

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

FERNANDA DE ANDRADE RIBEIRO

**COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA ENTRE SUCO DE  
CULTIVARES DE ABACAXI IN NATURA E UM SUCO INDUSTRIALIZADO**

Porto Alegre

2022

FERNANDA DE ANDRADE RIBEIRO

**COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA ENTRE SUCO DE  
CULTIVARES DE ABACAXI IN NATURA E UM SUCO INDUSTRIALIZADO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao  
Curso de Odontologia da Universidade Federal  
do Rio Grande do Sul, como requisito parcial  
para obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Adriana Corsetti

Coorientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ionara Rodrigues  
Siqueira

Porto Alegre

2022

CIP - Catalogação na Publicação

Ribeiro, Fernanda  
POTENCIAL DE USO DO ABACAXI COMO ALIMENTO FUNCIONAL  
NO MANEJO PÓS-OPERATÓRIO DE EXODONTIAS DE TERCEIROS  
MOLARES: COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA TIPO  
BROMELINA DA POLPA ENTRE DOIS DIFERENTES CULTIVARES E  
UM SUCO INDUSTRIALIZADO 100% SUCO DE ABACAXI /  
Fernanda Ribeiro. -- 2022.  
50 f.  
Orientadora: Adriana Corsetti.

Coorientadora: Ionara Rodrigues Siqueira.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade  
de Odontologia, Curso de Odontologia, Porto Alegre,  
BR-RS, 2022.

1. Abacaxi. 2. Bromelina. 3. Alimento funcional. 4.  
Inflamação. 5. Cirurgia Bucal. I. Corsetti, Adriana,  
orient. II. Rodrigues Siqueira, Ionara, coorient.  
III. Título.

FERNANDA DE ANDRADE RIBEIRO

**COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA ENTRE SUCO DE  
CULTIVARES DE ABACAXI IN NATURA E UM SUCO INDUSTRIALIZADO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao  
Curso de Odontologia da Universidade Federal  
do Rio Grande do Sul, como requisito parcial  
para obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Porto Alegre, 04 de outubro de 2022.

Angelo Luiz Freddo

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Carlos Eduardo Espindola Baraldi

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## AGRADECIMENTOS

Viver esses anos de graduação em Odontologia em uma Universidade Federal e de excelência foi fundamental. Eu não poderia ter tido uma experiência mais completa em se tratando de roda da vida.

Do setor profissional, estudei muito para que pudesse estar recebendo este título: Cirurgiã-dentista. Ô se estudei. Houve tantos semestres com rotina integral de estudos e mais horas de estudo em casa para complementar e reforçar o que nos foi apresentado nas aulas presenciais e assíncronas.

Da parte de saúde, sempre houve um amor por estudar saúde, mas foi na graduação que eu comecei a aprender e a aplicar uma rotina mais saudável para mim. No quinto semestre do curso diurno, começamos a praticar integralmente e na sociedade o que aprendemos na teoria e nos manequins. No primeiro dia de clínica integrada do quinto semestre, quando tínhamos que iniciar os atendimentos práticos, chorei. Chorei com lágrimas abundantes e soluços. Um choro que, se formos classificar, é aquele de medo. Eu percebi naquele momento que iniciava meu trajeto de contribuição no cuidado de outra pessoa, todavia eu mal sabia cuidar de mim. Desde aquele momento, exercito a tentativa de cuidar de mim cada vez mais para que eu possa transbordar para meus pacientes e também para todos que estiverem a minha volta. Adotei uma rotina de exercícios físicos de força que me ajudam com questões fisiológicas, posturais e, principalmente, com a minha saúde mental. Envolvi-me mais com esportes e insisti para aprender um pouco mais de cada um, o que rompe com o pensamento que dizia que não era boa em nenhum esporte além de natação. Depois descobri intolerâncias alimentares e recebi atendimento nutricional pelo programa PRAE, que sem dúvida a Suélen me ajudou tanto no tratamento das patologias do trato gastrointestinal e também me ensinou a adotar um cuidado maior com o que ingiro em se tratando de alimentos. Em período concomitante com o atendimento nutricional, recebi auxílio até o fim da faculdade para custear tratamento psicoterápico, que me ajuda a entender os meus processos psíquicos e de vida, bem como me ajuda a viver de uma maneira mais leve, mais empática e amorosa comigo e me ajuda a equilibrar o tempo que dedico para a vida profissional com o tempo que dedico para a vida pessoal.

Do campo social, proporcionou-me conhecer pessoas além do curso de Odontologia. Diversas pessoas que cruzaram meu caminho tanto na faculdade de Odontologia quanto em cursos, em festas da faculdade.

E do campo espiritual, também consegui definir minha concepção de espiritualidade durante o período de graduação. Hoje não consigo me imaginar em nenhuma religião, porém não quer dizer que não tenha fé. Há uma música do Natiruts denominada "Tudo vai dar certo". Considero meu mantra. Sempre que preciso de uma motivação, ouço-a. Nela, há um verso que diz: "Deixa o amor renascer na sua cabeça e você vai ver o que é Deus". Ele representa exatamente como penso sobre espiritualidade e o que me move.

Tentei resumir um pouco da minha vivência nesses anos de ensino superior. Espero que tenha transmitido o impacto do que ela representou na minha vida. Caso não tenha sido clara, vou tentar reexplicar: montei minha bagagem de conhecimento teórico e prático de Odontologia para me tornar uma Cirurgiã-dentista generalista e vivi as fases do desenvolvimento psíquico que se espera de um ser humano através do convívio social que a vivência na Universidade proporcionou.

Diante disso, não há como eu não agradecer. São tantos agradecimentos!

Agradeço os meus pais pela vida, pois graças a ela consigo experienciar cada momento, e também pelo teto, pela comida, pelo incentivo para estudar e realizar meus sonhos e minhas vontades dentro do possível e pelo afeto.

Agradeço aos meus professores - do jardim B ao último cursinho pré-vestibular e cursos de idioma - que me incentivaram a continuar estudando e me dedicando nos estudos.

Agradeço aos dentistas que me atenderam e me permitiram ter uma experiência positiva nas consultas odontológicas. Com certeza, junto com os hábitos de saúde bucal que recebi de meus pais, todos contribuíram para a minha decisão de me tornar Cirurgiã-dentista.

Agradeço aos professores da graduação por todo o aprendizado transmitido e, em especial, às minhas orientadoras Adriana Corsetti e Ionara Siqueira, que aceitaram o convite para pesquisar este tema um tanto quanto ousado e por me orientarem durante todo o período de pesquisa de uma maneira leve e motivadora.

Agradeço aos pacientes por aceitarem o tratamento baseado no binômio profissional-paciente e por aderirem com muita colaboração ao tratamento.

Agradeço à Eduarda e à Giana por toda a ajuda durante o período laboratorial da pesquisa do TCC.

Agradeço aos meus preceptores, também professores, que me ensinaram um tanto de teoria, de prática odontológica e de vida.

Agradeço a todos os profissionais que trabalham na Faculdade de Odontologia que atuam de maneira exemplar para que nosso aprendizado e o atendimento aos pacientes possam ocorrer de maneira excelente.

Agradeço à Lei de Cotas que, este ano, completa 10 anos e ao subsídio financeiro do conjunto de programas e projetos da PRAE, uma vez que foi essencial para que eu conseguisse me manter na vida acadêmica e para que eu tivesse uma qualidade de vida enquanto estudante universitária.

Agradeço aos meus amigos que entenderam minhas ausências por questões psicológicas, por excesso de compromissos com a faculdade e também souberam o momento de aceitarem minhas ausências e também de me levarem para espairecer. Muito obrigada às Carolines, à Jéssica Fajardo, ao Anderson Peixoto, ao Joshué Jacques, ao Yan Toigo, ao Josias e aos outros que me acompanham há longo período - Nadyne, Natália, Vitória e Cristina.

Agradeço às gurias que me acompanharam por grande parte na faculdade: Nayara Heidmann, Giovana Siocheta, Gabriela Guarese, Camila Leffa, Natália Veleda e Thais Cony.

Agradeço ao Henrique, minha última dupla na clínica da faculdade, e também às minhas últimas duplas de graduação no estágio II, Marguit e Ariel, pessoas com quem aprendi tanto e tornaram meus dias de atendimento mais tranquilos e alegres.

Agradeço aos meus colegas de turma por tanta troca e pelo decorrer da jornada odontológica.

Agradeço às profissionais que me atenderam na e pela PRAE e contribuíram tanto para minha qualidade de vida. Muito obrigada Suélen, Camila e Thaís. Vocês são exemplo de profissionais de saúde para mim. Tenho muito carinho pelo trabalho de vocês e espero levar um pouco de como fui atendida por vocês para a minha vida profissional.

Agradeço aos educadores físicos da academia que frequento por serem tão queridos, acessíveis e empáticos e adaptarem os treinos a minha disponibilidade e por saberem o momento que deviam me motivar. Leia-se "puxar minhas orelhas" para que eu pudesse me manter na rotina de exercícios físicos, alinhar minha postura e me alongar mesmo diante de tantos compromissos.

Agradeço, por fim, aos obstáculos que me tornaram mais experiente e a todos que cruzaram meu caminho e me permitiram ser quem sou hoje.

"Acho que invento a felicidade para compor todas as coisas e não haver preocupações desnecessárias. E inventar algo bom é melhor do que aceitarmos como definitiva uma qualquer realidade má. A felicidade também é estarmos preocupados só com aquilo que é importante. O importante é desenvolvermos coisas boas, das de pensar, sentir e fazer."

Valter Hugo Mãe em "O paraíso são os outros", p. 31

## RESUMO

**Introdução:** A inflamação ocorre como consequência de quase todas as lesões que ocorrem no organismo, dentre elas pode-se citar as cirurgias odontológicas. A bromelina é uma enzima proteolítica encontrada no abacaxi (*Ananas comosus Merr.*) e em outras espécies da família Bromeliaceae. Trata-se de uma cisteína-proteinase com baixa toxicidade e capaz de ser considerada como ferramenta potencial para modular diferentes estados e doenças inflamatórias e contribuir conjuntamente no pós-operatório de cirurgias com a finalidade de reduzir edemas e potencializar a cicatrização. **Metodologia:** Um estudo observacional descritivo transversal que tem como objetivo avaliar a quantidade e a atividade proteolítica de dois cultivares diferentes de abacaxi, sendo quatro grupos (n=4) de cada um, e de um suco industrializado 100% suco amplamente comercializado e comparar as atividades entre si. A quantificação proteica foi realizada com e sem a presença da proteína substrato albumina e a atividade proteolítica foi realizada com os sucos de fruta dos cultivares Pérola e Smooth Cayenne e o suco comercializado e dois controles, sendo o positivo com a proteína Tripsina e o negativo com tampão fosfato de sódio. **Resultados:** Em relação à quantificação proteica, há uma tendência a uma curva de concentração, significando maiores proteínas em maiores concentrações de sucos sem albumina e com albumina. E a atividade proteolítica apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos controles e entre os sucos de fruta e o suco comercializado. Os sucos de fruta não apresentaram diferença estatística entre si. **Conclusões:** Todos os sucos apresentaram boa quantidade de proteínas e atividade proteolítica. Sabe-se da importância de se consumir mais frutas, dos benefícios nutricionais, culturais e financeiros do abacaxi in natura, o que sugere uma boa alternativa para tratamento coadjuvante da inflamação pós-operatória da extração de terceiros molares. No entanto, mais estudos laboratoriais com a bromelina in natura devem ser realizados.

Palavras-chave: Abacaxi; Bromelina; Alimento funcional; Inflamação; Cirurgia Bucal.

## ABSTRACT

**Introduction:** Inflammation occurs as a consequence of almost all injuries that occur in the body, among them we can mention dental surgeries. Bromelain (EC 3.4.22.4) is a proteolytic enzyme found in pineapple (*Ananas comosus Merr.*) and other species of the Bromeliaceae family. It is a cysteine-proteinase with low toxicity and capable of being considered as a potential tool to modulate different inflammatory states and diseases and contribute together in the postoperative period of surgeries in order to reduce edema and enhance healing.

**Methodology:** A cross-sectional descriptive observational study that aims to evaluate the quantity and proteolytic activity of two different cultivars of pineapple, with four groups (n=4) of each, and of an industrialized 100% commercialized juice and to compare the activities between them. Protein quantification was performed with and without the presence of the albumin substrate protein and the proteolytic activity was performed with fruit juices from the Pérola and Smooth Cayenne cultivars and the commercialized juice and two controls, the positive with the protein Trypsin and the negative with sodium phosphate buffer.

**Results:** About protein quantification, there is a trend towards a concentration curve, meaning higher proteins in higher concentrations of juices without albumin and with albumin. And the proteolytic activity showed a statistically significant difference between the control groups and between the fruit juices and the commercialized juice. The fruit juices showed no statistical difference between them. **Conclusions:** All juices showed a good amount of protein and proteolytic activity. It is known the importance of consuming more fruits, the nutritional, cultural and financial benefits of pineapple fruit, which suggests a good alternative for adjunctive treatment of postoperative inflammation of third molar extraction. However, further laboratory studies with bromelain in natura should be performed.

