

Aproveitamento da coroa do abacaxi para obtenção de açúcares redutores via hidrólise enzimática com uso de bromelina extraída *in situ*

Valorization of pineapple crown for the production of reducing sugars via enzymatic hydrolysis using in situ extracted bromelain

- ¹ Pedro Henrique Alves Mariani  
- ¹ Inti Cavalcanti Montano  
- ¹ Carlos Alberto Galeano Suarez  

¹ Universidade Federal de Goiás

Resumo

A coroa do abacaxi é uma biomassa lignocelulósica com potencial para a obtenção de produtos de maior valor agregado. Este estudo propõe uma abordagem integrada para a utilização desse resíduo, envolvendo a extração da enzima proteolítica bromelina, amplamente aplicada em diversas indústrias, com obtenção de açúcares redutores com potencial para fermentação em bioprodutos. A análise do comportamento da concentração de proteínas durante a etapa de extração revelou que as condições ideais foram alcançadas em tampão de fosfato com pH 8,06 e uma razão L/S de 1:1, resultando em 1,2619 g/L de proteínas totais ou 2,52% (m/m) de bromelina, resultado superior ao encontrado em estudos anteriores. Na etapa subsequente de hidrólise enzimática, a utilização da bromelina como aditivo proporcionou um aumento significativo na produção de glicose e açúcares redutores, uma vez que foram obtidas concentrações de 8,08 g/L e 17,49 g/L, sem uso da bromelina e; 17,21 g/L e 26,14 g/L, com uso dessa proteína.

Palavras-chave

Material lignocelulósico; hidrólise enzimática; bromelina; bioprocesso.

Abstract

The pineapple crown is a lignocellulosic biomass with the potential to obtain products with greater added value. This study proposes an integrated approach for the use of this waste, involving the protection of the proteolytic enzyme bromelain, widely applied in several industries, and the obtaining of reducing sugars with potential for fermentation into bioproducts. An analysis of the behavior of protein concentration during the nutrition stage revealed that ideal conditions were achieved in phosphate supply with pH 8.06 and an L/S ratio of 1:1, resulting in 1.2619 g/L of proteins total or 2.52% (m/m) of bromelain, a higher result than that found in previous studies. In the subsequent enzymatic hydrolysis step, the use of bromelain as an additive provided a significant increase in glucose and reducing sugars, since concentrations of 8.08 g/L and 17.49 g/L were obtained without the use of bromelain and 17, 21 g/L and 26.14 g/L using this protein.

Keywords

lignocellulosic material; enzymatic hydrolysis; bromelain; bioprocess.

1 INTRODUÇÃO

O abacaxizeiro, *Ananas comosus* (L.) Merril, da família *Bromeliaceae*, é uma monocotiledônea de grande importância botânica. A família *Bromeliaceae* possui 2.663 espécies em 54 gêneros e 3 subfamílias, sendo caracterizada pela presença de bromelina, um complexo de enzimas proteolíticas encontrado em todas as suas espécies. Essa enzima é amplamente utilizada nas indústrias alimentícias para clarificação de bebidas e amaciamento de carnes, como na indústria farmacêutica, na qual é usada na produção de medicamentos e no tratamento de inflamações, queimaduras e como agente digestivo (Maurer, 2001; Mussatto, 2007; Nadzirah *et al.*, 2013; Paula e Silva, 2004; Said, 2002; Santos *et al.*, 2009).

No cenário econômico, o abacaxi é crucial na economia brasileira, com um valor de produção de 2.758.106.000 reais, em 2022, um aumento de 22,33% desde 2018, segundo o IBGE. A produção totalizou 1.558.201.000 frutos, cobrindo 64.147 hectares e envolvendo mais de 53.000 estabelecimentos. O Pará liderou a produção, com um rendimento médio de 24.291 frutos por hectare. Apesar disso, apenas 30% do fruto é comercializado, resultando em grandes volumes de resíduos com até 75% do peso, incluindo caule, folha e casca (Campos *et al.*, 2019; Roda *et al.*, 2016).

A coroa do abacaxi pode representar até 25% do peso do fruto, variando conforme o cultivo, mas é pouco explorada como matéria-prima para produtos de alto valor agregado (Granada *et al.*, 2004). Estudos indicam que sua composição lignocelulósica inclui 20,57% de celulose, 15,24% de hemicelulose e cerca de 27% de lignina (Silva *et al.*, 2018). Enquanto a hemicelulose é mais suscetível à hidrólise enzimática, a lignina insolúvel dificulta o processo. A conversão eficiente da biomassa lignocelulósica em açúcares redutores exige pré-tratamentos físicos, químicos, biológicos ou físico-químicos para romper sua estrutura compacta e expor a celulose (Alvira *et al.*, 2010).

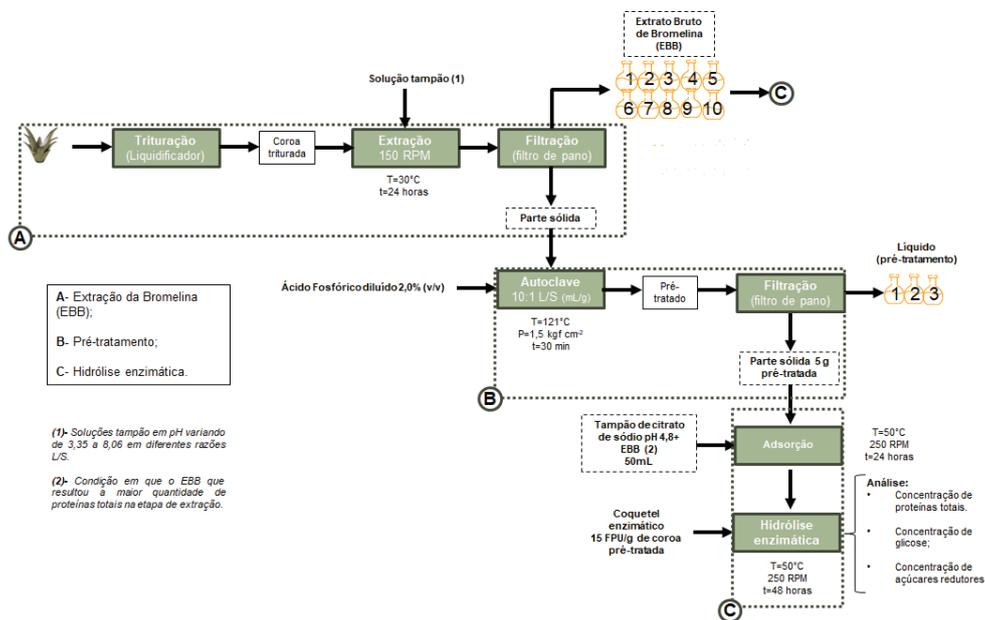
Com o propósito de melhorar a eficiência da hidrólise enzimática da celulose, afetada pela adsorção não produtiva de enzimas na lignina residual, a estratégia de usar aditivos bloqueadores de lignina é destacada com abordagens que usam proteínas, como (BSA), e tensoativos, como o polietilenoglicol e *Tween* (Wang *et al.*, 2015; Alvira *et al.*, 2010). A bromelina também surge como uma alternativa promissora, contribuindo para a eficiência do processo, com potencial de viabilizar economicamente a produção de bioprodutos, como biocombustíveis e ácidos orgânicos, a partir de resíduos de abacaxi (Sol, 2023; Diaz *et al.*, 2018).

