



## ASPECTOS ETNOBOTÁNICOS, NUTRICIONALES Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE FRUTOS DEL GÉNERO *Bromelia*

### ETHNOBOTANICAL AND NUTRITIONAL ASPECTS, AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF FRUIT EXTRACTS OF THE GENUS *Bromelia*

Libier Meza-Espinoza<sup>1</sup>, Ma. de Lourdes García-Magaña<sup>1</sup>, Ma. de los Ángeles Vivar-Vera<sup>2</sup>,  
Sonia G. Sayago-Ayerdi<sup>1</sup>, Alejandra Chacón-López<sup>1</sup>, Eduardo M. Becerra-Verdín<sup>3</sup>,  
Ma. Dolores Muy-Rangel<sup>4</sup> y Efigenia Montalvo-González<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Integral de Investigación en Alimentos, Instituto Tecnológico de Tepic. Av Tecnológico No. 2595. 63175, Lagos del Country. Tepic, Nayarit. <sup>2</sup>Instituto Tecnológico de Tuxtepec. Av. Dr. Víctor Bravo Ahuja S/N. 68350, Col. 5 de Mayo. Tuxtepec, Oax. <sup>3</sup>Unidad Académica de Ciencias Químicas Biológicas y Farmacéuticas, Universidad Autónoma de Nayarit. Ciudad de la Cultura Amado Nervo S/N. 63155, Los Frenos, Tepic Nayarit. <sup>4</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. km 5.5. Carr. a Eldorado. 80110, Campo el Diez, Culiacán, Sinaloa.

\*Autor para correspondencia (efimontalvo@gmail.com)

#### RESUMEN

Las plantas del género *Bromelia* se distribuyen en América Latina, especialmente en las regiones del pacífico y Golfo de México; tienen usos diversos ya sea como plantas de ornato, plantas medicinales o alimento. Los frutos de estas especies son de tipo baya y se desarrollan constituyendo una infrutescencia de color amarillo o rosado de forma alargada u ovalada. Desde el punto de vista nutricional estos frutos tienen gran potencial ya que son buena fuente de minerales como calcio, potasio y fósforo; además, contienen vitamina C y son ricos en cisteína proteasas. Desde tiempos prehispánicos los frutos de estas especies se utilizaban en la medicina tradicional para tratar enfermedades respiratorias y trastornos del sistema urinario, entre otras. Hoy en día, las investigaciones demuestran que los extractos de la pulpa de frutos tienen actividad antimicrobiana, antihelmíntica, antitumoral y anti-inflamatoria, cuyos efectos son atribuidos a metabolitos secundarios (fenoles, saponinas terpenoides, etc.) y cisteína proteasas. Las enzimas proteolíticas caracterizadas en estos frutos son similares a las proteasas vegetales comerciales y pueden ser una alternativa potencial en la industria alimentaria y farmacéutica. En esta revisión se dan a conocer los usos etnobotánicos, características nutricionales, actividad biológica y estudios tecnológicos reportados en extractos de frutos del género *Bromelia*.

**Palabras clave:** *Bromelia*, frutos, etnobotánica, características nutricionales, actividad biológica, estudios tecnológicos.

#### SUMMARY

Plants of the *Bromelia* genus are distributed in Latin America, particularly in regions of the Pacific and Gulf of Mexico. These plants are used as ornaments, medicines or food. These species produce berry-type fruits that develop by creation of a yellow or reddish, elongated or oval infructescence. From the nutritional perspective, these fruits have great potential as a good source of minerals like calcium, potassium and phosphorous, as well as vitamin C and cysteine proteases. Since pre-Hispanic times, the fruits of these species were used in traditional medicine to treat respiratory diseases and disorders of the urinary system, among others. Current research shows that extracts from fruit pulp have antimicrobial, anthelmintic, anti-tumor and anti-inflammatory activity, and these effects are attributed to secondary metabolites (phenols, saponins and terpenoids, etc.) and cysteine proteases. The proteolytic enzymes characterized in these fruits are similar to commercial plant proteases, and might be a potential alternative in the food and pharmaceutical industry.

In this review we present the ethnobotanical uses, nutritional characteristics, biological activity and technological studies reported in extracts of fruits of the genus *Bromelia*.

**Index words:** *Bromelia*, fruits, ethnobotany, nutritional characteristics, biological activity, technological studies.

#### INTRODUCCIÓN

La familia Bromeliaceae incluye el género *Bromelia*, integrado por plantas con relevancia ecológica por su grado de endemismo y relación con la fauna de su hábitat. Estas plantas son originarias de la zona neotropical y tropical, y se producen en gran parte de América Latina (Hornung-Leoni, 2011a; Martinelli et al., 2008).

La producción de *Bromelia* en México se localiza desde Sonora hasta Guerrero por la parte del Pacífico y desde Veracruz hasta Yucatán por la región del Golfo (Espejo-Serna et al., 2004). Los frutos se consumen en fresco y procesados en bebidas, infusiones y en almíbar; además, se emplean en ceremonias de carácter religioso, como plantas de ornato y en la preparación artesanal de medicina natu-rista (Hornung-Leoni, 2011b).

Algunos frutos de *Bromelia* se caracterizan por ser una buena fuente de ácido ascórbico (e.g. *Bromelia pinguin* L. con 126 mg 100 g<sup>-1</sup>) y minerales como calcio, potasio y magnesio (Abreu et al., 2005a; Moyano et al., 2012; Pío-León et al., 2009), siendo reconocidas por su alto contenido de cisteína proteasas (Abreu et al., 2001; 2005a).

En la industria, las proteasas obtenidas de frutos del género *Bromelia* se han reportado como efectivas para la producción de hidrolizados proteicos (Briones-Martínez et al., 1994). Adicionalmente, los extractos obtenidos de

los frutos también han sido estudiados con respecto a su efecto citotóxico, antihelmíntico y antimicrobiano (Abreu *et al.*, 2001, Abreu *et al.*, 2005a), anti-inflamatorio (Errasti *et al.*, 2013) y anti-tumoral (Guimarães-Ferreira *et al.*, 2007).

Las aplicaciones más recientes de algunas de estas proteasas son en la obtención de péptidos bioactivos, los cuales se caracterizan por ejercer un importante papel en la regulación y la modulación metabólica en los seres humanos (Bruno *et al.*, 2010; Pardo *et al.*, 2001; Prospitti *et al.*, 2015). Por todo lo anterior, el objetivo de esta revisión es dar a conocer los aspectos etnobotánicos, nutricionales, actividad biológica y estudios tecnológicos de frutos del género *Bromelia*, a fin de continuar con investigaciones futuras para conferirles mayor valor agregado y en un futuro puedan ser aprovechados como un recurso biológico alternativo en la industria de alimentos, farmacéutica o medicina natural.

### DISTRIBUCIÓN DE LA FAMILIA BROMELIACEAE

Las bromeliáceas pertenecen a uno de los grupos taxonómicos más relevantes dentro de su hábitat (bosques) debido a su alto grado de endemismo. Son de gran importancia ecológica por su estrecha relación con la fauna local (Martinelli *et al.*, 2008).

La familia consta de aproximadamente 3172 especies repartidas en tres subfamilias: *Pitcairnioideae*, *Bromelioideae* y *Tillandsioideae* y en 58 géneros, los cuales se localizan en México, Belice, Guatemala, Panamá, las Antillas y el norte de Sudamérica y una sola especie se ubica en el oeste de África (Espejo-Serna *et al.*, 2004). México se constituye como un centro de diversificación de la subfamilia *Bromelioideae* ya que se han registrado 18 géneros y 342 especies (Espejo-Serna *et al.*, 2004). Específicamente, en relación con el género *Bromelia*, las especies habitan en clima cálido desde el nivel del mar y hasta los 200 m de altitud, asociadas a dunas costeras y bosque tropical caducifolio (Espejo-Serna *et al.*, 2004).

### DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE PLANTAS DE *Bromelia*

El género *Bromelia* está representado por especies tanto terrestres como epífitas, con margen foliar serrado, ovario ínfero, fruto tipo baya y semillas desnudas (Espejo-Serna *et al.*, 2004; 2005). En el género se incluyen más de 60 especies, pero pocas de ellas han sido descritas botánicamente y reconocidas por producir frutos comestibles (Cuadro 1).

Las especies de *Bromelia* son plantas arbustivas con hojas numerosas en forma de roseta, erguidas, de 1 a 3 m de largo y de 2 a 4 cm de ancho, el borde con espinas

curvas de 5 a 10 mm y cambian de color verde brillante a rojo (Espejo-Serna *et al.*, 2004). Asimismo, se les describe como plantas estoloníferas con filodios envainadores de 1.5 m de largo por 4 cm de ancho, con bordes muy espinosos, punta muy prolongada y punzante; poseen meritos cortos (40 cm de largo x 1.5 cm de diámetro) en cuyo extremo desarrollan una infrutescencia (Caffini *et al.* 1988; González-Salvatierra *et al.*, 2013). La posición de la roseta o infrutescencia en relación con el eje central durante la floración es de aproximadamente 45°. Asimismo, se presentan brácteas del pedúnculo durante la antesis, brácteas florales iguales o superiores al ovario, y no presentan sépalos. Las flores poseen pétalos carnosos, crecen en grupo en un eje corto y los pétalos miden alrededor de 3 cm (Espejo-Serna *et al.*, 2004; Monteiro *et al.*, 2015).