Keywords: Pineapple; Bromelain; Functional Food; Inflammation; Oral Surgery.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação das incisões em terceiros molares superiores. ....	17
Figura 2 – Representação das incisões em terceiros molares inferiores. ....	18
Figura 3 – Principais propriedades da bromelina encontradas na literatura .....	26
Figura 4 – Fotografia dos cultivares Smooth Cayenne .....	29
Figura 5 – Rótulo do material industrial .....	30
Gráfico 1 – Curva Padrão da Albumina. ....	36
Gráfico 2 – Quantificação proteica dos abacaxis Pérola sem albumina. ....	37
Gráfico 3 – Quantificação proteica dos abacaxis Pérola com albumina. ....	37
Gráfico 4 – Quantificação proteica dos abacaxis S. Cayenne sem albumina. ....	38
Gráfico 5 – Quantificação proteica dos abacaxis S. Cayenne com albumina. ....	39
Gráfico 6 – Quantificação proteica do suco de abacaxi industrializado com e sem albumina.....	39
Gráfico 7 – Comparação da atividade proteolítica entre os grupos analisados.....	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores da Curva Padrão de Albumina para cálculo de concentração proteica.....	32
Tabela 2 - Valores da curva do suco com a polpa.....	33
Tabela 3 - Valores da curva utilizando tripsina como controle positivo.....	33
Tabela 4 - Valores da curva do controle negativo.....	33
Tabela 5 - Organização da microplaca de 96 poços.....	33
Tabela 6 - Organização da microplaca de 96 poços deste experimento.....	35

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido Aracdônico
AINES	Anti-inflamatórios não esteroidais
B	Branco ou H <sub>2</sub> O
C	Smooth Cayenne
CEASA/RS	Centrais de Abastecimento do Rio Grande do Sul
COXs	Enzimas ciclo-oxigenases
CT	Grupo Controle Negativo
IND	Suco Industrializado
LOX	Enzimas lipo-oxigenases
P	Pérola
PICS	Práticas Integrativas e Complementares em Saúde
S1	Suco 1
S2	Suco 2
S3	Suco 3
S4	Suco 4
SUS	Sistema Único de Saúde
TCA	Ácido Tricloroacético
Trip	Tripsina

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>14</b>
<b>1.1</b>	<b>Inflamação</b> .....	<b>14</b>
<b>1.2</b>	<b>Sequelas Pós Operatórias Comuns em Cirurgias de Terceiros Molares</b> .....	<b>14</b>
<b>1.2</b>	<b>Dor</b> .....	<b>15</b>
<b>1.3</b>	<b>Edema</b> .....	<b>16</b>
<b>1.4</b>	<b>Trismo</b> .....	<b>16</b>
<b>1.5</b>	<b>Manejo do Paciente Pós Exodontia</b> .....	<b>16</b>
<i>1.5.1</i>	<i>Orientações</i> .....	<i>16</i>
<i>1.5.2</i>	<i>Crioterapia</i> .....	<i>17</i>
<i>1.5.3</i>	<i>Medicamentos Via Oral Preemptivos</i> .....	<i>17</i>
<i>1.5.4</i>	<i>Medicamentos Via Oral no Pós-Operatório</i> .....	<i>17</i>
<b>1.6</b>	<b>Práticas Integrativas e Complementares em Saúde (PICS)</b> .....	<b>18</b>
<b>1.7</b>	<b>Biodiversidade no Brasil</b> .....	<b>18</b>
<b>1.8</b>	<b>Coadjuvantes em Odontologia</b> .....	<b>18</b>
<b>1.9</b>	<b>Alimentos Funcionais</b> .....	<b>19</b>
<b>1.10</b>	<b>Abacaxi</b> .....	<b>20</b>
<b>1.11</b>	<b>Bromelina</b> .....	<b>20</b>
<b>1.12</b>	<b>Justificativa</b> .....	<b>22</b>
<b>2</b>	<b>MÉTODO DE PESQUISA</b> .....	<b>23</b>
<b>2.1</b>	<b>Desenho do Estudo</b> .....	<b>23</b>
<b>2.2</b>	<b>Local do Estudo</b> .....	<b>24</b>
<b>2.3</b>	<b>Hipótese</b> .....	<b>24</b>
<b>2.4</b>	<b>Coleta de dados</b> .....	<b>24</b>
<b>2.5</b>	<b>Material Vegetal</b> .....	<b>24</b>
<b>2.6</b>	<b>Material Industrial</b> .....	<b>25</b>
<b>2.7</b>	<b>Preparação dos Reagentes</b> .....	<b>25</b>
<i>2.7.1</i>	<i>Fosfato de Sódio Dibásico</i> .....	<i>26</i>
<i>2.7.2</i>	<i>Tampão Fosfato de Sódio Monobásico Monohidratado P.A. - A.C.S.:</i> .....	<i>26</i>
<i>2.7.3</i>	<i>Tampão TRIS:</i> .....	<i>26</i>
<i>2.7.4</i>	<i>Reagente BRADFORD - G250 (0,06% 60 ng/100 mL):</i> .....	<i>26</i>
<i>2.7.5</i>	<i>Albumina BSA - Albumina Sérica Bovina - 1mg/mL:</i> .....	<i>26</i>
<b>2.8</b>	<b>Preparação do suco da polpa dos abacaxis</b> .....	<b>27</b>

<b>2.9</b>	<b>Quantificação de Proteínas .....</b>	<b>27</b>
<b>2.10</b>	<b>Atividade Proteolítica .....</b>	<b>30</b>
<b>2.11</b>	<b>Análise Estatística .....</b>	<b>31</b>
<b>3</b>	<b>CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....</b>	<b>31</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>31</b>
<b>4.1</b>	<b>Curva Padrão da Albumina.....</b>	<b>31</b>
<b>4.2</b>	<b>Quantificação proteica dos abacaxis Pérola sem albumina .....</b>	<b>32</b>
<b>4.3</b>	<b>Quantificação proteica dos abacaxis Pérola com albumina .....</b>	<b>33</b>
<b>4.4</b>	<b>Quantificação proteica do abacaxi Smooth Cayenne sem albumina .....</b>	<b>34</b>
<b>4.5</b>	<b>Quantificação proteica do abacaxi Smooth Cayenne com albumina.....</b>	<b>34</b>
<b>4.6</b>	<b>Quantificação proteica do suco industrializado .....</b>	<b>35</b>
<b>4.7</b>	<b>Comparação da atividade proteolítica entre os grupos analisados.....</b>	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>39</b>
<b>7</b>	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS .....</b>	<b>39</b>

# 1 REVISÃO DE LITERATURA

## 1.1 Inflamação

Segundo Wannmacher (2013), a inflamação ocorre como consequência de quase todas as lesões que ocorrem no organismo, como, por exemplo, as cirurgias odontológicas de extração de terceiros molares. Este processo desencadeia uma resposta inflamatória que ocorre em três fases, sendo a primeira caracterizada por vasodilatação dos vasos sanguíneos e permeabilidade local, ocasionando aumento de líquido no interstício e consequente edema clinicamente; a segunda é subclínica, a qual há aumento de migração de leucócitos e fagócitos para o local lesionado e denominada de quimiotaxia e a terceira, iniciada após 36 a 48 horas após o estímulo, promovendo a regeneração e reconstrução de matriz conjuntiva. A lesão clínica provoca rupturas celulares, dentre elas a dos lisossomas, que liberam enzimas líticas e alteram proteínas. Esta alteração proteica impulsiona sistemas que ativam e liberam substâncias intermediárias específicas para cada tipo de lesão. No processo agudo, envolvem-se principalmente as prostaglandinas, a histamina e a bradicinina. As prostaglandinas são liberadas por causa das membranas de fosfolipídios das células lesadas que sofreram ação catalítica da fosfolipase A2, fosfolipase C e lipase diglicerídica, formando o ácido aracdônico.

Segundo Faloppa e Lima (2015), o produto gerado, denominado como ácido aracdônico (AA) ou como ácido eicosatetraenoico é um ácido graxo com 20 átomos de carbono composto por quatro ligações duplas e todos os seus compostos derivados são chamados de eicosanoides. O ácido aracdônico pode ser substrato para a oxidação de um grupo de enzimas denominadas ciclo-oxigenases (COXs), dividida em COX-1 e COX-2, e também para outro grupo de enzimas, denominadas lipo-oxigenases (LOX). Quando o AA for clivado pelas enzimas do primeiro grupo, produz prostaglandinas (que são vasodilatadoras, sensibilizam nociceptores e ativam centros hipotalâmicos de termorregulação), prostaciclina (que inibem a agregação plaquetária) e tromboxano A2 (que estimulam a agregação plaquetária) e, quando for clivado pelas enzimas do último grupo, produz leucotrienos, que aumentam a permeabilidade celular e atraem leucócitos para a região lesionada. Já a histamina e a bradicinina aumentam a permeabilidade local e ativam receptores de nocicepção

## 1.2 Sequelas Pós Operatórias Comuns em Cirurgias de Terceiros Molares

A extração cirúrgica dos terceiros molares é um procedimento comum na rotina clínica dos cirurgiões-dentistas (BOULOX et al., 2007). Por ser uma intervenção odontológica cirúrgica, envolve sequelas pós-operatórias para o paciente. Segundo Hupp (2021), as

sequelas pós-operatórias de exodontias incluem hemorragia, dor e desconforto, edema, trismo e equimose. Para todas, há orientações que ajudam a minimizar os sinais e sintomas do paciente. A hemorragia e a equimose têm origem a partir do rompimento de vasos sanguíneos decorrente das incisões e dos descolamentos. Dor, desconforto, edema e trismo, além da hiperalgesia têm origem do processo inflamatório local (MAJID; MAHMOOD, 2010; WANNMACHER, 2013).

Os sintomas mais comuns após a extração de terceiros molares, segundo Taubete et al. (1990) e Vranckx et al. (2021), são dor, edema e trismo. A sua ocorrência pode variar conforme a técnica cirúrgica, a habilidade do profissional, a predisposição e a subjetividade do paciente.

Cabe salientar que, além das sequelas pós-operatórias relacionadas ao estado de saúde, Vranckx et al. (2021) destacam que há custos socioeconômicos envolvidos pelos dias que os pacientes salarizados precisam se ausentar do trabalho para as consultas odontológicas e o período de repouso.

## 1.2 Dor

Em relação ao conceito de dor, a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP, 1979) conceitua a dor como “uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada, ou semelhante àquela associada, a uma lesão tecidual real ou potencial”. A Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor (SBED) em 2020 acrescentou seis notas técnicas para a ampliação da definição (RAJA et al., p.7):

- A dor é sempre uma experiência subjetiva, que é influenciada, em graus variáveis, por fatores biológicos, psicológicos e sociais.
- Dor e nocicepção são fenômenos diferentes; a experiência de dor não pode ser deduzida pela atividade nas vias sensoriais.
- Através das suas experiências de vida, as pessoas aprendem o conceito de dor e suas aplicações.
- O relato de uma pessoa sobre uma experiência de dor deve ser aceito como tal e respeitado.
- Embora a dor geralmente cumpra um papel adaptativo, ela pode ter efeitos adversos na função e no bem-estar social e psicológico.
- A descrição verbal é apenas um dos vários comportamentos para expressar a dor; a incapacidade de comunicação não invalida a possibilidade de um ser humano ou um animal sentir dor.

Ademais, Puricelli et al. (2014) comentam sobre pessoas sentirem sensibilidade dolorosa de forma diferente e a influência do componente emocional. Todos os aspectos que podem interferir nas percepções de dor não estão bem estabelecidos e mais pesquisas são necessárias, mas se percebe que

mulheres relatam mais experiência dolorosa quando comparada aos homens (PIERETTI et al., 2016) e pessoas que realizam exercício físico a longo prazo relatam menos dor (RICE et al., 2019). Independente das diferenças na percepção de dor, Puricelli et al. (2014) reforçam a importância dos profissionais de saúde ouvirem a queixa do paciente em relação a experiência da percepção da dor.

### 1.3 **Edema**

Hupp (2021) define edema como inchaço após a cirurgia, com pico máximo em 36 a 48 horas após o procedimento cirúrgico e início de regressão a partir do terceiro ou quarto dia após o procedimento com completa resolução em aproximadamente uma semana. O autor comenta que pode apresentar remissões e recidivas pela variação postural e que o edema que aumenta após o terceiro dia pode ser sinal de infecção.

### 1.4 **Trismo**

Hupp (2021) define trismo como limitação de abertura de boca, envolvendo traumatismo e inflamação nos músculos da mastigação. Ele afirma que ocorre, em especial, em cirurgias de terceiros molares inferiores retidos. Ness (2016) acrescenta que seu ápice ocorre no segundo dia e ambos os autores expressam que o trismo costuma cessar em uma semana. Dijkstra, Huisman e Roodenburg (2006) determinam, de forma geral, que se considera trismo quando há menos de 35 milímetros de abertura de boca em adultos.