Neste estudo, objetiva-se explorar variáveis que possam aprimorar a extração de bromelina a partir dos resíduos do abacaxi, como a coroa, visando aumentar o rendimento no processo de hidrólise enzimática, utilizando a bromelina como um agente de "sacrifício". A ideia central é avaliar as variáveis pH e razão Líquido/Sólido para maximizar a extração dessa proteína. Uma vez que o processo seja aprimorado, o extrato contendo a bromelina será utilizado na hidrólise enzimática da própria coroa para obtenção de açúcares redutores.

2 METODOLOGIA

Os ensaios experimentais foram conduzidos no Laboratório de Simulação e Automação de Bioprocessos (LaSABio), pertencente ao Instituto de Química (IQ/UFG). Na Figura 1, é especificada a metodologia desenvolvida nesta pesquisa.

Figura 1 - Representação esquemática dos procedimentos realizados para a obtenção de açúcares redutores a partir da coroa do abacaxi



Fonte: Os autores (2025)

2.1 Métodos analíticos

2.1.1 Umidade

A análise da umidade do material foi executada, utilizando-se o determinador de umidade modelo i-Thermo G 163L, fornecido pela BEL Engineering® (BEL Equipamentos Analíticos LTDA, Milão, Itália), com o uso de 1,0 g de amostra em cada experimentos.

2.1.2 Determinação do pH

O pH das soluções tampão foi avaliado por potenciômetro no pHmetro de bancada, modelo PHS3BW, da BEL Engineering® (BEL Equipamentos Analíticos LTDA, Milão, Itália).

2.1.3 Quantificação de proteínas totais

O Método de Bradford (1976) foi empregado para quantificar a concentração de proteínas totais no extrato bruto de bromelina (EBB) nos experimentos de adsorção da enzima na lignina, prévios à hidrólise enzimática. Alíquotas de 50 µL de cada amostra foram adicionadas a microtubos de 2 mL e homogeneizadas em agitador vórtex com 1,5 mL de reagente de Bradford. Após 30 minutos, a absorbância de cada amostra foi medida a 595 nm no espectrofotômetro. Os valores de concentração de proteínas totais foram determinados a partir da Equação 1.

$$Proteínas\ totais\left(\frac{g}{L}\right) = 1,482 \times Abs_{595\ nm} - 0,023 \quad (1)$$

2.1.4 Açúcares redutores

Foi utilizado o método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), uma adaptação inspirada no protocolo delineado por Miller (1959), para mensurar a presença de D-xilose, L-arabinose e outros açúcares redutores no extrato bruto de bromelina (EBB) e nos experimentos realizados durante as etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática. Em uma etapa inicial, cada amostra passou por uma diluição de 20 vezes, em que foi retirada uma alíquota de 1 mL, transferida para um tubo de ensaio.

Posteriormente, foram acrescentados 2 mL do reagente DNS, seguido de agitação em agitador vórtex, para promover homogeneização. O tubo de ensaio foi, então, submetido a aquecimento em banho-maria a 100 °C por 5 minutos, seguido de resfriamento em banho de gelo por 5 minutos. Após essa etapa, o tubo de ensaio foi completado para atingir 10 mL com água destilada, passando por uma nova homogeneização em agitador vórtex, e a absorbância foi medida no espectrofotômetro a 540 nm. Os valores de absorbância obtidos foram quantificados utilizando-se a Equação 2, para a obtenção das concentrações de açúcares redutores.

$$\text{Açúcares redutores} \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = 2,998 \times \text{Abs}_{540 \text{ nm}} - 0,035 \quad (2)$$

2.1.5 Determinação de glicose

Foi utilizado o método colorimétrico enzimático «GOD/PAP» para avaliar as concentrações de glicose tanto no extrato bruto de bromelina (EBB) quanto nos experimentos conduzidos durante a fase de hidrólise enzimática. Inicialmente, cada amostra passou por uma diluição de 10 vezes, e uma alíquota de 10 µL foi retirada e transferida para um microtubo. Em seguida, foi adicionado 1 mL do reagente “GOD/PAP”, e a mistura foi homogeneizada. O microtubo foi submetido a aquecimento em banho-maria a 37 °C por 5 minutos, seguido de resfriamento em banho de gelo por mais 5 minutos. Posteriormente, a leitura da absorbância foi realizada no espectrofotômetro a 510 nm. Os valores de absorbância obtidos foram utilizados para determinar a concentração de glicose, usando-se a Equação 3.

$$\text{Glicose} \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = 3,744 \times \text{Abs}_{510 \text{ nm}} + 0,0004 \quad (3)$$

2.2 Preparo das matérias-primas

A coroa do abacaxi (*Ananas comosus*) foi adquirida no Ceasa-GO, apresentando um estágio 4 de maturação, tonalidade alaranjada, com sulcos na mesma cor dos segmentos e com a polpa completamente amarelo-palha, de acordo com a classificação de Montenegro (1964). A coroa foi lavada com água destilada até a retirada de toda terra residual. Posteriormente, o material foi triturado em um liquidificador (modelo Mondial Power-L550 W) e um multiprocessador (Modelo Walita PowerChop RI7300 600W) e, em seguida, armazenado em um freezer a uma temperatura de -18°C até ser utilizado.

2.3 Extração da bromelina

A partir de valores da literatura, as condições experimentais avaliadas para o processo de extração da bromelina incluíram a variação do pH e da razão L/S. Para a variável pH, pontos experimentais no intervalo de 3,35 a 8,06 permitiram explorar desde uma faixa ácida até uma faixa básica. Quanto à razão Líquido/Sólido, foram testados valores entre 0,793 e 2,207 mL/g, com o objetivo de se obter um extrato mais concentrado, mas que ainda possibilitasse o processamento da coroa. Com relação às variáveis temperatura e tempo, foi adotada uma abordagem fundamentada em estudos prévios que demonstram a estabilidade da bromelina em condições brandas. A temperatura de 30 °C foi selecionada por se tratar de um valor suficientemente baixo para minimizar o risco de desnaturação da enzima, como relatado por Chakraborty et al. (2016), ao mesmo tempo em que favorece a difusão e a atividade enzimática.

