos cárneos, como enchidos e carnes curadas. Durante estes processos, a ação enzimática contribui para a liberação de peptídeos e aminoácidos livres, que atuam como precursores de compostos de aroma e sabor característicos. Proteases endógenas da carne, como as calpaínas e catepsinas, em conjunto com proteases fúngicas são geralmente eficazes na atividade proteolítica contra a elastina e o colagénio, mas apresentam um efeito insignificante ou nulo sobre as proteínas miofibrilares (Trancoso et al., 2022). Da mesma forma, as proteases aspárticas de *A. oryzae* apresentam um efeito insignificante ou nulo na degradação das proteínas miofibrilares na carne (Song et al., 2023). Outra aplicação relevante das proteases é na produção de hidrolisados proteicos de carne, utilizados como ingredientes funcionais em alimentos processados, suplementos nutricionais e produtos destinados a grupos específicos, como idosos ou indivíduos com dificuldades de digestão. A hidrólise controlada das proteínas da carne melhora a digestibilidade, a solubilidade e pode originar peptídeos bioativos com potenciais efeitos antioxidantes, anti-hipertensivos ou antimicrobianos (Gagaoua et al., 2024). Adicionalmente, as proteases são empregues na valorização de subprodutos da indústria cárnea, como aparas, ossos e tecidos conjuntivos, permitindo a recuperação de proteínas de elevado valor acrescentado. Esta abordagem contribui para a redução de desperdícios e para o aumento da sustentabilidade dos processos industriais, alinhando-se com os princípios da economia circular (Gagaoua et al., 2024).

### **4.3 Panificação**

Na indústria da panificação, as proteases atuam como agentes tecnológicos essenciais para a modificação controlada das proteínas das farinhas, em particular o glúten, influenciando diretamente as propriedades reológicas da massa, a sua extensibilidade, estabilidade durante o processo fermentativo e a qualidade final dos produtos de panificação (Motta et al., 2023). As enzimas pepsina e a tripsina (origem animal) promovem a hidrólise parcial das proteínas do glúten, reduzindo a tenacidade da massa e aumentando a sua extensibilidade (Weegels & America, 2023). No entanto, devido à sua elevada atividade e menor especificidade, o uso destas proteases na panificação é, atualmente, limitado, sendo substituídas por enzimas de origem vegetal e microbiana, que oferecem maior controlo do processo e melhor aceitação pelos consumidores. Além

disso, o uso de proteases de cisteína pode contribuir para a redução do teor de proteínas potencialmente alergénicas, sendo uma estratégia explorada no desenvolvimento de produtos mais adequados para consumidores com sensibilidade ao glúten (Shukla et al., 2025). Chen et al. (2025) demonstram que a administração combinada da protease exógena de *Bacillus subtilis* B3 e  $\beta$ -glucanase produz um efeito sinérgico, refletido na melhoria da digestibilidade dos nutrientes e antinutrientes presentes em diversos cereais como a cevada e a aveia. As proteases de origem microbiológica são atualmente as mais utilizadas na indústria da panificação, devido à sua elevada estabilidade, reprodutibilidade e possibilidade de produção em larga escala. Enzimas produzidas por microrganismos como *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* e *Bacillus subtilis* são amplamente usadas como melhoradores de farinha. Estas proteases atuam de forma controlada sobre as proteínas do glúten, ajustando a elasticidade e extensibilidade da massa, melhorando a tolerância ao amassamento e à fermentação, e contribuindo para uma melhor textura do miolo e maior volume dos produtos de panificação. Recentemente, foi demonstrado que *Lactobacillus* seleccionados, em combinação com proteases fúngicas e/ou de malte, podem diminuir a concentração residual de sequências imunogénicas do glúten durante períodos prolongados do processo fermentativo (Shewry, 2019). A degradação completa do glúten pode ser possível após a adição de proteases fúngicas, para além de bactérias lácticas. Proteases fúngicas como as de *A. niger* ou *A. oryzae* promovem a proteólise primária do glúten, seguida de uma proteólise secundária pelas bactérias lácticas (Rizzello et al., 2014).

#### **4.4 Hidrolisados Proteicos**

Uma das aplicações mais relevantes das proteases na biotecnologia alimentar é a produção de hidrolisados proteicos de animais, vegetais e microbianos. A hidrólise enzimática das proteínas permite a obtenção de peptídeos e aminoácidos com propriedades funcionais e biológicas específicas (Hamid & Burhan, 2022; Chen et al., 2025). Estes hidrolisados são amplamente utilizados em fórmulas infantis, nutrição clínica, nutrição no desporto e alimentos funcionais (Song et al., 2023). Por exemplo, no decurso do processamento de pescado e aproveitamento de resíduos da indústria piscícola, tem-se obtidos produtos de valor acrescentado (Ramkumar et al., 2016). Igualmente, os hidrolisados proteicos vegetais, para além de apresentarem

funcionalidades físicas melhoradas, exibem diversas propriedades bioativas (Bekiroglu et al., 2025). A hidrólise enzimática é um processo crítico e sustentável na conversão de proteínas vegetais em formas mais funcionais e bio disponíveis. Ao contrário da hidrólise química, a hidrólise enzimática é mais controlada, energeticamente eficiente e produz subprodutos indesejáveis mínimos, alinhando bem com os princípios da química verde e da produção de alimentos ambientalmente consciente (Waqas et al., 2021).

Os peptídeos bioativos resultantes da ação das proteases podem apresentar propriedades antioxidantes, anti-hipertensivas, imunomoduladoras e antimicrobianas, contribuindo para a promoção da saúde (Gagaoua et al., 2024).

Tal como referido anteriormente, do ponto de vista nutricional, os hidrolisados proteicos têm adquirido crescente relevância nos últimos anos. Na área desportiva, a sua importância deve-se à eficácia demonstrada na promoção da recuperação da matriz do tecido conjuntivo muscular após o exercício físico. Para além desta aplicação, estes compostos desempenham igualmente um papel terapêutico, sendo indicados para indivíduos que apresentam dificuldade ou incapacidade em digerir e absorver proteínas na sua forma nativa. Esta condição é frequentemente observada em pacientes com patologias do sistema digestivo, como a doença de Crohn ou a pancreatite, nas quais o processo normal de digestão proteica se encontra comprometido (Tavano et al., 2018).

Adicionalmente, os hidrolisados proteicos assumem particular relevância nas fórmulas infantis pois estudos demonstram que, em crianças com elevado risco de desenvolvimento de alergias e que não podem ser exclusivamente amamentadas, a suplementação contínua com fórmulas infantis à base de proteínas hidrolisadas está associada a uma redução significativa do risco de alergia às proteínas do leite de vaca. Quando comparadas com fórmulas infantis convencionais, estas fórmulas hidrolisadas revelam-se mais eficazes na diminuição da incidência de alergias alimentares na infância. Em particular, a utilização de determinados hidrolisados como substitutos do leite materno durante os primeiros quatro meses de vida de lactentes de alto risco tem sido associada a um efeito protetor, prevenindo reações alérgicas aquando do consumo (Tavano et al., 2018).

Industrialmente, os hidrolisados proteicos obtidos por catálise enzimática são utilizados para melhorar propriedades tecnológicas dos alimentos, incluindo solubilidade, capacidade emulsificante, formação de espuma e retenção de água. A hidrólise enzimática é também uma estratégia eficaz para a valorização de subprodutos agroindustriais, contribuindo para a redução de desperdícios e para a sustentabilidade dos processos produtivos.

Em síntese, a obtenção de hidrolisados proteicos através do uso de proteases representa uma abordagem biotecnológica versátil e sustentável, permitindo a produção de ingredientes com elevado valor nutricional e funcional, e desempenhando um papel estratégico na inovação da indústria alimentar moderna.

## 5. Tendências Atuais e Perspetivas Futuras

Os avanços recentes na biotecnologia têm desempenhado um papel determinante no desenvolvimento de novas proteases com características específicas, adaptadas às exigências da indústria alimentar moderna. Entre estas inovações destacam-se as chamadas *cold-active enzymes*, enzimas ativas a baixas temperaturas, que permitem a realização de processos industriais mais eficientes do ponto de vista energético. A utilização destas enzimas possibilita a redução do consumo de energia, a preservação das características sensoriais dos alimentos e a minimização de alterações indesejáveis nos nutrientes, representando uma abordagem mais sustentável e económica (Hamid et al., 2022). Outra tendência relevante é a engenharia de proteases microbianas para a obtenção de enzimas com maior estabilidade, especificidade e resistência a condições extremas. Estas inovações ampliam o potencial de aplicação das proteases na criação de novos produtos alimentares e ingredientes funcionais, reforçando a sua importância estratégica na biotecnologia alimentar e na engenharia genética para a obtenção de proteases recombinantes (Song et al., 2023).

