

EFEITO DA ÉPOCA DE COLHEITA DO ABACAXIZEIRO NOS RENDIMENTOS E ATIVIDADES DAS BROMELINAS DO CAULE¹

LAERTE COSTA² e VÂNIA DÉA DE CARVALHO³

RESUMO - Foram selecionadas épocas de colheita de caules de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. cv. "Smooth Cayenne") para obtenção de melhores rendimentos e atividades das bromelinas. Os caules foram coletados no município de Piumhi, localizados na região Alto São Francisco, MG, e transportados imediatamente para o laboratório do Departamento de Ciência dos Alimentos da ESAL, onde foram realizadas as análises. Pelas determinações químicas, verificou-se que a melhor época para obtenção de maiores concentrações e atividades das bromelinas foi aos 60 dias após colheita dos frutos. O resíduo 3 apresentou bromelinas mais ativas (2,21 UP e 2,83 UP/mg) que as do resíduo 2 (1,25 UP e 2,28 UP/mg).

Termos para indexação: *Ananas comosus*, atividades proteolíticas e específicas.

EFFECT OF PINEAPPLE HARVEST TIME ON PRODUCTION AND ACTIVITIES OF STEM BROMELAIN

ABSTRACT - Harvesting season of pineapple stems (*Ananas comosus* L. cv. Smooth Cayenne) as to obtain the highest yield and activities of bromelain was studied and results reported. The stems were collected in Piumhi, in the Alto São Francisco region, MG, Brazil, and immediately transported to the laboratory of the Food Science Department at ESAL, for analyses. Chemical analyses showed that the best time to obtain the highest concentration and activities of bromelain was at 60 days after fruit harvest. Residue 3 showed more active bromelain (2,21 UP and 2,83 UP/mg) than residue 2 (1,25 UP and 2,28 UP/mg).

Index terms: *Ananas comosus*, proteolytic and specific activities.

INTRODUÇÃO

A bromelina é uma enzima proteolítica encontrada na planta de abacaxi e também em várias outras espécies da família Bromeliaceae; possui peso molecular de, aproximadamente, 33.000, e para evitar centenas de nomes foi que Heinicke & Gortner (1957) sugeriram que o nome bromelina deveria representar qualquer enzima proteolítica obtida de qualquer membro da família das Bromeliaceae. Sua utilização é de grande importância, tanto no campo da saúde humana quanto no campo industrial (indústria alimentar). Sua função fisiológica no abacaxizeiro é incerta (Omar et al. 1978).

A importância econômica dessa enzima está relacionada à sua ação: em amaciamento de carne; como agente depilante na preparação do couro; como clarificador da cerveja, e também na indústria farmacêutica. Os produtos farmacêuticos em geral cons-

tam de preparação, onde se acham associados com outros produtos ativos e bromelinas. Os principais domínios de seu emprego em farmacologia são: melhoramento na digestão, cirurgia geral e estética, otorrinolaringologia, dermatologia, urologia, ginecologia e geriatria (Dupaignes 1975) e Heinicke & Gortner 1957).

Recentemente, muitas preparações enzimáticas têm sido introduzidas para o tratamento de ferimentos de tecido mole, redução de hematomas, edemas e inflamações (Korhlof et al. 1969).

Fuke & Matsuoka (1984) usaram bromelina de caule como coagulante de leite de soja. E recentemente, Mohri & Matsushita (1984) em seus trabalhos usaram um tratamento com bromelina em proteína de soja a fim de melhorar sua absorção de água.

Heinicke & Gortner (1957) afirmam que as enzimas proteolíticas podem ser obtidas do reino vegetal e animal e de microorganismos. O reino vegetal possui três fornecedores desta enzima, que são: a papaína do mamão, as bromelinas do abacaxi e a ficina do figo. Afirmam, ainda, Heinicke & Gortner (1957), que a extração das bromelinas é economicamente mais viável que a papaína e a ficina, pois são encontradas em todas as partes da planta, enquanto as outras se acham somente no látex dos frutos. E também afirmam que a concentração da enzima aumenta com a maturidade da planta.