Los frutos son de color amarillo o color rosado, con estomas marcados en la epidermis, haces vasculares de diámetro pequeño, más alto que ancho. Los frutos son carnosos y con semillas aplanadas (Espejo-Serna *et al.*, 2004). Las especies del género *Bromelia* comparten muchas características morfológicas; sin embargo, mantienen diferencias importantes entre las que destacan color, forma y tamaño de los frutos (Cuadro 1). En la Figura 1 se muestran las plantas y frutos de las especies *B. pinguin* L. (Figura 1a) y *B. karatas* L. (Figura 1b) encontradas en el municipio de Santiago Ixcuintla, Nayarit, y son también las dos especies mayormente distribuidas en México.

### COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LOS FRUTOS DE *Bromelia*

La caracterización nutricional de los frutos de *Bromelia* hasta ahora es escasa, ya que sólo tres de 11 especies frutícolas identificadas se han caracterizado. Las investigaciones reportadas se citan en el Cuadro 2. La pulpa de frutos de *B. pinguin* L. cultivada en Cuba presentó una cantidad importante de proteínas, así como de los minerales calcio, magnesio, potasio, sodio y fósforo (Abreu *et al.* 2005a). En frutos de la misma especie, pero cultivados en Sinaloa, México, Pío-León *et al.* (2009) reportaron que los frutos están compuestos de 80 % de porción comestible y 20 % de cáscara, son frutos ácidos, con pH de 3.7, acidez titulable de 4.6 % y sólidos solubles totales de 14.1 %. Tienen un contenido de vitamina C de 126 mg 100 g<sup>-1</sup>, más alto que lo reportado para algunos cítricos (30 a 57 mg 100 g<sup>-1</sup>), *Actinidia deliciosa* (98 mg 57 mg 100 g<sup>-1</sup>) y *Litchi chinensis* (71.5 mg 100 g<sup>-1</sup>) (Ledesma *et al.*, 2010).

Los frutos de *B. pinguin* L. son considerados con alto valor nutricional en relación con su contenido de minerales, ya que 100 g de la pulpa del fruto aportan la ingesta recomendada de calcio (1300 mg), magnesio (420 mg) y manganeso (2.3 mg), para personas adultas (FDA, 2001;

**Cuadro 1. Descripción botánica de frutos de *Bromelias*.**

| Especie  | Nombre común  | Descripción botánica de frutos   | Referencia  |
|--|---|--|---|
| <i>Bromelia alsodes</i> H.St.John  | Cucuya, hijo de piña, mutate, piñuela, polla (El Salvador).                           | Infrutescencias paniculadas de 25 cm de largo. Frutos de 2 cm de diámetro, subglobosos, de color amarillo cuando son maduros y con pocas semillas.                                     | Chízmar (2009)  |
| <i>Bromelia antiacantha</i> Berthol.   | Banana-do-mato o banana silvestre (Brasil).   | Infrutescencias centrales. Frutos maduros tienen un color amarillo-naranja y la forma es como un plátano pequeño.  | Díaz y Delascio-Chitty (2007); Fabri y da Costa (2012)    |
| <i>Bromelia crhysantha</i> Jacq.   | Piñuela (México).   | Hierba litófila de 1-1.5 m de alto. Frutos verdes, envés grisáceo, con una pelusa color marrón.  | Díaz y Delascio-Chitty (2007); Chan-Quijano et al. (2013) |
| <i>Bromelia fastuosa</i> Lindl.  | Gravatá (Brasil).   | Frutos de color verde con cambio en color amarillo cuando maduran, forma subglobosa con 2-3 cm de diámetro.  | Cabral et al. (2006)                                      |
| <i>Bromelia hieronymi</i> Mez.   | Chaguar (Argentina).  | Infrutescencias centrales en panículas glabras rosadas. Frutos fusiformes y bayas fibrosas, de 2 cm de diámetro con 5 cm de largo.   | Bruno et al. (2002)                                       |
| <i>Bromelia karatas</i> L., o <i>Bromelia plumieri</i> (E. Morren). L.B. Sm. | Chichipo, Chiyol, Aguama, Cazuela, Cocuixtle, Jocuixtle, Cocuistle (México).          | Infrutescencia nodular 5 a 10 cm de largo. Bayas elipsoides, rosadas, de 5.5 a 11 cm de largo, ferrugíneo-lepidotas. De 50 a 100 frutos por racimo.                                    | Espejo-Serna et al. (2005)                                |
| <i>Bromelia laciniosa</i> Mart.  | Caroá, Macambira de corda (Brasil).   | Infrutescencia con abundantes exudaciones gomosas. Frutos cilíndricos y alargados constituidos con numerosas bayas anaranjadas, triloculares y pluriseminados.                         | Buttazzoni et al. (1984)                                  |
| <i>Bromelia pinguin</i> L.   | Piñuela (El Salvador), Guámara (México), Piro (Panamá), Maya o Curujulul (Venezuela). | Inflorescencia pedunculada. Bayas esféricas, amarillas a amarillas ocre, de 2.5 a 4 cm de largo, esparcidamente en panículas lepidotas a glabrescentes. De 50 a 100 frutos por racimo. | Chízmar (2009)  |
| <i>Bromelia serra</i> Griseb.  | Sin nombre común.   | Infrutescencia globosa de 10-14 cm de largo por 7-10 cm de diámetro. Integrada por bayas ovoides de 4 cm por 2.5 cm de color amarillo limón.   | Caffini et al. (1988)                                     |

Abreu et al., 2005a).

Moyano et al. (2012) reportaron que en frutos verdes de la especie *B. karatas* L. se encontraron mayores contenidos de proteína, minerales (excepto potasio y magnesio), carbohidratos y fibra, que en los frutos maduros (Cuadro 2). *B. karatas* L. cubre la ingesta recomendada de fósforo (1250 mg) (FDA, 2001) y es mayormente nutritiva si se consume en estado verde; sin embargo, debido a la cantidad de proteínas encontradas (13.33 %), las cuales son consideradas proteasas, el fruto verde se consume cocinado. *B. anthicanta* Berthol. es rica en azúcares (45 %), princi-

palmente monosacáridos, pero también se ha detectado la presencia de lípidos (18 %), tales como el ácido palmítico (C 16:0), ácido oleico (C 18:1n 9c) y linoleico (C 18:2n 6c) (Santos et al., 2009).

Se ha evidenciado la presencia cualitativa de antioxidantes en *B. pinguin* L., tales como compuestos fenólicos (taninos y flavonoides), terpenos, saponinas y ácidos grasos, pero no se han cuantificado (Abreu et al., 2001). Los frutos maduros de *B. karatas* L. presentaron mayor contenido de fenoles totales que los frutos verdes (409.9 y 290.3 mg 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente) y se identificó cualitativamente



**Figura 1.** Fotografías de plantas (A y B) y frutos (C y D) de las especies *Bromelia pinguin* y *Bromelia karatas* cultivadas en Santiago Ixcuintla, Nayarit, México.

la presencia de flavonoides, terpenos y cumarinas tanto en la pulpa de frutos verdes como en frutos maduros; sin embargo, en frutos maduros se evidenció la presencia de taninos y fenilpropanoides (Moyano *et al.*, 2012).

Por otra parte, Coelho *et al.* (2010) identificaron cualitativamente en pulpa de frutos de *Bromelia balansae* cuatro tipos de glucósido-flavonoles: kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-ramnopiranosido, kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-ramnopiranosil 1-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopiranosido, quercetina-3-*O*- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopiranosido y kaempferol 3,7-di-*O*- $\alpha$ -L-ramnopiranosido.

Los frutos del género *Bromelia* tienen cantidades importantes de vitamina C y minerales tales como el calcio, fósforo y potasio; la detección cualitativa de compuestos bioactivos las hacen potencialmente funcionales, por lo que se debe cuantificar el contenido de estos compuestos para conferirles mayor valor agregado.

#### USOS GENERALES Y ETNOBOTÁNICOS DE *Bromelia*

Históricamente las plantas del género *Bromelia*, por las características morfológicas de las hojas con borde espinoso, son utilizadas para la construcción de cercas vivas. En la ganadería, estas especies son alimento y representan una fuente de agua en sitios muy secos; además, sus hojas presentan fibras de buena calidad para su producción

a escala comercial; sin embargo, en la actualidad sólo son estudiadas desde el punto de vista ecológico, taxonómico y etnobotánico (Mondragón *et al.*, 2011).