Da mesma forma, o tempo de exposição à temperatura é um fator crítico, uma vez que longos períodos sob calor elevado podem comprometer a integridade funcional da bromelina. Assim, as amostras foram mantidas sob agitação orbital a 150 rpm, a 30 °C, durante 24 horas. Essas condições foram padronizadas ao longo dos experimentos, de forma a isolar e avaliar exclusivamente os efeitos do pH e da razão L/S sobre o rendimento do extrato enzimático.

O processo de extração da bromelina foi conduzido, utilizando-se 700 g \pm 1 g de coroa de abacaxi, dividida em amostras de 50g cada. A etapa de extração enzimática foi conduzida utilizando-se tampões específicos para controle de pH entre pH 3,35 e 8,06, cujas composições foram cuidadosamente preparadas com diferentes proporções para garantir a estabilidade das condições reacionais. As proporções de líquido (solução tampão) em relação à massa de biomassa (razão L/S) foram variáveis, conforme delineado experimentalmente e estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Conjunto de experimentos para a extração do EBB

Experimento	valores para o experimento	
	pH	razão L/S (mL/g)
1	5,66	0,793
2	4,8	1
3	8,06	1
4	3,35	1,5
5	5,66	1,5
6	5,66	1,5
7	7,97	1,5
8	4,8	2
9	8,06	2
10	5,66	2,207

Fonte: Os autores (2025).

A Tabela 1 mostra o conjunto de dados utilizados em um Planejamento Composto Central Rotacional (PCCR), com duas variáveis independentes: pH e razão L/S. O PCCR adotado foi composto por pontos fatoriais, axiais e centrais, permitindo ampla cobertura da região experimental e maior precisão na estimativa dos efeitos. O objetivo principal do planejamento foi investigar a influência das condições de pH e razão L/S na eficiência de extração da bromelina, utilizando-se, como resposta, a concentração de proteínas totais obtidas no extrato.

Após a extração, a separação das fases foi realizada por filtração com coador de pano, resultando em uma fração líquida (extrato bruto de bromelina (EBB), armazenada a 4 °C para quantificação de proteínas totais e glicose, e uma fração sólida, armazenada a -18 °C, destinada a etapas subsequentes de pré-tratamento e hidrólise enzimática para a determinação de açúcares redutores. A análise estatística dos dados foi conduzida com o *software Statistica 10 da StatSoft Inc.*, possibilitando a avaliação da significância dos efeitos, construção de modelos preditivos e geração de superfícies de resposta, com vistas à otimização das condições experimentais para a extração da bromelina.

2.4 Pré-tratamento

O pré-tratamento foi conduzido com base nas condições do experimento número 3 (pH 8,06 e razão L/S 1:1), as quais apresentaram os resultados mais promissores na etapa de extração, proporcionando uma condição que maximizou a quantidade de proteínas totais na biomassa. A umidade da parte sólida, proveniente

do processo de extração da bromelina, foi avaliada para ajuste das massas nos experimentos subsequentes. Essa escolha específica foi orientada pelo método de Bradford para concentração de proteínas, conforme detalhado no item 2.1. A fração sólida, representando a biomassa proveniente do processo de extração, foi, então, submetida ao pré-tratamento. Esse procedimento envolveu a utilização de ácido fosfórico (marca Synth, teor 85,0%) diluído em 2% (v/v), mantendo-se a proporção de 10:1 para L/S (mL de ácido diluído/gramas de coroa).

Essa abordagem foi realizada conforme o método proposto por Pereira Sol (2023), que analisou o efeito do pré-tratamento com ácido fosfórico diluído para a obtenção de proteínas totais da casca do abacaxi. Os procedimentos experimentais foram conduzidos em garrafas de vidro de 1 litro com tampa de rosca, utilizando-se uma autoclave vertical analógica (modelo 30 AVA, STERMAX). Durante esse processo, as garrafas foram submetidas a um aquecimento a 121 °C, sob uma pressão de 1,5 kgf cm⁻², por um período de 30 minutos.

Após a conclusão da etapa de pré-tratamento, a separação entre as frações líquidas e sólidas foi realizada por meio de um filtro de pano. As partes sólidas resultantes foram submetidas a uma lavagem, utilizando-se a solução tampão empregada na etapa de extração, visando remover a solução ácida residual, sendo, posteriormente, armazenada a -18 °C para utilização em fases subsequentes, incluindo a etapa de hidrólise enzimática. Cada fração líquida obtida foi, então, submetida à análise quantitativa da quantidade de açúcares redutores totais, proporcionando um acompanhamento detalhado de cada experimento realizado.

2.5 Adsorção da bromelina e hidrólise enzimática

As partes sólidas provenientes do pré-tratamento foram inicialmente submetidas à avaliação de umidade para ajuste das massas, nos experimentos subsequentes. Cada experimento foi iniciado em Erlenmeyer de 250 mL, contendo 5 g de biomassa seca para cada experimento e completando o volume para 50 mL em um meio reacional contendo extrato bruto de bromelina (EBB) e uma solução tampão de citrato de sódio com pH 4,8. Amostras foram coletadas no início e após 24 horas nos experimentos com bromelina, para medir a variação na concentração da enzima. Posteriormente, foram adicionados 5 mL do coquetel enzimático CellicCtec2 da Novozyme, diluído até a concentração de 15 FPU/g, para iniciar o processo de hidrólise.

Adicionalmente, um experimento de controle foi conduzido sob condições semelhantes (5 g de sólidos, 5 mL de coquetel enzimático em 50 mL de meio reacional), substituindo o extrato bruto de bromelina (EBB) por uma solução tampão de citrato de sódio com pH 4,8, sem bromelina, para avaliar o impacto da concentração da bromelina na hidrólise enzimática. Os experimentos de hidrólise enzimática foram conduzidos em triplicata, incluindo três experimentos controle (sem bromelina). Todos os experimentos foram conduzidos em incubadora com agitação orbital a 50°C e 250 rpm, com coleta de amostras em tempos pré-definidos. Medições de açúcares redutores totais e concentração de glicose foram realizadas nos intervalos de 0, 4, 8, 24 horas, com diluição das amostras em 10 vezes para as medições.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito do pH e fração sólido/líquido na etapa de extração

Com o intuito de avaliar a concentração de proteínas totais em g/L (Cprot) no extrato bruto de bromelina obtido durante a etapa de extração, bem como investigar a influência das variáveis pH e razão L/S sobre essa concentração, a Tabela 2 foi estruturada.