Existe um crescente interesse em proteases psicrófilas (*cold-active*), termoestáveis e halotolerantes, capazes de atuar em condições extremas, permitindo novas aplicações industriais (Hamid et al., 2022). Nos últimos anos, a investigação científica tem vindo a demonstrar que a utilização combinada de microrganismos probióticos e enzimas exógenas pode potenciar os efeitos. Proteases microbianas estão a ser empregues no tratamento de resíduos, degradação de poluentes proteicos e valorização de subprodutos, reforçando o impacto ambiental positivo destas enzimas (Ramkumar et al., 2016).

A literatura demonstra que as proteases constituem ferramentas fundamentais para a biotecnologia alimentar moderna. A sua aplicação permite otimizar processos tradicionais, desenvolver novos produtos com maior valor nutricional e funcional, e promover práticas industriais mais sustentáveis. O avanço da engenharia enzimática e microbiana sugere que o papel destas enzimas continuará a expandir-se, tornando-as elementos-chave na inovação alimentar contemporânea.

## 6. Conclusão

A evolução das proteases no setor alimentar está intimamente associada ao desenvolvimento de processos fermentativos, à produção de enzimas microbianas em larga escala e, mais recentemente, à aplicação de técnicas de engenharia genética e biologia molecular. A substituição progressiva de proteases de origem animal por enzimas de origem vegetal e, sobretudo, microbiológica permitiu aumentar a eficiência dos processos, reduzir custos e responder a preocupações éticas, ambientais e religiosas. Atualmente, proteases produzidas por microrganismos como *Aspergillus*, *Bacillus* e *Rhizomucor* são amplamente utilizadas em diversas aplicações, incluindo panificação, laticínios, carnes, bebidas e alimentos funcionais.

No contexto das tendências futuras da alimentação, as proteases assumem um papel estratégico na resposta a desafios globais, como o crescimento populacional, a necessidade de sistemas alimentares mais sustentáveis e a procura por alimentos mais saudáveis e personalizados. A produção de hidrolisados proteicos e de peptídeos bioativos através da ação de proteases é uma das áreas com maior potencial de crescimento, permitindo o desenvolvimento de alimentos com propriedades funcionais específicas, como efeitos antioxidantes, antihipertensivos ou imunomoduladores. Paralelamente, a utilização destas enzimas contribui para a melhoria da digestibilidade das proteínas e para a redução do potencial alergénico de determinados alimentos.

Outro aspeto relevante prende-se com a valorização de matérias-primas alternativas e subprodutos agroindustriais, incluindo proteínas de origem vegetal, insetos, algas e resíduos da indústria alimentar. As proteases permitem transformar estas fontes proteicas em ingredientes de elevado valor acrescentado, alinhando-se com os princípios da economia circular e da sustentabilidade. Além disso, o avanço na engenharia enzimática possibilita o desenvolvimento de proteases mais específicas, estáveis e adaptadas a condições extremas de processamento, aumentando o controlo e a eficiência industrial.

Em síntese, a evolução das proteases reflete a transição da indústria alimentar para um modelo mais inovador, sustentável e orientado para a saúde do consumidor. A sua importância nas tendências futuras da alimentação é inegável, posicionando estas

Enzimas Proteolíticas: Propriedades químicas, produção e aplicação biotecnológica

enzimas como ferramentas biotecnológicas fundamentais para a criação de novos produtos, a otimização de processos e a construção de sistemas alimentares mais resilientes e eficientes.

## 7. Bibliografia

- Aktayeva, S., Akishev, Z., & Khassenov, B. (2018). *Proteolytic enzymes in cheese making*. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, 1, 1-9. <https://doi.org/10.11134/btp.1.2018.2>
- Almeida, C. M., & Simões, I. (2018). *Cardoon-based rennets for cheese production*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(11), 4675–4686. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9032-3>
- Babalola, B.A., Akinwande, A.I., Gboyega, A.E., & Otunba, A.A. (2023). *Extraction, purification and characterization of papain cysteine-proteases from the leaves of Carica papaya*. *Scientific African*, 19, Artigo01538. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2022.e01538>
- Bekiroglu, H., Acar, Z.D., & Sagdic, O. (2025). *Sustainable plant-based protein hydrolysates: Utilization of waste proteins modified by enzymatic hydrolysis in techno-functional applications*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 333, Artigo e148823. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.148823>
- Bureros, K.J.C., Dizon, E.I., Israel, K.A.C., Abanto, O.D., & Tambalo F.Z. (2020). *Physicochemical and sensory properties of carabeef treated with Bacillus subtilis (Ehrenberg) Cohn protease as meat tenderizer*. *Journal Food Science Technology*, 57, 310–318. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04062-4>
- Chauhan, K., & Rao, A. (2024). *Clean-label alternatives for food preservation: An emerging trend*. *Heliyon*, 10(16), Artigoe35815. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35815>
- Chen, S., Shi, H., Zhao, P., Ma, Z., Li, X., Wang, X., & Xue, F. (2025). *Synergistic effect of Bacillus subtilis B3 and  $\beta$ -Glucanase on solid-state fermentation of sunflower meal*. *BioTech*, 14(4), Artigoe92. <https://doi.org/10.3390/biotech14040092>
- Christensen, L.F., García-Béjar, B., Bang-Berthelsen, C. H., & Hansen, E. B. (2022). *Extracellular microbial proteases with specificity for plant proteins in food fermentation*. *International Journal of Food Microbiology*, 381, Artigoe109889. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109889>
- Christopher, N., & Kumbalwar, M. (2015). *Enzymes used in food industry: A systematic review*. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 4(10), 9830-9836. <https://doi.org/10.15680/IJRSET.2015.0410073>
- Claushuis, B., Cordfunke, R. A., de Ru, A. H., Otte, A., van Leeuwen, H. C., Klychnikov, O. I., van Veelen, P. A., Corver, J., Drijfhout, J. W., & Hensbergen, P. J. (2023). *In-Depth Specificity Profiling of Endopeptidases Using Dedicated Mix-and-Split Synthetic Peptide Libraries and Mass Spectrometry*. *Analytical Chemistry*, 95(31), 11621–11631. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c01215>
- Day, L., Cakebread, J.A., & Loveday, S.M. (2022). *Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties*. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 428-442. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.020>
- Fu, Z., Akula, S., Thorpe, M., Hellman, L. (2021). *Marked difference in efficiency of the digestive enzymes pepsin, trypsin, chymotrypsin, and pancreatic elastase to cleave tightly folded proteins*. *Biological Chemistry*, 402(7), 861-867. <https://doi.org/10.1515/hsz-2020-0386>
- Gagaoua, M., Das, A.K., Fu, Y., Dib, A.L., & Nanda, P.K. (2024). *Meat by-products as a source of bioactive peptides and functional ingredients: Regulatory and safety barriers to valorization*. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 47, Artigoe100910. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2024.100910>
- Hamid, B., Bashir, Z., Yattoo, A.M., Mohiddin, F., Majeed, N., Bansal, M., Poczai, P., Almalki, W.H., Sayyed, R.Z., Shati, A.A., & Alfaihi, M.Y. (2022). *Cold-active enzymes and their potential industrial applications: A review*. *Molecules*, 27(18), Artigoe5885. <https://doi.org/10.3390/molecules27185885>

