



Potencial Nanotecnológico de queratina do cabelo humano: Produção da nanoqueratina a partir de microrganismos

Nanotechnological potential of human hair keratin: Production of nanokeratin from microorganisms

Camila Kaori Asato¹, Lorena Chagas Duarte², Rosilene Aparecida Prestes³

RESUMO

Este estudo teve como objetivo, investigar técnicas químicas e microbiológicas que busquem minimizar o impacto ambiental do resíduo biológico cabelo humano, visando agregar valor por meio do potencial nanotecnológico da queratina. A pesquisa pretendeu abordar os problemas corriqueiros em salões devido a abundância dessa fibra capilar, composto por queratina, uma proteína que oferece resistência à estrutura capilar, propondo-se reaproveitar, recorrendo ao desenvolvimento da nanoqueratina que pode ser utilizada em diversas áreas. Para isso realizou-se inicialmente a comparação entre os métodos de extrações da queratina através da análise de FTIR com o uso de agentes redutores como o 2-mercaptoetanol e a L-cisteína. O resultado dos espectros demonstrou semelhanças entre as amostras. No entanto, o método com L-cisteína continua sendo mais viável para a produção da proteína de interesse na escala industrial. Os futuros tópicos a serem planejados será voltado a degradação da queratina pelas enzimas queratinases produzidas tanto pelas bactérias ou fungos queratinofílicos.

PALAVRAS-CHAVE: Cabelo humano; Nanotecnologia; Queratina.

ABSTRACT

This study aimed to investigate chemical and microbiological techniques that seek to minimize the environmental impact of human hair biological waste, with the goal of adding value through the nanotechnological potential of keratin. The research aimed to address common issues in salons due to the abundance of this hair fiber, composed of keratin, a protein that provides strength to the hair structure, by proposing to repurpose it through the development of nano-keratin for various applications. To achieve this, a comparison was initially made between methods of keratin extraction through FTIR analysis using reducing agents such as 2-mercaptoethanol and L-cysteine. The spectroscopy results demonstrated similarities between the samples. However, the method with L-cysteine remains more viable for the production of the protein of interest on an industrial scale. Future topics to be planned will focus on the degradation of keratin by keratinase enzymes produced by both keratinophilic bacteria and fungi.

KEYWORDS: Human hair; Nanotechnology; Keratin.

INTRODUÇÃO

Ao longo da história humana, o conceito de beleza sempre esteve conectado com o período histórico e cultural da civilização, presente além das manifestações artísticas, envolvendo juntamente com todo aspecto religioso, científico, político e filosófico acerca do ideal de beleza (ECO, 2004).

Pelo simples fato da visibilidade e crescimento natural do cabelo, em torno de 1,5 cm por mês, acaba sendo umas das poucas características estéticas controláveis e

¹ Voluntário(a) do CNPQ. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: camilakaori@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 4867419175626598.

² Bolsista do CNPQ. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: lorenaduarte.2021@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 7637431019141045.

³ Licenciatura em Ciências Biológicas/ Departamento Acadêmico de Ensino. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: raprestes@utfpr.edu.br. ID Lattes: 0098706153281307.



modificáveis. Propiciando uma ferramenta para todas as culturas a mudar o visual, de modo que a aparência do indivíduo esteja dentro das normas de um grupo social e cultural (MOURA, 2007).

Diante dessas acepções do cabelo como uma ferramenta de identidade individual e no modo como as pessoas se relacionam com suas culturas e comunidades, podemos ressaltar os desafios acerca no manejo dos detritos de cabelos sem interesse econômico, tornando-se um resíduo problemático devido à queratina, uma proteína presente na epiderme dos animais na forma de penas, unhas, bicos, garras, chifres cabelos, cascos, lã e escamas. Conferindo certa resistência, flexibilidade e impermeabilidade à água, implicando conseqüentemente na degradação do cabelo ao longo do tempo. Em função disso, atualmente são descartados em aterros e incinerados, métodos que geram impactos negativos ao meio ambiente como a contaminação da água, do solo ou na emissão de dióxido de carbono (BACH, 2008; FERROZ *et al.*, 2020; SUZUKI *et al.*, 2006).

Atualmente com avanços exponenciais das tecnologias, materiais nanotecnológicos tem apresentado interesse econômico, na qual a nanoqueratina têm característica na formação de polímeros dentro de cavidades, automontagem, biocompatibilidade, aplicações biomédicas, biodegradação, visto que podem ser empregadas em biomateriais (FERROZ *et al.*, 2020; KIM *et al.*, 2019).