## 1.5 **Manejo do Paciente Pós Exodontia**

### 1.5.1 *Orientações*

Segundo Hupp (2021), uma vez completado o procedimento, o cirurgião-dentista pode atuar de diversas formas para minimizar o desconforto do paciente. Primeiramente, através das orientações sobre as principais complicações e sobre os cuidados com a ferida que incluem reduzir ou parar o fumo para ajudar na cicatrização da ferida, morder firmemente uma gaze por 30 minutos sem mastigá-la e sem abrir a boca, evitar falar por pelo menos 1 hora, não cuspir nas primeiras 12 horas após a cirurgia e ingerir uma dieta hipercalórica líquida ou pastosa fria nas primeiras 12 a 24 horas após o procedimento e, se diabético, manter os cuidados com a insulina. É importante acrescentar a ingestão adequada de líquidos pelo paciente e Puricelli et al. (2014) orientam que a higiene bucal e o período para se evitar praticar esportes ou exercícios físicos dependerá do porte da cirurgia. O autor orienta que as

informações sejam feitas de forma verbal e por escrito com um número de telefone para contato com o cirurgião-dentista ou plantonista para situações de emergência.

### *1.5.2 Crioterapia*

A crioterapia é uma técnica que consiste na aplicação local do frio para amenizar os efeitos indesejados da inflamação no pós-operatório de cirurgias orais (GREENSTEIN, 2007). Ela tem o objetivo de diminuir a temperatura da pele para promover vasoconstrição e, assim, diminuir os sinais e sintomas da inflamação (HENNESSY, 1941; GREENSTEIN, 2007). Um estudo que avaliou o efeito da crioterapia no pós-operatório de terceiros molares retidos utilizando as orientações de aplicação de bolsas de gelo pelo paciente logo após o procedimento e durante as primeiras 12 horas por 30 minutos com intervalo de 30 minutos teve como resultado significativo para a redução do edema causado pela cirurgia de terceiros molares - em especial até o terceiro dia de pós-operatório (PACHECO; FREIRE, 2018).

### *1.5.3 Medicamentos Via Oral Preemptivos*

Diversos estudos avaliam o uso de medicamentos para uso preemptivo (ÇAĞIRAN et al., 2014; FALCI et al., 2017; SRIVASTAVA et al., 2021; FAVARINI; LIMA; SATO, 2018; XIE; LI; SHANG, 2021). A dexametasona parece ser uma boa escolha dentre os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), pois aparenta atuar significativamente na redução do edema e do trismo que ocorrem no pós-operatório - sobretudo na extração de terceiros molares inferiores (FALCI et al., 2017).

### *1.5.4 Medicamentos Via Oral no Pós-Operatório*

Hupp (2021) afirma que o pico de dor ocorre cerca de 12 horas após a exodontia e diminui logo depois disso, ocorrendo raramente dor intensa e persistente após dois dias da cirurgia. Ele comenta também que o edema atinge o pico máximo entre 36 e 48 horas após o procedimento. Diante dessas duas situações e outras comuns decorrentes da inflamação, há intervenções medicamentosas.

O autor sugere que a primeira dose seja administrada antes dos efeitos da anestesia local diminuírem para que seja menos provável que o paciente sinta dor aguda e manter a medicação de dois a três dias. Ele recomenda o uso de ibuprofeno, pois além de analgesia, parece ter efeito na agregação plaquetária e no tempo de sangramento. Outros estudos também trazem benefícios sobre o uso de anti-inflamatórios tradicionais no pós-operatórios de terceiros molares (MOORE; HERSCH, 2013; SILVA et al. 2021). Ademais, obtêm-se um

resultado maior e com poucos efeitos adversos quando há combinação de paracetamol com ibuprofeno (MOORE, R. A., 2015). Outros autores consideram incluir a nimesulida como alternativa para o ibuprofeno (SANTOS et al., 2021). Já para o manejo do edema, o autor recomenda um pano seco envolvendo bolsa de gelo ou de gel congelada nas primeiras 12 a 24 horas.

Quando se trata de pós-operatório de exodontias, há inúmeros estudos na literatura com o intuito de tentar buscar opções terapêuticas para torná-lo mais confortável ao paciente, geralmente associando novas formulações e técnicas ao tratamento já consolidado. Pode-se comentar o uso de acupuntura, o uso de fitoterápicos que exploram os produtos naturais (BRIGNARDELLO-PETERSEN, 2019; ISOLA et al., 2018).

No Brasil, há uma flora muito rica, o que faz com que haja diversas opções de produtos naturais que podem ser usados nas Práticas Integrativas e Complementares em Saúde (PICS) aliadas aos tratamentos clássicos.

#### **1.6 Práticas Integrativas e Complementares em Saúde (PICS)**

Segundo o Ministério da Saúde (2020), as Práticas Integrativas e Complementares em Saúde (PICS) são recursos terapêuticos coadjuvantes que podem estar presentes na prevenção, na recuperação e no tratamento paliativo de doenças. Elas foram institucionalizadas por meio da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS. O primeiro acesso a estes tratamentos costuma acontecer na atenção básica e a distribuição dos serviços de PICS neste nível de atenção chega a 78%. A atenção de média complexidade distribui 18% destes serviços e a atenção de alta complexidade, 4%. Atualmente, o SUS inclui 29 tratamentos gratuitos, incluindo fitoterapia, que já proporcionou 85 mil tratamentos fitoterápicos.

#### **1.7 Biodiversidade no Brasil**

Segundo o Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2022), o Brasil ocupa o lugar com maior biodiversidade do mundo tanto em fauna quanto em flora. Atualmente, de acordo com o Jardim Botânico do Rio de Janeiro (2022), são reconhecidas 50081 espécies da flora brasileira nativas, cultivadas e naturalizadas.

Interessante comentar que a Embrapa (2022) afirma que o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com aproximadamente 45 milhões de toneladas por ano e o maior volume é para o mercado consumidor interno.

#### **1.8 Coadjuvantes em Odontologia**

Usa-se produtos da natureza para satisfazer as necessidades básicas e até como medicamentos, desde os primórdios da antiguidade (GURIB-FAKIM, 2006; TRENDOWSKI, 2015). Pode-se citar o uso de plantas medicinais para fins terapêuticos pelos Neandertais há 50.000 anos (HARDY et al., 2012). Medicamentos à base de plantas e de frutos, derivados localmente são mais baratos e facilmente disponíveis - em especial para comunidades pobres. Ademais, pode haver menos efeitos adversos, principalmente pela evidência do uso empírico, popular ou tradicional, e já participarem naturalmente de dietas humanas e animais (WILLCOX, 2000; STEPEK, 2004).

Na Odontologia, menciona-se já há um tempo o uso coadjuvante de plantas, frutas e hortaliças devido suas propriedades farmacológicas. Exemplos delas são:

*agrião, alecrim, alfavaca, alho, amora, artemija, babosa, batata-doce, bardana, caju, calêndula, cambuí, camomila, cenoura, dormideira, erva-luiza, erva-escorpião, eucalipto, extremosa, figo, framboesa, fruta-pão, funcho, gelsêmico, gengibre, goiaba, guaco, guaçatonga, guando, guiná, hortelã, jabuticaba, jamelão, joá, jucá, labaca, limão, macelinha, malva, manga, melissa, morango, mulungu, nêspera, pau-brasil, picão, ratânia, rebenta-cavalo, romã, sabugueiro, sálvia, suína, tanchagem, tomate, tomilho, vedelia, zedoária (JUIZ; ALVES; BARROS, 2010, p. 137)*

As indicações e as substâncias são variadas. Há um estudo com uso preemptivo de *Passiflora incarnata* para manejo de ansiedade com resultados parciais positivos pelos pacientes em relação à redução de ansiedade e aceitação (PONTIN, 2019). Além dessas menções, pode-se citar a confecção de substituto caseiro de saliva pelo paciente ou familiar à base de camomila e semente de linhaça (MORALES-BOZO et al., 2017), os dentifrícios fluoretados com fitoterápicos (SREENIVASAN, 2021) e o uso do alho sobre o crescimento e as enzimas proteolíticas da bactéria *Porphyromonas gingivalis*, encontrada principalmente em periodontites, devido às propriedades antibacteriana, antifúngica e antiviral (BAKRI; DOUGLAS, 2005), a confecção de substituto caseiro de saliva pelo paciente ou familiar à base de camomila e semente de linhaça (MORALES-BOZO et al., 2017) e os dentifrícios fluoretados com fitoterápicos (SREENIVASAN, 2021).

## 1.9 Alimentos Funcionais

De acordo com Cândido e Campos (2005), os alimentos funcionais são todos os alimentos e bebidas que, consumidos cotidianamente, podem trazer benefícios fisiológicos específicos ao organismo por causa dos seus componentes. A portaria 398 de 30/04/99, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde no Brasil, define alimento funcional como: “todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos benéficos à saúde, devendo ser

seguro para consumo sem supervisão médica" (BRASIL, 1999). Diferentes espécies vegetais podem ser consideradas como alimentos funcionais na odontologia, a citar como exemplo, gengibre, alho, hortelã e alecrim (JUIZ; ALVES; BARROS, 2010). Outra fruta que tem sido mencionada atualmente na literatura científica é o abacaxi.

### 1.10 **Abacaxi**

O abacaxi é uma fruta tropical amplamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais como o Brasil (SANTIN; PINHEIRO, 2009), podendo ser consumida in natura ou processada em produtos alimentícios. Ele ocupa o terceiro lugar de produção de frutas tropicais, depois da banana e das frutas cítricas (MARTÍNEZ et al., 2012; ABU BAKAR et al., 2013). Até 2020, os três maiores produtores do fruto foram: Filipinas, com 2.702.55; Costa Rica, com 2.624.12; Brasil, com 2.455.69. (STATISTA, 2020). Ele é produzido principalmente em regiões tropicais pela condição climática e pela distribuição das chuvas (SHAMSUDIN; ZULKIFLI; KAMARUL ZAMAN, 2020). Este fruto apresenta boa quantidade de compostos fenólicos e conseqüentemente de antioxidantes (HOSSAIN; RAHMAN, 2011) e é uma fonte de bromelina (FONG; HING, 2019).

### 1.11 **Bromelina**

A bromelina (EC 3.4.22.4)<sup>1</sup> é um conjunto de enzimas proteolíticas ou proteases encontradas em tecidos como talo, fruto, folhas das plantas do abacaxi (*Ananas comosus* Merr.) e em outras espécies da família Bromeliaceae (ROWAN; BUTTLE, 1994; MAURER, 2001). Outra forma de obtenção da bromelina é o consumo de suplementação com cápsulas em pó disponíveis comercialmente sob diferentes concentrações medidas em miligramas.

Devido à baixa toxicidade, a bromelina é considerada uma ferramenta potencial para modular diferentes estados e doenças inflamatórias: adjuvante na quimioterapia (reduz os efeitos colaterais dos fármacos, melhorando a qualidade de vida); adjuvante para radioterapia (reduz a inflamação e o edema); adjuvante no pós-operatório cirúrgico (reduz edema e melhora a cicatrização); adjuvante para prevenir linfedema, reduzindo a congestão linfática, a viscosidade do exsudato e estimulação de fagocitose pelos leucócitos (MAURER, 2001).

Embora sua principal importância econômica esteja relacionada, principalmente, às propriedades digestivas de proteínas da dieta devido à atividade proteolítica (PIZA, I. M T et al., 2002; GONZÁLEZ-RÁBADE et al., 2011), é importante destacar que, além de melhorar a

---

<sup>1</sup> Nomenclatura internacional para Bromelina

capacidade digestiva, a literatura relata diferentes propriedades biológicas relevantes na exodontia e em atividades anti-inflamatórias, anticoagulantes, anti-metastáticos, imunomodulatórios e antibióticas (MAURER, 2001; ORSINI, 2006). Há também um estudo que levanta a possibilidade da bromelina ter ação contra helmintos (STEPEK et al., 2004) e dois estudos que relacionam as propriedades da bromelina com desfechos positivos para casos de COVID-19, bem como incentivam mais estudos com a enzima e a doença (KRITIS et al., 2020; AKHTER et al., 2021). A figura abaixo demonstra visualmente as suas principais propriedades.



Figura 3 – Principais propriedades da bromelina encontradas na literatura. Fonte: Chakraborty A. J. et al., 2021

Na Odontologia, uma revisão sistemática recente demonstrou evidências contundentes que a bromelina pode ser efetiva para o controle de alguns parâmetros inflamatórios com repercussão clínica no pós-operatório de exodontias, como dor, edema e trismo (SOUZA et al., 2019). Parâmetros comuns de acordo com Hupp (2021). Este estudo é uma revisão sistemática, que selecionou estudos com a bromelina encapsulada em diferentes concentrações (de 40 a 250 mg), por tempos de acompanhamentos pelos pesquisadores diferentes e avaliou os seus desfechos para os parâmetros mencionados. Todos os estudos

utilizavam apenas a bromelina encapsulada, o que despertou curiosidade sobre o potencial do uso de frutos de abacaxi in natura de diferentes variedades na exodontia.