- Herrera, M.D.G., Luaces, P.A., Liggieri, C., Bruno, M., & Avanza, M.V. (2022). *Proteolytic characterization of a novel enzymatic extract from Bromelia serra leaves*. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 94(4), Artigo20201871. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220201871>
- Ketemepi, H.K., Amin, S.F.B.M., Julmohammad, N., Zaharudin, N., & Nor Qhairul Noor, N.Q.I.M. (2025). *Protein hydrolysates as functional food ingredients: A bibliometric analysis from inception to 2023*. *Food and Humanity*, 5, Artigo100691. <https://doi.org/10.1016/j.foohum.2025.100691>
- Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., & Kot, A.M. (2021). *Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria*. *Molecules*, 26(7), Artigo1858. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>
- Lai, E.P.C., & Tsopmo, A. (2025). *Casein chemistry-structure, functions, and applications*. *Explorations Foods Foodomics*, 3, Artigo101099. <https://doi.org/10.37349/eff.2025.101099>
- Madhusankha, G.D.M.P., & Thilakarathna, R.C.N. (2021). *Meat tenderization mechanism and the impact of plant exogenous proteases: A review*. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(2), Artigo102967. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.102967>
- Mamo, J., & Assefa, F. (2018). *The role of microbial aspartic protease enzyme in food and beverage industries*. *Journal of Food Quality*, 2018, Artigo7957269. <https://doi.org/10.1155/2018/7957269>
- Mazorra-Manzano, M.A., Perea-Gutiérrez, T.C., Lugo-Sánchez, M.E., Ramirez-Suarez, J.C., Torres-Llanez, M.J., González-Córdova, A.F., & Vallejo-Cordoba, B. (2014). *Comparison of the milk-clotting properties of three plant extracts*. *Food Chemistry*, 141, 1902-1907. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.042>
- Motta, J.F.G., Freitas, B.C.B., Almeida, A.F., Martins, G.A.S., & Borges, S.V. (2023). *Use of enzymes in the food industry: a review*. *Food Science and Technology*, 43, Artigo106222. <https://doi.org/10.1590/fst.106222>
- Nicosia, F.D., Puglisi, I., Pino, A., Caggia, C., & Randazzo, C.L. (2022). *Plant milk-clotting enzymes for cheesemaking*. *Foods*, 11, Artigo871. <https://doi.org/10.3390/foods11060871>
- Pessela, B.C., Okamoto, D.N., & Cabral, H. (2023). *Editorial: Microbial proteases: Biochemical studies, immobilization and biotechnological application*. *Frontiers in Microbiology*, 14, Artigo1126989. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1126989>
- Putri, N., & Frannita, E.L. (2023). *A review of potential enzymes: Protease and keratinase for dehairing process as cleaner and eco-friendly leather processing*. *Leather and Footwear Journal*, 23(4), 267-278. <https://doi.org/10.24264/lfj.23.4.5>
- Ramkumar, A., Sivakumar, N., & Victor, R. (2016). *Fish waste-potential low-cost substrate for bacterial protease production: A brief review*. *The Open Biotechnology Journal*, 10(1), 335-341. <https://doi.org/10.2174/1874070701610010335>
- Razzaq, A., Shamsi, S., Ali, A., Ali, Q., Sajjad, M., Malik, A., & Ashraf, M. (2019). *Microbial proteases applications*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, Artigo110. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00110>
- Rocha, G. F., Cotabarren, J., Obregón, W. D., Fernández, G., Rosso, A. M., & Parisi, M. G. (2024). *Milk-clotting and hydrolytic activities of an aspartic protease from Salpichroa origanifolia fruits on individual caseins*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 192, 931–938. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.004>
- Shewry, P. (2019). *What is gluten-why is it special?* *Frontiers Nutrition*, 6, Artigo101. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00101>

- Shukla, M., Gharote, A., & Muchahary, S. (2025). *Industrial scope of cysteine protease and its anti-gluten property: A review*. *Food Nutrition*, 1(1), Artigo100006. <https://doi.org/10.1016/j.fnutr.2025.100006>
- Song, P., Zhang, X., Wang, S., Xu, W., Wang, F., Fu R, & Feng, W. (2023). *Microbial proteases and their applications*. *Frontiers in Microbiology*, 14, Artigo1236368. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1236368>
- Tavano, O.L., Berenguer-Murcia, A., Secundo, F., & Fernandez-Lafuente, R. (2018). *Biotechnological applications of proteases in food technology*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 412-436. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12326>
- Theron, L. W., & Divol, B. (2014). *Microbial aspartic proteases: current and potential applications in industry*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(21), 8853–8868. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6035-6>
- Troncoso, F.D., Sánchez, D.A., & Ferreira, L.M. (2022). *Production of plant proteases and new biotechnological applications: An updated review*. *ChemistryOpen*, 11(3), Artigo202200017. <https://doi.org/10.1002/open.202200017>
- Waqas, M. S., Cheema, M. J. M., Hussain, S., Ullah, M. K., & Iqbal, M. M. (2021). *Delayed irrigation: An approach to enhance crop water productivity and to investigate its effects on potato yield and growth parameters*. *Agricultural Water Management*, 245, Artigo106576. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106576>
- Weegels, P.L., & America, A.H.P. (2023) *Impact of food processing on the allergenic properties of amylase trypsin inhibitors from wheat*. *Frontiers in Allergy*, 4, Artigo1228353. <https://doi.org/10.3389/falgy.2023.1228353>



# Ciências Médicas e Saúde

AVANÇOS DO DIAGNÓSTICO  
À PRÁTICA CLÍNICA

2

  
Atena  
Editora  
Ano 2025

# Ciências Médicas e Saúde

AVANÇOS DO DIAGNÓSTICO  
À PRÁTICA CLÍNICA

## 2

**Atena**  
Editora  
Ano 2025

2025 by Atena Editora

Copyright © 2025 Atena Editora

Copyright do texto © 2025, o autor

Copyright da edição © 2025, Atena Editora

Os direitos desta edição foram cedidos à Atena Editora pelo autor.

*Open access publication by Atena Editora*

**Editora chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Editora executiva**

Natalia Oliveira Scheffer

**Imagens da capa**

iStock

**Edição de arte**

Yago Raphael Massuqueto Rocha



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob a Licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo desta obra, em sua forma, correção e confiabilidade, é de responsabilidade exclusiva dos autores. As opiniões e ideias aqui expressas não refletem, necessariamente, a posição da Atena Editora, que atua apenas como mediadora no processo de publicação. Dessa forma, a responsabilidade pelas informações apresentadas e pelas interpretações decorrentes de sua leitura cabe integralmente aos autores.

A Atena Editora atua com transparência, ética e responsabilidade em todas as etapas do processo editorial. Nosso objetivo é garantir a qualidade da produção e o respeito à autoria, assegurando que cada obra seja entregue ao público com cuidado e profissionalismo.

Para cumprir esse papel, adotamos práticas editoriais que visam assegurar a integridade das obras, prevenindo irregularidades e conduzindo o processo de forma justa e transparente. Nosso compromisso vai além da publicação, buscamos apoiar a difusão do conhecimento, da literatura e da cultura em suas diversas expressões, sempre preservando a autonomia intelectual dos autores e promovendo o acesso a diferentes formas de pensamento e criação.

# Ciências Médicas e Saúde: Avanços do diagnóstico à prática clínica 2

| **Organização:** Atena Editora

| **Revisão:**

Os autores

| **Diagramação:**

Jeniffer Paula dos Santos

Nataly Gayde

| **Capa:**

Yago Raphael Massuqueto Rocha

## Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C569 Ciências Médicas e Saúde: Avanços do diagnóstico à prática clínica 2 / Organização de Atena Editora. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2025.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-258-3716-1

DOI <https://doi.org/10.22533/at.ed.161251610>

1. Ciências médicas. 2. Saúde. I. Atena Editora (Organização). II. Título.

CDD 610

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

## Atena Editora

+55 (42) 3323-5493

+55 (42) 99955-2866


[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)



## CAPÍTULO 13

# ENZIMAS PROTEOLÍTICAS: APLICAÇÕES SUSTENTÁVEIS NA ÁREA DA COSMÉTICA

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.16125161013>

**Inês F. Tomás**

Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal;  
Marta Oliveira Soares  
Instituto Superior Politécnico de Saúde do Norte, CESPU (Instituto  
Universitário de Ciências da Saúde), Vila Nova de Famalicão, Portugal.

**Carla Sousa**

Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal;  
LAQV/REQUIMTE, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade  
de Farmácia, Universidade do Porto, Portugal;  
FP-IBID, Instituto de Investigação, Inovação e Desenvolvimento Fernando Pessoa,  
Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal.

**Ana F. Vinha**

Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal;  
LAQV/REQUIMTE, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade  
de Farmácia, Universidade do Porto, Portugal;  
FP-IBID, Instituto de Investigação, Inovação e Desenvolvimento Fernando Pessoa,  
Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal.

**RESUMO:** Proteases são enzimas que quebram as ligações peptídicas das proteínas e dos peptídeos. São encontradas em todos os organismos vivos e regulam diversas funções metabólicas. Estas enzimas têm sido utilizadas desde a Antiguidade para diversos fins, como processamento de alimentos e tratamento de várias doenças. As plantas são fontes importantes de proteases com expressiva atividade e grande estabilidade térmica e na presença de diversos agentes químicos. Tais requisitos são essenciais para a sua aplicação cosmética. Além disso, em contraste com as enzimas codificadas por humanos, muitas proteases vegetais possuem características excepcionais, tais como maior estabilidade, especificidade única do substrato e uma ampla gama de pH para a atividade enzimática. Estas características valiosas tornam as enzimas proteolíticas derivadas de plantas adequadas para muitas aplicações biomédicas e, além disso, as plantas podem servir como fábricas para a produção

de proteínas. As proteases vegetais são já aplicadas no tratamento de diversas condições patológicas no organismo humano. Algumas das enzimas possuem atividade antitumoral, antibacteriana e antifúngica. A atividade colagenolítica das proteases vegetais determina aplicações médicas importantes, como a cicatrização de feridas e de queimaduras. As proteases vegetais podem afetar os processos de coagulação sanguínea e podem ser aplicadas no tratamento de distúrbios digestivos. A presente revisão resume os avanços recentes e as possíveis aplicações para as proteases vegetais na biomedicina e propõe o desenvolvimento adicional de enzimas proteolíticas derivadas de plantas nas indústrias biotecnológica e cosmética.