¹ Aceito para publicação em 13 de abril de 1989.

Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras em 1987.

² Farmac. - Bioq., em curso de pós-graduação em Ciência dos Alimentos, ESAL, Caixa Postal 37, CEP 37200 Lavras, MG.

³ Enga. - Agra., Dra., Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Caixa Postal 176, CEP 37200 Lavras, MG.

Esta enzima pode ser precipitada do suco do fruto e do caule do abacaxizeiro, através da utilização de um precipitante, como sulfato de amônio a 60%, acetona e álcool, mas Subramanian et al. (1978) verificaram que a acetona destaca-se como melhor precipitante. Estes mesmos autores citam, ainda, que, apesar de o álcool etílico diminuir ligeiramente o rendimento o seu menor custo, torna-o mais atrativo para extração industrial da bromelina.

Omar et al. (1978) e Tisseau (1976) determinaram os rendimentos em bromelina das diversas partes do abacaxizeiro, e observaram que o caule apresentou valores muito superiores aos do cilindro central, da casca e da polpa do fruto, demonstrando, assim, que há diferenças marcantes entre os rendimentos em bromelinas e atividades destas enzimas nas diferentes partes do abacaxizeiro.

Além do alto rendimento, é necessário também uma alta atividade enzimática. Awang & Razak (1978) realizaram estudos comparando a atividade enzimática das bromelinas do caule e dos frutos com a da bromelina comercial (Sigma) e constataram que as bromelinas do caule apresentaram atividade específica próxima à da bromelina comercial, enquanto a do fruto foi superior à da bromelina comercial. Porém, é ainda mais viável a utilização do caule, dado o seu alto rendimento nesta enzima e por se tratar de um subproduto.

Subramanian et al. (1978) desenvolveram um estudo da bromelina encontrada em três cultivares de abacaxi (Pérola, Smooth Cayenne e Jupi) cultivadas na Paraíba e verificaram a distribuição da quantidade de bromelina nas diversas partes da planta. O caule da cultivar Smooth Cayenne cultivada sob condições controladas apresentou o mais alto índice de rendimento (kg de planta).

Estes mesmos autores também verificaram que a atividade enzimática varia de acordo com a parte da planta, e obtiveram, para a cultivar Smooth Cayenne, maior atividade na parte inferior do caule, ou seja, de 1,386 U.P., e menor no pecíolo da folha, com um valor de 0,323 U.P. Nas cultivares Jupi e Pérola também foram encontradas as maiores atividades na parte inferior do caule, com 1,599 U.P. para o Pérola, e 1,17 U.P. para o Jupi. E ainda verificaram, para a cultivar Pérola, efeitos na atividade proteolítica, devido à idade da planta, obtendo valores altos aos 6 e 21 meses após o plantio. O efeito da época de colheita (idade da planta) não foi estudada em caules das cultivares Jupi e Smooth Cayenne (e os autores sugerem que sejam feitos estudos com estas cultivares).

Em relação à proteína do extrato enzimático, Awang & Razak (1978) em seus trabalhos encontraram um valor médio para a proteína da bromelina do caule precipitada por acetona de 65,25%; e mais tarde, Subramanian et al. (1978), trabalhando com as Pérolas e Smooth Cayenne, encontraram, para proteína do extrato, valores de 54,4% para o Pérola, e 27,7% para o Smooth Cayenne.

O presente trabalho teve como objetivo selecionar melhores épocas de colheita do abacaxi 'Smooth Cayenne' para obtenção de caules com melhores rendimentos em bromelinas.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se amostras de caules de abacaxi da cultivar 'Smooth Cayenne'.