Mediante ao exposto, existe uma demanda por soluções inovadoras relacionadas com o descarte inapropriado da queratina, onde ambos os autores citados anteriormente discutem a capacidade de decomposição utilizado microrganismos. De acordo com Feroz *et al.*, (2020), além de consumir menos energia, o uso de ação enzimática disponibiliza de tratamentos menos severos. É pensando nisso, que a presente pesquisa parte da seguinte problemática:

Como obter um melhor rendimento da queratina visando seu potencial nanotecnológico, a partir do reaproveitamento do cabelo humano por meio do tratamento microbiano?

Tais estudos como os de Lange *et al.*, (2016), Suzuki *et al.*, (2006) e Villa *et al.*, (2013) vêm sendo realizados com enzima queratinase, buscando identificar, selecionar microrganismos com base na sua atividade queratinolítica, visto que os levantamentos vêm de encontro com os interesses desta pesquisa, no sentido de buscar metodologias menos danosas para o meio ambiente. De modo que, o trabalho tem como objetivo investigar técnicas microbiológicas que minimizem o impacto ambiental do resíduo cabelo humano, visando o potencial nanotecnológico da queratina oriundas do cabelo humano.

METODOLOGIA

A trajetória metodológica que se delineou, proporcionou condições para o cultivo de microrganismos capacitados de sintetizar enzimas queratinases, devido a sua afinidade pela proteína queratina. Para a obtenção dessa proteína foi efetuado uma revisão bibliográfica para filtrar os métodos de extrações presente na literatura, onde priorizasse a eficiência do rendimento, juntamente com a viabilidade econômica e ambiental dos processos extrativos para a aquisição da queratina de cabelos humanos oriundos de doações dos salões de beleza na cidade de Ponta Grossa/ PR.

Apropriados desse assunto, estudo foi realizado no Laboratório de Sustentabilidade e Inovação Tecnológica (LASIT) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus



Ponta Grossa/ PR, em conjunto com o Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-LABMU), localizado na Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Extração da queratina do cabelo humano

A extração visa o isolamento da proteína queratina presente na fibra capilar através de produtos químicos, de modo que consiga desestabilizar as estruturas moleculares. Dentre os estudos para tal extração, os métodos que têm se destacado são por uso de agentes redutores que quebram as pontes dissulfeto da cistina, fornecendo lugar a sua forma reduzida de duas cisteínas (SHAVANDI *et al.*, 2017).

Cabe ressaltar que todos os fios após coletados de salões, foram limpos com sabão neutro, lavados na mistura de água e etanol e exposto na estufa (LimaTec) a 30°C até secarem por completo. Em seguida, 10 g de cabelo deslipo pelo extrator Sohxlet. O solvente do extrato foi evaporado e a massa do extrato hexânico foi expressa em 2,7% da massa inicial, depois foi iniciada a retirada da proteína fibrosa.

Apropriados desse assunto, a trajetória baseou-se em duas metodologias que utilizam de agentes redutores, entre eles foram o método Shindai (AGARWAL *et al.*, 2019; NAKURAMA *et al.*, 2002), com uma mistura contendo 8 g de cabelo, 340 mL de água destilada, 72 g de ureia (CH₄N₂O), 7,68 g de SDS (Dodecil Sulfato de Sódio) e 20 mL de 2-mercaptoetanol (C₂H₄OS) para a remoção das proteínas capilares. O pH foi ajustado para 9 ~ 10 com o hidróxido de sódio (NaOH), e mantidas por 48 horas no agitador magnético (Centauro) a uma temperatura próxima dos 70°C, dentro de uma capela de exaustão.

Já o segundo método com base nos estudos de Wang *et al.*, (2016), foram mantidos sob agitação contínua a 75 °C por 5 horas, onde 5 g de cabelo imerso na solução contendo ureia (8 M), L-cistina (0,165M) e NaOH (5M) para o ajuste do pH para 10,5. Seguido da extração, a mistura foi filtrada e dialisada com água destilada por meio da membrana de diálise (peso molecular cortado 8000-14000Da), alterando a água destilada quatro vezes ao dia (6 em 6 horas) por 3 dias.

Preparo do meio microbiológico

Os componentes do meio de cultura foram constituídos conforme descritos por Brobrzanski *et al.*, (2018), onde foram submetidas a adaptações e alterações para atender às necessidades dos microrganismos queratinofílicos. Utilizando-se de meio mineral (tampão fosfato de potássio 10 mM, pH 7,0, contendo 3 gL⁻¹ de NaNO₃, 0,5 gL⁻¹ de MgSO₄, 0,5 gL⁻¹ de KCl, 0,01 gL⁻¹ de FeSO₄, 0,04 gL⁻¹ de CaCl₂, 0,001 gL⁻¹ de MnSO₄, 15 gL⁻¹ de Ágar (Coadjuvante bacteriológico) e 15 gL⁻¹ de queratina extraída. utilizou-se de extrações de queratina pelo método Shindai, onde foram imersas na membrana de diálise por 1 semana, realizando a troca constante da água destilada. Em seguida, amostra de dentro da membrana foi centrifugada a 3500 rpm por 20 minutos e liofilizada. Todos os meios foram autoclavados a 120 °C por 20 min.