Gorecki e colaboradores (2018) avaliaram o efeito da suplementação com cápsulas com pó concentrado de sucos de diferentes frutas, entre elas do abacaxi (JuicePlus p®) sobre a morbidade pós operatória e qualidade de vida de pacientes submetidos à cirurgia de terceiro molar. A suplementação durante 10 semanas prévias e durante a primeira semana do pós-operatório melhorou a qualidade de vida e reduziu a morbidade e complicações do pós-operatório. Estes autores relacionaram o efeito da suplementação com o aumento (cerca de 10 vezes) de micronutrientes, especificamente, a concentração sérica de vitamina C, alfa-tocoferol, beta-caroteno (Gorecki et al, 2018), reconhecidos antioxidantes não enzimáticos. Hossain e Rahman (2011) demonstraram atividade antioxidante *in vitro* de extratos metanólico, etilacetato e aquoso, nesta ordem de potência, de abacaxis disponíveis no mercado de Bangladesh. Até onde se sabe, não há trabalhos avaliando esta atividade em variedades disponíveis no RS. De qualquer forma, pode-se inferir que, além da atividade proteolítica relacionada à bromelina, outros compostos e suas diferentes propriedades, como a antioxidante, podem contribuir para o efeito final no pós-operatório. Neste sentido, o uso de frutas e seus sucos in natura, podem levar a efeitos multialvos (“multi-target”).

A denominação "bromelina" foi originalmente aplicada a qualquer protease de qualquer planta pertencente à família *Bromeliaceae* (ROWAN; BUTTLE, 1994). Maurer (2001) também pontua que se trata de cisteína-proteinasas, como a papaína.

Segundo Nelson e Cox (2019), a maioria das enzimas são proteínas que têm função catalítica. A reação catalítica acontece confinada em um bolsão da enzima, denominado sítio ativo, e age sobre a molécula que se liga ao sítio ativo, denominada substrato. Elas apresentam diversas funções no organismo, incluindo a função protease, de clivagem hidrolítica de ligações peptídicas. Elas têm seu pH ótimo próximo ao pH do ambiente onde a enzima costuma ser encontrada e são divididas de acordo com o mecanismo catalítico.

A literatura científica menciona que o potencial terapêutico da bromelina se deve às suas propriedades bioquímicas e farmacológicas, principalmente por ser proteinase e formar uma glicoproteína que se liga a materiais insolúveis, como minerais, pigmentos coloridos, inibidores de proteases, ácidos orgânicos e solventes orgânicos (RATHNAVELU et al., 2016) em uma faixa de pH de 4,5 a 9,5 (HALE et al., 2005).

## 1.12 Justificativa

A escolha da bromelina se justifica pelo abacaxi ser uma fruta presente em regiões tropicais e subtropicais, como o Brasil, e amplamente produzida e comercializada no Rio Grande do Sul, o que favorece a produção agrícola Brasileira e local e a dieta da população brasileira. Este trabalho visa embasar um estudo clínico experimental futuro para avaliar o efeito anti-inflamatório de variedades de suco de abacaxi, comparando com grupo de bromelina em cápsula no controle pós-operatório cirúrgico de terceiros molares, o que pode contribuir juntamente para criar mais uma alternativa de alimento funcional no pós-operatório de exodontia de terceiros molares acessível financeiramente.

## **2 OBJETIVOS**

Este estudo tem como objetivo avaliar a quantidade de proteínas e a atividade proteolítica de extratos de polpa de duas diferentes variedades de abacaxi, especificamente Smooth Cayenne e Pérola, e compará-las com a atividade proteolítica de suco industrializado de uma marca comercial do Rio Grande do Sul e amplamente disponível.

### **2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Extrair o suco da polpa de 4 abacaxis do cultivar Smooth Cayenne;
- Extrair o suco da polpa de 4 abacaxis do cultivar Pérola;
- Avaliar a quantidade de proteína da polpa destes dois cultivares de abacaxi;
- Avaliar a atividade proteolítica da polpa destes dois cultivares de abacaxi;
- Avaliar a quantidade de proteína de um tipo de suco 100%, cujo sabor é abacaxi;
- Avaliar a atividade proteolítica de um tipo de suco 100%, cujo sabor é abacaxi;
- Comparar a quantidade de proteína e a atividade proteolítica entre os três grupos: os sucos in natura dos dois cultivares e o suco industrializado.

## **2 MÉTODO DE PESQUISA**

### **2.1 Desenho do Estudo**

Trata-se de um estudo observacional descritivo transversal com o intuito de avaliar a quantidade de proteínas e a atividade proteolítica de dois cultivares de abacaxi, Smooth Cayenne e Pérola, e de um suco industrializado de concentração única - 100% suco.

Foram testadas as extrações a frio, uma vez que, popularmente, costuma-se preparar suco da polpa para consumo.

## 2.2 Local do Estudo

Os experimentos foram realizados no Laboratório Frances Oldham Kelsey - DEFARMAC do Departamento de Farmacologia do ICBS da UFRGS.

## 2.3 Hipótese

A hipótese do trabalho é que as variedades de abacaxi disponíveis comercialmente apresentam atividade proteolítica. Acredita-se, juntamente, que a atividade proteolítica presente no suco 100% seja semelhante às variedades de abacaxi.

## 2.4 Coleta de dados

A coleta de dados consistiu na obtenção e preparo das amostras, avaliação da atividade enzimática, teor de proteínas e análise estatística dos resultados.

## 2.5 Material Vegetal

Utilizou-se dois cultivares de abacaxi frequentemente encontrados no comércio da região do Rio Grande do Sul: Smooth Cayenne e Pérola. Quatro abacaxis de cada cultivar foram utilizados, totalizando oito materiais vegetais. Pode-se observar os quatro cultivares Smooth Cayenne na figura abaixo. Todos os frutos estavam no estágio de maturação adequado para o consumo e sua aquisição ocorreu na feira Modelo da Epatur em agosto de 2022 e na Ceasa/RS em setembro de 2022 para os frutos Pérola e Smooth Cayenne respectivamente. Os primeiros frutos foram provenientes de Torres, no Rio Grande do Sul, e os últimos, de Canápolis, em Minas Gerais.

Após a higienização dos frutos de acordo com as recomendações de higiene para consumo humano disponíveis na cartilha sobre água sanitária lançada pelo Conselho Federal de Química (2020), eles foram separados em polpa e em casca. As cascas foram descartadas e as polpas foram cortadas em cubos de aproximadamente 1cm<sup>3</sup> e armazenadas em potes com identificação do abacaxi (n de 1 a 4) e do cultivar e acondicionados em temperatura de -5°C até a execução dos experimentos - na primeira semana de setembro de 2022.



Figura 4 – Fotografia dos cultivares Smooth Cayenne. Fonte: da autora, 2022

## 2.6 Material Industrial

Foi utilizado 1 suco de caixinha sabor abacaxi sendo eles 100% suco de uma marca comercial do Rio Grande do Sul e amplamente disponível para fazer uma comparação da atividade proteolítica com as amostras vegetais. Abaixo, torna-se disponível uma ilustração com o rótulo do produto.



Figura 5 – Rótulo do material industrial. Fonte: da autora, 2022

## 2.7 Preparação dos Reagentes

### 2.7.1 Fosfato de Sódio Dibásico<sup>2</sup>

Foi utilizada a fórmula para obtenção de gramas: PM (peso molecular) x M (massa) x L (volume em litro) = G (gramas) e acrescentou-se os valores  $268,07 \times 0,1 \times 0,25 = 6,701$ . Utilizou-se 6,707 gramas do pó fosfato de sódio dibásico (CAQ Casa da Química Ind. e Com. Ltda, São Paulo, Brasil), que foi adicionado em 250mL de água destilada.

### 2.7.2 Tampão Fosfato de Sódio Monobásico Monohidratado P.A. - A.C.S.:<sup>3</sup>

Para fazer o tampão fosfato de sódio, foi utilizada a fórmula para obtenção de gramas mencionada anteriormente, com os valores  $119,98 \times 0,1 \times 0,25$ , obtendo o valor 2,99 gramas. Utilizou-se 2,99 gramas do pó (Synth do LABSYNTH Produtos para Laboratório Ltda, Diadema, Brasil) que foi adicionado em 250mL de água destilada. O pH foi ajustado em 7,5 adicionando o tampão dibásico no tampão monobásico.

### 2.7.3 Tampão TRIS<sup>4</sup>:

Para fazer o tampão TRIS foi utilizada a fórmula para obtenção de gramas também, incluindo os valores:  $121,13 \times 0,2 \times 0,25$ . O resultado obtido, 6,05 gramas. Utilizou-se 6,05 gramas do pó de TRIS (Hidroximetil) Aminometano P.A. (NEON Comercial Ltda, Suzano, Brasil), que foi adicionado em 250 mL de água destilada. Para que o pH chegasse em 8, foi acrescentado HCl (Reagen da Quimibrás Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, Brasil) na solução.

### 2.7.4 Reagente BRADFORD - G250 (0,06% 60 ng/100 mL)<sup>5</sup>:

Para fazer o reagente Bradford foi necessário pesar 0,025 gramas (ou 25mg) do reagente em pó Azul de Comassie (Êxodo Científica da empresa LABIMPORT, Sumaré, Brasil) e adicioná-lo em 12,5mL de etanol 95%. Em seguida, foi acrescentado 25mL de ácido fosfórico 85% (NEON Comercial Ltda, Suzano, Brasil), completado com 250mL de água destilada, agitado por 30 minutos e filtrado para o uso.

### 2.7.5 Albumina BSA - Albumina Sérica Bovina - 1mg/mL<sup>6</sup>:

<sup>2</sup> Substância utilizada para regular o pH do tampão fosfato de sódio monobásico.

<sup>3</sup> Substância utilizada para a realização do preparo da proteína Albumina, que é a proteína substrato da bromelina, e como grupo controle.

<sup>4</sup> Substância utilizada para diluir a proteína Tripsina, que é o controle positivo.

<sup>5</sup> Reagente utilizado como corante. Ele foi utilizado no método de detecção de quantidade de proteínas.

<sup>6</sup> Proteína utilizada para realizar a curva padrão de albumina, que servirá como base para os cálculos dos resultados.

Foi pesado 20mg de albumina (InLab Confiança, São Paulo, Brasil) que se armazena na geladeira pelo fabricante recomendar armazenamento em temperatura de 2 a 8°C, e adicionado em 20mL de água destilada. Esperou-se a dissolução para a diluição seriada em 10 vezes: foi retirado 100 microlitros dessa solução e acrescentado 900 microlitros de água destilada, resultando na concentração de em 1mg/mL. Por fim, foram feitas alíquotas e congeladas para demais usos.

## 2.8 Preparação do suco da polpa dos abacaxis

A preparação do suco da polpa do abacaxi foi realizada utilizando a proporção de 1:1 entre a quantidade de abacaxi e o volume de reagente. Para a preparação do suco in natura, foi pesado 25 g de polpa descongelada e adicionado a 24,75 mL de tampão fosfato e 1% mL (250 microlitros) de Triton-X<sup>7</sup>, totalizando 25 mL de solução. O Triton ajuda a romper a parede da célula vegetal para que seja extraída a proteína tipo bromelina. A mistura foi agitada por 2 minutos em liquidificador doméstico. Foi repetido o preparo para cada abacaxi de cada cultivar, totalizando 8 sucos separados em beckeres individuais e identificados.

## 2.9 Quantificação de Proteínas

O teor de proteínas foi quantificado através do método do azul de Comassie (Bradford, 1976). Este experimento foi realizado em seis etapas.

A primeira etapa foi o preparo dos reagentes a serem utilizadas: tampão fosfato de sódio, tampão TRIS, reagente Bradford - G250, albumina - todos mencionados anteriormente.

A segunda etapa consistiu no preparo da albumina, que é a proteína a ser consumida pela bromelina (ou seja, o substrato), misturando de 0,1 grama de albumina bovina em 100mL de tampão fosfato de sódio e da tripsina (INLAB Confiança, São Paulo, Brasil), que é a enzima proteolítica utilizada como controle positivo, misturando 0,5 miligramas de tripsina por mL de tampão TRIS para o controle.

A terceira etapa consistiu no preparo do suco da polpa do abacaxi, conforme descrito no tópico 2.6.

A quarta etapa consistiu no preparo das amostras em microtubos de ensaio. Esperou-se a decantação de cada recipiente com suco, retirou-se o sobrenadante, que é a solução menos sólida, em outras palavras, a que boia à superfície, para que não fosse recolhido restos de

---

<sup>7</sup> Solução que atua na lise da parede celular. Foi utilizado para expor o conteúdo interno da célula vegetal dos sucos de polpa de abacaxi.

célula vegetal e colocados em microtubos de ensaio. Os microtubos de ensaio foram centrifugados a 9.000 rpm por 10 minutos a 4°C.

A quinta etapa consistiu na preparação da microplaca de 96 poços. Em primeiro momento, houve a preparação da curva de albumina: pesou-se 20mg de albumina e diluiu-se 1mL de água destilada para atingir a concentração final de 20mg/mL. Depois, pipetou-se 10 microlitros dessa solução em 10mL de água destilada. A nova solução teve a concentração de 20 microgramas/mL, que foi a solução mãe da curva. Os valores para a curva foram os definidos por Bradford, que estão na tabela abaixo.