En el Cuadro 3 se describe el uso de once especies frutícolas de *Bromelia* reportadas para América Latina. Su uso tiene origen en las culturas prehispánicas desde hace miles de años; los Aztecas, Mayas, Incas, Quechuas, los Yanomami y otros pueblos las utilizaban como alimento, fibra, en ceremonias religiosas, como medicina y como plantas ornamentales, al igual que se siguen utilizando en la actualidad (Bennett, 2000; Hornung-Leoni, 2011a y 2011b; Pierce 2000; Rondón, 2003).

En México los frutos de *Bromelia* se consumen como fruto fresco o se cocinan para inactivar las cisteína proteasas, enzimas responsables de provocar ardor en la boca después de su consumo en fresco (Hornung 2011a, b). En América Central y del Sur, las preparaciones de los frutos hervidos o infusiones se han utilizado para el tratamiento de la tos y otros trastornos del tracto respiratorio como bronquitis y asma (Argueta, 1994), escorbuto (Chan-Quijano *et al.*, 2013), diabetes y trastornos del sistema urinario (Manetti *et al.*, 2009). El jugo de los frutos ha sido utilizado como bebida refrescante, así como agente antihelmíntico (Abreu *et al.*, 2001; Hornung-Leoni, 2011a). Chízmar (2009) reporta que el jugo de *B. pinguin* L. es empleado en Centroamérica contra los tricocéfalos y

**Cuadro 2 Caracterización nutrimental de frutos de *Bromelias*.**

| Composición proximal<br>(g 100 g <sup>-1</sup> base seca) | <i>Bromelia pinguin</i> L. <sup>†</sup><br>(Fruto fresco) | <i>Bromelia karatas</i> L. <sup>††</sup><br>(Fruto fresco, maduro-verde) | <i>Bromelia anthiacantha</i><br>Berthol. <sup>‡</sup> (Fruto seco) |
|---|---|--|--|
| Humedad   | 80.41   | 76.59 - 86.65  | 27.3   |
| Proteína  | 7.20 - 13.87  | 3.13 - 13.33   | 8.30   |
| Lípidos   | 1.40  | 2.65 - 1.20  | 18.20  |
| Cenizas   | 6.63 - 10.60  | 4.22 - 12.00   | 1.40   |
| Fibra cruda   | 3.35 - 3.41   | 0.62 - 9.20  | ND   |
| Carbohidratos   | 5.31 - 15.14  | 15.92 - 9.65   | 44.80  |
| Ácido fítico  | 0.12  | ND   | ND   |
| Minerales (mg 100 g <sup>-1</sup> bs)                     |   |  |  |
| Calcio  | 1200-1290   | 290 - 1650   | ND   |
| Cobalto   | 1.20  | ND   | ND   |
| Hierro  | 1.70  | 0.056 - 0.092  | ND   |
| Potasio   | 903 - 2160  | 670 - 630  | ND   |
| Magnesio  | 320 - 500   | 470 - 390  | ND   |
| Manganeso   | 2.95  | ND   | ND   |
| Sodio (Na)  | 250   | 0.27   | ND   |
| Fósforo (P)   | 56.65 - 160   | 220 - 1140   | ND   |
| Zinc (Zn)   | 2.80  | ND   | ND   |
| Vitamina C (mg 100 g <sup>-1</sup> )                      | 126.0   | 3.00 - 1.00  | ND   |

Abreu et al. (2005a)<sup>†</sup>, Pío-Léon et al. (2009)<sup>†</sup>, Moyano et al. (2012)<sup>††</sup>, Santos et al. (2009)<sup>‡</sup>; ND: No determinado

**Cuadro 3. Usos tradicionales de plantas frutícolas del género *Bromelia*.**

| Uso          | Especie  | País  |
|--------------|--|---|
| Comestible   | <i>Bromelia alsodes</i> H. St. John, <i>Bromelia chrysantha</i> Jacq., <i>Bromelia hemisphaerica</i> L., <i>Bromelia karatas</i> L., <i>Bromelia pinguin</i> L., <i>Bromelia nidus-puellae</i> (André) André ex Mez. | Argentina, Bolivia, Chile, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, El Salvador, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Perú, Puerto Rico, Venezuela. |
| Medicinal    | <i>Bromelia balansae</i> Mez., <i>Bromelia hieronymi</i> Mez., <i>Bromelia karatas</i> L., <i>Bromelia pinguin</i> L., <i>Bromelia antiacantha</i> Berthol., <i>Bromelia fastuosa</i> Lindl.                         | Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Cuba, Ecuador, Honduras, México, Nicaragua, Perú, Puerto Rico, Venezuela.                          |
| Fibra textil | <i>Bromelia balansae</i> Mez., <i>Bromelia hieronymi</i> Mez., <i>Bromelia pinguin</i> L., <i>Bromelia serra</i> Griseb., <i>Bromelia laciniosa</i> Mart.  | Brasil, Bolivia, Chile, Ecuador, México, Nicaragua, Venezuela.  |
| Ceremonial   | <i>Bromelia chrysantha</i> Jacq.   | Bolivia, México, Perú, Venezuela.   |
| Cercos vivos | <i>Bromelia alsodes</i> H. St. John, <i>Bromelia karatas</i> L., <i>Bromelia nidus-puellae</i> (André) André ex Mez.   | Colombia, Ecuador, México, Panamá, Venezuela.   |

Fuente: Hornung-Leoni (2011a; b).



otros parásitos similares. Asimismo, se sabe sobre su uso como diurético, antirreumático y en forma de cataplasma, se emplea para dislocaciones y fracturas.

A pesar de la diversidad de aplicaciones etnobotánicas que tienen los frutos de *Bromelia*, en esta revisión se encontraron pocos estudios para comprobar la mayoría de esas aplicaciones. Aún no es clara la definición de los compuestos que podrían causar efectos medicinales al consumir los frutos; sin embargo, existe una constante mención de la acción terapéutica de sus proteasas y metabolitos secundarios, por lo que existe una amplia perspectiva de investigación científica que debe llevarse a cabo en esta área.

#### PROTEASAS EXTRAÍDAS DE FRUTOS DE *Bromelia*

Los frutos de *Bromelia* se consideran ricos en proteasas y se conoce sólo de manera general que éstas juegan un papel fisiológico importante para el desarrollo y movilización de proteínas germinales en respuesta a varios tipos de estrés medioambiental, en la defensa contra plagas y patógenos, muerte celular programada y senescencia de los mismos (Martínez *et al.*, 2007). El tipo de proteasas identificadas en dichos frutos son cisteína proteasas, y aunque hasta hoy ninguna de ellas tiene una clasificación numérica de la EC (Enzyme Commission Numbers, por sus siglas en inglés) se conocen algunas características de proteasas extraídas y éstas se describen en el Cuadro 4.

##### *Bromelia karatas* L. (Cocuixtle)

En esta especie se identificó la proteasa karatasina, una proteasa sulfhidrilada o cisteína proteasa correspondiente a una glicoproteína con el 7 % de carbohidratos, muy similar a la bromelina (EC 3.4.22.33); está constituida por un complejo de ocho formas moleculares múltiples cuyos puntos isoeléctricos (pI) se localizan en el intervalo de pH de 3.4 a 10.4; tiene un peso molecular de 23.8 kDa, es susceptible a la inhibición con agentes bloqueantes de grupo tiol, como el acetato fenilmercúrico, su actividad es inducida por cisteína y tiene una actividad específica total de 0.5 U mg<sup>-1</sup> (Montes *et al.*, 1990).

##### *Bromelia balansae* Mez. (Caraguatá)

Pardo *et al.* (2000; 2001) encontraron en esta especie la proteasa llamada balansaina, la cual tiene un pI de 5.4, pH óptimo de 8.8 a 9.2 y su peso molecular es de 23.2 kDa. La especie presenta una alta estabilidad térmica a 75 °C con una pérdida mínima de su actividad proteolítica. La secuencia N-terminal mostró una homología muy alta (85-90 %) con otras endopeptidasas conocidas de la familia Bromeliaceae como la piña (*Annanas comosus* L.).

##### *Bromelia pinguin* L. (Guámara)

Las proteasas de la especie purificadas parcialmente tienen características de cisteína proteasas; presentan un pH óptimo dentro del rango alcalino (pH 7.2 a 8.8); tienen una inhibición de la actividad proteolítica por sustancias que poseen grupos tiol, esta inhibición es normalmente revertida por la adición de cisteína; además, muestran una notable estabilidad térmica, así como una elevada estabilidad en altos valores de fuerza iónica (pI entre 4, 6 y 8, 1). El peso molecular aproximado de los cuatro componentes proteicos que integran el complejo enzimático es de 23 kDa (Abreu *et al.*, 2005b y Abreu *et al.*, 2008).

##### *Bromelia antiacantha* Berthol. (Banano silvestre)

Las proteasas de los frutos tienen una actividad proteolítica mayor al 80 %, con dos óptimos de pH 5.0 y 9.0. Tienen alta estabilidad térmica, ya que mantienen una actividad residual mayor de 90 % después de calentar durante 60 min a 60 °C. La actividad de la enzima es inhibida completamente por el compuesto trans-epoxisuccinil-L-leucilamido-butano (E-64) y el ácido yodoacético, recuperando su actividad con la adición de cisteína o β-mercaptoetanol, lo que sugiere que pertenece al grupo de las cisteína proteasas y tiene su pI entre 7.6, 8.2 y 8.8 (Vallés *et al.*, 2007).

