

EXTRAÇÃO, ATIVIDADE DA BROMELINA E ANÁLISE DE ALGUNS PARÂMETROS QUÍMICOS EM CULTIVARES DE ABACAXI¹

GISELY MARIA FREIRE ABÍLIO^{2*}, HEINZ JOHANN HOLSCHUH³,
PUSHKAR SINGH BORA³, ELIAZAR FELIPE DE OLIVEIRA⁴

RESUMO-Diante dos riscos e das limitações advindos do cultivo exclusivo de abacaxizeiros Pérola e Smooth Cayenne e visando à variabilidade genética, o Estado da Paraíba estuda material genético diversificado: os híbridos Emepa-01, Imperial e MD-2. Objetivando a caracterização destes novos híbridos, avaliaram-se alguns parâmetros químicos e a atividade da bromelina nas polpas e nas cascas de todas as cultivares. O abacaxi Smooth Cayenne apresentou o menor pH (3,44 para polpa e 3,91 para a casca) e a maior acidez titulável (0,56g de ácido cítrico para 100g de polpa e 0,52g de ácido cítrico para 100g de casca), sendo a cultivar mais ácida. Dentre as polpas, as dos abacaxis Pérola e Smooth Cayenne contiveram níveis de açúcares redutores, não redutores e totais significativamente maiores ($p < 0,05$) do que os híbridos, apesar de estes terem valores mais elevados (maior que 30,00) da relação sólidos solúveis e acidez titulável e, conseqüentemente, maior aceitação pelo consumidor. O extrato bruto da cultivar Imperial apresentou maior atividade proteolítica e teor de proteína tanto na polpa (56,41 U/mL e 7,50 mg de proteína/mL) quanto na casca (68,56 U/mL e 10,40 mg de proteína/mL). Para a atividade específica, a casca do abacaxi Pérola (10,01 U/mg de proteína) contém valor significativamente mais elevado que os encontrados nas demais amostras. No entanto, dentre as polpas, a da cultivar Imperial (7,49 U/mg de proteína) apresenta atividade específica significativamente superior ($p < 0,05$) às demais.

Termos para indexação: abacaxi, bromelina, atividade proteolítica, parâmetros bioquímicos, polpa, casca.

EXTRACTION, BROMELAIN ACTIVITY AND ANALYSIS OF SOME CHEMICAL PARAMETERS IN PINEAPPLE VARIETIES FROM PARAÍBA

ABSTRACT - Due to the risks and limitations which has come from exclusive cultivation of Pérola and Smooth Cayenne - pineapple plant - and aiming genetic variability, the state of Paraíba provides diversified genetic material cultivating the hybrids Emepa - 01, Imperial and MD-2 pineapple varieties. Aiming the biochemical characterization of those new hybrids, some biochemical parameters were determined: pulp and rind of those cultivars including bromelain activity. Smooth Cayenne pineapple had introduced the smallest pH (3,44 for pulp and 3,91 for rind) and the biggest titled acidity (0,56g of citric acid for 100g of pulp and 0,52g of citric acid for 100g of rind), being the most acid cultivar. Among the pulps the Pérola and the Smooth Cayenne varieties presented levels of reduced, non-reduced and total sugar significantly higher ($p < 0,05$) than the hybrids, in spite of having more elevated values (bigger than 30,00) of the ratio of soluble solids to titled acidity, consequently resulted on a better acceptance by consumers. The crude extract of the Imperial cultivar had the biggest proteolytic activity and protein content in the pulp (56,41 U/mL and 7,50 mg of protein/mL) as well as in the rind (68,56 U/mL and 10,40 mg of protein/mL). For the specific activity, the rind of Pérola pineapple (10,01 U/mg of protein) provided more significantly elevated value ($p < 0,05$) than those ones observed in the other samples. However, the pulp from Imperial cultivar (7,49 U/mg of protein) presented considerably superior activity if compared to the rest.

Index terms: pineapple, biochemical, activity, bromelain.

¹(Trabalho 234-08). Recebido em: 09-09-2008. Aceito para publicação em 18-11-2009.