**Tabela 1.** Valores da Curva Padrão de Albumina para cálculo de concentração proteica.

Concentração de albumina em µg/mL	Volume da solução mãe ( µL)	Volume de água (µL)	Volume de Bradford
Branco (representa a água)	0	100	150
0,2	1	99	150
0,4	2	98	150
1	5	95	150
2	10	90	150
4	20	80	150
6	30	70	150
8	40	60	150
10	50	50	150
15	75	25	150
20	100	0	150

Fonte: adaptada pelo grupo de pesquisa, 2022

E foram adaptados para a pesquisa desta forma:

**Tabela 2 .** Valores da curva do suco com a polpa.

	SUCO	ÁGUA	ALBUMINA	BRADFORD
<b>A</b>	100	0	100	100
<b>B</b>	50	50	100	100
<b>C</b>	10	90	100	100

Fonte: do grupo de pesquisa, 2022

Nota: Os valores estão expressos em  $\mu\text{L}$  de cada ingrediente.

**Tabela 3.** Valores da curva utilizando tripsina como controle positivo.

	<b>TRIPSINA</b>	<b>ÁGUA</b>	<b>ALBUMINA</b>	<b>BRADFORD</b>
<b>A</b>	100	0	100	100
<b>B</b>	50	50	100	100
<b>C</b>	10	90	100	100

Os valores estão expressos em  $\mu\text{L}$  de cada ingrediente. Fonte: da Professora Co-orientadora, 2022. Fonte: do grupo de pesquisa, 2022

**Tabela 4.** Valores da curva do controle positivo.

	<b>SUCO</b>	<b>ÁGUA</b>	<b>BRADFORD</b>
<b>A</b>	100	100	100
<b>B</b>	50	150	100
<b>C</b>	10	190	100

Os valores estão expressos em  $\mu\text{L}$  de cada ingrediente. Fonte: do grupo de pesquisa, 2022

Em seguida, fora pipetadas as soluções nas microplacas e por último o corante Bradford com 100  $\mu\text{L}$ . Todas as amostras foram pipetadas em triplicata e a microplaca foi organizada como mostra a tabela abaixo:

**Tabela 5.** Organização da microplaca de 96 poços.

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>A</b>	B	B	B	10	10	10	10 S1	10 S1	10 S1	50 Trip	50 Trip	50 Trip
<b>B</b>	0,2	0,2	0,2	15	15	15	100 S3	100 S3	100 S3	10 Trip	10 Trip	10 Trip
<b>C</b>	0,4	0,4	0,4	20	20	20	50 S3	50 S3	50 S3			
<b>D</b>	1	1	1	100 S2	100 S2	100 S2	10 S3	10 S3	10 S3			
<b>E</b>	2	2	2	50 S2	50 S2	50 S2	100 S4	100 S4	100 S4			
<b>F</b>	4	4	4	10 S2	10 S2	10 S2	50 S4	50 S4	50 S4			

<b>G</b>	6	6	6	100	100	100	10 S4	10 S4	10 S4			
				S1	S1	S1						
<b>H</b>	8	8	8	50	50	50	100	100	100			
				S1	S1	S1	Trip	Trip	Trip			

Os valores estão expressos em  $\mu\text{L}$  de cada ingrediente. B = branco/  $\text{H}_2\text{O}$ ; S1 = suco 1; S2 = suco 2; S3 = suco 3; S4 = suco 4; Trip = tripsina. Fonte: do grupo de pesquisa, 2022

A sexta etapa consistiu na leitura da microplaca através do espectrofotômetro (GloMax® Discover System, Promega Corporation, EUA). Para a leitura da microplaca, foi utilizado o comprimento de onda de 600 nanômetros.

### 2.10 Atividade Proteolítica

A atividade proteolítica foi determinada segundo o método descrito por Kunitz (1974) modificado por Walter (1984). A proteína usada foi albumina bovina 2 g<sup>8</sup> diluída em 100 mL 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 “ $\lambda$ ” = 280 nm.

De uma forma mais detalhada, o protocolo do procedimento realizado será descrito a seguir.

Em primeiro lugar, foi organizada a microplaca da seguinte maneira:

**Tabela 6.** Organização da microplaca de 96 poços deste experimento.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	S1 C	S1 C	S1 C	IND	IND	IND	Trip 4	Trip 4	Trip 4			
<b>B</b>	S2 C	S2 C	S2 C	CT 1	CT 1	CT 1						
<b>C</b>	S3 C	S3 C	S3 C	CT 2	CT 2	CT 2						
<b>D</b>	S4 C	S4 C	S4 C	CT 3	CT 3	CT 3						
<b>E</b>	S1 P	S1 P	S1 P	CT 4	CT 4	CT 4						
<b>F</b>	S2 P	S2 P	S2 P	Trip 1	Trip 1	Trip 1						
<b>G</b>	S3 P	S3 P	S3 P	Trip	Trip	Trip						

<sup>8</sup> Proteína utilizada como substrato das proteínas tipo bromelina. A diluição apresenta valores diferentes da Albumina utilizada na curva padrão.

				2	2	2						
<b>H</b>	S4 P	S4 P	S4 P	Trip 3	Trip 3	Trip 3						

Em todos os poços, foi pipetado 300µL de cada amostra. S1 = suco 1; S2 = suco 2; S3 = suco 3; S4 = suco 4; C = Cayenne; P = pérola; IND = industrializado; CT = controle negativo, que é tampão fosfato de sódio; Trip = tripsina, que é controle positivo. Fonte: do grupo de pesquisa, 2022

Em segundo lugar, foram preparados os microtubos de ensaio com as amostras: 250 microlitros da amostra e 500 microlitros de albumina já diluída em tampão fosfato. As amostras ficaram em banho seco a 37°C por 1 hora. Após este período, foi pipetado 500 microlitros de TCA 4% (Ácido Tricloro Acético, empresa Sigma Aldrich, San Luis, Missouri, EUA) em cada microtubo de ensaio para parar a reação de consumo de proteínas pelas proteínas. Posteriormente, os microtubos de ensaio foram colocados a 4°C por 15 minutos e, em seguida, centrifugados por 15 minutos a 4°C em 9.000 rpm. Na microplaca, 300 microlitros de cada amostra foram pipetados em triplicata. A leitura de absorbância realizada pelo espectrofotômetro (GloMax® Discover System, Promega Corporation, EUA) no comprimento de onda de 280 nm.

### 2.11 Análise Estatística

Os dados obtidos foram, primeiramente, submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Confirmada a distribuição normal dos valores, a análise estatística foi realizada através do teste de ANOVA de uma via, seguida de teste de múltiplas comparações de Dunnett. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão.

## 3 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

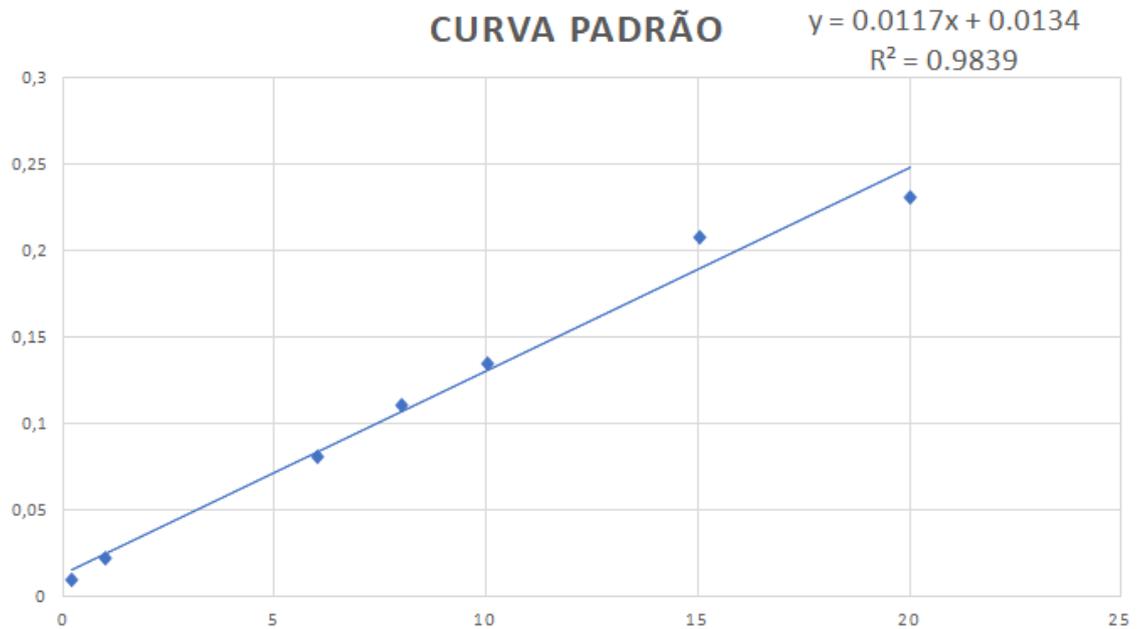
Trata-se de um estudo in vitro com material vegetal amplamente consumido e comercializado pelo Brasil, assim sem necessidade de aprovação pelo comitê de ética.

## 4 RESULTADOS

Para cada método, os resultados obtidos foram registrados e organizados em gráficos.

### 4.1 Curva Padrão da Albumina

O gráfico abaixo mostra a curva padrão de albumina que foi realizada para o experimento. O eixo x representa a absorbância em 600nm e o eixo y representa a concentração de albumina em µg/mL em cada tubo.

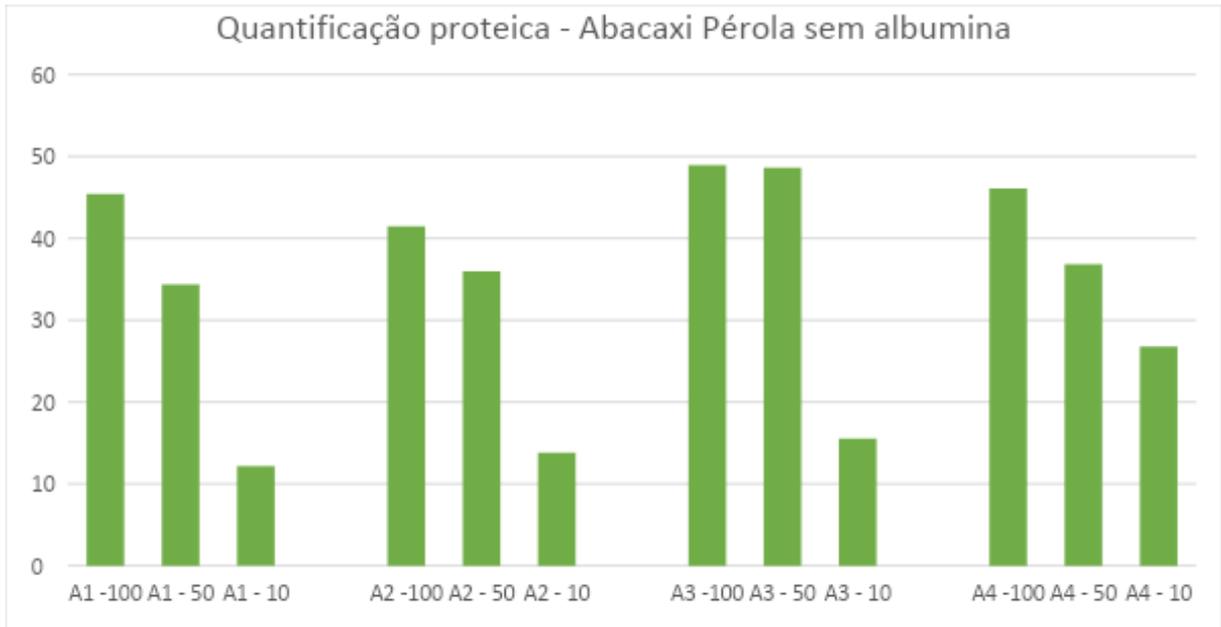
**Gráfico 1.** Curva Padrão da Albumina.

Ao lado de "Curva Padrão" está a fórmula matemática denominada "Equação da Reta". Os valores foram utilizados no cálculo para a quantificação proteica.

#### 4.2 Quantificação proteica dos abacaxis Pérola sem albumina

O gráfico abaixo representa a quantidade de proteína em cada grupo do cultivar Pérola nas diferentes concentrações realizadas no experimento: 100, 50 e 10. O eixo x representa as concentrações dos diferentes grupos e o eixo y, a quantidade de proteínas em  $\mu\text{g/mL}$ .