##### *Bromelia hemisphaerica* L. (Timbiriche)

En esta especie se ha caracterizado la proteasa hemisfericina, con pI a un intervalo de 3.5 a 9.0, con formas aniónicas, catiónicas y neutras, todas con actividad proteolítica y esterolítica (León-Alcalá *et al.*, 1989). Cortés-Vázquez *et al.* (2008) reportaron un peso molecular de 24 kDa, aunque su estructura completa no ha sido elucidada.

##### *Bromelia fastuosa* Lindl. (Gravatá)

De esta especie se han extraído cisteína proteasas de fruto inmaduro; se reportan proteasas con un peso molecular de 24-25 kDa, y al menos una proteasa denominada fastuosaina, posee alta actividad a pH 7.0. Su estructura posee 217 residuos de aminoácidos y su secuencia primaria mostró una alta homología con ananaina (EC 3.4.22.31) con 74 %, bromelina con 66 % y papaína (EC 3.4.22.2) con 44 % (Cabral *et al.*, 2006).

##### *Bromelia hieronymi* Mez. (Chaguar)

Bruno *et al.* (2002) reportan que las proteasas de esta especie mostraron una actividad menor al 80 % a un pH de 7.3 a 10.7, pero mostraron una gran estabilidad térmica conservando su actividad proteolítica residual de 80% después de calentar el extracto enzimático a 60 °C

**Cuadro 4. Características enzimáticas de proteasas aisladas de frutos de *Bromelias*.**

| Proteasa                 | Especie                                       | pH óptimo | Temperatura óptima (°C) | Actividad específica                           | Peso molecular (kDa) | Referencia   |
|--------------------------|---|-----------|-------------------------|--|----------------------|--|
| Karatasina               | <i>Bromelia plumieri</i> (E. Morren) L.B. Sm. | 3.4-10.4  | > 40 < 60               | 0.5 U mg <sup>-1</sup>                         | 23.84                | Montes et al. (1990).  |
| Balansaína               | <i>Bromelia balansae</i> Mez.                 | 8.8-9.2   | 37-40                   | 35.4 U mg <sup>-1</sup>                        | 23.20                | Pardo et al. (2001).   |
| Pinguinaína              | <i>Bromelia pinguin</i> L.                    | 7.2-8.8   | 45-60                   | 3.2 U mg <sup>-1</sup> ; 11 U mL <sup>-1</sup> | 23.0                 | Moreno-Hernández et al. (2016); Abreu et al. (2005b); Abreu et al. (2008). |
| Antiacanthaína           | <i>Bromelia anticantha</i> Berthol.           | 5.0- 9.0  | 42-63                   | 30.9 U mL <sup>-1</sup>                        | ND                   | Vallés et al. (2007); Macció et al. (2013).                                |
| Hemisfericina            | <i>Bromelia hemisphaerica</i> L.              | 7.0-8.0   | 35-40                   | 890-980 U mg <sup>-1</sup>                     | 24.0                 | Cortés-Vázquez et al. (2008).  |
| Fastuosaina              | <i>Bromelia fastuosa</i> Lindl.               | 7.0       | 50-60                   | 1.3 U mg <sup>-1</sup>                         | 24-25                | Cabral et al. (2006).  |
| Hieronimaína I, II y III | <i>Bromelia hieronymi</i> Mez.                | 7.5-9.0   | 55                      | 37.5 U g <sup>-1</sup>                         | 24.06                | Bruno et al. (2003); Bruno et al. (2006); Bruno et al. (2008).             |
| SN <sup>†</sup>          | <i>Bromelia serra</i> Griseb.                 | 6.0-7.8   | 65                      | ND   | ND                   | Caffini et al. (1988).   |

SN<sup>†</sup> = sin nombre; ND<sup>\*</sup> = no determinado.

por 30 min. Las bajas concentraciones de cloruro de sodio (0.2 M) no afectaron su actividad caseinolítica, pero ésta disminuyó con el incremento de concentración salina en el medio de extracción (disminuye a 52 % la actividad residual cuando la concentración de cloruro de sodio es de 2.5 M). Por cromatografía de intercambio catiónico se logró aislar la fracción principal, denominada hieronimaína I (pI > 9.3, peso molecular de 25 kDa). En el año 2010 se reportó el aislamiento de la hieronimaína II en la misma especie, con un peso molecular de 23.4 kDa, con una máxima actividad proteolítica de 90 % a pH 7.5 y 9.0 sobre caseína. Su secuencia amino terminal fue comparada con 12 cisteína proteasas extraídas de plantas, mostrando un 70 % de homología (Bruno et al., 2010).

#### ***Bromelia serra* Griseb**

Las proteasas de esta especie son las menos estudiadas. La información al respecto es prácticamente nula y se reporta solamente un estudio del año 1988, donde se menciona que un extracto crudo de proteasas tuvo su máximo de actividad caseinolítica a pH de 6.0 a 7.8 y una temperatura de 60 °C (Caffini et al., 1988).

No existe una caracterización enzimática completa de todas las proteasas identificadas en *Bromelia*; sin embar-

go, se puede inferir que son proteasas que tiene una alta actividad proteolítica en amplios rangos de pH, algunas resistentes a temperaturas térmicas y de pesos moleculares similares. Se debe continuar con estudios sobre su caracterización y secuenciación enzimática para encontrar alternativas de uso.

#### **ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE FRUTOS DE *Bromelia***

La actividad farmacológica de cisteína proteasas vegetales ha sido probada contra algunos tratamientos terapéuticos, entre ellos trastornos digestivos, úlceras cutáneas y gástricas de diferentes orígenes, modulación inmunológica y trastornos tumorales (Salas et al., 2008). Otros investigadores han resaltado las propiedades medicinales y terapéuticas de las cisteína proteasas tales como: anti-edematosas, anti-inflamatorias, anti-trombóticas, contra bronquitis, asma y efectos fibrinolíticos (Guimarães-Ferreira et al., 2007; Maurer, 2001). En Estados Unidos de América (E.E. U.U.) y Europa la bromelina y otras proteasas (e.g. tripsina y quimiotripsina) son usadas como una alternativa o terapia complementaria a glucocorticoides, antirreumáticos no esteroideos e inmunomodulares; su baja toxicidad hace que su uso sea una herramienta útil en el tratamiento de la inflamación crónica (Brien et al.,

2004; Maurer, 2001). Esto sugiere que las proteasas obtenidas de las Bromelias mencionadas tienen potencial para ser utilizadas para el mismo fin.

Específicamente, las actividades biológicas reportadas para extractos de pulpa de frutos del género *Bromelia* se observan en el Cuadro 5. Los estudios de citotoxicidad encontrados revelan que los extractos acuoso, etanólico o metanólico obtenidos de pulpa de frutos de *B. pinguin* L., y *B. anthiaca* Berthol., presentan una moderada o baja toxicidad evaluada en *Artemia salina*, concluyendo que los frutos pueden ser consumidos de manera segura (Abreu *et al.*, 2001; Manetti *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2009).

Se reporta una buena actividad antihelmíntica, ya que usando una relación 10:90 (p/v) de extracto etanólico o agua y pulpa de fruto de *B. pinguin* L. se pudo observar una mayor actividad contra *Lumbricus terrestres* y *Trichomonas vaginalis* en comparación con la piperazina al 2 % (Abreu *et al.*, 2001).

La actividad antibacteriana también ha sido reportada para especies de *Bromelia*. Pío-León *et al.* (2009) y Ruiz-Ruiz *et al.* (2017) demostraron que los extractos etanólicos y acuosos obtenidos de pulpa de *B. pinguin* L. inhibieron el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Camacho-Hernández *et al.* (2002), por su parte, mencionan que el extracto etanólico de la pulpa del mismo fruto sólo inhibió especies microbianas de *Trichophyton* spp. y *Paeclomyces variotii*, pero no de *Candida albicans*. El extracto metanólico obtenido de la pulpa de *B. balansae* Mez. tuvo una inhibición de 90 % de *Mycobacterium tuberculosis* (Coelho *et al.*, 2010), mientras que los extractos metanólicos de frutos de *B. antiacantha* Berthol. presentaron buena actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* y *E. coli* (Fabri y da Costa *et al.*, 2012).

La acción antibacteriana se atribuye a la presencia de metabolitos secundarios como taninos, flavonoides, alcaloides, saponinas y a la presencia de las cisteína proteasas que podrían hidrolizar proteínas específicas de los microorganismos evaluados (Camacho-Hernández *et al.*, 2002; Pío-León *et al.*, 2009). Estos resultados comprueban que los frutos de *B. pinguin* L. y *B. anthiaca* Berthol. pueden tener una acción importante en la prevención de infecciones estomacales y *B. balansae* Mez en trastornos respiratorios; aunque se requieren de mayores estudios para encontrar cantidad de pulpa, tiempos de extracción, solventes y dosis específicamente efectivas.