²Mestre, Profa. Associada do DGTA/UFPB, Universidade Federal da Paraíba, Campos IV, Bananeiras - email gisely_abilio@yahoo.com.br

³Doutores, Prof. Associado do PPGCTA/UFPB. Universidade Federal da Paraíba, Cidade Unversitária., CEP 58059-900 - João Pessoa. email:hj.holschuh@ct.ufpb.br; pradesh@uol.com.br

⁴Mestre, Pesquisador da Emeppa- PB. eliazar.oliveira@uol.com.br

INTRODUÇÃO

O abacaxi (*Ananas comosus* L.) é uma fruta das regiões tropicais e subtropicais, consumido em todo o mundo, tanto ao natural quanto na forma de produtos industrializados. Este fruto é extensivamente cultivado em Havai, Filipinas, Caribe, Malásia, Austrália, México, África do Sul e Brasil (São Paulo, 2007). A produção brasileira de abacaxis atingiu mais de 1,70 bilhão de frutos em 2007, e a estimativa para 2008 é de cerca de 1,75 bilhão de unidades. Esse incremento representa um acréscimo de 2,54% na produção nacional (IBGE, 2008), caracterizando-o como um dos grandes produtores mundiais de abacaxi, sobretudo das variedades Pérola e Smooth Cayenne (Campos, 2007).

Neste contexto e visando à variabilidade genética e ao desenvolvimento de plantas mais resistentes à ocorrência de doenças, compreendendo os riscos e limitações advindos do cultivo de apenas uma ou duas cultivares, a Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba – Emepa-PB, desenvolveu novos híbridos de abacaxizeiro, dentre os quais se destaca o Emepa-01, MD-2 e Imperial (Barreiro Neto et al., 2002).

A qualidade dos frutos do abacaxizeiro é atribuída às suas características físicas externas (coloração da casca, tamanho e forma do fruto) e internas conferidas por ampla faixa de constituintes, dentre os quais se destacam os altos teores de açúcares e enzimas proteolíticas (bromelinas). Também é importante conhecer a relação sólidos solúveis totais/acidez titulável (SST/AT) das variedades, visto que este é o parâmetro que mais se relaciona à palatabilidade e, conseqüentemente, à aceitação dos frutos pelo consumidor (Freiman & Sabaa Srur, 1999; César, 2005; Campos, 2007).

A bromelina é um conjunto de isoenzimas proteolíticas encontradas nos vegetais da família Bromeliaceae, da qual o abacaxi é o mais conhecido. Esta enzima é utilizada em diferentes setores, todos baseados em sua atividade proteolítica, dentre as quais se destacam a propriedade de facilitar a digestão de proteínas, sendo por isso adicionada em medicamentos digestivos, e a capacidade de amaciamento de carnes (Borracini, 2006).

Diante da necessidade de caracterização desses novos híbridos, avaliaram-se características químicas da parte comestível dos frutos e a atividade da bromelina em polpas e cascas dos abacaxis Emepa-01, MD-2 e Imperial, produzidos no Estado da Paraíba, comparando-as com as das tradicionais cultivares Pérola e Smooth Cayenne.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e preparo das amostras

Foram coletados cinco abacaxis de cada uma das cultivares Smooth Cayenne, Pérola, Emepa-01, MD-2 e Imperial, sendo analisadas as respectivas polpas e cascas. Estes frutos foram obtidos no estágio de maturação adequado para o consumo, no período de agosto a novembro de 2007, e foram gentilmente cedidos pela Emepa-PB.

Após a higienização dos frutos, estes foram separados em partes, polpa e casca. As amostras foram cortadas em cubos de aproximadamente 1 cm³, sendo armazenadas em pacotes com aproximadamente 100g cada e acondicionadas em temperatura de -5°C. Para os ensaios, as amostras foram descongeladas e utilizadas no mesmo dia.

Métodos

Determinação de características químicas

As análises de pH e sólidos solúveis foram realizadas utilizando-se respectivamente, de pHmetro e refratômetro. Os resultados de acidez titulável e de açúcares foram obtidos a partir de técnicas titulométricas utilizando-se, respectivamente, de solução de hidróxido de sódio 0,1N e soluções de Felhing. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (1985).

Obtenção do extrato bruto

Às amostras foi adicionado tampão fosfato 1,0 M pH 7,5, em concentração de 100g de amostra/100mL de tampão. A mistura foi homogeneizada em liquidificador doméstico, à velocidade máxima, durante 3 minutos. Posteriormente, o pH do meio foi ajustado para 7,5 com NaOH 1 M e, em seguida, a mistura foi filtrada a vácuo para retenção de sólidos dispersos e fibras.