**PALAVRAS-CHAVE:** Péptidos bioativos; proteases vegetais; cosmética; biotecnologia; economia circular; segurança.

## PROTEOLYTIC ENZYMES: SUSTAINABLE APPLICATIONS IN THE COSMETICS AREA

**ABSTRACT:** Proteases are enzymes that break the peptide bonds of proteins and peptides. They are found in all living organisms and regulate various metabolic functions. These enzymes have been used since ancient times for a variety of purposes, such as food processing and the treatment of various diseases. Plants are important sources of proteases with significant activity and high thermal stability in the presence of various chemical agents. These requirements are essential for their cosmetic application. Moreover, in contrast to human-encoded enzymes, many plant proteases possess exceptional features such as higher stability, unique substrate specificity and a wide pH range for enzymatic activity. These valuable features make plant-derived proteolytic enzymes suitable for many biomedical applications, and furthermore, the plants can serve as factories for protein production. Plant proteases are already applied in the treatment of several pathological conditions in the human body. Some of the enzymes possess antitumor, antibacterial and antifungal activity. The collagenolytic activity of plant proteases determines important medical applications such as the healing of wounds and burn debridement. Plant proteases may affect blood coagulation processes and can be applied in the treatment of digestive disorders. The present review summarizes recent advances and possible applications for plant proteases in biomedicine and proposes the further development of plant-derived proteolytic enzymes in the biotechnology and cosmetic industries.

**Keyword:** Bioactive peptides; plant proteases; cosmetics; biotechnology; circular economy; safety.

## INTRODUÇÃO

A aplicação das enzimas proteolíticas está intimamente interligada com a caracterização química das proteínas. As proteases (também chamadas proteínases ou enzimas proteolíticas) são enzimas capazes de hidrolisar as ligações peptídicas das proteínas. A nível fisiológico, as proteases são essenciais para o metabolismo celular, incluindo a qualidade molecular e organelar, adaptações metabólicas, homeostasia lipídica e regulação das respostas ao stresse transcricional [1]. Este grupo de enzimas também desempenha um papel fundamental nos diversos processos bioquímicos, controlando o tamanho, a estrutura e a composição de proteínas-chave, por isso são principalmente classificadas de acordo com o aminoácido catalítico do sítio ativo envolvido na catálise [2]. Do ponto de vista económico e sustentável tem havido maior interesse na descoberta de novas proteases, uma vez que este grupo de catalisadores biológicos constituem a principal categoria de enzimas industriais, representando aproximadamente 65% da produção global de enzimas [3,4]. Atualmente, as aplicações industriais de proteases abrangem diversas áreas indústrias, como as de curtumes [5,6], detergentes [4,7], alimentar [3,8,9], farmacêutica e cosmética [10-13]. Na verdade, estas enzimas são amplamente utilizadas nas diversas áreas industriais pois são constituintes não poluentes, para além de serem catalisadores mais eficientes e seletivos. Com o avanço da biotecnologia, especialmente nas áreas da genética e da engenharia de proteínas, ampliaram-se as aplicações enzimáticas em diversos processos industriais, com importantes iniciativas de investigação e desenvolvimento, resultando não só no desenvolvimento de uma série de novos produtos, como também na melhoria do processo e do desempenho de diversos processos já existentes. A produção de enzimas pode ser obtida quer pela via animal como vegetal, no entanto, têm sido limitadas devido a questões éticas, razões ambientais e processos de produção de baixa eficiência. Comercialmente, as enzimas microbianas são populares devido às suas vantagens científicas e económicas, bem como à sua ampla diversidade bioquímica.

## FONTES DE PROTEASES

As proteases são constituintes essenciais de todas as formas de vida na Terra, incluindo procariontes, fungos, plantas e animais, dado serem necessárias para os organismos vivos. Os microrganismos são responsáveis por dois terços da produção comercial de proteases no mundo [8]. Na verdade, as proteases de bactérias, fungos e de vírus são cada vez mais estudadas devido à sua importância e às suas aplicações subsequentes na indústria e na biotecnologia. Por outro lado, a aplicação comercial das proteases microbianas é atrativa devido à relativa facilidade de produção quando comparadas com as proteases de origem vegetal e animal.

## Proteases de origem animal

As proteases extraídas de animais são utilizadas no processamento de alimentos, rações para animais e produtos farmacêuticos e, embora historicamente tenham origem animal, a sua utilização é agora frequentemente limitada por questões éticas e de saúde pública, sendo as fontes microbianas e vegetais mais comuns ou então sinteticamente. As proteases de origem animal incluem a quimotripsina, tripsina pancreática, pepsina e renina [8,9]. A decomposição das proteínas da dieta é realizada pela tripsina, uma das principais enzimas digestivas que se encontram no trato intestinal. Atualmente, a dispendiosa enzima quimotripsina, que é feita a partir de extrato pancreático animal, é apenas utilizada em processos analíticos e de diagnóstico. Os detergentes para a roupa incluem a pepsina, uma protease ácida presente principalmente nos estômagos de todos os vertebrados [15]. Outra protease importante é a renina, encontrada principalmente nos estômagos dos animais como o precursor inativo do coalho, que é posteriormente transformado em renina ativa pela ação da pepsina [14].

## Proteases de origem vegetal

Ao contrário das enzimas codificadas por humanos, as plantas expressam proteases de diferentes mecanismos catalíticos, cujas funções são, na maioria das vezes, ainda desconhecidas. Contudo, através dos estudos com plantas geneticamente modificadas pela mutação nos alelos, silenciamento ou super expressão de genes de determinadas proteases, tem sido possível identificar as funções na fisiologia do vegetal. Tais investigações também permitiram estudar as prováveis aplicações biotecnológicas e terapêuticas destas enzimas. Algumas particularidades destas enzimas prendem-se com o facto de serem bastante estáveis às variações de temperatura, pH e força iónica do meio, requisitos essenciais para as suas aplicações em processos biotecnológicos. das principais muitas proteases vegetais possuem características excepcionais, tais como maior estabilidade, especificidade e tolerância para uma ampla gama de pH para a atividade catalítica. Estas características tornam as enzimas proteolíticas derivadas de plantas adequadas para muitas aplicações biomédicas [16]. As proteases de origem vegetal mais conhecidas incluem a ficina, a papaína, a bromelina e as queratinases. No entanto, a mesma fonte vegetal pode conter diferentes enzimas proteolíticas. Por exemplo, o látex da papaia (*Papaya carica*) apresenta várias cisteínas-proteases, incluindo a papaína, quimopapaína, caricaína e glicil endopeptidase [17].

## Proteases de origem microbiana

Devido ao seu rápido crescimento e facilidade de manipulação para a criação de novas enzimas recombinantes com as características desejadas, a comunidade microbiana é geralmente escolhida em detrimento das outras para a síntese de proteases em larga escala. Uma parcela significativa da procura global de proteases comerciais é satisfeita por proteases microbianas. As proteases microbianas têm amplas aplicações em diversas áreas, incluindo a alimentar (panificação, fabrico de cerveja, amaciamento de carne) [3,8,9], química (detergentes) [4,7], curtumes (couro) [5,6], produtos farmacêuticos (vacinas), cosméticos (cremes) [10-13], entre outros. Além disso, devido ao rápido desenvolvimento de novas áreas industriais, as aplicações de proteases microbianas estão a expandir-se para, como as indústrias de rações animais [18], aplicações de hidrólise para preparar peptídeos ativos [19] e aplicações de proteção ambiental, como o tratamento e reutilização de resíduos [20].

## PROTEASES COM ATIVIDADE TERAPÊUTICA

Os efeitos resultantes induzidos por uma enzima-protease podem ser (1) inibir a função de uma proteína fisiológica (i.e. citocina, quimiocina) através da sua decomposição em componentes inativos, (2) converter uma proteína precursora inativa num peptídeo fisiológico ativo e (3) servir como agente de sinalização para transitar a regulação positiva de um processo ou via específica. Em última análise, tanto as proteases endógenas como os inibidores de proteases desempenham papéis vitais, essenciais para a manutenção da integridade funcional e estrutural de vários sistemas orgânicos e das suas funções fisiológicas, incluindo a pele. Anormalias na função e/ou atividade da protease podem também estar presentes em determinados estados patológicos (por exemplo, rosácea, dermatite atópica, psoríase, doenças imunobolhosas). As proteases são atualmente classificadas em seis grandes grupos com base no seu domínio catalítico: serina-proteases, cisteína-proteases, aspartato-proteases, treonina-proteases, ácido glutâmico-proteases e metaloproteases (também designadas por metaloproteinases).