Otra actividad importante que se ha reportado en la especie de *B. plumieri* (E. Morren) L.B. Sm. es como hi-

poglucemiante; sin embargo, sólo se ha estudiado en las hojas y no en los frutos. Andrade-Cetto y Medina-Hernández (2013) encontraron que un extracto acuoso o metanólico de hojas fue efectivo para disminuir la glucosa sanguínea en ratas diabéticas después de 120 min de tratamiento. Aunque los autores no explican el mecanismo de acción, mencionan que se identificó cualitativamente la presencia de flavonas y flavonoles en los extractos, por lo que atribuyeron la acción hipoglucemiante del extracto a estos compuestos, lo que coincide con el reporte de Torres-Piedra *et al.* (2010).

Proteasas liofilizadas obtenidas del fruto de *B. hieronymi* Mez. se estudiaron para conocer su efecto antiinflamatorio en las extremidades de ratas Wistar inducidas a edema inflamatorio con carragenina o serotonina. Se utilizaron dosis de cisteína proteasas de 45, 90 y 180 mg kg<sup>-1</sup> de peso de las ratas y se comprobó el efecto de las proteasas en la inflamación incluyendo o no un inhibidor (E64) de las mismas, en la dosis administrada (Errasti *et al.*, 2013). El proceso de formación del edema se lleva a cabo en dos fases, en la primera fase ocurre la liberación de histamina, serotonina y bradicina, que actúan como vasodilatadores y quimio-atrayentes de células inflamatorias; mientras que la segunda fase se conforma por el aumento de prostaglandinas (vasodilatador y aumento de permeabilidad vascular) inducido por la activación de la enzima prostaglandina-endoperoxido sintasa (EC 1.14.99.1) o también llamada COX-2, que continua con la infiltración de neutrófilos y su activación *in situ* (Errasti *et al.*, 2013).

Errasti *et al.* (2013) mencionan que las cisteína proteasas tuvieron efecto sobre la primera fase de la inflamación de las patas del animal, aunque el efecto fue muy limitado, considerando que fue por la cantidad de enzima usada, siendo la razón por la que no actúa al inicio de la inflamación. Los autores mencionan que el probable efecto antiinflamatorio se puede dar principalmente en la segunda fase, que suele aparecer entre 3 y 6 h después de la inyección de carragenina o serotonina. Se hipotetiza que el efecto antiinflamatorio tal vez es debido a la inhibición de la producción de prostaglandinas e inhibición de radicales de óxido nítrico (ambos vasodilatadores). Por lo tanto, no hubo permeabilidad vascular o ésta disminuyó y con ello se redujo o inhibió la infiltración de neutrófilos y por consecuencia su activación, disminuyendo la inflamación (Gaspani *et al.*, 2002; Salvemini *et al.*, 1996).

Errasti *et al.* (2013) concluyeron que en todos los modelos de inflamación evaluados en ratas existió una respuesta significativa en la disminución de la inflamación al suministrar una dosis de 180 mg kg<sup>-1</sup> de proteasas liofilizadas, atribuyendo una respuesta directa a la actividad proteolítica de estas enzimas.



Cuadro 5. Actividades biológicas de extractos obtenidos de frutos de *Bromelias*.

| Actividad      | Especie                             | Parte de la planta | Extracto   | Modelo   | Dosis  | Efecto  | Referencia  |
|----------------|-------------------------------------|--------------------|--|--|--|---|---|
| Citotoxicidad  | <i>Bromelia pinguin</i> L.          | Fruto              | Etanólico  | <i>Artemia salina</i> .  | 10-1000 µg mL <sup>-1</sup>                              | Baja toxicidad con una CL <sub>50</sub> de 1000 µg mL <sup>-1</sup> .   | Abreu et al. (2001); Abreu et al. (2005a)             |
|                | <i>Bromelia anthicanta</i> Berthol. | Fruto              | Etanólico  | <i>Artemia salina</i> .  | 100, 250, 500, 750 y 1000 µg mL <sup>-1</sup>            | Actividad citotóxica moderada del extracto etanólico con una CL <sub>50</sub> de 360 µg mL <sup>-1</sup> .  | Manetti et al. (2010); Fabri y da Costa et al. (2012) |
|                | <i>Bromelia anthicanta</i> Berthol. | Fruto              | Acuoso y metanólico                              | Células de fibroblastos de ratón L929.   | 0.01, 1, 10, 100, 1000 µg mL <sup>-1</sup>               | Sólo el extracto metanólico tuvo una reducción de la viabilidad del 20 % a las 48 h en cualquier concentración.   | Santos et al. (2009)                                  |
| Antihelmíntica | <i>Bromelia pinguin</i> L.          | Fruto              | Etanólico  | <i>Lumbricus terrestris</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> .   | 10 % de extracto etanólico:agua (v/v)                    | Actividad antihelmíntica superior a piperazina al 2 %.  | Abreu et al. (2001); Abreu et al. (2005a)             |
| Antibacteriana | <i>Bromelia pinguin</i> L.          | Fruto              | Etanólico  | <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.   | 10 % de extracto etanólico:agua                          | No se observó inhibición en los microorganismos evaluados.  | Abreu et al. (2001); Abreu et al. (2005a)             |
|                | <i>Bromelia pinguin</i> L.          | Fruto              | Etanólico  | <i>Candida albicans</i> (5 especies), <i>Trichophyton</i> spp. (9 especies), <i>Paecilomyces variotii</i> ATCC 22319.  |  | No se observó un efecto inhibitorio para <i>Candida</i> spp., pero si para <i>Trichophyton</i> spp. y <i>Paecilomyces variotii</i> con una concentración mínima inhibitoria de 32 mg mL <sup>-1</sup> . | Camacho-Hernández et al. (2002)                       |
|                | <i>Bromelia pinguin</i> L.          | Fruto              | Etanólico, acuoso, acetato de etilo              | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213, <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212, <i>Salmonella typhi</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922. | 50 µL de extracto a 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup> | Las fracciones polares mostraron actividad antimicrobiana inhibiendo los microorganismos evaluados.   | Pío-León et al. (2009)                                |
|                | <i>Bromelia pinguin</i> L.          | Fruto              | Acuoso   | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.   | 59 µL de extracto a 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup> | Concentración mínima inhibitoria para <i>E. coli</i> de 0.35 mg mL <sup>-1</sup> y para <i>S. aureus</i> de 0.68 mg mL <sup>-1</sup> .  | Ruiz-Ruiz et al. (2017)                               |
|                | <i>Bromelia balansae</i> Mez.       | Raíz, hoja y fruto | Metanólico                                       | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .  | 40 a 640 µg mL <sup>-1</sup>                             | Concentración mínima inhibitoria de 128 µg mL <sup>-1</sup> con 90 % de inhibición.   | Coelho et al. (2010)                                  |
|                | <i>Bromelia anthicanta</i> Berthol. | Fruto              | Etanólico, hexánico, metanólico Acetato de etilo | <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739) e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 8027) <i>Candida albicans</i> (ATCC 90028)   | 100 mg mL <sup>-1</sup> .                                | No presentaron actividades antibacteriana ni antifúngica.   | Manetti et al. (2010)                                 |

Cuadro 5. Continuación.

| Actividad        | Especie  | Parte de la planta | Extracto              | Modelo  | Dosis   | Efecto   | Referencia                              |
|------------------|--|--------------------|-----------------------|---|---|--|---|
|                  | <i>Bromelia anthiacanta</i> Berthol.           | Fruto              | Metanólico            | <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 15442), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536), <i>Shigella dysenteriae</i> (ATCC 13313), <i>Salmonella enterica</i> sorovar typhimurium (ATCC 13311) e <i>Enterobacter cloacae</i> (ATCC 10699). | 50 µL de extracto a concentración de 5 mg mL <sup>-1</sup> .                  | Acción inhibitoria solo en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Escherichia coli</i> .                             | Fabri y da Costa et al. (2012)          |
| Hipoglucémico    | <i>Bromelia plumieri</i> (E. Morren). L.B. Sm. | Hoja               | Acuoso y etanólico    | Ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina-nicotinamida.   | 35 y 350 mg kg <sup>-1</sup> acuoso, 30 y 350 mg kg <sup>-1</sup> etanólico.  | Hipoglucemia después de 120 min de tratamiento, en cualquiera de los dos extractos.                              | Andrade-Cetto y Medina-Hernández (2013) |
| Antiinflamatoria | <i>Bromelia hieronymi</i> Mez.                 | Fruto              | Proteasas liofilizada | Ratas Wistar albino inducidas a edema inflamatorio con carragenina.   | 45, 90, y 180 mg kg <sup>-1</sup> de proteasa por kg de peso.                 | Máxima actividad antiinflamatoria a las 5 h, 78 % de disminución de la inflamación con 180 mg kg <sup>-1</sup> . | Errasti et al. (2013)                   |
| Antitumoral      | <i>Bromelia fastuosa</i> Lindl.                | Fruto              | Fastuosaina           | Ratones C57Bl/6 con metástasis tumoral y células B16F10-Nex2 de melanoma murino.  | <i>In vivo</i> 60 µg por animal, <i>in vitro</i> 5 y 10 µg mL <sup>-1</sup> . | Efecto antitumoral. Invoca el agotamiento proteolítico y pérdida de adherencia de las células del tumor.         | Guimarães-Ferreira et al. (2007)        |

CL<sub>50</sub>: concentración letal media; UFC: Unidades formadoras de colonias.