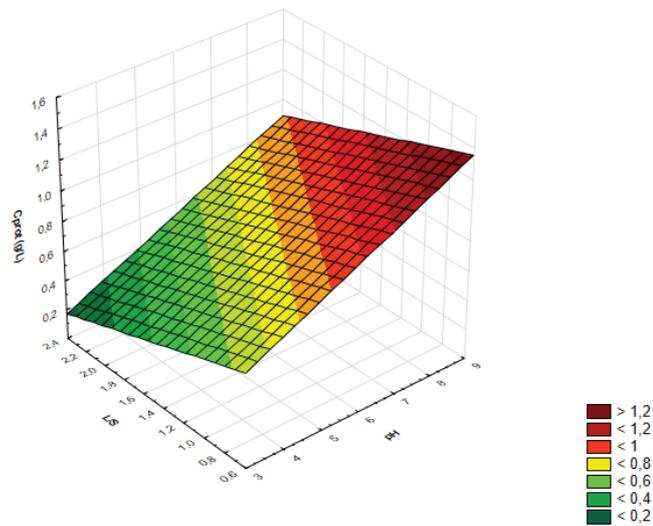
Tabela 2 - Resultados da extração para as concentrações de proteínas totais (g/L).

Experimento	valores para o experimento		
	pH	razão L/S	Cprot (g/L)
1	5,66	0,793	0,973
2	4,8	1	0,585
3	8,06	1	1,262
4	3,35	1,5	0,577
5	5,66	1,5	0,56
6	5,66	1,5	0,6
7	7,97	1,5	1,015
8	4,8	2	0,691
9	8,06	2	0,885
10	5,66	2,207	0,431

Fonte: Os autores (2025).

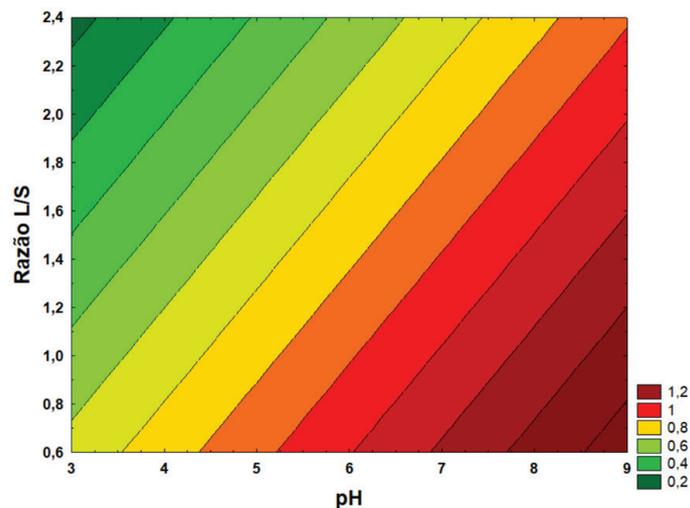
Ao examinar a Tabela 2, destaca-se que a concentração de proteínas totais atingiu seu ponto máximo no experimento 3. Dessa forma, o ponto de maior concentração, identificado a uma temperatura constante de 30°C, foi associado ao pH 8,06 e a uma razão L/S de 1:1, resultando em uma concentração de 1,2619 g/L de proteínas totais ou 2,52% (m/m) em relação à massa inicial de coroa de abacaxi triturada. Em comparação com estudos anteriores, como o conduzido por Lopes *et al.* (2013), que investigou o teor de proteínas totais durante a extração de resíduos da coroa do abacaxi (*Ananás comosus* var. *comosus*), cultivar Pérola, utilizando uma razão L/S de 3:1 e variando o pH, os resultados revelaram uma relação direta entre o aumento do pH e o consequente acréscimo nos teores de proteínas totais, atingindo uma concentração máxima de 0,1605 g/L. Adicionalmente, Caponi (2016) explorou a extração de proteínas em pH 7,0, utilizando uma razão L/S de 1:1, resultando em uma concentração de 0,420 g/L. Notavelmente, os resultados do presente experimento demonstraram concentrações de proteínas totais superiores, evidenciando a eficácia das condições específicas adotadas na maximização do processo de extração a partir da coroa de abacaxi. Com o intuito de visualizar a resposta da variável dependente Cprot em relação às variáveis independentes razão L/S e pH, foi utilizada a técnica de superfície para projetar uma equação e nela determinar a região de melhores respostas de Cprot na faixa das variáveis estudadas. Assim, um gráfico de superfície linear e um diagrama de linhas de contorno foram obtidos, utilizando-se o *software Statistica 10*, conforme ilustrados nas Figuras 2 e 3.

Figura 2 - Superfície de resposta para Cprot em função das variáveis avaliadas Razão L/S e pH.



Fonte: Os autores (2025)

Figura 3 - Linhas de contorno para a variável de resposta Cprot em função das variáveis independentes Razão L/S e pH.



Fonte: Os autores (2025)

Ao examinar o gráfico de superfície (Figura 2), é notável que o efeito na concentração de proteínas totais (Cprot) é mais sensível à variável pH, nessa situação. Na faixa analisada, observa-se que a variável dependente apresenta uma variação mais elevada em resposta às alterações no pH. Mais especificamente, conforme o pH aumenta, a concentração de proteínas totais também aumenta, indicando uma relação positiva entre essas variáveis. De modo geral, a maioria das proteínas de origem vegetal, incluindo a Bromelina, possui natureza ácida. Portanto, essas proteínas tendem a ser solubilizadas de maneira mais eficiente em meios alcalinos, como observado por Salvador (2016).

No eixo vertical Figura 3, representado pela variável razão L/S, é possível observar um leve aumento em Cprot, quando a razão L/S é reduzida. Isso sugere que, ao diminuir a razão líquido/sólido, a concentração

de proteínas totais tende a aumentar. Dessa forma, as análises revelam que tanto o aumento do pH quanto a redução da razão L/S contribuem para um aumento na concentração de proteínas totais. No entanto, é importante ressaltar que o aumento excessivo do pH pode resultar em mudanças significativas no rendimento de etapas posteriores. Conforme destacado por Murachi (1976), os valores de pH superiores a 10,3 podem provocar mudanças conformacionais irreversíveis na bromelina, sendo que, a partir do pH 9,0, já se observa uma significativa queda na atividade enzimática.