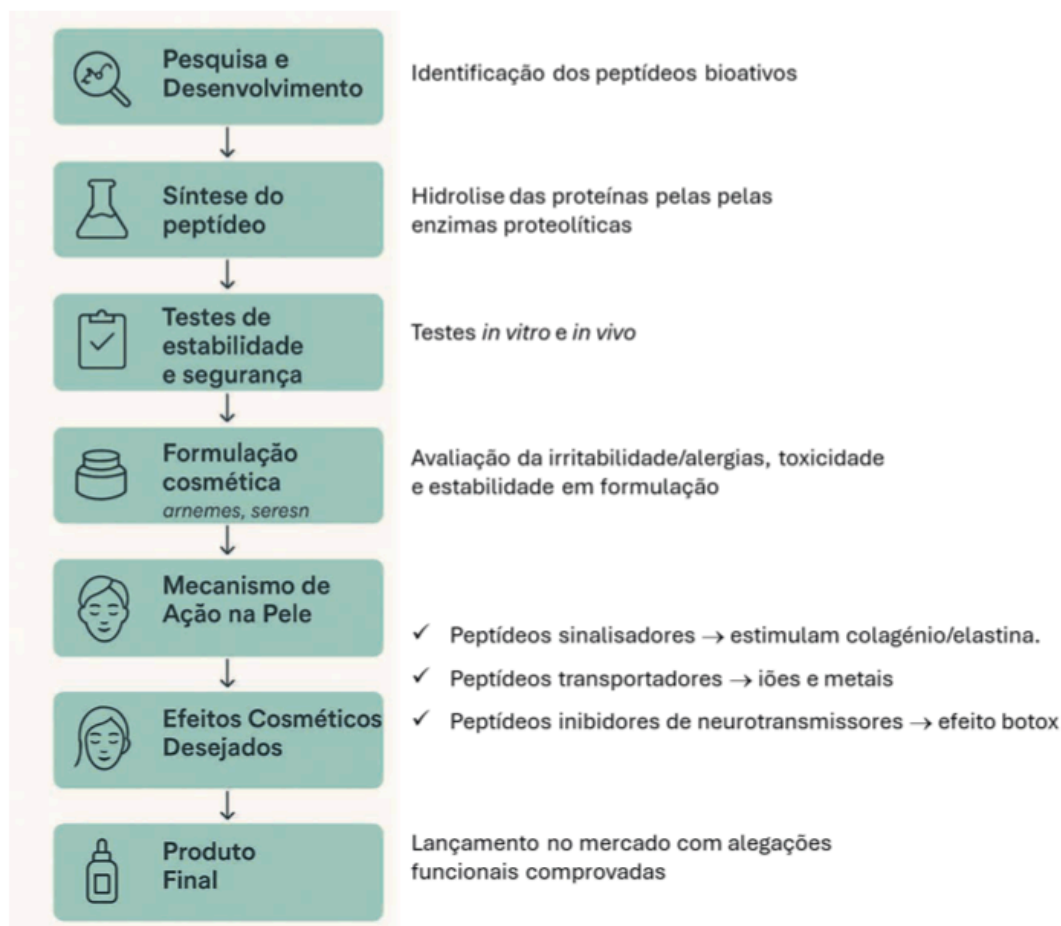
Com o desenvolvimento da microbiologia e da engenharia proteica, as proteases têm chegado ao mercado como fármacos/agentes terapêuticos. A FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou várias terapêuticas que utilizam enzimas proteases como agentes terapêuticos, sendo que muitas proteases de última geração ou completamente novas estão em desenvolvimento clínico [21]. Na verdade, estas formulações são desenvolvidas para estabilizar a sua estrutura/atividade, proteger contra a degradação, melhorar a ação farmacocinética, prolongar sua ação terapêutica e reduzir os efeitos tóxicos [22]. A nanotecnologia tem possibilitado criar carreadores de fármacos, de entre eles nano/micropartículas poliméricas (hidrogéis,

dendrimeros, lipossomas) que são capazes de aumentar eficácia, aplicabilidade clínica e adesão do paciente ao tratamento. Tais polímeros biodegradáveis/biocompatíveis são promissores carreadores destas proteases terapêuticas [23].

A crescente procura por produtos cosméticos sustentáveis e amigos do ambiente tem impulsionado o uso de resíduos industriais como matéria-prima para aplicações de elevado valor acrescentado. Surge assim a necessidade de extrair enzimas proteolíticas de resíduos e/ou subprodutos com potencial aplicação como ingredientes funcionais em cosméticos. A valorização desses resíduos através de tecnologias biotecnológicas avançadas aborda desafios ambientais críticos e oferece soluções inovadoras que transformam subprodutos agroindustriais em inputs de elevado valor para a indústria cosmética. Desta forma, a valorização de resíduos agroindustriais, recorrendo a processos sustentáveis e inovadores torna-se uma oportunidade para a produção de biomateriais e para a produção de compostos de elevado valor, os quais podem ser aplicáveis a outras indústrias, como a cosmética.

A indústria cosmética tem dado prioridade à segurança e à sustentabilidade, desenvolvendo cosméticos e cosmeceúticos formulados com ingredientes seguros, amigos do ambiente e livres de toxicidade. Esta tendência responde à crescente procura de produtos que substituam ou reduzam a utilização de ingredientes ativos e componentes que não cumprem estes critérios [3,8,24]. Por outro lado, a abordagem de questões urgentes na produção de resíduos e, conseqüentemente, no impacto ambiental, torna imperativo implementar estratégias sustentáveis de valorização de resíduos agroindustriais e alimentares.

Atualmente sabe-se que a aplicação de proteínas nativas em formulações cosméticas é limitada principalmente pela sua baixa solubilidade em água [25]. No entanto, esta limitação pode ser ultrapassada através da hidrólise enzimática, que aumenta a solubilidade e melhora as propriedades funcionais dos hidrolisados, como a hidrofobicidade superficial, a capacidade emulsionante e espumante, a melhor penetração na pele e a maior retenção de humidade e brilho cutâneo [24-27]. Estas características tornam os hidrolisados ingredientes promissores para produtos cosméticos. Atualmente, os hidrolisados proteicos (polipeptídeos, oligopeptídeos e peptídeos) são amplamente utilizados na indústria cosmética como agentes condicionadores para cabelo e pele, devido às suas funções biológicas nas células da pele. Estes compostos podem ativar vias de sinalização e regular mecanismos genéticos importantes, com benefícios cutâneos. Assim, resumidamente, a Figura 1 ilustra a importância das enzimas proteolíticas na formulação de produtos cosméticos e/ou cosmeceúticos.



**Figura 1.** Fluxograma ilustrativo da importância dos peptídeos bioativos, obtidos por hidrólise proteica, na formulação de produtos cosméticos.

Os péptidos bioativos são compostos com funções biológicas específicas, incluindo a inibição enzimática, bem como atividades antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória [28].

A hidrólise enzimática pode também servir como um pré-tratamento eficaz para facilitar a recuperação, otimizando a recuperação de compostos bioativos e contribui para a valorização de resíduos, promovendo o desenvolvimento de ingredientes funcionais de elevado valor para a indústria cosmética e outras aplicações.

Os subprodutos agroindustriais estão a emergir como fontes valiosas de peptídeos, particularmente através da hidrólise. As concentrações de proteína nos resíduos da indústria alimentar variam tipicamente entre 5,5% a 42,2% (média ≈ 20,5%), salientando a sua adequação para a bio conversão em bio peptídeos e aminoácidos [29]. Entre estes resíduos, destacam-se o resíduo da cervejaria e o lúpulo residual da cervejaria. O resíduo da cervejaria contém 12–25% de celulose, 20–25%

de hemicelulose e 12–28% de lignina, juntamente 15,9–35% de proteínas. Em contraste, o lúpulo é particularmente rico em proteínas e aminoácidos (40–52%) [30].

Assim sendo, este artigo explora o potencial para a valorização sustentável de resíduos vegetais através da hidrólise enzimática, com foco na extração de compostos bioativos para aplicação como ingredientes funcionais em formulações cosméticas. A crescente procura por cosméticos sustentáveis e amigos do ambiente, combinada com a necessidade de práticas industriais através da que promovam a circularidade e a redução de resíduos, sublinha a importância do desenvolvimento de processos inovadores com o mínimo impacto ambiental.

## VALORIZAÇÃO DE SUBPRODUTOS VEGETAIS ATRAVÉS DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

A valorização de subprodutos vegetais através da hidrólise enzimática tem vindo a ganhar crescente destaque como uma estratégia sustentável para recuperar compostos de alto valor a partir de resíduos agroindustriais, que são geralmente ricos em fibras, proteínas, lípidos e moléculas bioativas [31]. Os subprodutos agroindustriais, incluindo cascas e sementes, demonstraram um potencial significativo para aplicações nos setores farmacêutico, cosmético e nutracêutico devido ao seu elevado teor em compostos bioativos. Após a hidrólise enzimática dos subprodutos vegetais, os compostos bioativos resultantes são tipicamente caracterizados por uma combinação de análises físico-químicas (teor proteico, aminograma, grau de hidrólise, rendimento, teor de compostos fenólicos, cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa, solubilidade e estabilidade) e biológicas (atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e inibição enzimática) para avaliar o seu potencial para aplicações industriais, particularmente em cosméticos e produtos farmacêuticos. A segurança de diversas proteínas hidrolisadas utilizadas em cosméticos foi já revista pelo Painel de Peritos em Revisão de Ingredientes Cosméticos (*Cosmetic Ingredient Review-CIR*) através de várias avaliações *in vitro* e *in vivo*, previamente publicadas, para funcionarem principalmente como agentes condicionadores da pele e/ou do cabelo em produtos de higiene pessoal. Este relatório elaborado pela CIR, já avaliou a segurança de vários ingredientes derivados de plantas, tais como proteínas hidrolisadas de amaranto (*Amaranthus*), abacate (*Persea americana*), cevada (*Hordeum vulgare*), castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*), semente de algodão (*Gossypium herbaceum*), extensina vegetal, avelã (*Corylus avellana*), semente de cânhamo (*Cannabis sativa*), jojoba (*Simmondsia chinensis*), lúpulo (*Humulus lupulus*), bordo sicómoro (*Acer pseudoplatanus*), ervilha (*Pisum sativum*), batata (*Solanum tuberosum*), sésamo (*Sesamum indicum*), amêndoa doce (*Amygdalus communis*), milho (*Zea mays*) e tremoço-branco (*Lupinus albus*).

