

# Capacidade Antioxidante e Estabilidade Oxidativa de *Gengiber officinale*

## Antioxidant Capacity and Oxidative Stability of *Gengiber officinale*

Denise Andreo<sup>a</sup>; Neuza Jorge<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual Paulista, SP, Brasil

\* E-mail: njorge@ibilce.unesp.br.

Recebido: 04 de Agosto de 2010. Aceito: 06 de Dezembro de 2010.

### Resumo

Os principais objetivos deste trabalho foram avaliar a capacidade antioxidante e determinar a concentração de compostos fenólicos totais do extrato etanólico de gengibre, bem como verificar seu comportamento, por meio da estabilidade oxidativa, quando adicionado em óleo de soja, nas concentrações 0, 500, 1000, 1500, 2000 e 2500 mg/kg. A atividade antioxidante máxima e o valor de  $EC_{50}$ , concentração de extrato para atingir 50% da atividade antioxidante, determinados pelo método do radical livre DPPH foram 79,1% e 42,6 µg/mL, respectivamente. A concentração de compostos fenólicos totais, determinada pelo método de Folin-Ciocalteu, foi de 251 mg/g. O Período de Indução (PI) das amostras avaliadas aumentou conforme o aumento da concentração de extrato no óleo, quando avaliado pelo método da Estabilidade Oxidativa, utilizando-se o equipamento Rancimat. Foi possível concluir, portanto, que o extrato de gengibre possui ação efetiva contra a oxidação lipídica e pode ser aplicado em alimentos como antioxidante natural.

**Palavras-chave:** Gengibre. Compostos fenólicos. Oxidação.

### Abstract

*The main objectives of this work were to evaluate the antioxidant activity and to determine of an ethanolic ginger extract total phenolic compounds concentration, as well as verifying its behavior by means of the oxidative stability, when added to refined soybean oil in concentrations of 0, 500, 1000, 1500, 2000 and 2500 mg/kg. The maximum antioxidant activity and  $EC_{50}$  concentration of the extract to achieve 50% of the antioxidant activity, value determined by free radical DPPH method were 79.1% and 42.6 g/mL, respectively. The total phenolic compounds concentration, determined to Folin-Ciocalteu method, was 251 mg/g. The induction period of the samples increased according to the augment of the extract concentration in the oil when evaluated using oxidative stability through the Rancimat equipament. It was possible to conclude that the ginger extracts possess effective action against the lipid oxidation and can be applied in foods as natural antioxidant.*

**Key words:** *Ginger. Phenolic Compounds. Oxidation.*

### 1 Introdução

Os recursos naturais continuam sendo importantes fontes de substâncias bioativas e precursores com grande potencial terapêutico, não apenas pelo vasto número de espécies vegetais com propriedades medicinais inexploradas, mas principalmente pela variedade de metabólitos primários e secundários por elas sintetizados. Uma porcentagem considerável da população que vive em países em desenvolvimento faz uso da medicina tradicional, incluindo especiarias e plantas medicinais nos cuidados primários da saúde<sup>1</sup>.

A busca de novos agentes farmacologicamente ativos, através da triagem de fontes naturais, tem levado à descoberta de muitos fármacos úteis clinicamente e que desempenham importante papel no tratamento de várias doenças. Especificamente na terapia de enfermidades infecciosas e do câncer, estima-se que mais de 75 e 60%, respectivamente, dos fármacos atualmente empregados são derivados de fontes naturais, sendo muito deles compostos com atividade antioxidante que podem agir em diversos níveis da sequência oxidativa nos sistemas biológicos<sup>2,3</sup>.

O gengibre (*Gengiber officinale*), pertencente à família *Zingiberaceae*, é uma planta herbácea perene, cujo rizoma é amplamente comercializado em função de seu emprego alimentar e industrial, especialmente como matéria-prima para fabricação de bebidas, perfumes e produtos de confeitaria como pães, bolos, biscoitos e geléias<sup>4,5</sup>.

Esta especiaria é comumente utilizada devido ao seu aroma doce e sabor pungente. O rizoma de gengibre também é conhecido devido sua atividade antioxidante. Estas características devem-se à presença dos gingeróis, gingeronas e shogaóis, compostos presentes no gengibre, que conferem seu sabor e aroma característicos. No gengibre fresco, os gingeróis são os principais componentes ativos identificados, sendo que o gingerol (5-hidróxi-3-metóxi fenil) é o constituinte mais abundante da série dos gingeróis<sup>6</sup>.

Inúmeros compostos naturais encontrados em frutas, cereais, vegetais e especiarias apresentam atividade antioxidante. Entre os mais importantes antioxidantes naturais estão os compostos fenólicos (flavonóides, ácidos fenólicos e taninos), compostos nitrogenados (alcalóides, aminoácidos,

peptídios, aminas e derivados da clorofila), carotenóides, tocoferóis e ácido ascórbico<sup>7,8</sup>.