Análise da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

Os espectros vibracionais na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR), foram obtidos em um espectrofotômetro (Modelo IRPrestige-21, DRS-8000/



Shimadzu), com 64 varreduras, resolução de 2 na faixa de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} . As pastilhas foram preparadas com 0,001 g do extraído e 0,100 g de KBr.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Análise Quantitativa dos Hexânico do Cabelo

Com base na pesagem das amostras, verificou-se o extrato hexânico (lipídios apolares) dos fios de cabelo. Pelo método Shindai, a quantidade de lipídios em 8 g de cabelo corresponde em média 2,4%, enquanto pelo método com L-cisteína obteve em média 2,7% em 10 g de cabelo. Estes resultados mostram claramente a correlação entre a quantidade de lipídios extraídos e a quantidade de extração de queratina em ambas as técnicas de extração.

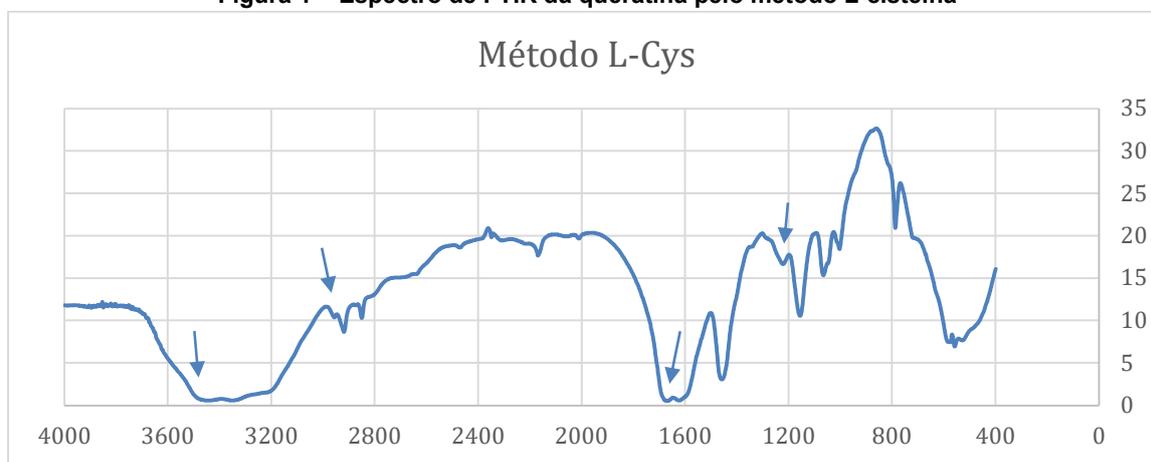
Isolamento dos microrganismos

A bactéria isolada provém de solo de composteira, destacando-se colônias de coloração branca, morfologia em cocos e classificada com gram positiva. Desenvolvendo em meio sólido a $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ dentro de uma estufa controlada e em meio líquido a $17\text{ }^{\circ}\text{C}$. A variação nas condições de cultivo permitiu a observação de diferentes respostas de crescimento dessas bactérias em ambientes com características térmicas divergentes.

Análise FTIR

Os espectros de FTIR obtido das amostras a seguir (Figura 1 e 2), revelam as bandas de absorção que são comumente pertencentes às ligações peptídicas (–CONH–). Com base em Bidegain *et al.*, (2016) as características dos grupos funcionais das proteínas, como a vibração de tensão N–H (3.424 cm^{-1}), C–H (2.950 cm^{-1}), C=O (1.652 cm^{-1}), C–N (1.232 cm^{-1}).