No contexto da valorização das sementes de fruta, a hidrólise enzimática das sementes de ameixa gerou peptídeos bioativos com atividades antioxidantes e anti-hipertensivas, particularmente através da utilização de Alcalase® [32], enquanto uma extração *one-pot* usando proteases permitiu a recuperação sustentável de óleos e proteínas de várias sementes e grãos de fruta, com óleos ricos em ácidos gordos insaturados e hidrolisados de proteínas [33]. As cascas de pinhão-manso (*Jatropha curcas*) hidrolisados pela enzima rotease alcalase geram peptídeos bioativos com atividades antioxidante, anti-hipertensora e antidiabética [34]. Os hidrolisados derivados de proteínas de soja, arroz e milho foram avaliados como ingredientes cosméticos, tendo sido considerados seguros para utilização em formulações. Estes compostos desempenham um papel fundamental como agentes condicionadores da pele e do cabelo e são amplamente utilizados pelas suas propriedades hidratantes e protetoras. Notavelmente, estes peptídeos apresentam, igualmente, propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias, inibindo enzimas associadas ao envelhecimento precoce cutâneo, como elastase, colagenase, tirosinase e hialuronidase, contribuindo diretamente para a manutenção da integridade da pele e para o retardamento dos sinais visíveis do envelhecimento [35]. Entre os peptídeos bioativos, destacam-se os derivados da hidrólise enzimática da proteína de soja (*Glycine max* L.) e os seus subprodutos têm sido extensivamente estudados pelos seus efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, antiateroscleróticos e anticancerígenos [35,36]. A incorporação destes peptídeos em formulações cosméticas aumenta a proteção contra o stresse oxidativo e promove a renovação celular, promovendo benefícios significativos para a saúde da pele e oportunidades de produtos multifuncionais.

Os peelings enzimáticos, também designados por cosméticos enzimáticos, são produtos cosméticos com enzimas proteolíticas que hidrolisam especificamente as ligações peptídicas das proteínas do estrato córneo. Eles promovem uma esfoliação biológica, uma regeneração mais rápida da pele, proporcionam uma limpeza profunda e facilitam a penetração de substâncias cosmeticamente ativas. As principais enzimas proteolíticas de origem vegetal utilizadas na esfoliação da pele são a papaína da papaia, a bromelaína do ananás e a ficina do figo).

## Papaína

É uma enzima proteolítica, endopeptidase, que se encontra numa concentração de cerca de 8% na papaia (*Carica papaya*). No uso dérmico, a sua principal aplicação é na área médica para o desbridamento de tecidos desvitalizados, acelerando o processo de cicatrização de feridas e de queimaduras. A papaína tem um peso molecular de 23.406 Da, um ponto isoelétrico de 8,75 e uma temperatura ótima

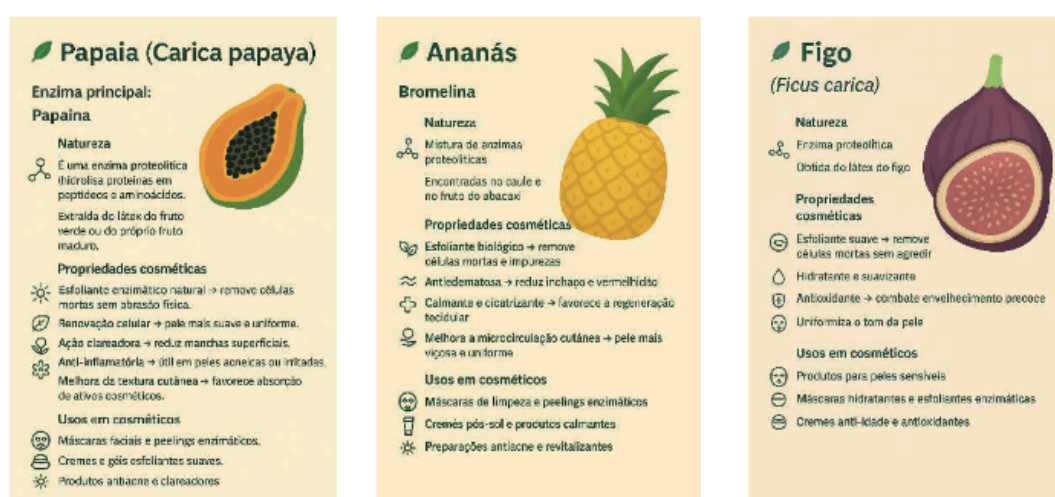
de atividade enzimática de 65 °C [37]. Os principais aminoácidos são a glicina, a valina e a tirosina (Figura 2).

## Bromelaína

É uma protease derivada do caule e do fruto do ananás (*Ananas comosus*). A bromelaína do caule é uma mistura de diferentes endopeptidases e outros componentes isolados do caule, casca e folhas deste fruto. O peso molecular, ponto isoelétrico e a temperatura ideal para a atividade enzimática são de 35 kDa, 10 e 37 °C, respectivamente [34,37]. Em termos de aminoácidos, os principais são a alanina, a glicina e o ácido aspártico (Figura 2). A bromelaína tem aplicações na indústria cosmética e é utilizada para tratar o acne, rugas e pele seca. Esta enzima digere as proteínas das células mortas da camada superior da pele, resultando na sua substituição por células mais jovens das camadas inferiores. Também ajuda a reduzir os hematomas e inchaços pós-injeção.

## Ficina

A ficina, também conhecida por ficaina, é extraída dos caules da figueira (*Ficus carica*) e possui atividade enzimática como excelente esfoliante. Diz-se também que tem benefícios antioxidantes. O seu peso molecular é de 24,294 Da e o seu ponto isoelétrico é de 9,0, enquanto a temperatura ótima para a atividade enzimática é de 50 °C (Figura 2) [33,37]. Um estudo recente mostrou que a ficina tem um efeito antioxidante e branqueador nas células da pele, e que tem potencial para ser desenvolvida como um novo material bio cosmético.



**Figura 2.** Resumo ilustrativo das características e aplicações cosméticas de 3 enzimas proteolíticas vegetais (papaína, bromelina e ficina, respetivamente).

Desta forma, poder-se-á afirmar que a hidrólise enzimática é uma estratégia altamente eficaz e pode extrair outros compostos igualmente benéficos, como os compostos bioativos do bagaço de uva, incluindo o resveratrol, um potente agente antioxidante e anti-inflamatório amplamente utilizado nas indústrias cosmética e farmacêutica pela sua eficácia comprovada na prevenção do envelhecimento precoce e na redução da inflamação [31-33]. Este processo também facilita a extração de compostos bioativos adicionais de subprodutos do vinho, como aqueles com propriedades antienvhecimento, anti-inflamatórias e cicatrizantes, expandindo assim o potencial de aplicação destes resíduos agroindustriais em formulações cosméticas de valor acrescentado [38,39].