Atividade da bromelina, teor de proteínas e atividade específica

A atividade proteolítica da bromelina foi estabelecida de acordo com o método de Kunitz (1974), modificado por Walter (1984), usando caseína 2g/100mL em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,5) como substrato. Uma unidade de atividade enzimática corresponde à quantidade de enzima capaz de variar em uma unidade a leitura de absorbância a “λ” = 280 nm, durante 10 min, a 37 °C.

O teor de proteínas foi determinado conforme método de Lowry et al. (1951), enquanto a atividade específica foi calculada pela razão entre a atividade

enzimática e a concentração de proteína total .

Análise estatística

As análises estatísticas referentes às análises de proteínas, atividade proteolítica e atividade específica da bromelina das polpas e cascas foram realizadas em conjunto, visando a determinar quais dos parâmetros avaliados são significativamente diferentes nas referidas amostras. Os testes utilizados foram a análise de variância (ANOVA) e o teste de Duncan, com 95% de confiança.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Características químicas

Os resultados das características químicas avaliadas nas amostras de polpas e cascas são apresentados na Tabela 1.

A análise estatística dos valores de pH das polpas das cultivares evidenciou a Emepa-01 como tendo o pH mais elevado, enquanto a cultivar Smooth Cayenne foi identificada como a de pH mais baixo. Alguns autores relataram valores de pH próximos aos encontrados neste estudo. Assim, Carvalho (2007) verificou pH 4,00 para a polpa do abacaxi Pérola e Bartolomé et al. (1996) o pH 3,54 para a polpa do Smooth Cayenne.

Com relação ao parâmetro de sólidos solúveis totais das polpas, o abacaxi Pérola não se diferencia estatisticamente ($p < 0,05$) dos híbridos Emepa-01 e MD-2, enquanto o S. Cayenne é estatisticamente ($p < 0,05$) semelhante aos híbridos Imperial e MD-2. Os valores de sólidos solúveis em polpas de abacaxis encontrados por Barreiro Neto et al. (2002) foram semelhantes aos constatados neste trabalho, com resultados de 14,54° Brix para o Emepa-01, 16,16° Brix para o MD-2, 15,89° Brix para o Pérola e 16,72° Brix para o Smooth Cayenne.

As polpas das cultivares Emepa-01 e Imperial apresentaram valores de acidez titulável significativamente ($p < 0,05$) inferiores aos encontrados para as polpas das tradicionais cultivares, destacando-se a polpa do Smooth Cayenne com maior índice de acidez titulável. Os resultados do estudo de Barreiro Neto et al. (2002) demonstraram valores de acidez mais elevados que os encontrados neste trabalho, para as polpas das cultivares Emepa-01 (0,63g de ácido cítrico para 100g de amostra), MD-2 (0,97g de ácido cítrico para 100g de amostra) e Smooth Cayenne (0,82g de ácido cítrico para 100g de amostra). Constitui exceção a polpa do Pérola, pois Barreiro Neto et al. (2002) e Carvalho (2007) relataram valores inferiores aos dados obtidos presentemente, de 0,45g de ácido cítrico para 100g de amostra e 0,44g para

100g de amostra, respectivamente.

Segundo Campese (2004) e César (2005), é importante conhecer a relação sólidos solúveis totais/acidez titulável (SST/AT) da variedade que vai ser comercializada ou industrializada, visto ser este índice que se relaciona à palatabilidade e, consequentemente, à aceitação dos frutos pelo consumidor. As polpas do Emepa-01 e do MD-2 apresentam relação SST/AT semelhantes às das cultivares tradicionalmente comercializadas. Entretanto, a polpa do Imperial é significativamente superior quanto à relação SST/AT quando comparada às demais cultivares analisadas.

Evidenciou-se que as polpas dos abacaxis Pérola e Smooth Cayenne apresentaram níveis de açúcares redutores e não redutores significativamente maiores ($p < 0,05$) que as dos híbridos. Este estudo encontrou valores mais elevados que os citados por alguns autores. Assim, Bartolomé et al. (1996) encontraram na polpa do abacaxi Smooth Cayenne teores de 4,50 g de sacarose e 8,15 g de açúcares totais por 100 g de amostra, e Carvalho (2007) relatou 4,43 g de glicose/100 g de polpa do Pérola.