**Gráfico 2.** Quantificação proteica dos abacaxis Pérola sem albumina.

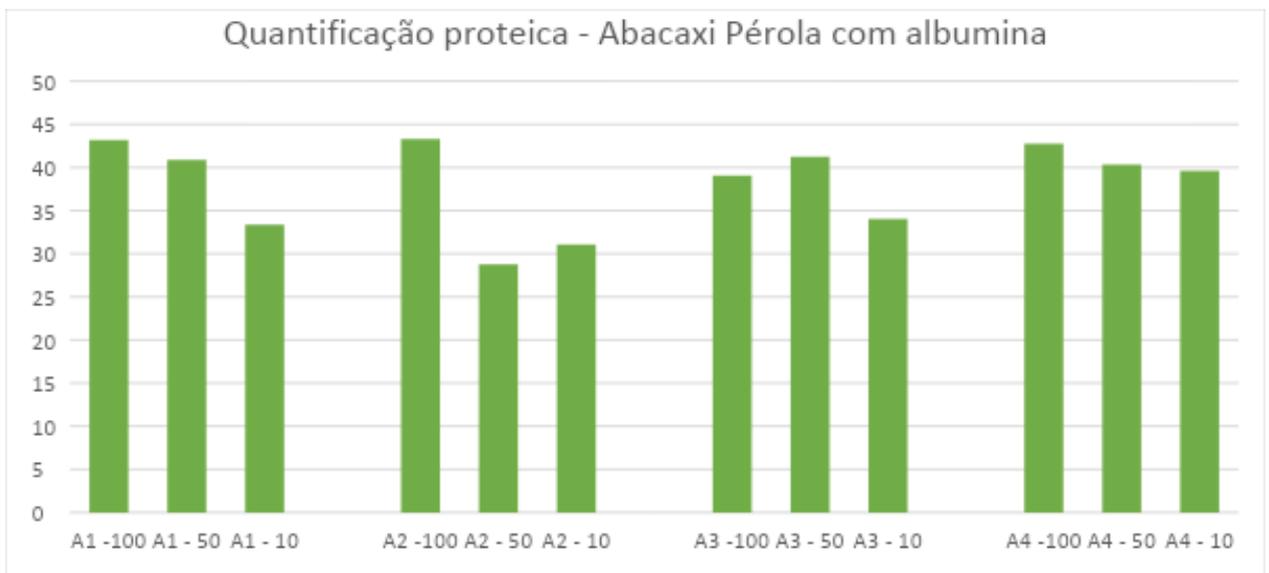


A1: Suco 1; A2: Suco 2; A3: Suco 3; A4: Suco 4.

#### 4.3 Quantificação proteica dos abacaxis Pérola com albumina

O gráfico abaixo representa a quantidade de proteína em cada grupo do cultivar Pérola nas diferentes concentrações realizadas no experimento - 100, 50 e 10 - com a proteína para proteólise - albumina. O eixo x representa as concentrações dos diferentes grupos e o eixo y, a quantidade de proteínas em µg/mL.

**Gráfico 3.** Quantificação proteica dos abacaxis Pérola com albumina.

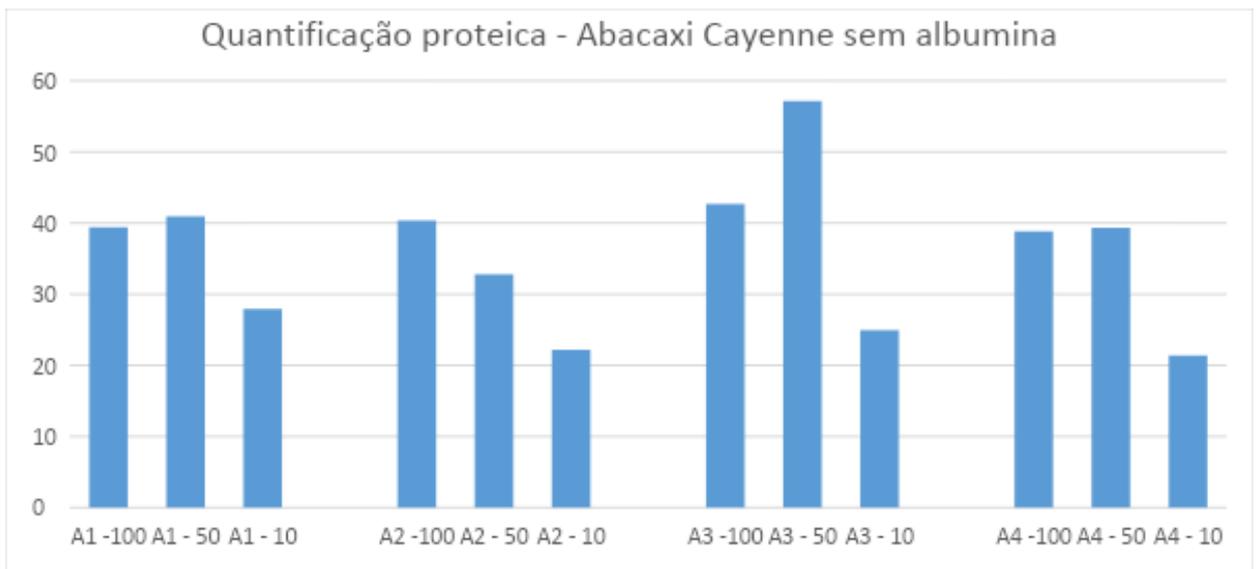


A1: Suco 1; A2: Suco 2; A3: Suco 3; A4: Suco 4.

#### 4.4 Quantificação proteica do abacaxi Smooth Cayenne sem albumina

O gráfico abaixo representa a quantidade de proteína em cada grupo do cultivar Smooth Cayenne nas diferentes concentrações realizadas no experimento: 100, 50 e 10. O eixo x representa as concentrações dos diferentes grupos e o eixo y, a quantidade de proteínas em  $\mu\text{g/mL}$ .

**Gráfico 4.** Quantificação proteica do abacaxi Smooth Cayenne sem albumina.

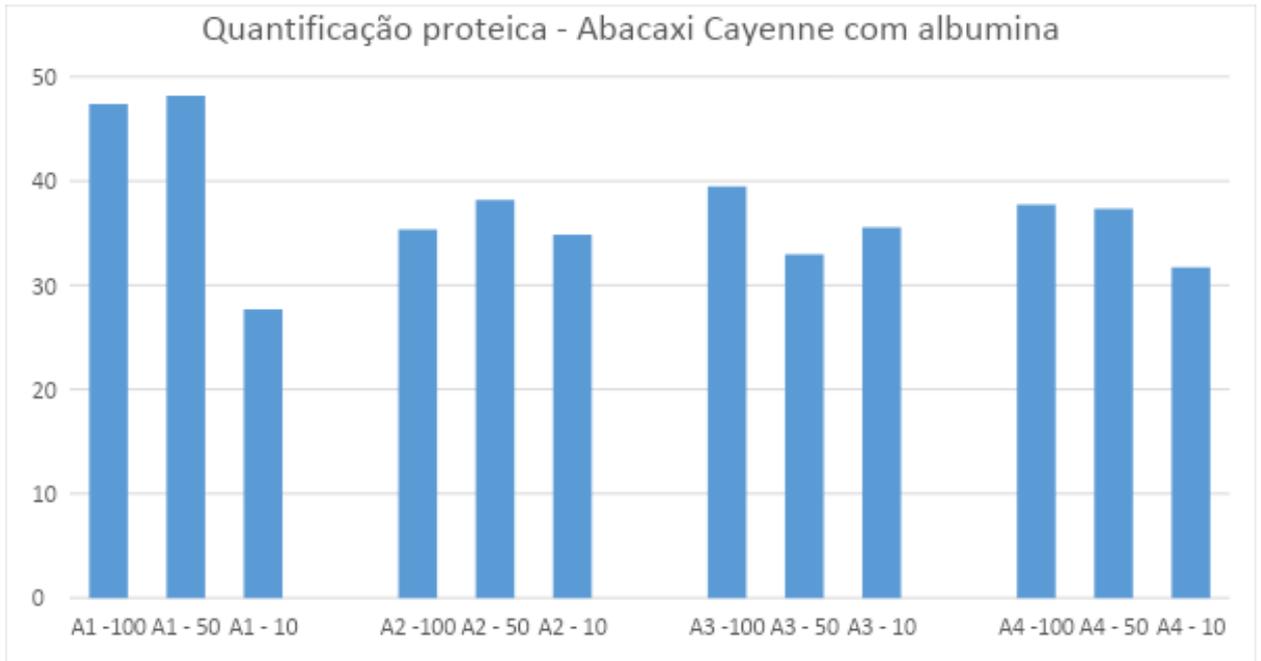


A1: Suco 1; A2: Suco 2; A3: Suco 3; A4: Suco 4.

#### 4.5 Quantificação proteica do abacaxi Smooth Cayenne com albumina

O gráfico abaixo representa a quantidade de proteína em cada grupo do cultivar Smooth Cayenne nas diferentes concentrações realizadas no experimento - 100, 50 e 10 - com a proteína para proteólise - albumina. O eixo x representa as concentrações dos diferentes grupos e o eixo y, a quantidade de proteínas em  $\mu\text{g/mL}$ .

**Gráfico 5.** Quantificação proteica do abacaxi Smooth Cayenne com albumina.

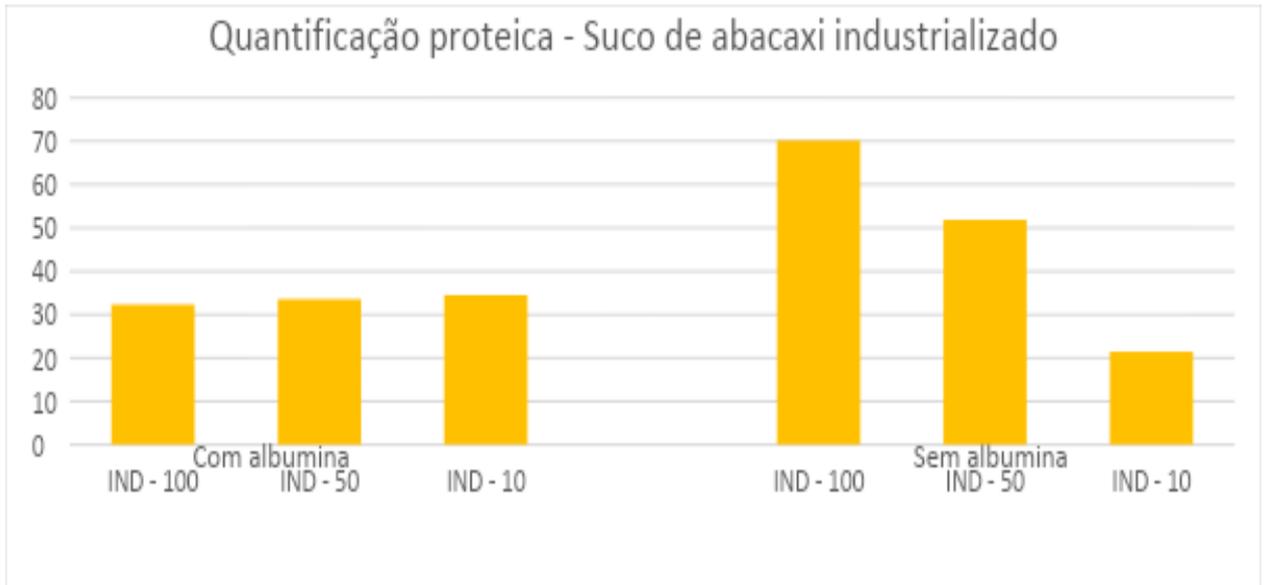


A1: Suco 1; A2: Suco 2; A3: Suco 3; A4: Suco 4.

#### 4.6 Quantificação proteica do suco industrializado

O gráfico abaixo mostra a quantidade de proteínas do suco industrializado nas concentrações realizadas no experimento: 100, 50 e 10 com a proteína para a proteólise e também sem. As três colunas da esquerda representam a quantidade de proteínas com a proteína para a proteólise, a albumina. E as três colunas da direita representam a quantidade de proteína sem a proteína substrato. O eixo x representa as concentrações dos diferentes grupos e o eixo y, a quantidade de proteínas em µg/mL.

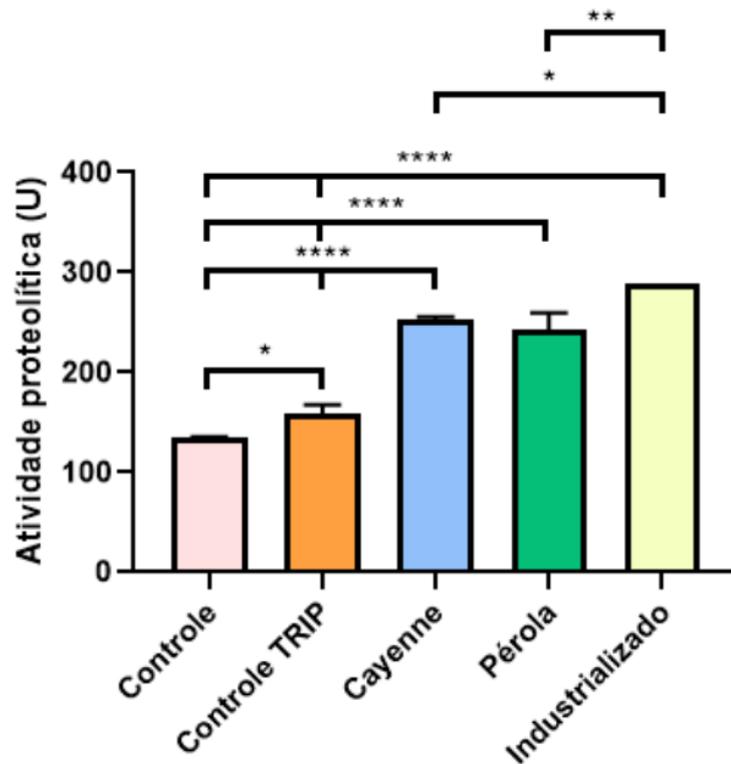
**Gráfico 6.** Quantificação proteica do suco de abacaxi industrializado com e sem albumina.