## **APLICAÇÕES COSMÉTICAS E BENEFÍCIOS DOS COMPOSTOS DERIVADOS DE SUBPRODUTOS VEGETAIS**

Os hidrolisados derivados de proteínas de soja, arroz e milho foram avaliados são considerados seguros para utilização em produtos cosméticos. Estes compostos desempenham um papel crítico como agentes condicionadores da pele e do cabelo e são amplamente utilizados devido às suas propriedades hidratantes e protetoras [28-30]. Da mesma forma, o glúten de trigo hidrolisado e a proteína de trigo hidrolisada foram classificados como seguros para uso cosmético, desde que sejam formulados com peptídeos de peso molecular não superior a 3500 Da. Esta especificação garante segurança, eficácia e redução do risco de sensibilização cutânea [83,84]. Igualmente, os peptídeos bioativos obtidos através da hidrólise de matrizes proteicas demonstram um amplo espectro de atividades biológicas, tornando-os candidatos promissores para o desenvolvimento de produtos cosmecêuticos inovadores. Notavelmente, estes peptídeos apresentam propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias, e podem inibir enzimas associadas ao envelhecimento da pele, como a elastase, colagenase, tirosinase e hialuronidase [85]. Na verdade, os peptídeos bioativos estão a ser cada vez mais utilizados na indústria de cuidados com a pele/cosméticos. Estes peptídeos (geralmente 2 a 10 aminoácidos) possuem diferentes atividades biológicas, como antioxidantes ou inibidoras de enzimas [25]. A atividade destes péptidos, determinada pela sua sequência de aminoácidos, é altamente específica e alguns deles são biologicamente ativos a baixas concentrações. Por esta razão, nos últimos anos, os péptidos foram obtidos a partir de fontes derivadas de plantas, como folhas (por exemplo, *Moringa oleifera*, *Camelia sinensis*, *Spinaca oleracea*) ou frutos (por exemplo, *Cucumis melo*, espécies de *Citrus*, *Stenocereus pruinosus*), que demonstraram bioatividades, incluindo efeitos antioxidantes, representando assim uma alternativa mais segura para os consumidores [43]. Os péptidos derivados da soja, compostos por 3 a 6 aminoácidos, possuem diversas atividades biológicas, demonstrando um efeito significativo no aumento dos níveis

da proteína Bcl-2 pró-apoptótica e na redução da expressão de células positivas para o dímero de pirimidina ciclobuteno, células apoptóticas e das proteínas Bax e p53 da epiderme, consequentes da irradiação UVB [44]. Os péptidos derivados do arroz (peso molecular < 300 Da), obtidos após processamento especial da proteína do farelo de arroz, inibem significativamente a atividade das metaloproteínases e estimulam a expressão dos genes da hialuronano sintase em células de queratinócitos humanos [45]. Manosroi et al. [45] produziram com sucesso fórmulas contendo niossomas encapsulados em peptídeos do farelo de arroz e demonstraram que estes apresentam propriedades clínicas antienvhecimento ideais. Zhu et al. [46] isolaram sete peptídeos antioxidantes, a partir do alperce utilizando papaína, e os resultados do ensaio de atividade antioxidante mostraram que a taxa de eliminação dos peptídeos antioxidantes mencionados sobre os radicais livres ABTS foi superior à do ácido ascórbico. Neste estudo constatou-se que os peptídeos antioxidantes mencionados foram capazes de inibir significativamente a extensão dos danos causados pela radiação UV. Os péptidos da batata apresentam efeito regenerativo de colagénio, e até uma concentração máxima de utilização de 2,4% podem integrar formulações de cremes [47]. Os resíduos e subprodutos vegetais contêm uma grande diversidade de moléculas bioativas com potencial significativo para aplicação na indústria cosmética.

## CONCLUSÃO

Os resíduos e subprodutos vegetais contêm uma grande diversidade de moléculas bioativas com significativo potencial de aplicação na indústria cosmética. Estes compostos, incluindo antioxidantes, polifenóis, vitaminas, aminoácidos e péptidos, proporcionam benefícios funcionais às formulações cosméticas, como efeitos hidratantes, anti-inflamatórios e antienvhecimento. A reciclagem de materiais residuais que, de outra forma, seriam descartados ou subvalorizados acrescenta valor económico a estes subprodutos e representa um passo importante para o fortalecimento da economia circular. Este processo reduz significativamente a procura por matérias-primas virgens, minimizando, assim, os impactos ambientais associados à extração de novos recursos naturais. Além disso, contribui para a mitigação das emissões de gases com efeito de estufa e, consequentemente, aumenta a sustentabilidade do setor.

## REFERÊNCIAS

1. MOISOI, N. **Mitochondrial proteases modulate mitochondrial stress signalling and cellular homeostasis in health and disease.** Biochemie, v. 226, p. 165-179. Nov. 2024.

2. LUCINSKI, R.; ADAMIEC, M. **The role of plant proteases in the response of plants to abiotic stress factors.** *Frontiers Plant Physiology*, v. 1. p. 1330216. Dec. 2023.
3. TRANCOSO, F.D.; SÁNCHEZ, D.A.; FERREIRA, M.J. **Production of plant proteases and new biotechnological applications: An updated review.** *ChemistryOpen*, v. 11, n.3, p. e202200017. Mar. 2022.
3. ELHAMDI, M.; GHORBEL, S.; HMIDET, N. ***Bacillus swezel* B2 strain: a novel alkaliphilic bacterium producer of alkaline-, thermal, oxidant, and surfactant stable protease, extremely efficient in detergency.** *Current Microbiology*, v. 80, p. 95. Feb. 2023.
4. ELHAMDI, M.; BELHADJLETAIEF, C.; HMIDET, N.; GHORBEL, S. **Proteases and keratinases from *Bacillus zhangzhouensis* MH1: Practical use in detergent, leather, and waste management processes.** *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 284, p. 138036. Jan. 2025.
5. SHARMA, S.; KUMAR, S.; KAUR, R.; KAUR, R. **Multipotential alkaline protease from a novel *Pyxidicoccus* sp. 252: ecofriendly replacement to various chemical processes.** *Frontiers Microbiology*, v. 12, p. 2722. Oct. 2021.
6. LASON-RYDEL, M.; SIECZYNSKA, K.; GENDASZEWSKA, D.; LAWINSKA, K.; OLEJNIK, T.P. **Use of enzymatic processes in the tanning of leather materials.** *Autex Research Journal*, v. 24, n. 1, p. 20230012. Oct. 2024.
7. ALICI, E.H.; ARABACI, G. **Strawberry protease as a laundry detergent additive candidate: Immobilization, compatibility study with detergent ingredients, and washing performance test.** *Global Challenges*, v. 8, p. 2300102. Nov. 2023.
8. SONG, P.; ZHANG, X.; WANG, S.; XU, W.; WANG, F.; FU, R.; WEI, F. **Microbial proteases and their applications.** *Frontiers Microbiology*, v. 14, p. 1236368. Sep. 2023.
9. CHOUDHURY, N. **Understanding the molecular mechanisms of proteases in bioprocessing: A review on the future of the food industry.** *Research Reviews Journal Biotechnology*, v. 13, n. 2, p. 17-25. Nov. 2023.
10. PREVITI, S.; ETTARI, R. **Inhibitors of proteases: A well-grounded strategy in drug development.** *Molecules*, v. 30, n.14, p. 2909. Jul. 2025.
11. VENETIKIDOU, M.; LYKARTSI, E.; ADAMANTIDI, T.; PROKOPIOU, V.; OFRYDOPOULOU, A.; LETSIOU, S.; TSOUPRAS, A. **Proteolytic enzyme activities of bromelain, ficin, and papain from fruit by-products and potential applications in sustainable and functional cosmetics for skincare.** *Applied Sciences*, v. 15, n. 5, p. 2637. Feb. 2025.

12. SOLDACKA, D.; BARANSKA-RYBARK, W. **Evaluation of safety and efficacy of chemical peels with and without sonophoresis on selected skin parameters-A prospective comparative study.** *Cosmetics*, v. 11, p. 185. Oct. 2024.
13. ROSTKOWSKA, E.; POLESZAK, E.; WOJCIECHOWSKA, K.; DOS SANTOS SZEWCZYK, K. **Dermatological management of aged skin.** *Cosmetics*, v.10, p. 55. Mar. 2023.
14. GAUTAM, S.; MISHRA, D. **Applications and prospects of proteases: An overview.** *International Journal Food Nutrition Sciences*, v. 11, n. 8, 2022.
15. ASH, K.; MISHRA, S.K. **Protease enzymes: present status and future perspectives for industrial sector.** *International Journal Current Microbiology Applied Sciences*, v. 12, n.2, p. 311-323. Feb. 2023.
16. BALAKIREVA, A.V.; KUZNETSOVA, N.V.; PETUSHKOVA, A.I.; SAVVATEEVA, L.V.; ZAMYATNIN JR., A.A. **Trends and prospects of plant proteases in therapeutics.** *Current Medicinal Chemistry*, v. 26, p. 465-486. Nov. 2017.
17. MIRZA A.; SRUJANA, A.; PRIYA, N.N.; JOHNSON, V.J. (2023) **Industrial applications of using papaya and various parts of the plant as a source of proteolytic enzymes papaya and its applications.** *Journal Horticulture*, v. 10, n. 1, p. 1000002. Oct. 2023.
18. BERNARDEAU, M.; HIBBERD, A.A.; SAXER, G.; VELAYUDHAN, D.E.; MARCHAL, L.; VINYETA, E. **O122 intrinsic properties of 3 *Bacillus* spp. strains from animal origin constituent of a direct fed Microbials/protease blend having growth performance in pigs fed high fiber diet.** *Animal Science Proceedings*, v. 13, p. 394–395. Aug. 2022.
19. CHRISTENSEN, L.F.; GARCÍA-BÉJAR, B.; BANG-BERTHELSEN, C.H.; HANSEN, E.B. **Extracellular microbial proteases with specificity for plant proteins in food fermentation.** *International Journal Food Microbiology*, v. 381, p. 109889. Nov. 2022.
20. ASITOK, A.; EKPENYONG, M.; TAKON, I.; ANTAI, S.; OGAREKPE, N.; ANTIGHA, R., **Overproduction of a thermo-stable halo-alkaline protease on agro-waste-based optimized medium through alternate combinatorial random mutagenesis of *Stenotrophomonas acidaminiphila*.** *Biotechnology Reports*, v. 35, p. e00746. Sep. 2022.
21. SHANKAR, R.; UPADHYAY, P.K.; KUMAR, M. **Protease enzymes: Highlights on potential of proteases as therapeutics agents.** v. 27, p.1281–1296. Jan. 2021.
22. CHELLIAH, R.; RUBAB, M.; VIJAYALAKSHMI, S.; KARUVELAN, M.; BARATHIKANNAN, K.; OH, D.H. **Liposomes for drug delivery: Classification, therapeutic applications, and limitations.** *Next Nanotechnology*, v. 8, p. 100209. Jul. 2025.