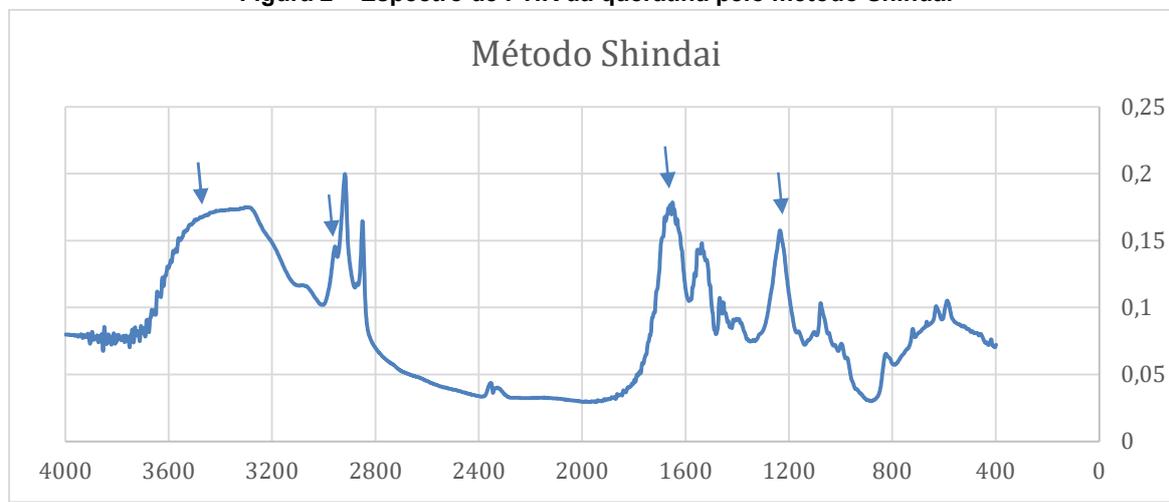
Figura 1 – Espectro de FTIR da queratina pelo método L-cisteína





Fonte: Própria do autor

Figura 2 – Espectro de FTIR da queratina pelo método Shindai



Fonte: Própria do autor

CONCLUSÃO

Mediante a coleta de dados espectrais, os métodos de extração apresentam semelhanças entre os agrupamentos químicos, alternando apenas a concentração de absorção. Contudo, o método com L-cisteína foi o mais utilizado devido o seu baixo custo e danos ambientais. Em relação o uso de microrganismos queratinofílicos, os estudos estão em desenvolvimento, atualmente estamos trabalhando nas etapas de identificação dos microrganismos e sua atividade proteolítica e queratinolítica.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio do Programa Institucional de Voluntariado em Iniciação Científica e Tecnológica (PIVIT) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa. Os agradecimentos se estendem a Professora orientadora Rosilene Aparecida Prestes e a todos os envolvidos.

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, V. *et al.* Comparative study of keratin extraction from human hair. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p. 382-390, 2019.
- BACH, Evelise. **Seleção de bactérias queratinolíticas provenientes de solos brasileiros**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 2008.
- BIDEGAIN, B. F. A. *et al.* Extracción de la queratina de la lana de oveja “latxa”. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v.17 (3), p. 110-121, 2016.



DOBRZANSKI, Tatiane *et al.* Bacillus megaterium strains derived from water and soil exhibit differential responses to the herbicide mesotrione. **PloS one** v. 13,4. doi:10.1371/journal.pone.0196166, 2018.

ECO, Umberto. **História da Beleza**. Rio de Janeiro: Record. 2004.

FEROZ, Sandleen; MUHAMMAD, Nawshad; RATNAYAKE, Jithendra e DIAS, George. Keratin - Based materials for biomedical applications, **Bioactive Materials**, v. 5, p. 496-509, 2020.

KIM, S. Y. *et al.* Human hair keratin-based hydrogels as dynamic matrices for facilitating wound healing. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 73, 2019.

LANGE, L. *et al.* Microbial decomposition of keratin in nature – a new hypothesis of industrial relevance. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v. 100, p. 2083-2096, 2016.

NAKURAMA, A. *et al.* A Rapid Extraction Procedure of Human Hair Proteins and Identification of Phosphorylated Species. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 25, n. 5, p. 569-572, 2002.

MOURA, J. M. **Raízes da Beleza**: Cabelo como símbolo de representação cultural na sociedade de consumo. Brasília. Centro Universitário de Brasília - UniCEUB. 2007.

SUZUKI Y. *et al.* Decomposition of extremely hard-to-degrade animal proteins by thermophilic bacteria. **J Biosci Bioeng.** v. 102, p. 73-81. doi: 10.1263/jbb.102.73. PMID: 17027867, 2006.

SHAVANDI, A. *et al.* Keratin: dissolution, extraction and biomedical application. **Biomaterials Science**, v. 5, n. 9, p. 1699-1735, 2017.

VILLA, A. L. *et al.* Feather keratin hydrolysates obtained from microbial keratinases: effect on hair fiber. **BMC Biotechnol.** 2013.

WANG, K., LI, R., MA, J. H., JIAN, Y. K., & CHE, J. N. Extracting keratin from wool by using l-cysteine. **Green Chemistry**, p. 476–481, 2016.

YAMAUCHI, Kiyoshi; YAMAUCHI, Asao; KUSUNOKI, Tomoo; KOHDA, Akio; KONISHI, Yotaro. Preparation of stable aqueous solution of keratins, and physiochemical and biodegradational properties of films. **Journal Of Biomedical Materials Research**, v. 31, p. 440-444, 1995.