#### 4.7 Comparação da atividade proteolítica entre os grupos analisados

O gráfico abaixo mostra a comparação da atividade proteolítica entre os grupos analisados no experimento. O gráfico apresenta barra com asteriscos. Os asteriscos indicam diferença estatisticamente significativa, sendo maior quando há mais asteriscos. A Tripsina, controle positivo, apresentou diferença estatística significativa quando comparada ao controle negativo. As três amostras de suco de abacaxi apresentaram diferença significativa quando comparadas a ambos os grupos controle. Os grupos dos cultivares Smooth Cayenne e Pérola não foram diferentes entre si, porém apresentaram atividade proteolítica diminuída em relação ao grupo suco industrializado, que apresentou maior atividade em relação a todos os outros grupos experimentais.

**Gráfico 7.** Comparação da atividade proteolítica entre os grupos analisados. \*\*\*\* =  $P < 0,0001$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; \* =  $P < 0,05$ .



## 5 DISCUSSÃO

Sobre a padronização do método, é interessante comentar que, de acordo com Bradford (1976), a curva de albumina serve como base para a quantificação proteica das amostras a serem quantificadas e precisa formar uma reta linear através da equação matemática da reta cujos valores devem estar entre 0,9 a 1 em  $R^2$ . A curva padrão de albumina deste estudo teve como resultado 0,98, o que demonstra linearidade.

Em relação aos gráficos de quantificação proteica, pode-se observar que nos experimentos sem adição da proteína substrato das enzimas proteolíticas, albumina, há uma tendência, em geral, a uma curva de concentração, mostrando que na maior concentração de sucos há uma maior quantificação de proteínas. Como descrito acima, as enzimas, que são proteínas de catalisam reações, podem ter sido detectadas pelo método de Bradford.

Quando os sucos foram incubados com a proteína substrato das enzimas proteolíticas, albumina, foi demonstrado um interessante padrão de resposta. Por exemplo, na maior concentração de suco, a quantificação de proteínas foi menor do que as amostras sem albumina, demonstrando um efeito notável, possivelmente de proteólise dos compostos dos sucos de abacaxi. Estes dados abrem a possibilidade de diferentes investigações.

Estes dados demonstraram a presença de proteínas nos sucos, tanto os preparados de frutas imediatamente antes do ensaio clínico, quanto o disponível comercialmente, podendo ser considerada como evidência da presença de enzimas, uma das classes que fazem parte do grupo das proteínas.

A atividade proteolítica da bromelina apresentou diferença estatisticamente significativa. Pode-se observar no Gráfico 7 que exceto os cultivares não apresentaram significância entre si. As barras com mais asteriscos, que foram mais significativos, foram: a comparação entre os controles, a comparação entre os controles e os sucos in natura e a comparação entre todos os grupos. A diferença entre os grupos controle foi esperada, visto que a tripsina teve maior atividade proteolítica que o controle negativo por ser uma protease. A significância foi menor entre os sucos in natura e o suco industrializado, apresentando único asterisco.

De acordo com Abílio et al. (2009), as polpas dos abacaxis híbridos (Emepa-01, MD-2 e Imperial) apresentam maior teor e quantidade de proteínas que os abacaxis de cultivares tradicionais, com destaque para o cultivar Imperial. As polpas dos abacaxis tradicionais Pérola e as polpas dos cultivares Smooth Cayenne não apresentaram diferença estatística entre si, o que se assemelha com os dados obtidos nesta pesquisa.

Para melhor entendimento sobre o suco comercial industrializado, o grupo de pesquisa contatou a empresa para elucidar dúvidas sobre a produção do referido suco, por exemplo, se para composição seria apenas a polpa ou se a casca também se utilizava e quais os cultivares se utilizam para obter o produto. A empresa afirmou que se utiliza apenas a polpa e não tem informações sobre os cultivares utilizados, justificando que a empresa encomenda produtos de diferentes regiões do Brasil e que há critérios específicos sobre as propriedades organolépticas para os fornecedores. Com isto, não é possível afirmar que a atividade proteolítica deste suco industrializado aqui demonstrada está relacionada à composição dos cultivares in natura.

Segundo o Guia Alimentar da População Brasileira (BRASIL, 2014), há categorias para classificação dos alimentos: alimentos in natura, alimentos minimamente processados, alimentos processados e alimentos ultraprocessados. Os alimentos mais recomendados pelo Guia na base da dieta humana são os in natura e os minimamente processados.

O suco industrializado apresenta aroma de abacaxi nos ingredientes da sua composição. Segundo o Guia Alimentar da População Brasileira mencionado no parágrafo anterior, sucos integrais se enquadram em alimentos minimamente processados. Porém quando há aditivos alimentares, estes sucos integrais tendem a ser alimentos ultraprocessados.

Como mencionado no item 1.10, o abacaxi é uma fruta rica em antioxidantes, que são importantes para a manutenção da saúde humana (CERQUEIRA; MEDEIROS, 2007; PANZIERA et al., 2011), bem como apresenta amplo consumo no Brasil. Ainda de acordo com o Guia Alimentar da População Brasileira, o primeiro dos cinco princípios que orientaram a sua elaboração, diz respeito à alimentação contemplar não só os nutrientes do produto como também dimensões culturais e sociais das práticas alimentares. Diante disto, a confecção do suco com o cultivar in natura se justifica por contemplar o conceito "Alimentação" em seu sentido mais ampliado e por se pertencer a uma categoria de alimentos recomendadas pelo Guia Brasileiro.

Ademais, se procurar por cápsulas de bromelina no Google Shopping, os preços variam entre 60 reais, podendo chegar a 200 reais. Já a fruta, rica em outros nutrientes, durante o período apropriado, é possível encontrar 3 abacaxis Pérola por 10 reais e até 4 abacaxis Pérola por 15 reais e 4 abacaxis Smooth Cayenne por 28 reais. Isto demonstra que o consumo do suco in natura pode ser uma vantagem financeira e de micronutrientes da dieta humana.

## **6 CONCLUSÃO**

De acordo com o estudo, pode-se perceber que todos os sucos de abacaxi apresentaram uma tendência a formação de uma curva de proteínas nas diferentes concentrações e boa atividade proteolítica in vitro semelhante à bromelina. Observou-se juntamente que os cultivares in natura não apresentaram diferença estatística de atividade proteolítica entre si e que o suco industrializado apresentou maior atividade proteolítica. No entanto, para avaliar a atividade proteolítica dos sucos no manejo da inflamação em cirurgias orais, mais estudos laboratoriais com a bromelina in natura e com o suco industrializado devem ser realizados.

## **7 PERSPECTIVAS FUTURAS**

Os pesquisadores têm como objetivo aumentar o número de experimentos, ampliando as concentrações testadas e ainda avaliar as atividades antioxidantes e anti-inflamatórias in vitro dos cultivares de abacaxi e do suco integral disponível comercialmente.

## REFERÊNCIAS

ABILIO, G. M. F. et al. Extração, atividade da bromelina e análise de alguns parâmetros químicos em cultivares de abacaxi. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1117-1121, dec. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452009000400027&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452009000400027&lng=en&nrm=iso)>.

ABU BAKAR, B. et al. RIPENESS LEVEL CLASSIFICATION FOR PINEAPPLE USING RGB AND HSI COLOUR MAPS. **Journal of Theoretical and Applied Information Technology**, v. 57, n. 3, p. 587-593, nov. 2013. Disponível em: <<http://www.jatit.org/volumes/Vol57No3/33Vol57No3.pdf>>.

AKHTER, J. et al. The Combination of Bromelain and Acetylcysteine (BromAc) Synergistically Inactivates SARS-CoV-2. **Viruses**, v. 13, n. 3, p. 425, mar. 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7999995/>>.

BAKRI, I. M.; DOUGLAS, C. W. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. **Arch Oral Biol.**, V. 50, N. 7, p. 645-51, jul. 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15892950/#:~:text=The%20garlic%20extract%20also%20inhibited,therapeutic%20value%2C%20particularly%20for%20periodontitis.>>>.

BERTOLDI, K. et al. Antioxidant and Antinociceptive Activities of Methanol Extract of *Muehlenbeckia sagittifolia*. **Current Traditional Medicine**, v. 4, n. 1, p. 43-52. 2018.

BIODIVERSIDADE. Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade>>. Acesso em: 01 de set. 2022.

BOULOUX, G. F. et al. Complications of third molar surgery. **Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.**, v. 19, n. 1, p. 117-128, fev. 2007. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1042369906001130?via=ihub>>.

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, mai. 1976. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/0003269776905273?token=CC9231CCA4F0B5F4B04A93E2CF4D45571A2942FD78B0A7FFD4D79AB5DB121DD1E212482FF872CA9C40EB441DDD90DEFD&originRegion=us-east-1&originCreation=20210812181223>>.

BRASIL. Guia Alimentar para a População Brasileira/ Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, departamento de atenção Básica. – 2. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_alimentar\\_populacao\\_brasileira\\_2ed.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf)>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Práticas Integrativas e Complementares (PICS). **Saúde de A a Z**. Brasília, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/p/praticas-integrativas-e-complementares-pics-1#:~:text=A%20Pol%C3%ADtica%20Nacional%20de%20Pr%C3%A1ticas%20Integrativas>>.

%20e%20Complementares%20(PNPIC)%2C,acesso%20dos%20usu%C3%A1rios%20tem%20ocrescido.>.

BRASIL. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. Dispõe sobre as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 03 maio. 1999. Disponível em: <[https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/1999/prt0398\\_30\\_04\\_1999.html](https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/1999/prt0398_30_04_1999.html)>.

BRIGNARDELLO-PETERSEN, R. Similar anxiety levels and postoperative pain, trismus, and swelling between acupuncture and sham acupuncture in patients undergoing third-molar surgical extraction. *J Am Dent Assoc.*, v. 150, n. 3, mar. 2019. Disponível em: <[https://jada.ada.org/article/S0002-8177\(18\)30689-5/fulltext#relatedArticles](https://jada.ada.org/article/S0002-8177(18)30689-5/fulltext#relatedArticles)>.

CANDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. Alimentos funcionais. Uma revisão. **Boletim da SBCTA**, v. 29, n. 2, p. 193-203. 2005.

GONZÁLEZ-RÁBADE, N. et al. Production of plant proteases in vivo and in vitro--a review. **Biotechnol Adv.**, v. 29, n. 6, p. 983-996, Nov-Dez. 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21889977/>>.

CERQUEIRA, F. M.; de MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/kfyy9jLLLfM3KjYYqc5Kc4P/?format=pdf&lang=pt>>.

CHAKRABORTY, A. J. et al. Bromelain a Potential Bioactive Compound: A Comprehensive Overview from a Pharmacological Perspective. **Life**, v. 11, n. 4, p. 1-26. 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8067380/>>.

CONSELHO FEDERAL DE QUÍMICA. PERGUNTAS E RESPOSTAS ÁGUA SANITÁRIA. 2020. Disponível em: <[http://cfq.org.br/wp-content/uploads/2020/05/2020-05-04\\_cartilha-perguntas-e-respostas-CFQ-V2-baixa-3.pdf](http://cfq.org.br/wp-content/uploads/2020/05/2020-05-04_cartilha-perguntas-e-respostas-CFQ-V2-baixa-3.pdf)>.

DIJKSTRA, P. U.; HUISMAN, P. M.; ROODENBURG, L. N. Criteria for trismus in head and neck oncology. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, v. 35, n. 4, p. 337-342, abr. 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0901502705002730>>.

FALCI, S. G. M.; LIMA, T. C.; MARTINS, C. C.; SANTOS, C. R. R. D.; PINHEIRO, M. L. P. Preemptive Effect of Dexamethasone in Third-Molar Surgery: A Meta-Analysis. *Anesth Prog.*, v. 64, n. 3, p. 136-143. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28858550/>>.

FALOPPA, A. C. B.; LIMA, W. T. Controle dos Sinais da Inflamação e Cicatrização. In: \_\_\_\_\_. **Farmacologia para clínica odontológica**. MORETHSON, P. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA, 2015. cap 10, p. 82-95.

FAVARINI, V. T.; LIMA, C. A. A.; DA SILVA, R. A.; SATO, F. R. L. Is dipyrone effective as a preemptive analgesic in third molar surgery? A pilot study. **Oral Maxillofac Surg.**, v. 22, n. 1, p. 71-75, mar. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29353426/>>.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 01 set. 2022.

FRUTAS E HORTALIÇAS. Embrapa. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/grandes-contribuicoes-para-a-agricultura-brasileira/frutas-e-hortalicas>>. Acesso em: 01 set. 2022.

FONG, S. L.; HING, L. K. Determination of Physicochemical Properties of Osmo-dehydrofrozen Pineapples. **Borneo Science**, v. 31, set. 2012. Disponível em: <<https://jurcon.ums.edu.my/ojums/index.php/borneo-science/article/view/172>>.

GORECKI, P. et al. Perioperative supplementation with a fruit and vegetable juice powder concentrate and postsurgical morbidity: A double-blind, randomised, placebo-controlled clinical trial. **Clinical Nutrition**, v. 37, n. 5, p. 1448-1455. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28866140/>>.