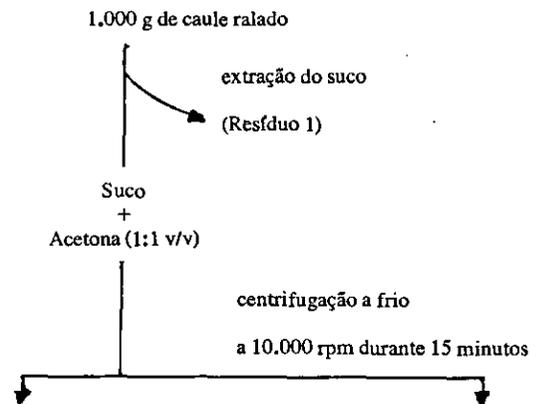
O experimento foi instalado em Piumhi, na região Alto São Francisco, MG, em março de 1984. Os tratamentos culturais, tais como: preparo de solo, adubação, capinas, tratamentos fitossanitários e indução de floração, entre outros, foram os normais da cultura, indicados por Giacomelli & Py (1981), e as plantas foram colhidas nas seguintes épocas:

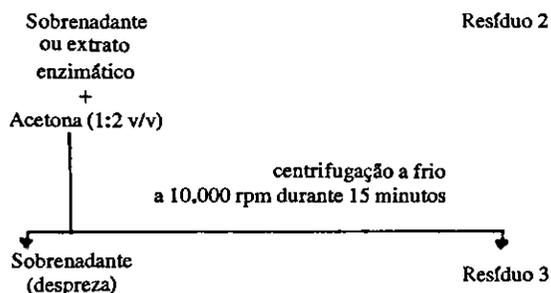
- E1 - zero dia - Colheita dos frutos - 09.01.86
- E2 - 60 dias após a colheita dos frutos - 12.03.86
- E3 - 90 dias após a colheita dos frutos - 10.04.86
- E4 - 120 dias após a colheita dos frutos - 08.05.86
- E5 - 150 dias após a colheita dos frutos - 12.06.86
- E6 - 180 dias após a colheita dos frutos - 10.07.86

O delineamento experimental foi o de blocos inteiramente casualizados, com seis tratamentos e cinco repetições constituídas de 20 plantas úteis, cada. Os tratamentos foram as seis épocas de coleta das amostras, com intervalos de trinta dias, exceto a primeira época para a qual o intervalo foi de sessenta dias, devido à retirada das mudas, que obedece a este período.

Foram coletadas 100 plantas para cada época. A colheita dos frutos foi feita no ponto de maturação 2, descrito por Giacomelli (1982), cujo critério para avaliar a maturação aparente do abacaxi é o de notas (0 a 3).

A extração das bromelinas foi feita através do método descrito por Murachi (1970), conforme o esquema:





A atividade proteolítica das amostras coletadas - ou seja, resíduos 2 e 3 - foi determinada pelo método da digestão da caseína (Kunitz (1947). Foram também determinadas as proteínas dos resíduos 2 e 3 pelo método de Biuret descrito por Layne (1957).

A atividade específica foi calculada pela seguinte fórmula:

$$Q = \frac{\text{atividade da amostra (UP/ml)}}{\text{quantidade de proteína da amostra (mg)}}$$

onde:

$$Q = U.P./mg.$$

Para análise estatística dos dados, tomaram-se médias comparadas, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Também foram feitas análises de regressão entre os valores dos parâmetros e dias após colheita dos frutos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os rendimentos do resíduo 2 (bromelina menos purificada) e do resíduo 3 (bromelina mais pura), como mostram as Fig. 1 e 2, sofreram decréscimos durante as épocas, com valores máximos de 5,57% e 0,24%, e mínimos de 2,16% e 0,04% para os resíduos 2 e 3, respectivamente. Estes valores encontrados no resíduo 3, excetuando a quinta e a sexta épocas, estão de acordo com os trabalhos de Omar et al. (1978), que observaram que o rendimento em bromelina do caule varia de 0,10% a 0,60%.

Subramanian et al. (1978) obtiveram, para abacaxi cultivado na Paraíba, os rendimentos em bromelina variando de 0,162% a 0,245%, 0,164% a 0,226% e 0,177% a 0,262% para caules das cultivares Smooth Cayenne, Pérola e Jupi, respectivamente, valores próximos aos de 0,24% obtidos no presente trabalho ao zero dia (colheita dos frutos).