Guimarães-Ferreira et al. (2007) estudiaron el efecto antitumoral *in vivo* (Ratones C57Bl/6 con metástasis tumoral) e *in vitro* (células B16F10-Nex2 de melanoma murino) de la fastuosaina, cisteína proteasa obtenida de frutos de *B. fastuosa* Lindl. Los autores concluyeron que la fastuosaina tiene efecto antitumoral en concentraciones *in vivo* de 60 µg mL<sup>-1</sup> e *in vitro* de 5 y 10 µg mL<sup>-1</sup>.

Las células tumorales tratadas con fastuosaina mostraron pocos nódulos formados, con una reducción en la expresión de la CD44, glicoproteína encargada de la adhesión celular, por lo que es un componente importante para la migración de células tumorales. Se presentó una pérdida de extensión celular proangiogénico endotelial y un aumento de anticuerpos citotóxicos al tumor, elevados por la fastuosaina, y se formaron grupos pequeños de células unidas en suspensión. Además de reducir la expresión de CD44, la fastuosaina, en un modelo de colonización de melanoma de pulmón de murino B16F10-Nex2, inhibió la colonización en pulmón, demostrando que esta enzima tiene mayor actividad sobre células tumorales que sobre células normales; por lo tanto, las propiedades de la fastuosaina se deben en principio al efecto de la enzima

directamente sobre células tumorales tanto *in vivo* como *in vitro*, así como también a un efecto de inmunización, que incrementa la cantidad de anticuerpos y un probable aumento de la citotoxicidad, que promueve la eliminación de células tumorales.

La actividad catalítica de las cisteína proteasas depende de la reactividad del grupo tiol del residuo de cisteína del centro activo, el cual rompe enlaces peptídicos de otras proteínas (Barret et al., 2013). Las cisteína proteasas se absorben bien en el intestino delgado después de ser administradas vía oral y no tienen efectos secundarios importantes, incluso después de uso prolongado; por tanto, se sugiere que las cisteína proteasas pueden ser utilizadas como un eficaz suplemento alimenticio para prevenir enfermedades (Pavan et al., 2012; Salas et al., 2008).

Por lo tanto, las cisteína proteasas de *Bromelia* presentan actividades biológicas importantes que pueden ser usadas en la medicina alternativa. A largo plazo, las cisteína proteasas se perfilan como candidatas prometedoras para el desarrollo de terapias enzimáticas por vía oral, pero se requiere de mayores investigaciones.

## ESTUDIOS TECNOLÓGICOS DE PROTEASAS DE FRUTOS DE *Bromelia*

El uso de enzimas se ha convertido en una parte indispensable de los procesos utilizados por la industria de alimentos para producir una amplia y diversificada gama de productos para el consumo humano y animal (Shahidi y Janak Kamil, 2001). Hasta ahora las dos proteasas vegetales comerciales más usadas a nivel industrial son la papaína y la bromelina, para la producción de cerveza, panificación, tenderización de carnes y obtención de hidrolizados proteicos (Feijo-Siota y Villa, 2011; Moutim *et al.*, 1999).

Las proteasas identificadas y purificadas de frutos de *Bromelia* representan una alternativa atractiva al empleo de la papaína o la bromelina en la industria alimentaria, debido a que se ha demostrado que pueden tener estabilidad a temperaturas elevadas y actúan en un mayor rango de pH (Montes *et al.*, 1990); entre ellas se encuentran las mencionadas en el Cuadro 4.

Existen estudios científicos y tecnológicos realizados sobre el uso de proteasas de frutos del género *Bromelia*. Bruno *et al.* (2010) evaluaron la elaboración de queso con hieronimaína. Dichos autores encontraron que la hieronimaína fue capaz de coagular la leche; la fracción de k-caseína, directamente implicada en la formación de la coagulación comenzó a degradarse después de 10 min de reacción, mientras que la degradación de las otras fracciones de caseína avanzó lentamente, lo que garantizó la producción de una cuajada firme, sin evidencia de hidrólisis extensiva, condición necesaria para la elaboración de quesos. En la evaluación sensorial, los panelistas aceptaron los quesos que se fabricaron tanto con quimosina como con hieronimaína. Los autores concluyeron que esta preparación enzimática podría ser apropiada para la elaboración de queso como alternativa al combinarse con cuajo de ternera, pero es necesario realizar investigaciones adicionales sobre el rendimiento del queso, los efectos sobre el envejecimiento y la estabilidad de la preparación enzimática durante el almacenamiento; sin embargo, esas proteasas vegetales no se producen de manera comercial, ya que los frutos son cosechados de plantas silvestres, por lo que hasta hoy no podrían sustituir a la quimosina.

Por su parte, García y Penna (2010) estudiaron la combinación de quimosina y fastuosaina con diferentes actividades enzimáticas en la elaboración de queso bajo en grasa. La respuesta de hidrólisis durante la elaboración de los quesos dependió de la actividad enzimática de la fastuosaina, entre mayor actividad menor fue la firmeza de los quesos. Los autores concluyeron que el uso de la fastuosaina extraída del fruto verde de *B. fastuosa* podría ser una interesante alternativa para la mejora de la calidad de que-

sos, ya que se mejoró la calidad de este producto bajo en grasa, no afectó la derretibilidad, ni produjo sabor amargo, una característica común en quesos bajos en grasa.

Otros estudios tecnológicos importantes con el uso de enzimas vegetales son los hidrolizados proteicos. En las últimas décadas los hidrolizados de proteínas han sido ampliamente estudiados debido a que se descubrió que en ellos se tenía la presencia de péptidos bioactivos (Harnedy y FitzGerald, 2012).

Los péptidos bioactivos encontrados en los hidrolizados son fragmentos específicos (2 a 20 residuos de aminoácidos) de proteínas que además de actuar como fuentes de nitrógeno y aminoácidos, tienen numerosas funciones fisiológicas en el organismo humano. Entre las actividades biológicas reportadas se incluyen como inmunomoduladores, antimicrobianos, antitrombóticos, antihipertensivos, antioxidantes, entre otros, debido a que los pequeños péptidos se absorben más rápidamente en el intestino (Cheung y Li-Chan, 2014; Harnedy y FitzGerald, 2012; Spellman *et al.*, 2009). El uso de proteasas de frutos de *Bromelia* para obtener hidrolizados proteicos son casi nulos, por lo que en esta revisión se mencionan las únicas investigaciones reportadas.

Briones-Martínez *et al.* (1994) estudiaron el uso de la hemisfericina, proteasa obtenida de *B. hemisphaerica* L. en la solubilización de proteínas de pescado. Los autores demostraron la eficiencia de esta proteasa en la producción de hidrolizados de buena calidad nutricional, con un balance proporcionado de aminoácidos esenciales. También se reportó que estas proteasas hidrolizan eficazmente las proteínas adjuntas de la malta y son capaces de mejorar propiedades funcionales de proteínas vegetales de interés alimentario.

Bruno *et al.* (2010) evaluaron la capacidad de hidrólisis de hieronimaínas, utilizando como sustrato caseína y proteínas de suero láctico. Para evaluar la capacidad de hidrólisis se identificó la presencia o ausencia de las fracciones de caseína por análisis electroforético después de la proteólisis. Los autores reportaron que estas enzimas fueron capaces de hidrolizar la caseína y la proteína del suero de bovino debido a que corroboraron la presencia de las fracciones de caseína ( $a_{s1}$ -caseína,  $a_{s2}$ -caseína, b-caseína y k-caseína) en los hidrolizados, por lo que estas enzimas también se pueden utilizar para la obtención de hidrolizados ricos en péptidos con potencial biológico.

El estudio más recientemente reportado sobre el uso de proteasas para la obtención de hidrolizados ricos en péptidos bioactivos es con la enzima balansaina R, contenida en el extracto proteolítico obtenido de frutos maduros de

*B. balansae* Mez. Se encontró que la balansaina R hidroliza las proteínas de suero de leche bovina comercial (WPC 80) degradando la  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina en 80 y 15 %, respectivamente, después de 120 min. Los péptidos obtenidos tuvieron tamaños de 5-15 kDa y mostraron actividad antioxidante mayor que la leche sin hidrolizar (Prosipiti et al., 2015).