Atividade da bromelina, teor de proteínas e atividade específica

Os resultados do teor de proteínas e das atividades proteolítica e específica da bromelina para as polpas e cascas das cultivares analisadas são apresentados na Tabela 2. Todas as polpas dos híbridos tiveram atividades proteolíticas e teores de proteínas significativamente mais elevadas que as das cultivares tradicionais. Destaca-se, dentre os híbridos, a cultivar Imperial, com os maiores valores tanto na polpa quanto na casca. César (1999), analisando o abacaxi Pérola, verificou atividade proteolítica da bromelina igual a 1,43 U/mL para a polpa e 0,86 U/mL para a casca, valores bastante inferiores aos encontrados neste estudo, provavelmente decorrentes das diferenças de cultivo, solo e condições climáticas entre os Estados da Paraíba e São Paulo.

Com exceção do abacaxi Imperial, todas as cascas forneceram valores de atividade proteolítica e teores de proteínas significativamente mais elevados ($p < 0,05$) que suas respectivas polpas. Este fato sugere a utilização dos resíduos de abacaxi provenientes das indústrias de conservas e sucos de abacaxi, principalmente das cascas, como matéria-prima para a obtenção da bromelina.

A atividade específica da bromelina na casca do abacaxi Pérola foi significativamente ($p < 0,05$) mais elevada do que todas as demais amostras analisadas, configurando a melhor fonte de bromelina. No entanto, dentre as polpas, a da cultivar Imperial

apresentou atividade específica significativamente ($p < 0,05$) superior às demais.

Neste contexto, o abacaxi Imperial parece ser uma cultivar promissora, confirmando sua superioridade sobre as demais analisadas, já que, além da reconhecida resistência à ocorrência da fusariose

(Matos & Cabral, 2005), apresenta polpa com elevada relação sólidos solúveis totais/acidez titulável, característica que, quando elevada, influencia positivamente na aceitação pelo consumidor, e tem altos níveis de atividade específica da bromelina, contribuindo para a manutenção da saúde dos seres humanos.

TABELA 1- Características químicas avaliadas nas polpas dos cultivares de abacaxi.

Amostras ¹ em 100 g	pH	Sólidos solúveis totais	Acidez titulável	SST/AT	Açúcar reduzidor (g de glicose)	Açúcar não reduzidor (g de sacarose)	Açúcar total (g/100g de amostra)
Emepa-01	3,93±0,14a	11,00±2,65c	0,35±0,12cd	27,13±7,62c	3,11±0,09d	7,92±0,14c	4,56±0,13d
Imperial	3,74±0,02b	17,67±1,53a	0,41±0,03cd	42,56±2,68a	4,60±0,05b	10,98±0,40b	6,06±0,38c
MD-2	3,70±0,02b	16,33±1,53ab	0,43±0,03bc	36,57±3,56b	4,56±0,08bc	11,03±0,08b	6,15±0,02bc
Pérola	3,68±0,04b	13,67±0,58bc	0,51±0,08ab	27,17±4,39c	5,37±0,41a	12,34±0,67a	6,62±1,21ab
S. Cayenne	3,44±0,01c	15,00±3,50ab	0,56±0,04a	30,43±2,35bc	5,09±0,16a	12,55±0,66a	7,09±0,24a

Médias de cinco repetições ± DP. Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Duncan.

TABELA 2- Teor de proteína e atividades proteolíticas e específica da bromelina nas polpas (P) e cascas (C) das cultivares de abacaxi.

Amostras ¹		Atividade proteolítica (U/mL de extrato bruto)	Proteína (mg/ mL de extrato bruto)	Atividade específica (U/mg de proteína)
Emepa-01	P	12,93±3,26d	4,00±1,10g	3,09±1,10c
	C	22,95±1,73b	6,20±4,00ef	3,81±0,13c
Imperial	P	56,41±7,07a	7,50±0,50c	7,49±0,91b
	C	68,56±21,00a	10,40±0,60a	6,59±2,16b
MD-2	P	17,09±5,70c	6,50±1,00de	2,60±0,59cd
	C	26,66±7,11b	9,00±0,60b	2,96±0,84c
Pérola	P	9,48±2,20e	3,80±0,50g	2,32±0,30cd
	C	61,83±7,40a	7,00±0,60cd	10,01±0,43a
S. Cayenne	P	5,54±1,44f	5,60±0,80f	1,00±0,21e
	C	23,04±2,74b	8,50±0,40b	2,72±0,24c

Médias de cinco repetições ± DP. Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Duncan.