Na Fig. 3 são apresentadas as curvas de regressão para atividade proteolítica das bromelinas encontradas nos resíduos 2 e 3. Observa-se que tanto o resíduo 2 quanto o resíduo 3 apresentaram curvas semelhantes, com pontos máximos na segunda época, correspondendo a valores de 1,25 UP e 2,21 UP para os resíduos 2 e 3, respectivamente. Após esta época, sofreram um decréscimo até a sexta época.

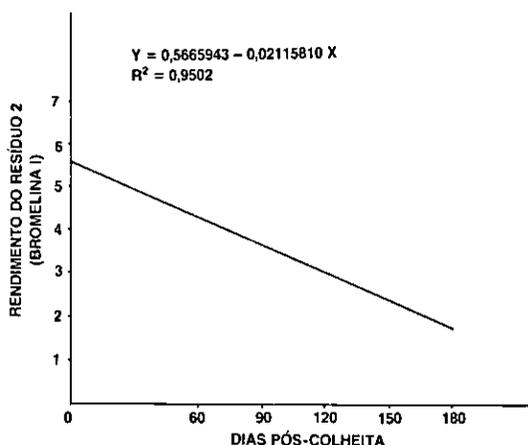


FIG. 1. Curva de regressão entre rendimentos do resíduo 2 do caule do abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. cv. 'Smooth Cayenne') e dias pós colheita dos frutos. Plumhi - MG, 1986.

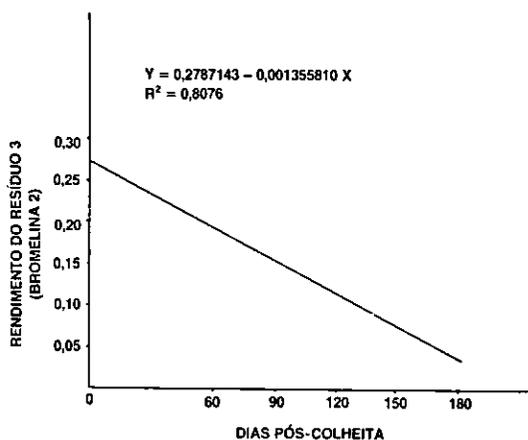


FIG. 2. Curva de regressão entre o rendimento do resíduo 3 do caule do abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. cv. 'Smooth Cayenne') e dias pós colheita dos frutos. Plumhi - MG, 1986.

O resultado encontrado no resíduo 3 (bromelina na forma mais pura) superou o valor encontrado por Awang & Razak (1978), que em seus trabalhos encontraram, para a bromelina do caule, uma atividade proteolítica de 1,97 UP. Esta diferença pode ser atribuída ao local de cultivo do abacaxizeiro e cultivares, observando que estes autores não citam a cultivar pesquisada.

Já Subramanian et al. (1978), usando a cultivar Pérola, encontraram que a atividade variava com a idade da planta, encontrando aos 18 meses após o plantio (época de colheita dos frutos), um valor de 0,97 UP, e 90 dias após a colheita, de 1,03 UP, o que

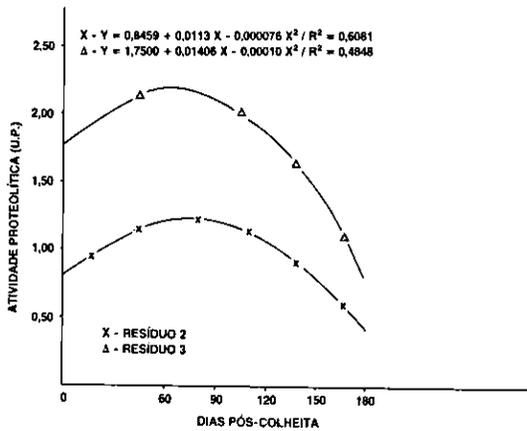


FIG. 3. Curvas de regressão entre a atividade proteolítica dos resíduos 2 e 3 do caule do abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. cv. 'Smooth Cayenne') e dias pós colheita dos frutos, Piumhi - MG, 1986.