Na Tabela 3, são apresentados os resultados e coeficientes de determinação para o modelo linear para os experimentos conduzidos no extrato bruto de bromelina, destacando-se as constantes significativas derivadas das variáveis pH e razão L/S (sólido/líquido).

Tabela 3 - Coeficientes de regressão e de determinação do modelo experimental.

Fator	Coefficiente de regressão
Intercessão.	0,4292
pH (L)	0,1203
(L/S) (L)	-0,2594
R ² (*)	0,7463

(*) R² é o coeficiente de determinação do modelo; (L)=fator linear.
Tabela gerada por meio do software Statistica 10 da StatSoft Inc.
Fonte: Os autores (2025)

Desse modo, o modelo representado pela superfície de resposta linear (Figura 2) pode ser descrito pela Equação 4.

$$C_{prot} \left(\frac{g}{L} \right) = 0,4292 + 0,1203 * (\text{pH}) - 0,2594 * (\text{razão L / S}) \quad (4)$$

A variação dos parâmetros durante a extração, especialmente o experimento 3, revelou ser a combinação mais eficaz para aumentar a quantidade de proteínas no extrato. Essa concentração elevada de proteínas totais é fundamental, já que a bromelina será utilizada como enzima de sacrifício na etapa subsequente de hidrólise enzimática. Essa estratégia visa potencializar a eficiência da hidrólise, promovendo maior atividade enzimática e, conseqüentemente, uma produção ampliada de açúcares redutores. Assim, a concentração otimizada de proteínas totais, obtida por meio da etapa de extração, desempenha um papel essencial na qualidade e no rendimento global do processo de produção de açúcares redutores a partir da biomassa do abacaxi. A Tabela 4 mostra os resultados da Análise de Variância (ANOVA) que permite realizar a análise estatística para verificar a significância dos efeitos dos fatores avaliados no experimento.

Tabela 4 - Análise de Variância (ANOVA) para o teor de proteína

Fator	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Estatística F	Valor -p
pH(L)	0,3288	0,3288	14,6311	0,0065
(L/S) (L)	0,1345	0,1345	5,9869	0,0443
Erro	0,1573	0,0225		
Total	0,6210			

Fonte: Os autores (2025)

A análise estatística revelou que os fatores pH (L) e razão L/S (L) são os principais determinantes do teor de proteína no sistema avaliado. Ambos se mostraram estatisticamente significativos, com efeitos lineares

relevantes. Não houve evidência de interações entre os fatores nem de efeitos quadráticos, o que sugere um comportamento linear dentro da faixa experimental testada.

3.2 Efeito da Bromelina na adsorção em lignina e rendimento da hidrólise enzimática

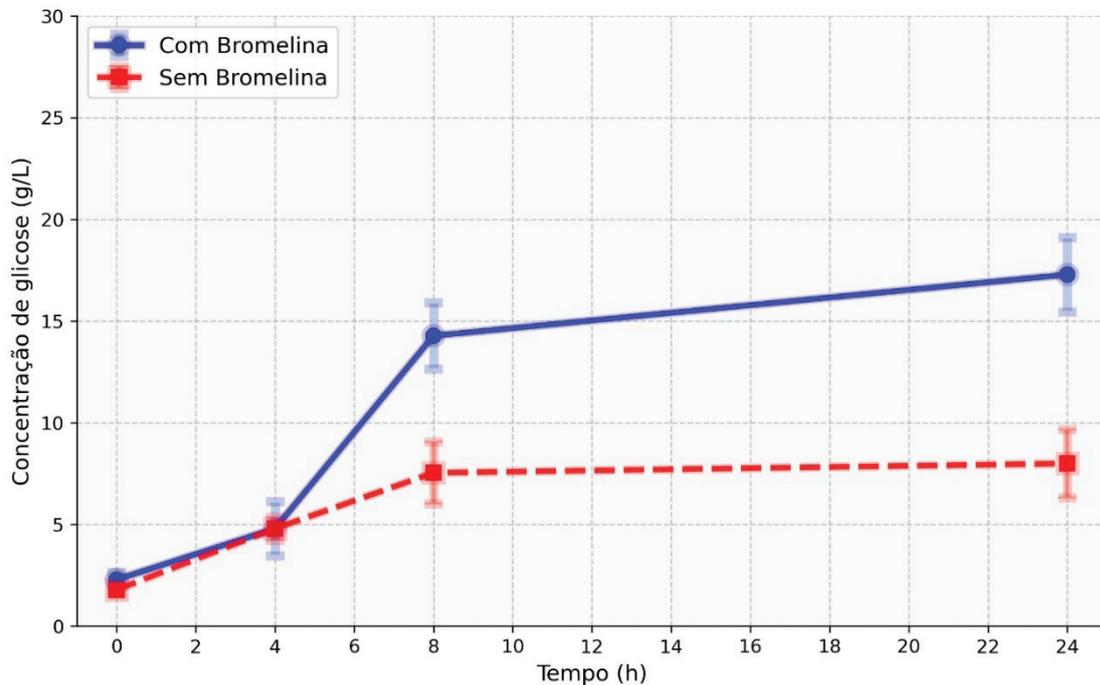
Com objetivo de avaliar o efeito da bromelina na hidrólise enzimática, foi selecionada a melhor condição experimental obtida no PCCR, para a realização da etapa de adsorção da enzima à lignina residual. Para isso, foram adicionados 27,18 mL de extrato bruto de bromelina (EBB) ao meio reacional contendo a biomassa pré-tratada. O volume final foi ajustado para 45 mL com a adição de tampão citrato (pH = 4,8). Essa etapa visou promover a interação entre a bromelina e os constituintes lignocelulósicos da biomassa, com o intuito de maximizar a eficiência da hidrólise. A fase de adsorção foi conduzida por 24 horas em uma incubadora com agitação orbital. Durante esse período, foi observada uma redução significativa nas concentrações de proteínas totais no sobrenadante, passando de $0,686 \pm 0,062$ g/L para $0,271 \pm 0,020$ g/L, o que corresponde uma queda média de 60,5%, considerando os experimentos realizados em triplicata. Essa redução indica uma adsorção eficaz da bromelina à lignina residual presente na biomassa proveniente do pré-tratamento da coroa do abacaxi. Esse fenômeno sugere um potencial aprimoramento nas características da biomassa para processos subsequentes.