CONCLUSÕES

1-Apesar da superioridade das polpas dos abacaxis tradicionalmente comercializados em relação aos híbridos produzidos na Paraíba, no que se refere aos teores de açúcares, suas polpas apresentam maior relação sólidos solúveis totais/acidez titulável, além de maior teor de bromelina. Este fato, aliado à demanda dos novos mercados por frutas que auxiliem a manutenção da saúde, ressalta os híbridos produzidos na Paraíba (Emepa-01, Imperial e MD-2) como fonte de investimento para os tradicionais produtores de abacaxi do Estado.

2-As cascas configuram melhor fonte de bromelina que as polpas. Neste contexto, ressalta-se a importância da utilização dos resíduos industriais do processamento do abacaxi, que usualmente são descartados, para a obtenção da bromelina. Essa prática representaria uma significativa redução na quantidade de lixo gerado pelas indústrias de conservas e sucos de abacaxi, contribuindo para a adequada manutenção do meio ambiente, além de outra fonte de receita para as indústrias que utilizam a bromelina como matéria-prima.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

À Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba, por permitir a realização deste trabalho, fornecendo todas as amostras.

REFERÊNCIAS

- BARREIRO NETO, M.; LACERDA, J. T.; CHOARY, S. A.; OLIVEIRA, E. F.; CARVALHO, R. A.; FRANCO, C. F. O. Teste de novos híbridos de abacaxizeiro visando à agricultura familiar. In: **Abacaxi: da agricultura familiar ao agronegócio**. João Pessoa: Emepa-pb, 2002. p. 37-45.
- BARTOLOMÉ, A. P.; RUPÉREZ, P.; FÚSTER, C. Changes in soluble sugars of two pineapple fruit cultivars during frozen storage. **Food Chemistry**, v. 56, n. 2, p.163-166, 1996.
- BORRACINI, H. M. P. **Estudo do processo de extração da bromelina por micelas reversas em sistema descontínuo**. 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2006.
- CAMPESE, G. M. **Extração e recuperação da bromelina em sistemas de duas fases aquosas PEG 4000 – POLICAJU**. 2004. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2004.
- CAMPOS, E. S. **Purificação e caracterização de bromelina a partir do extrato bruto de ananas comosus por adsorção em leito expandido**. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. 2007.
- CARVALHO, E. A. **Caracterização de pectinases obtidas dos resíduos industriais da polpa do abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill) cv. Pérola**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, 2007.
- CÉSAR, A. C. W. **Análise de viabilidade econômica de um processo de extração e purificação da bromelina do abacaxi**. 2005. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2005.
- CESAR, A.C.W.; SILVA, R.; LUCARINI, A.C. Recuperação das Enzimas Proteolíticas Presentes na Casca e Talo do Abacaxi, **RIC**, São Carlos, v.1, p. 47-54, 1999.
- FREIMAN, L. O.; SABAA SRUR, A. U. O. Determinação de proteína total e escore de aminoácidos de bromelinas extraídas dos resíduos do abacaxizeiro (*Ananas comosus*, (L.) Merrill). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.2, 1999.
- IBGE. **Produção anual de abacaxi**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/default.asp?t=4&z=t&o=23&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1>>. Acesso em: 07-07-2008
- KUNITZ, M. Crystalline soybean trypsin inhibitor: II general properties. **Journal of General Physiology**, v. 30, p. 291-310, 1974.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.
- MATOS, A. P.; CABRAL, J. R. S. **Manejo integrado da fusariose do abacaxizeiro**. Cruz das Almas: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2005. n. 32.
- SÃO PAULO. Instituto Agrônomo de Campinas. **Abacaxi**. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/Cultivares/Folders/Abacaxi/IACGomo-de-Mel.asp>>. Acesso em: 29 jun. 2007.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3.ed. São Paulo: IMESP, 1985, v. 1, p. 25-26.
- WALTER, H. E. Proteinases: methods with hemoglobin, casein, and azocoll as substrates. In: BERGMEYER, H. U. **Methods of Enzymatic Analysis**. Weinheim: Verlag Chemie, v. 5, 1984.p.270-277.