GREENSTEIN, G. Therapeutic efficacy of cold therapy after intraoral surgical procedures: a literature review. **Journal Of Periodontology**, Chicago, v. 78, no. 5 p. 790-800, May. 2007

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p 1-93, fev. 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098299705000348>>.

HALE, L. P. et al. Proteinase activity and stability of natural bromelain preparations. **Int. Immunopharmacol.**, v. 5, n. 4, p. 783-793, abr. 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15710346/>>.

HARDY, K. et al. Neanderthal medics? Evidence for food, cooking, and medicinal plants entrapped in dental calculus. **Naturwissenschaften**, v. 99, n. 8, p. 617-626. 2012. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00114-012-0942-0>>.

HENNESSY, T. External heat and cold therapy in oral surgery. **American Journal Of Orthodontics And Dentofacial Orthopedics**, Boston, v. 27, no. 9, p. 472-474, set. 1941.

HOSSAIN, M. A.; RAHMAN, S. M. M. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. **Food Research International**, v. 44, n. 3, abr. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996910004801>>.

IASP. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. **Pain**, v. 6, n. 3,p. 249–252. 1979. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/460932/>>.

ISOLA, G. et al. Efficacy of a drug composed of herbal extracts on postoperative discomfort after surgical removal of impacted mandibular third molar: a randomized, triple-blind, controlled clinical trial. **Clin. Oral Investig.**, v. 23, n. 5, p. 2443-2453, mai. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30311061/>>.

HOSSAIN, M. A.; RAHMAN, S. M. M. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. **Food Research International**, v. 44, n. 3, p. 672-676. 2011. Disponível em: <[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996910004801?casa\\_token=ygYKo](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996910004801?casa_token=ygYKo)>.

2t4IRAAAAA:OGUDf\_CWQMxmEJhCaNjQaPVxY93mYpxuUklW2tFfLeA1mZkLJcfSnA1r17JDYn340BPPU2DgsA>.

HUPP, J. R. Manejo do Paciente Pós-Exodontia. In: \_\_\_\_\_. *Cirurgia Oral e Maxilofacial Contemporânea*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021. 7. ed. cap. 11, p. 192-210.

JUIZ, P. J. L.; ALVES, R. J. C.; BARROS, T. F. Uso de produtos naturais como coadjuvante no tratamento da doença periodontal. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v.20, n.1, p. 134-139. 2010. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbfar/a/KcQm7XVJbzmxVWT9TRCt6Mv/?lang=pt>>.

KRITIS, P. et al. The combination of bromelain and curcumin as an immune-boosting nutraceutical in the prevention of severe COVID-19. **Metabol. Open**, v. 8, p. 1-3. 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7661945/>>.

KUNITZ, M. Crystalline soybean trypsin inhibitor: II general properties. **Journal of General Physiology**, v. 30, p. 291-310. 1974.

MAJID, O. M.; MAHMOOD, W. K. Effect of submucosal and intramuscular dexamethasone on postoperative sequelae after third molar surgery: comparative study. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 49, n. 8, p. 647-652. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21035237/>>.

MARTÍNEZ, R. et al. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1520-1526, dez. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612008850>>.

MAURER, H. R. (2001). Bromelain: Biochemistry, pharmacology and medical use: Review. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Berlin, v. 58, p. 1234–1245. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11577981/>>.

MOORE, R. A. et al. Non-prescription (OTC) oral analgesics for acute pain - an overview of Cochrane reviews. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 11, nov. 2015. Disponível em: <<https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD010794.pub2/full>>.

MOORE, P. A.; HERSCH, E. V. Combining ibuprofen and acetaminophen for acute pain management after third-molar extractions: translating clinical research to dental practice. **J. Am. Dent. Assoc.** v. 144, n. 8, p. 898-908, ago. 2013. Disponível em: <[https://jada.ada.org/article/S0002-8177\(14\)60509-2/fulltext](https://jada.ada.org/article/S0002-8177(14)60509-2/fulltext)>.

MORALES-BOZO, I. et al. Evaluation of the effectiveness of a chamomile (*Matricaria chamomilla*) and linseed (*Linum usitatissimum*) saliva substitute in the relief of xerostomia in elders. *Gerodontology*, v. 34, n. 1, p. 42-48, mar. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26763612/>>.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **PRINCÍPIOS DE BIOQUÍMICA DE LEHNINGER**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2019.

NESS, G. M. Dentes Impactados. In: \_\_\_\_\_. **Princípios de cirurgia bucomaxilofacial de Peterson**. 3. ed. São Paulo: Santos, 2016. cap. 5, p.77-96.

NORMANDO, D. Terceiros molares: extrair ou não extrair? **Dental Press J Orthod**. v. 20, n. 4, p. 17-18, jul.-ago. 2015. Disponível em: <[https://www.scielo.br/pdf/dpjo/v20n4/pt\\_2176-9451-dpjo-20-04-00017.pdf](https://www.scielo.br/pdf/dpjo/v20n4/pt_2176-9451-dpjo-20-04-00017.pdf)>.

ORSINI, R. A. (2006). Bromelain. *Plastic and Reconstructive Surgery* [s.l.], 118(7), 1640–1644. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).  
<https://doi.org/10.1097/01.prs.0000242503.50548.ee>

PACHECO, D. C.; FREIRE, L. V. QUAIS OS REAIS BENEFÍCIOS DA CRIOTERAPIA APÓS REMOÇÃO CIRÚRGICA DE TERCEIRO MOLAR RETIDO? – UM ESTUDO PILOTO. 2018. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

PANZIERA, F. B. et al. Avaliação da ingestão de minerais antioxidantes em idosos. **Rev. bras. geriatr. gerontol.**, v. 14, n. 1, p. 49-58, mar. 2011. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbgg/a/vwnthhYf7pm3QbZyyDDrGKM/abstract/?lang=pt>>.

PIERETTI, S. et al. Gender differences in pain and its relief. **Ann Ist Super Sanita.**, v. 52, n. 2, p. 184-189. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27364392/>>.

PIZA, I. M T et al. Atividade da enzima bromelina em plantas de abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill), sob condições de salinidade in vitro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 5, n. 1, p. 68-74, 2002. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/66993>>.

PONTIN, H. A PERCEPÇÃO DO PACIENTE NO USO PREEMPTIVO DE PASSIFLORA INCARNATA NA EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES. 2019. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

RAJA, S. N. et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, v. 161, n. 9, p. 1-16, set. 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7680716/pdf/nihms-1596925.pdf>>.

RATHNAVELU, V. et al. Potential role of bromelain in clinical and therapeutic applications. **Biomed. Rep.**, v. 5, n. 3, p. 283-288, set. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4998156/>>.

REDDY MD, K. K. et al. Common complementary and alternative therapies with potential use in dermatologic surgery: Risks and benefits. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 68, n. 4, p. 127-135, abr. 2013. Disponível em: <[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0190962211008383?casa\\_token=FBa1t70ifAAAAA:vw\\_SZE51a67fUkbiWpfm-0XfTq1rhZzZss1Oxhs14PZGtmghgrN5fJ6saFHV4\\_jzNEp8Wa7FNKEy#!](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0190962211008383?casa_token=FBa1t70ifAAAAA:vw_SZE51a67fUkbiWpfm-0XfTq1rhZzZss1Oxhs14PZGtmghgrN5fJ6saFHV4_jzNEp8Wa7FNKEy#!)>.

RICE, D. et al. Exercise-Induced Hypoalgesia in Pain-Free and Chronic Pain Populations: State of the Art and Future Directions. **J. Pain**, v. 20, n. 11, p.1249-1266. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30904519/>>.

ROWAN, A.; BUTTLE, D. J. Pineapple cysteine endopeptidases. **Methods in Enzymology**, v. 244, p. 555-568, 1994. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0076687994440409>>.

SANTIN, A.; PINHEIRO, M. F. M. A cultura do abacaxizeiro no Litoral Norte do RS: histórico, problemas e perspectivas. **Letras da Terra**, n. 20. 2009

SANTOS, B. F. E. Postoperative pain and edema control following different protocols of preemptive analgesia in the surgical removal of impacted third molars: A triple-blind parallel randomized placebo-controlled clinical trial. **J. Craniomaxillofac Surg.**, v. 49, n. 8, p. 694-704, ago. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33994294/>>.

SEGURO, D.; OLIVEIRA, R. V. COMPLICAÇÕES PÓS-CIRÚRGICAS NA REMOÇÃO DE TERCEIROS MOLARES INCLUSOS. **Revista UNINGÁ Review**. v.20, n.1, p. 30-34, out - dez, 2014. Disponível em: <[https://www.mastereditora.com.br/periodico/20141001\\_084625.pdf](https://www.mastereditora.com.br/periodico/20141001_084625.pdf)>.

SHAMSUDIN, R.; ZULKIFLI, N. A.; KAMARUL ZAMAN, A. A. Quality attributes of fresh pineapple-mango juice blend during storage. *International Food Research Journal*, v. 27, n. 1, p. 141-149, fev. 2020. Disponível em: <[http://www.ifrj.upm.edu.my/27%20\(01\)%202020/15%20-%20IFRJ17900.R1.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/27%20(01)%202020/15%20-%20IFRJ17900.R1.pdf)>.

SILVA, L. F. et al. The efficacy of etodolac and ibuprofen, regarding gender, on pain, edema and trismus after impacted lower third molar surgery: A randomized prospective clinical split-mouth study. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal**. v. 26, n. 2, p. 136-140, mar. 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7980292/>>.

SOUZA, G. M. et al. Is bromelain effective in controlling the inflammatory parameters of pain, edema, and trismus after lower third molar surgery? A systematic review and meta-analysis. **Phytotherapy Research**. v.33, p. 437-481, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.6244>>.

SREENIVASAN, P. K.; KAKARLA, V. V. P.; SHARDA, S.; SETTY, Y. The effects of a novel herbal toothpaste on salivary lactate dehydrogenase as a measure of cellular integrity. **Clin Oral Investig.**, v. 25, n. 5, p. 3021-3030, mai. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33064207/>>.

SRIVASTAVA, N.; SHETTY, A.; KUMAR, P.; RISHI, D.; BAGGA, V., KALE, S. G. Comparison of Preemptive Effect of Dexamethasone and Methylprednisolone After Third Molar Surgery: A Split-Mouth Randomized Triple-Blind Clinical Trial. **J. Maxillofac. Oral Surg.**, v. 20, n. 2, p. 264-270, jun. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33927496/>>.

STATISTA 2020. Leading countries in pineapple production worldwide in 2020. Disponível em: <<https://www.statista.com/statistics/298517/global-pineapple-production-by-leading-countries/#professional>>.

STEED, M. B. The indications for third-molar extractions. **Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 145, n. 6, p. 570-573. Disponível em: <<https://jada.ada.org/action/showPdf?pii=S0002-8177%2814%2960117-3>>.

STEPEK, G. et al. Natural plant cysteine proteinases as anthelmintics? **Trends in Parasitology**, v. 20, n. 7, p. 322-327, jul. 2004. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez45.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1471492204001278>>.

TAUBETE, S. et al. Helium-neon laser therapy in the prevention of postoperative swelling and pain after wisdom tooth extraction. **Proc Finn Dent Soc.**, v. 86, n. 1, p. 23-27, 1990. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2385579/>>.

TRENDOWSKI, M. Recent Advances in the Development of Antineoplastic Agents Derived from Natural Products. **Drugs**, v. 75, p. 1993-2016. 2015. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s40265-015-0489-4>>.

VRANCKX, M. et al. PROPHYLACTIC VS. SYMPTOMATIC THIRD MOLAR REMOVAL: EFFECTS ON PATIENT POSTOPERATIVE MORBIDITY. **J Evid Based Dent Pract.**, v. 21, n. 3, set. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34479679/>>.

WALTER, H. E. Proteinases: methods with hemoglobin, casein, and azocoll as substrates. In: BERGMAYER, H. U. **Methods of Enzymatic Analysis**. Weinheim: Verlag Chemie, v. 5, p.270-277. 1984.

WANNMACHER, L. Princípios gerais do correto tratamento da inflamação. In:\_\_\_\_\_. **Farmacologia Clínica para Dentistas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 3. ed. cap. 23, p. 251-253.

WILLCOX, M. L. Plant-based Malaria Control: Research Initiative on Traditional Antimalarial Methods. **Parasitology Today**, v. 16, n. 6, p. 220-221, jun. 2000. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez45.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0169475800016781>>.

WISE, E. A. et al. Gender role expectations of pain: relationship to experimental pain perception. **Pain**, v. 96, n. 3, p. 335-342, abr. 2002. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11973007/>>.

XIE, L.; LI, Z.; SHANG, Z. Preemptive Oral Etoricoxib on Health-Related Quality of Life after Mandibular Third Molar Surgery: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. **Biomed Res Int.**, mar. 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7959973/>>.

ÇAĞIRAN, E.; EYİĞÖR, C.; SEZER, B.; UYAR, M. Preemptive analgesic efficacy of dexketoprofen trometamol on impacted third molar surgery. **Agri.**, v. 26, n. 1, p. 29-33, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24481581/>>.