Em um estudo semelhante, Pereira Sol (2023), ao utilizar a casca do abacaxi e tampão de citrato de sódio em pH 4,8, verificou uma redução percentual de até 95,38% nas proteínas totais. Essa diminuição percentual pode ser explicada, em grande parte, pela resistência à trituração mais elevada da coroa, destacando a influência do tamanho de partícula maior na biomassa proveniente da coroa do abacaxi. Essa diferença afeta a área superficial, dificultando uma difusão mais eficiente e estabelecendo uma conexão com a variação observada nos resultados entre as diferentes partes do fruto.

O estudo de Santos (2018) sobre a composição química da casca e coroa do abacaxi revelou semelhanças nos níveis de lignina e hemicelulose, mas uma notável disparidade na concentração de celulose, com a coroa apresentando 43,12% e a casca 24,32%. A celulose, um polissacarídeo de “cadeia longa” composto por carboidratos, confere rigidez e resistência à planta. A maior quantidade de celulose na coroa contribui para sua estrutura mais rígida, tornando-a mais resistente e desafiadora de ser triturada, dificultando a extração de proteínas, enquanto a casca, com menor teor de celulose, demonstra maior facilidade de processamento.

Finalizada a fase de adsorção, se deu início à etapa de hidrólise enzimática com adição de 5 mL de enzima. Dessa forma, o volume reacional final foi de 50 mL. Essa etapa foi realizada visando comparar o rendimento do processo na presença e na ausência da bromelina. Para cada experimento realizado, foram descontados os valores iniciais de concentração de glicose do extrato bruto de bromelina (EBB), que foi utilizado no meio reacional. Na Figura 4, é possível observar a evolução da produção glicose ao longo das 24 horas de hidrólise enzimática.

Figura 4– Comparação da hidrólise enzimática com e sem bromelina para a concentração de Glicose (g/L)

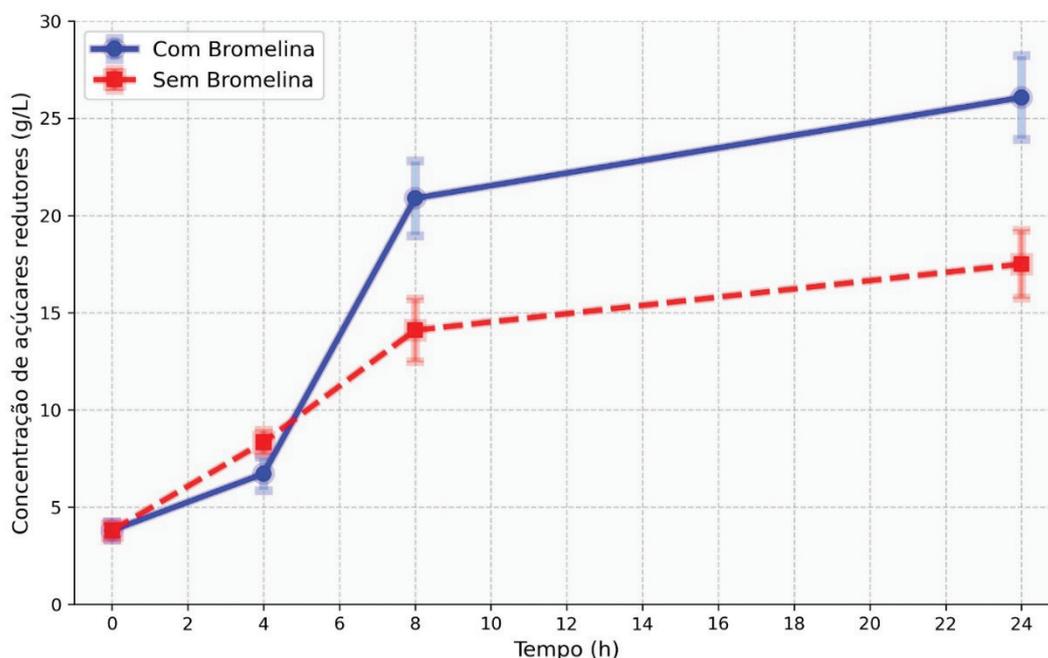


Fonte: Os autores (2025)

A etapa de hidrólise enzimática desempenha um papel crucial, no qual as celulases estabelecem vínculos com o material lignocelulósico por meio do processo de adsorção. Contudo, a presença residual de lignina no material pode resultar em adsorção improdutiva dessas enzimas. Tal fenômeno é claramente visualizado na Figura 4, onde o experimento realizado ao longo de 24 horas, com agitação na presença do extrato bruto de bromelina, demonstrou um rendimento consideravelmente superior na produção de glicose. Durante esse período, a concentração de glicose com o extrato bruto de bromelina (EBB) alcançou 17,21 g/L, enquanto, sem a presença de EBB, a concentração foi de apenas 8,08 g/L. Esses resultados indicam que a bromelina agiu como uma enzima “sacrifício”, ocupando os sítios de adsorção da lignina. Esse bloqueio eficaz cria condições favoráveis para as celulases agirem de maneira mais produtiva, promovendo a quebra eficiente da celulose em glicose. Adicionalmente, foi realizada uma avaliação da produção de açúcares redutores durante o experimento.

Na Figura 5, é apresentada uma comparação das concentrações de açúcares redutores obtidos após 24 horas de hidrólise enzimática, tanto com a presença quanto na ausência de bromelina. Nela, nota-se que a concentração de açúcares redutores segue um padrão semelhante ao comportamento da glicose ao longo do tempo. Além disso, a observação do gráfico revela um aumento significativo no experimento realizado com bromelina em comparação com o realizado sem a presença dessa enzima. No período de 24 horas de hidrólise enzimática, a concentração de açúcares redutores com o extrato bruto de bromelina (EBB) atingiu 26,14 g/L, um aumento de 22,63 g/L em relação à concentração inicial, enquanto no controle, sem a presença de EBB, a concentração foi de 17,49 g/L.