## CONCLUSIONES

Los estudios sobre extractos de frutos del género *Bromelia* demuestran que éstos tienen características nutricionales importantes, ya que son fuente de vitamina C y algunos minerales como el calcio, potasio y fósforo. Los extractos presentan actividad antibacteriana, antihelmíntica, hipoglucemiante, antiinflamatoria y antitumoral, por lo que pueden aprovecharse en la industria farmacéutica. Las especies estudiadas en *Bromelia* también representan una alternativa en la industria de alimentos. El número de proteasas de origen vegetal que se emplean industrialmente es todavía muy pequeño, pero está creciendo poco a poco debido a la abundancia relativa en algunas plantas y a sus atractivas características enzimáticas. Esto ha conducido a la selección de proteasas de diferentes especies de plantas silvestres para su aislamiento y caracterización con el fin de evaluar su potencial biotecnológico en el proceso de alimentos. Las investigaciones deben continuar en el futuro para aportar evidencias que esclarezcan con mayor certeza el efecto del consumo de frutos de *Bromelia* en la salud.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abreu P. J., M. Miranda M., G. Toledo C. y O. Castillo G. (2001) Actividad farmacológica preliminar del fruto de *Bromelia pinguin* L. (piña de ratón). *Revista Cubana de Farmacia* 35:56-60.
- Abreu P. J., D. M. González M., A. Meneses, M. E. de la Cruz, F. Banze, M. Miranda M. y O. Ros L. (2005a) Determinación de parámetros farmacognósticos y bromatológicos y evaluación de la actividad antiparasitaria de una preparación obtenida del fruto de *Bromelia pinguin* L. que crece en Cuba. *Acta Farmacéutica Bonaerense* 24:377-382.
- Abreu P. J., W. D. Obregón, C. L. Natalucci and N. O. Caffini (2005b) Reinvestigation of the proteolytically active components of *Bromelia pinguin* fruit. *Fitoterapia* 76:540-548.
- Abreu P. J., W. D. Obregón, S. A. Trejo and N. O. Caffini (2008) Purification and characterization of four new cysteine endopeptidases from fruits of *Bromelia pinguin* L. grown in Cuba. *The Protein Journal* 27:88-96.
- Andrade-Cetto A. and A. E. Medina-Hernández (2013) Hypoglycemic effect of *Bromelia plumieri* (E. Morren) L.B. Sm., leaves in STZ-NA-induced diabetic rats. *Frontiers in Pharmacology* 4. doi: 10.3389/fphar.2013.00036.
- Argueta V. A., L. M. Cano A. y M. E. Rodarte (1994) Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Tomo II. Instituto Nacional Indigenista, Mexico, D.F. 559 p.
- Barret A. J., N. D. Rawlings and J. F. Woessner (2013) Handbook of Proteolytic Enzymes. Academic Press. London, UK. 1743 p.
- Bennett B. (2000) Ethnobotany of Bromeliaceae. In: Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation. D. H. Benzing, B. Bennet, G. Brown, M. Dimmitt, H. Luther, L. Ramírez, R. Terry and W. Till (eds.). Cambridge University Press. Cambridge, UK. pp: 587-608.
- Brien S., G. Lewith, A. Walker, S. M. Hicks and D. Middleton (2004) Bromelain as a treatment for osteoarthritis: a review of clinical studies. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1:251-257.
- Briones-Martínez R., M. C. Oliver, M. T. Cruz y M. I. Cortés-Vázquez (1994) Preparaciones enzimáticas de interés industrial con proteínas de plantas mexicanas. *Revista Latinoamericana Información Tecnológica* 5:29-38.
- Bruno M. A., M. F. Pardo, N. O. Caffini and L. M. I. López (2002) Purification of a new endopeptidase isolated from fruits of *Bromelia hieronymi* Mez. (Bromeliaceae). *Acta Farmaceutica Bonaerense* 21:51-56.
- Bruno M. A., M. F. Pardo, N. O. Caffini and L. M. I. López (2003) Hieronymain I, a new cysteine peptidase isolated from unripe fruits of *Bromelia hieronymi* Mez. (Bromeliaceae). *Journal of Protein Chemistry* 22:127-134.
- Bruno M. A., S. A. Trejo, X. F. Avilés, N. O. Caffini and L. M. I. López (2006) Isolation and characterization of hieronymain II, another peptidase isolated from fruits of *Bromelia hieronymi* Mez. (Bromeliaceae). *The Protein Journal* 25:224-231.
- Bruno M. A., S. A. Trejo, N. O. Caffini and L. M. I. López (2008) Purification and characterization of hieronymain III. Comparison with other proteases previously isolated from *Bromelia hieronymi* Mez. *The Protein Journal* 27:426-433.
- Bruno M. A., C. M. Lazza, M. E. Errasti, L. M. I. López, N. O. Caffini and M. F. Pardo (2010) Milk clotting and proteolytic activity of an enzyme preparation from *Bromelia hieronymi* fruits. *LWT-Food Science and Technology* 43:695-701.
- Buttazzoni C. M. S., N. O. Caffini, C. L. Natalucci and N. S. Priolo L. (1984) Proteasas de Bromeliaceae. I. Estudio preliminar de la fracción proteolíticamente activa presente en frutos de *Bromelia laciniosa* Mart. *Acta Farmacéutica Bonaerense* 3:33-38.
- Cabral H., A. M. Leopoldino, E. H. Tajara, L. J. Greene, V. M. Faça, R. P. Mateus, C. R. Ceron, W. A. de Souza Judice, L. Juliano and G. O. Bonilla-Rodríguez (2006) Preliminary functional characterization, cloning and primary sequence of fastuosain, a cysteine peptidase isolated from fruits of *Bromelia fastuosa*. *Protein and Peptide Letters* 13:83-89.
- Caffini N. O., C. L. Natalucci, N. S. Priolo and M. S. Buttazzoni (1988) Proteasas de Bromeliaceae. IV. Aislamiento de una fitoproteasa sulfhídrica presente en frutos de *Bromelia serra* Griseb. *Acta Farmaceutica Bonaerense* 7:9-14.
- Camacho-Hernández I. L., J. A. Chávez-Velázquez, M. J. Uribe-Beltrán, A. Ríos-Morgan and F. Delgado-Vargas (2002) Antifungal activity of fruit pulp extract from *Bromelia pinguin*. *Fitoterapia* 73:411-413.
- Chan-Quijano J. G., M. K. Pat-Canché y J. Saragos-Méndez (2013) Conocimiento etnobotánico de las plantas utilizadas en Chancah Veracruz, Quintana Roo, México. *Teoría y Praxis* 14:9-24.
- Cheung I. W. Y. and E. C. Y. Li-Chan (2014) Application of taste sensing system for characterisation of enzymatic hydrolysates from shrimp processing by-products. *Food Chemistry* 145:1076-1085.
- Chizmar F. C. (2009) Plantas Comestibles de Centroamérica. Instituto Nacional de Biodiversidad. Editorial INBio. Santo Domingo de Heredia, Costa Rica. 358 p.
- Coelho R. G., N. K. Honda, M. C. Vieira, R. L. Brum, F. R. Pavan, C. Q. F. Leite and C. A. L. Cardoso (2010) Chemical composition and antioxidant and antimycobacterial activities of *Bromelia balansae* (Bromeliaceae). *Journal of Medicinal Food* 13:1277-1280.
- Cortés-Vázquez M. I., J. L. Muñoz-Sánchez and R. Briones-Martínez (2008) Substrate specificity of a cationic peptidase from *Bromelia hemisphaerica* L. *Natural Product Communications* 3:351-355.
- Díaz P. W. A. and F. Delascio-Chitty (2007) Catálogo de plantas vasculares de Ciudad Bolívar y sus alrededores, estado Bolívar, Venezuela. *Acta Botánica Venezuelica* 30:99-161.
- Errasti M. E., N. O. Caffini, L. E. Pelzer and A. E. Rotelli (2013) Anti-inflammatory activity of *Bromelia hieronymi*: comparison with bromelain. *Planta Medica* 79:207-213.
- Espejo-Serna A., A. R. López-Ferrari, I. Ramírez-Morillo, B. K. Holst, H. E. Luther and W. Till (2004) Checklist of Mexican Bromeliaceae with notes on species distribution and levels of endemism. *Selbyana* 25:33-86.
- Espejo-Serna A., A. R. López-Ferrari and I. Ramírez-Morillo (2005) Flora de Veracruz. Bromeliaceae. Fascículo 136. Instituto de Ecología A. C. Xalapa, Veracruz. 307 p.