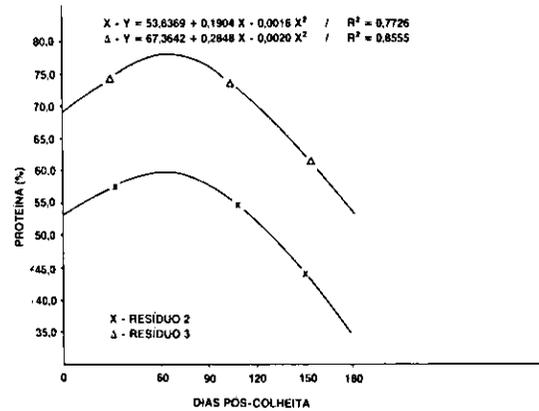


FIG. 4. Curvas de regressão entre percentagens de proteína dos resíduos 2 e 3 do caule do abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. cv. 'Smooth Cayenne') e dias pós colheita dos frutos, Piumhi - MG, 1986.

vem confirmar que a cultivar Smooth Cayenne apresenta atividade superior à da Pérola, pois no presente trabalho foram encontrados valores de 1,75 UP, 2,23 UP, e 2,20 UP para zero dia (colheita), 60 e 90 dias após a colheita, respectivamente.

Destaca-se que, apesar das tendências iguais de variação, o resíduo 3 apresentou atividade superior à do resíduo 2, cuja atividade máxima aos 60 dias foi de 1,25 UP, ainda superior à obtida por Subramanian et al. (1978) para a cultivar Pérola, ou seja, de 1,03 UP 90 dias após a colheita dos frutos, e inferior às obtidas por estes autores para caules da cultivar Smooth Cayenne, que variaram de 1,97 a 2,98 UP, conforme a solução extratora utilizada.

Observa-se, pelas curvas de regressão apresentadas na Fig. 4, que a proteína dos resíduos 2 e 3 apresentaram curvas semelhantes, porém o resíduo 3 apresentando sempre valores mais elevados. Estes resíduos tiveram seus pontos máximos entre a segunda e a terceira épocas, ou seja, entre 60 e 90 dias após a colheita dos frutos, com valores, aproximadamente, de 60,0% e 78,0% para os resíduos 2 e 3, respectivamente. As tendências de variações da curva de regressão indicam haver uma síntese inicial de proteases (bromelinas), com sua degradação em torno de 70 dias pós-colheita.

Awang & Razak (1978) encontraram um valor médio para a proteína da bromelina da caule de 65,25%, valor este que se aproxima do valor encon-

trado no presente trabalho. Já Subramanian et al. (1978) encontraram valores inferiores aos obtidos no presente trabalho nas cultivares Pérola e Smooth Cayenne. Estes mesmos autores citam que a 'Smooth Cayenne' não sofreu nenhum tipo de tratamento, e também os resíduos apresentaram diferentes níveis de impureza, os quais justificam o baixo teor de proteína nesta cultivar. Esta diferença de teores protéicos pode ser atribuída também às diferentes condições climáticas e edáficas dos locais de cultivo dos abacaxizeiros.

As atividades específicas vistas na Fig. 5 apresentaram curvas semelhantes para os resíduos 2 e 3, sendo que o resíduo 3 sobressaiu com maiores atividades com queda mais acentuada. Ambos os resíduos tiveram uma elevação da segunda para a terceira época, para, em seguida, apresentarem um declínio até a sexta época.

Awang & Razak (1978) obtiveram, em caules, atividades específicas de 3,01 U.P./mg, valor este próximo aos de 2,83 e 2,84 U.P./mg obtidos para a segunda (60 dias) e terceira épocas (90 dias), respectivamente.

O aumento das atividades específicas dos resíduos 2 e 3 da primeira para a terceira época indica haver uma ativação das bromelinas; e a partir dos 90 dias houve decréscimos de atividades com o aumento da idade dos abacaxizeiros.