23. DESAI, N.; RANA, D.; PATEL, M.; BAJWA, N.; PRASAD, R.; VORA, L.K. (2025). **Nanoparticle therapeutics in clinical perspective: classification, marketed products, and regulatory landscape.** *Small*, v. 21, n. 29, p. 2502315. Fev. 2025.
24. KETEMEPI, H.K.; AWANG, M.A.B.; SEELAN, J.S.S.; MOHD, N.Q.I. **Extraction process and applications of mushroom-derived protein hydrolysate: A comprehensive review.** *Future Foods*, v. 9, n. 1, p. 100359. Apr. 2024.
25. ZAKY, A.A.; SIMAL-GANDARA, J.; EUN, J.B.; SHIM, J.H.; ABD EL-ATY, A.M. **Bioactivities, applications, safety, and health benefits of bioactive peptides from food and by-products: A review.** *Frontiers Nutrition*, v. 8, p. 815640. Jan. 2022.
26. LIN, D.; SUN, L.C.; CHEN, Y.L.; LIU, G.M.; MIAO, S.; CAO, M.J. **Peptide/Protein hydrolysate and their derivatives: Their role as emulsifying agents for enhancement of physical and oxidative stability of emulsions.** *Trends Food Science Technology*, v. 129, p. 11-24. Nov. 2022.
27. SAORIN-PUTON, B.M.; DEMAMAN-ORO, C.E.; LISBOA-BERNARDI, J.; FINKLER, D.; VENQUIARUTO, L.D.; DALLAGO, R.M.; TRES, M.V. **Sustainable valorization of plant residues through enzymatic hydrolysis for the extraction of bioactive compounds: applications as functional ingredients in cosmetics.** *Processes*, v.13, p. 1314. Apr. 2025.
28. COSTA, E.M.; OLIVEIRA, A.S.; SILVA, S.; RIBEIRO, A.B.; PEREIRA, C.F.; FERREIRA, C.; CASANOVA, F.; PEREIRA, J.O.; FREIXO, R.; PINTADO, M.E.; et al. **Spent yeast waste streams as a sustainable source of bioactive peptides for skin applications.** *International Journal Molecular Science*, v. 24, p. 2253. Jan. 2023.
29. DHIMAN, S.; THAKUR, B.; KAUR, S.; AHUJA, M.; GANTAYAT, S.; SARKAR, S. **Closing the loop: Technological innovations in food waste valorization for global sustainability;** Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2025; ISBN 4362102501073.
30. BRAVI, E.; DE FRANCESCO, G.; SILEONI, V.; PERRETTI, G.; GALGANO, F.; MARCONI, O. **Brewing by-product upcycling Potential: Nutritionally valuable compounds and antioxidant activity evaluation.** *Antioxidants*, v. 10, p. 165. Jan. 2021.
31. DOS SANTOS, K.I.P.; BENJAMIM, J.K.F.; DA COSTA, K.A.D.; DOS REIS, A.S.; DE SOUZA PINHEIRO, W.B.; SANTOS, A.S. **Metabolomics techniques applied in the investigation of phenolic acids from the agro-industrial by-product of *Carapa guianensis* Aubl. Arab.** *Journal Chemistry*, v. 14, p. 103421. Aug. 2021.
32. GONZÁLEZ-GARCÍA, E.; MARINA, M.L.; GARCÍA, M.C. **Plum (*Prunus domestica* L.) by-product as a new and cheap source of bioactive peptides: Extraction method and peptides characterization.** *Journal Functional Foods*, v. 11, p. 428-437. Nov. 2014.

33. LOLLI, V.; VISCUSI, P.; BONZANINI, F.; CONTE, A.; FUSO, A.; LARocca, S.; LENI, G.; CALIGIANI, A. **Oil and protein extraction from fruit seed and kernel by-products using a one pot enzymatic-assisted mild extraction.** Food Chemistry, v. 19, p. 100819. Oct. 2023.
34. JAVIER, O.E.; ALEJANDRO, G.R.M.; ELIZABETH, C.L.; GUADALUPE, P.F.J.; EMMANUEL, P.E.; CARLOS, M.S.J.; DANIEL, M.C. **In vitro multi-bioactive potential of enzymatic hydrolysis of a non-toxic *Jatropha curcas* cake protein isolate.** Molecules, v. 29, p. 3088. Jun. 2024.
35. AGUILAR-TOLALÁ, J.E.; HERNÁNDEZ-MENDOZA, A.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A.F.; VALLEJO-CORDOBA, B.; LICEAGA, A.M. **Potential role of natural bioactive peptides for development of cosmeceutical skin products.** Peptides, v. 122, p. 170170. Dec. 2019.
36. SINGH, B.P.; VIJ, S.; HATI, S. **Functional significance of bioactive peptides derived from soybean.** Peptides, v. 54, p. 171-179. Apr. 2014
37. GONÇALVES, S. **Use of enzymes in cosmetics: proposed enzymatic peel procedure.** CosActive Journal, v. 1, p. 27-33. Jul. 2021.
38. SODHI, G.K.; KAUR, G.; GEORGE, N.; WALIA, H.K.; SILLU, D.; RATH, S.K.; SAXENA, S.; RIOS-SOLIS, L.; DWIBEDI, V. **Waste to wealth: Microbial-based valorization of grape pomace for nutraceutical, cosmetic, and therapeutic applications to promote circular economy. Process.** Safety Environmental Protection, v. 188, p. 1464-1478. Dec. 2024.
39. VINHA, A.F.; SOUSA, C.; VILELA, A.; FERREIRA, J.; MEDEIROS, R.; CERQUEIRA, F. **Potential of portuguese citiculture by-products as natural resources of bioactive compounds—antioxidant and antimicrobial activities.** Applied Sciences, v. 14, p. 6278. Jul. 2024.
40. Aguilar-Toalá, J.E.; Hernández-Mendoza, A.; González-Córdova, A.F.; Vallejo-Cordoba, B.; Liceaga, A.M. **Potential role of natural bioactive peptides for development of cosmeceutical skin products.** Peptides, v. 122, 170170. Dec. 2019.
41. BURNETT, C.L.; BOYER, I.J.; BERGFELD, W.F.; BELSITO, D.V.; HILL, R.A.; KLASSEN, C.D.; LIEBLER, D.C.; MARKS, J.G.; SHANK, R.C.; SLAGA, T.J.; et al. **Safety assessment of plant-derived proteins and peptides as used in cosmetics.** International Journal Toxicology, v. 41, p. 5S–20S. Aug. 2022.
42. BARRAL-MATINEZ, M.; FRAGA-CORRAL, M.; GARCIA-PEREZ, P.; SIMAL-GANDARA, J.; PRIETO, M.A. **Almond by-products: Valorization for sustainability and competitiveness of the industry.** Foods, v. 10, p. 1793. Aug. 2021.
43. AVILÉS-GAXIOLA, S.; GARCÍA-AGUIAR, I.; JIMÉNEZ-ORTEGA, L.A.; GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E.P.; HEREDIA, J.B. **Bioactive plant peptides: Physicochemical features, structure-function insights and mechanism of action.** Molecules, v. 30, p. 3683. Sep. 2025.

44. FRIES, K.S.; HELDRETH, B. **Safety assessment of soy proteins and peptides as used in cosmetics**. *International Journal Toxicology*, v. 42, p. 1025-1135. Aug. 2023.
45. MANOSROI, A.; CHUTOPRAPAT, R.; ABE, M.; MANOSROI, W.; MANOSROI, J. **Anti-aging efficacy of topical formulations containingniosomes entrapped with rice bran bioactive compounds**. *Pharmacology Biology*, v. 50, p. 208-224. Feb. 2012.
46. ZHU, X.; ZHANG, X.; WANG, Z.; REN, F.; ZHU, X.; CHEN, B.; LIU, H.; WUYUN, T. **Screening and preparation of highly active antioxidant peptides of apricot and their inhibitory effect on ultraviolet radiation**. *Food Chemistry*, v. 463, p. 141336. Jan. 2024.