- Fabri R. L. e J. A. B. M. da Costa (2012) Perfil farmacognóstico e avaliação das atividades citotóxica e antibacteriana de *Bromelia antiantha* Bertol. *Revista Eletrônica de Farmácia* 9:37-48.
- FDA, Food and Drug Administration (2001) CFR - Code of Federal Regulations, Title 21. <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2016-title21-vol2/pdf/CFR-2016-title21-vol2-sec101-9.pdf> (Junio 2017).
- Feijoo-Siota L. and T. G. Villa (2011) Native and biotechnologically engineered plant proteases with industrial applications. *Food and Bioprocess Technology* 4:1066-1088.
- García G. A. C. e A. L. B. Penna (2010) Queijo prato com teor reduzido de gordura adicionado de enzima proteolítica: características físicas e sensoriais. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 69:346-357.
- Gaspani L., E. Limiroli, P. Ferrario and M. Bianchi (2002) *In vivo* and *in vitro* effects of bromelain on PGE<sub>2</sub> and SP concentrations in the inflammatory exudate in rats. *Pharmacology* 65:83-86.
- González-Salvatierra C., J. L. Andrade, R. Orellana, L. M. Peña-Rodríguez y C. Reyes-García (2013) Microambiente lumínico y morfología y fisiología foliar de *Bromelia karatas* (Bromeliaceae) en una selva baja caducifolia de Yucatán, México. *Botanical Sciences* 91:75-84.
- Guimarães-Ferreira C. A., E. G. Rodrigues, R. A. Mortara, H. Cabral, F. A. Serano, R. Ribeiro-dos-Santos and L. R. Travassos (2007) Antitumor effects *in vitro* and *in vivo* and mechanisms of protection against melanoma B16F10-Nex2 cells by fastuosain, a cysteine proteinase from *Bromelia fastuosa*. *Neoplasia* 9:723-733.
- Harnedy P. A. and R. J. FitzGerald (2012) Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: a review. *Journal of Functional Foods* 4:6-24.
- Hornung-Leoni C. T. (2011a) Bromeliads: traditional plant food in Latin America since prehispanic times. *Polibotánica* 32:219-229.
- Hornung-Leoni C. T. (2011b) Avances sobre usos etnobotánicos de las Bromeliaceae en Latinoamérica. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 10:297-314.
- Ledesma S. J. A., A. Chávez V., F. Pérez-Gil, R. E. Mendoza M. y C. Calvo C. (2010) Composición de Alimentos Miriam Muñoz de Chávez. Valor Nutritivo de los Alimentos de Mayor Consumo. 2ª edición. Mc Graw Hill Interamericana, México, D.F. 365 p.
- León-Alcalá F., L. A. Rivas-Rueda, V. M. T. Cruz, M. Castañeda-Agulló and L. M. Del Castillo (1989) Enzymes of Mexican plants XVI. Separation of multiple molecular forms of hemisphaericin and palmerin. *Revista Latinoamericana de Química* 20:133-136.
- Macció L., D. Vallés and A. M. Cantera (2013) Proteolytic enzymes from *Bromelia antiantha* as tools for controlled tissue hydrolysis in entomology. *SpringerPlus* 2:307. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-307>.
- Manetti L. M., R. H. Delaporte e A. Laverde Jr. (2009) Metabólitos secundários da família Bromeliaceae. *Química Nova* 32:1885-1897.
- Manetti L. M., A. F. Turra, O. S. Takemura, T. I. E. Svidzinski e A. Laverde Jr. (2010) Avaliação das atividades antimicrobiana, citotóxica, moluscicida e antioxidante de *Bromelia antiantha* Bertol. (Bromeliaceae). *Revista Brasileira de Plantas Medicináveis* 12:406-413.
- Martinelli, G., C. M. Vieira, M. Gonzalez, P. Leitman, A. Piratininga, A. F. da Costa and R. C. Forzza (2008) Bromeliaceae da Mata Atlântica brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. *Rodriguésia* 59:209-258.
- Martínez D. E., C. G. Bartoli, V. Grbic and J. J. Guimet (2007) Vacuolar cysteine proteases of wheat (*Triticum aestivum* L.) are common to leaf senescence induced by different factors. *Journal of Experimental Botany* 58:1099-1107.
- Maurer H. R. (2001) Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. *CMLS Cellular and Molecular Life Sciences* 58:1234-1245.
- Mondragón C. D. M., I. M. Ramírez M., M. M. Flores C. y J. G. García F. (2011) La Familia Bromeliaceae en México. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Texcoco, México. 100 p.
- Monteiro, R. F., A. Mantovani and R. C. Forzza (2015) Morphological phylogenetic analysis of two early-diverging genera of Bromelioideae (Bromeliaceae). *Rodriguésia* 66:505-521.
- Montes C., M. Amador, D. Cuevas and F. Cordoba (1990) Subunit structure of karatasin, the proteinase isolated from *Bromelia plumieri* (karatas). *Agricultural and Biological Chemistry* 54:17-24.
- Moreno-Hernández, J. M., X. D. Hernández-Mancillas, E. L. Coss N., M. A. Mazorra-Manzano, I. Osuna-Ruiz, V. A. Rodríguez-Tirado and J. A. Salazar-Leyva (2017) Partial characterization of the proteolytic properties of an enzymatic extract from "Aguama" *Bromelia pinguin* L. fruit grown in Mexico. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 182:181-196.
- Moutim V., L. G. Silva, M. T. P. Lopes, G. W. Fernandes and C. E. Salas (1999) Spontaneous processing of peptides during coagulation of latex from *Carica papaya*. *Plant Science* 142:115-121.
- Moyano D. D., M. Osorio R., E. Murillo P., W. Murillo A., J. Solanilla D., J. Méndez A. y J. Aristizabal S. (2012) Evaluación de parámetros bromatológicos, fitoquímicos y funcionalidad antioxidante de frutos de *Bromelia karatas* (Bromeliaceae). *Vitae* 19:S439-S441.
- Pardo M. F., L. M. I. López, F. Canals, F. X. Avilés, C. L. Natalucci and N. O. Caffini (2000) Purification of balansain I, an endopeptidase from unripe fruits of *Bromelia balansae* Mez. (Bromeliaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:3795-3800.
- Pardo M. F., L. M. I. López, N. O. Caffini and C. L. Natalucci (2001) Properties of a milk clotting protease isolated from fruits of *Bromelia balansae* Mez. *Biological Chemistry* 382:871-874.
- Pavan R., S. Jain, Shradha and A. Kumar (2012) Properties and therapeutic application of bromelain: a review. *Biotechnology Research International* 2012. doi:10.1155/2012/976203.
- Pierce S. (2000) The use of *Tillandsia* species in ritual adornment in Qosqo, Peru. *Journal of the Bromeliad Society* 50:195-201.
- Pío-León J. F., G. López-Angulo, O. Paredes-López, M. J. Uribe-Beltrán, S. P. Díaz-Camacho and F. Delgado-Vargas (2009) Physicochemical, nutritional and antibacterial characteristics of the fruit of *Bromelia pinguin* L. *Plant Foods for Human Nutrition* 64:181-187.
- Prospitti A., L. N. Cancelarich, J. Peraldo, C. L. Natalucci and M. F. Pardo (2015) Balansain R, a new proteolytic preparation for the production of antioxidant peptides from bovine whey. *Latin American Journal of Pharmacy* 34:1387-1395.
- Rondón R. J. A. (2003) Temas etnobotánicos. Vocablos Piaroa de algunas artesanías de origen forestal del estado Amazonas, Venezuela. *Revista Forestal Latinoamericana* 34:71-86.
- Ruiz-Ruiz J. J., J. Ramón-Sierra, C. Arias-Argaez, D. Magaña-Ortiz and E. Ortiz-Vázquez (2017) Antibacterial activity of proteins extracted from the pulp of wild edible fruit of *Bromelia pinguin* L. *International Journal of Food Properties* 20:220-230.
- Salas C. E., M. T. R. Gomes, M. Hernandez and M. T. P. Lopes (2008) Plant cysteine proteinases: evaluation of the pharmacological activity. *Phytochemistry* 69:2263-2269.
- Salvemini D., Z. Q. Wang, P. S. Wyatt, D. M. Bourdon, M. H. Marino, P. T. Manning and M. G. Currie, (1996) Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. *British Journal of Pharmacology* 118:829-838.
- Santos V. N. C., R. A. de Freitas, F. C. Deschamps and M. W. Biavatti (2009) Ripe fruits of *Bromelia antiantha*: investigations on the chemical and bioactivity profile. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 19:358-365.
- Shahidi F. and Y. V. A. Janak Kamil (2001) Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry. *Trends in Food Science and Technology* 12:435-464.
- Spellman D., G. O'Cuinn and R. J. FitzGerald (2009) Bitterness in *Bacillus* proteinase hydrolysates of whey proteins. *Food Chemistry* 114:440-446.
- Torres-Piedra M., R. Ortiz-Andrade, R. Villalobos-Molina, N. Singh, J. L. Medina-Franco, S. P. Webster, M. Binnie, G. Navarrete-Vázquez and S. Estrada-Soto (2010) A comparative study of flavonoid analogues on streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats: Quercetin as a potential antidiabetic agent acting via 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibition. *European Journal of Medicinal Chemistry* 45:2606-2612.
- Vallés D., S. Furtado and A. M. B. Cantera (2007) Characterization of new proteolytic enzymes from ripe fruits of *Bromelia antiantha* Bertol. (Bromeliaceae). *Enzyme and Microbial Technology* 40:409-413.