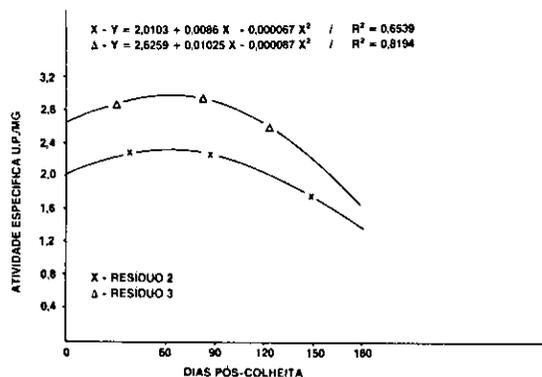


FIG. 5. Curvas de regressão entre atividades específicas nos resíduos 2 e 3 do caule do abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. cv. "Smooth Cayenne") e dias pós colheita dos frutos, Piumhi - MG, 1986.

CONCLUSÕES

1. A melhor época para obtenção de maiores concentrações e atividades das bromelinas foi aos 60 dias após a colheita dos frutos.

2. O resíduo 3 apresentou bromelinas mais ativas (2,21 UP e 2,83 UP/mg) do que as do resíduo 2 (1,25 UP e 2,28 UP/mg).

REFERÊNCIAS

- AWANG, M.I. & RAZAK, O.A. Proteolytic activity of locally prepared pineapple bromelain. **MARDI Res. Bull.**, Malaysia, **6**(2):165-71, Feb. 1978.
- DUPAIGNES, P. Effects biochimiques des bromélines - Leur utilisation en thérapeutique. **Fruits**, Paris, **30**(9):545-67, 1975.
- FUKE, Y. & MATSUOKA, H. Preparation of fermented soybean curd using stem bromelain. **J. Food Sci.**, Chicago, **49**(1):312-13, Jan/Feb. 1984.
- GIACOMELLI, E.J. **Expansão da abacaxicultura no Brasil**. Campinas, Fundação Cargill, 1982. 79p.
- GIACOMELLI, E.J. & PY, C. **O abacaxi no Brasil**. Campinas, Fundação Cargill, 1981. 101p.
- HEINICKE, R.M. & GORTNER, W.A. Stem bromelain - a new protease preparation from pineapple plants. **Econ. Bot.**, New York, **11**(3):255-34, 1957.
- KORHLOF, B.; PONTÉN, B.; UGLAND, O. Bromelain - a proteolytic enzyme. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.**, Stockholm, **3**:27-9, 1969.
- KUNITZ, M. Crystalline soybean trypsin inhibitor. II - General properties. **J. Gen. Physiol.**, New York, **30**:291-310, 1947.
- LAYNE, E. Spectrophotometric and turbidimetric methods of measuring proteins. In: COLOWICK, S.P. & KAPLAN, N.O., eds. **Methods in Enzymology**. New York, Academic Press, 1957. v.3, p.447-54.
- MOHRI, M. & MATSUSHITA, S. Improvement of water absorption of soybean protein by treatment with bromelain. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, **32**(3):486-90, Mar. 1984.
- MURACHI, T. Bromelain enzymes. In: COLOWICK, S.P. & KAPLAN, N.O. eds. **Methods in Enzymology**. New York, Academic Press, 1970. v.19, p.283-4.
- OMAR, S.; IDRUS, A.Z.; RAZAK, O.A. Extraction and activity of bromelain from pineapple. **MARDI Res. Bull.**, Malaysia, **6**(2):172-9, Feb. 1978.
- SUBRAMANIAN, N.; CARTAXO, M.E.Q.; SUBRAMANIAN, S.; FARIAS, J.L. Study of bromelain present in the pineapple plant of Paraíba. **Ci. e Cult.**, São Paulo, **30**(11):1326-32, nov. 1978.
- TISSEAU, R. Activité protéolytique de l'ananas utilisé en conserverie et de ses déchets. **Fruits**, Paris, **31**(6):373-8, Jun. 1976.