Figura 5– Comparação da hidrólise enzimática com e sem bromelina para a concentração de açúcares redutores (g/L)



Fonte: Os autores (2025)

A concentração resultante de açúcares redutores alcançou 26,14 g/L, representando 2,61% (m/v). Esses açúcares apresentam potencial para serem utilizados na produção de etanol. Mas, é necessário complementá-los com aditivos, como melaço, por exemplo, para atender aos requisitos ideais de AR (Açúcares Redutores), sugeridos por Ripoli (2004), de 15%. Além de ser utilizada na produção de biocombustíveis, a coroa do abacaxi pode ser uma fonte potencial para a obtenção de diversos bioprodutos, por meio da fermentação de seus açúcares lignocelulósicos, como ácidos orgânicos, triacilgliceróis e polihidroxialcanoatos (Diaz, 2018). Um exemplo prático dessa aplicação é encontrado na produção de ácido succínico, o qual desempenha um papel crucial na síntese de diversos derivados de alto valor na indústria farmacêutica (Bozell & Petersen, 2010). Esse ácido pode ser obtido através do pré-tratamento de resíduos de frutas cítricas em ácido diluído, em condições semelhantes às realizadas no experimento, conforme demonstrado por Patsalou *et al.* (2017). Durante a etapa de hidrólise enzimática, a adição da enzima bromelina, extraída da própria biomassa, resultou em um aumento significativo de 43,44% na produção de açúcares redutores a partir da coroa do abacaxi. Esse avanço foi conquistado sem a necessidade de incorporar outros aditivos bloqueadores de lignina, como a adição prévia da proteína BSA, polietilenoglicol ou tensoativo *Tween*, antes das celulases. A hidrofobicidade da BSA, por exemplo, contribui para sua adsorção preferencial na lignina, bloqueando de maneira eficaz seus sítios de adsorção (Ko *et al.*, 2015). A escolha da bromelina em comparação a esses inibidores para aplicação em bioprodutos é favorecida principalmente devido ao seu custo acessível, considerando a disponibilidade no cenário econômico.

Destaca-se, ainda, que a aplicação da bromelina, quando associada a pré-tratamentos mais eficientes, pode potencializar significativamente a acessibilidade das enzimas à fração celulósica, além de favorecer a otimização das interações enzimáticas envolvidas na etapa de hidrólise. Evidências recentes indicam que estratégias integradas de pré-tratamento, especialmente as que integram métodos físico-químicos, têm se mostrado mais eficazes do que abordagens isoladas, promovendo maior remoção de hemicelulose e lignina e melhor preservação da celulose (Mehta *et al.*, 2024; Andrade *et al.*, 2025). O uso de pré-tratamentos biológicos,

por sua vez, são alternativas sustentáveis que utilizam microrganismos ou enzimas para remover lignina com menor formação de inibidores.

Fierro *et al.* (2024) evidenciaram o aumento da porosidade da biomassa com tais métodos, enquanto Bothma *et al.* (2024) mostraram que a combinação de tratamentos microbianos, enzimáticos e hidrotérmicos pode valorizar resíduos como o bagaço de cana. Dessa forma, a integração de pré-tratamentos eficientes com sistemas enzimáticos personalizados é fundamental para o avanço técnico e sustentável das biorrefinarias modernas.

4 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo evidenciam a eficácia da extração de bromelina em meio alcalino, destacando a condição ótima com tampão de fosfato de potássio a um pH de 8,06 e razão L/S de 1:1, operando a 30°C. Essa configuração resultou em uma concentração máxima de proteínas totais de 1,2619 g/L ou 2,52% (m/m) de bromelina, um valor superior aos registrados em estudos anteriores. A análise dos fatores ressalta a influência predominante do pH, seguido pela razão L/S, sublinhando a importância dessas variáveis no processo. Na fase de adsorção, a bromelina demonstrou eficácia como enzima de “sacrifício”, promovendo uma redução significativa de 60,5% nas concentrações de proteínas totais presentes após 24 horas, indicando uma adsorção efetiva do EBB na biomassa lignocelulósica.

Durante a hidrólise enzimática, os experimentos com bromelina apresentaram concentrações máximas de glicose e açúcares redutores significativamente superiores, em comparação com os experimentos sem bromelina. O aumento de, aproximadamente, 22,63 g/L de açúcares redutores em relação ao valor inicial sugere um avanço notável na produção desse produto a partir da coroa do abacaxi. Esses açúcares podem ser implementados para a obtenção de futuros bioprodutos, como ácidos orgânicos, triacilgliceróis e poli-hidroxialcanoato. Assim, a possível aplicação de resíduos de abacaxi, como sua coroa, resulta ser uma fonte promissora na produção de bromelina. Esses resultados indicam uma abertura para a exploração técnica da extração de bromelina, apontando oportunidades para a valorização econômica e sustentável dos subprodutos da produção de abacaxi. Essa perspectiva torna-se interessante no contexto da indústria de bioprodutos, podendo contribuir para avanços e inovações na utilização de recursos naturais.

REFERÊNCIAS

- ALBA-FIERRO, C. A.; ESCOBEDO-BRETADO, M. Á.; NÚÑEZ-RAMÍREZ, D. M.; MARTELL- NEVÁREZ, M. A.; RÍOS-FRÁNQUEZ, F. J. Are biological pretreatments of lignocellulosic residues a real option for biofuels production? *BioResources*, v. 19, p. 3873-3894, 2024. <https://doi.org/10.15376/biores.19.2.albafierro>. Acesso em: 09/06/2025.
- ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M. J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review. *Bioresource technology*, v. 101, n. 13, p. 4851-4861, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852409015983>. Acesso em: 07/05/2025.
- ANDRADE, L. P.; RODRIGUES, M. I.; MURAKAMI, M. T.; DE MORAES ROCHA, G. J. Pilot-scale high-consistency mechanical refining improves enzymatic saccharification of lignocellulosic feedstock. *Scientific Reports*, v. 15, p. 10514, 2025. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-94675-x>. Acesso em: 07/06/2025.
- BOTHMA, M.; TEKE, G. M.; PIETERSE, E.; DIEDERICKS, D.; VAN RENSBURG, E.; GÖRGENS, J. F.; DEN HAAN, R. Enhancing black soldier fly larval production from sugarcane bagasse through hydrothermal, enzymatic, and microbial treatment. *Journal of Insects as Food and Feed*, v. 11, p. 937–951, 2024. <https://doi.org/10.1163/23524588-00001186>. Acesso em: 09/06/2025.
- BOZELL, J. J.; PETERSEN, G. R. Technology development for the production of biobased products from biorefinery carbohydrates—the US Department of Energy’s “top 10” revisited. *Green Chemistry*, v. 12, pp. 539-554, 2010. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2010/gc/b922014c>. Acesso em: 07/05/2025.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0003269776905273>. Acesso em: 07/05/2025.
- CAPONI, Luiz Henrique. Aproveitamento de resíduos de abacaxizeiro para extração e purificação de bromelina, Brasil. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Processos Químicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2016. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/15868/1/residuosabacaxizeiro.pdf>. Acesso em: 07/05/2025.
- CAMPOS, D. A.; COSCUETA, E. R.; VALETTI, N. W.; PASTRANA-CASTRO, L. M.; TEIXEIRA, J. A.; PICÓ, G. A.; PINTADO, M. M. Optimization of bromelain isolation from pineapple byproducts by polysaccharide complex formation. *Food Hydrocolloids*, v. 87, p. 792-804, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X18300146>. Acesso em: 07/05/2025.
- CHAKRABORTY, S.; RAO, P. S.; MISHRA, H. N. Modeling the inactivation kinetics of fruit bromelain in pineapple during high-pressure and thermal treatments. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 33, p. 10–18, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.026>. Acesso em: 01/06/2025.
- DIAZ, A. B.; BLANDINO, A.; CARO, I. Value added products from fermentation of sugars derived from agro-food residues. *Trends in Food Science & Technology*, v. 71, p. 52–64, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092422441730496X>. Acesso em: 07/05/2025.
- GRANADA, G. G., ZAMBIAZI, R. C., & MENDONÇA, C. R. B. (2004). ABACAXI: PRODUÇÃO, MERCADO E SUBPRODUTOS. *Boletim Do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 22(2). Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/1203/0>. Acesso em: 07/05/2025.

KO, J. K.; KIM, Y.; XIMENES, E.; LADISCH, M. R. Effect of liquid hot water pretreatment severity on properties of hardwood lignin and enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 112, p. 252-262, 2015. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bit.25349>. Acesso em: 07/05/2025.

LOPES, P. C.; PINTO, E. K. R.; MATTAR, M. S.; COSTA, H. B. Determinação do teor de proteínas totais e da atividade proteolítica de resíduos agroindustriais do processamento de frutos do abacaxizeiro (*Ananas comosus* var. *comosus*) cv. Pérola. *Scientia Plena*, v. 9, p. 1 - 6, 2013. Disponível em: <https://scientiaplena.emnuvens.com.br/sp/article/view/1312>. Acesso em: 07/05/2025.

MAURER, H. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 58, 1234–1245, 2001.

MEHTA, J. P.; METRE, A. V.; BHAKHAR, M. S.; VETAL, A. S. Comparative study of alkaline, acidic, and deep eutectic solvent pretreatments on lignocellulosic biomass for enhanced enzymatic hydrolysis. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 15(9), 14619–14631, 2024. <https://doi.org/10.1007/s13399-024-06342-2>. Acesso em: 07/06/2025.

MILLER, G. L. Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry*, v. 31, p. 426-428, 1959.

MONTENEGRO, H. W. S. A maturação do abacaxi. *Anais Da Escola Superior De Agricultura Luiz De Queiroz*, 21, P. 79-92, 1964. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/aesalq/article/view/38749>. Acesso em: 07/05/2025.

MURACHI, T. Bromelain enzyme. In: LORAND, L. *Methods in Enzymology*. Academic Press: New York, 1976. p. 475-585, 1976.

MUSSATTO, S. I.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A. M. F. Enzimas - Poderosa ferramenta na indústria. *Ciência Hoje*, v. 41, p. 28-33, 2007. Disponível em: <https://cienciahoje.org.br/artigo/enzimas-poderosa-ferramenta-na-industria/>. Acesso em: 07/05/2025.

NADZIRAH, K. Z.; ZAINAL, S.; NORIHAM, A.; NORMAH, I. Efficacy of selected purification techniques for bromelain. *International Food Research Journal*, v. 20, p. 43-46, 2013. Disponível em: [http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20\(01\)%202013/6%20IFRJ%2020%20\(01\)%202013%20Zainal%20\(015\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20(01)%202013/6%20IFRJ%2020%20(01)%202013%20Zainal%20(015).pdf). Acesso em: 07/05/2025.

PAULA, C. C, SILVA, H. M. P. *Cultivo Prático de Bromélias*. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2004.

PATSALOU, M.; MENIKEA, K. K.; MAKRI, E.; VASQUEZ, M.; DROUZA, C.; KOUTINAS, M. Development of a citrus peel-based biorefinery strategy for the production of succinic acid, *Journal of Cleaner Production*, v. 166, p. 706-716, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652617317560>. Acesso em: 07/05/2025.

RIPOLI, T. C. C. *Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente*. Piracicaba: Barros & Marques Editoração Eletrônica, 2004.

RODA, A.; FAVERI, D. M. D.; GIACOSA, S.; DORDONI, R.; LAMBRI, M. Effect of pre-treatments on the saccharification of pineapple waste as a potential source for vinegar production. *Journal of cleaner production*, v. 112, p. 4477-4484, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652615008999>. Acesso em: 07/05/2025.

SAID, S. P. R. *Enzimas de Interesse industrial e biotecnológico*, Ed Eventos: Rio de Janeiro, 2002.

SALVADOR, Carlos Grande, Estudo Da Extração Das Proteínas Dos Farelos De Oleaginosas Através De Métodos Químico E Enzimático, Brasil. 2016. Tese (Doutorado em Engenharia Química) Escola Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/BUBD-AN5Q3W>. Acesso em: 07/05/2025.

SANTOS, A. F.; ALVES R. S.; LEITE N. S.; FERNANDES R. P. M. Estudo Bioquímico Da Enzima Bromelina Do Ananas Comosus (Abacaxi). Scientia Plena, v. 5, p. 1-6, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/277069650_Estudos_bioquimicos_da_enzima_bromelina_do_Ananas_comosus_abacaxi. Acesso em: 07/05/2025.

SANTOS, Michelle Ludmila Guedes dos, Processo pirolítico de biomassa residual de abacaxi. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Tecnologia Ambiental) - Universidade de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2018. Disponível em: <https://tede.unaerp.br/bitstream/handle/12345/165/0000077a.pdf?sequence=1>. Acesso em: 07/05/2025.

SOL, Pereira Guilherme. Aproveitamento da casca de abacaxi para obtenção de açúcares redutores, Brasil. 2023. Trabalho de conclusão de curso (Graduação)-Universidade Federal de Goiás, Instituto de química, Engenharia Química, Goiânia, 2023.

SILVA, J. D. S.; MALTA, V. R. D. S.; SANTOS-ROCHA, M. S. R. D.; ALMEIDA, R. M. R. G.; GOMES, M. A.; VICENTE, C. D.; BARBOSA, K. L. Hidrólise enzimática, fermentação e produção de biocombustíveis através da coroa de Ananas Comosus. Química. Nova, v. 41, p. 1127-1131, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/GLmRMrnyN4ZSLYnXbjYnZVj/>. Acesso em: 07/05/2025.

WANG, H.; KOBAYASHI, S.; HIRAIDE, H.; CUI, Z.; MOCHIDZUKI, K. The effect of nonenzymatic protein on lignocellulose enzymatic hydrolysis and simultaneous saccharification and fermentation. Applied biochemistry and biotechnology, v. 175, p. 287-299, 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-014-1242-2>. Acesso em: 07/05/2025