Em estudo realizado por Zancan *et al.*<sup>9</sup>, concluiu-se que a atividade antioxidante da oleoresina de gengibre deve-se principalmente aos gingeróis e shogaóis, substâncias que conferem ao gengibre *in natura* seu sabor característico.

Estudos anteriores comprovam que a extração dos compostos bioativos do gengibre é mais eficiente quando são utilizados solventes com polaridade intermediária, como o grupo dos alcoóis, por exemplo<sup>10,11</sup>.

A extração com solventes é frequentemente utilizada para o isolamento dos compostos bioativos e determinação da atividade antioxidante dos extratos. Porém, o composto extraído varia conforme o tipo de solvente utilizado para a extração, pois existem diferenças nos potenciais antioxidantes e em sua polaridade<sup>12,13</sup>.

Existem diversas técnicas de análise, utilizadas para a identificação e quantificação de antioxidantes naturais, dentre elas pode-se citar o TBA (valor do ácido tiobarbitúrico); a determinação dos compostos fenólicos totais; o sistema do  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico; a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE); e as técnicas de detecção de sequestradores de radicais livres, como o 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) e o 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)<sup>14</sup>.

No teste do radical DPPH, a ação é acompanhada pelo monitoramento da diminuição da absorvância a 515 nm, que ocorre devido sua reação com algum antioxidante ou com algum radical livre (R\*)<sup>15</sup>.

O DPPH é um radical livre, estável à temperatura ambiente, que produz coloração violeta quando em contato com etanol. Este radical é reduzido na presença de uma molécula de antioxidante doadora de hidrogênio. O DPPH captura os hidrogênios mudando a coloração de violeta para amarelo, passando para sua forma estável DPPH-H. O radical DPPH mostra forte banda de absorção em 515 nm.

Estudos demonstraram que a interação entre um antioxidante potencial com o DPPH depende de sua conformação estrutural. O número de moléculas de DPPH reduzidas está relacionado com o número de grupos hidroxilas disponível no composto antioxidante<sup>15</sup>.

Os principais objetivos deste trabalho foram obter a avaliação da capacidade antioxidante do extrato etanólico de gengibre e a determinação dos compostos fenólicos totais presentes neste extrato, além de verificar seu comportamento, quando adicionado ao óleo de soja em diferentes concentrações, em termos de estabilidade oxidativa.

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Material

Neste trabalho utilizou-se óleo de soja refinado, sem adição de antioxidantes sintéticos, em embalagens contendo 900 mL, adquiridos no comércio do município de Uberlândia-MG.

Os rizomas de gengibre (*Gengiber officinale*) *in natura* foram adquiridos no comércio do município de São José do Rio Preto-SP. O material foi fatiado, colocado em bandejas de alumínio e desidratado em estufa com circulação de ar à temperatura de 55 °C durante 24 horas. Em seguida, triturou-se o material desidratado em moinho de facas, até a obtenção de pó fino. O gengibre em pó foi armazenado em embalagem de vidro tampada, inertizado com fluxo de nitrogênio e congelado a -18 °C até o momento da utilização.

### 2.2 Método

#### 2.2.1 Obtenção do extrato etanólico de gengibre

O extrato etanólico de gengibre (EG) foi obtido de acordo com a metodologia descrita por Rehman *et al.*<sup>11</sup>. O gengibre desidratado (10 g) foi mantido sob agitação permanente, em etanol (100 mL), à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) durante 12 horas e, em seguida, centrifugado a 3000 rpm, por 10 minutos. Após a transferência do sobrenadante, o precipitado foi novamente submetido ao processo de extração nas mesmas condições anteriormente explicitadas, e os sobrenadantes resultantes de cada extração foram combinados. Em seguida, foi procedida a remoção do solvente utilizado para a obtenção do extrato etanólico, sob pressão reduzida a 40 °C, cujo rendimento foi de 5,8%.

O extrato seco foi então ressuspensão em etanol, obtendo-se uma solução-estoque, utilizada para aplicação direta no óleo de soja. A ressuspensão do extrato seco em etanol foi na proporção de 1:10.

#### 2.2.2 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada utilizando-se o método do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), descrito por Mensor *et al.*<sup>16</sup>. Preparou-se uma solução etanólica com concentração de 1 mg/mL de extrato de gengibre. A cada amostra desta solução (2,5 mL) foi adicionado 1 mL de solução de DPPH (0,3 mM) em diferentes concentrações (125, 100, 50, 25 e 10 µg/mL). Após 30 minutos de reação a absorvância foi lida a 518 nm e convertida em porcentagem de atividade antioxidante (AA) usando a fórmula: AA (%) = 100 - {[Abs<sub>amostra</sub> - Abs<sub>branco</sub>] x 100} / Abs<sub>controle</sub> }.

Um controle foi feito com 2,5 mL de etanol e 1 mL de DPPH (controle negativo) e um branco foi realizado para o extrato (2,5 mL) e 1 mL de etanol, para todas as concentrações.

Esta metodologia permite a determinação do valor EC<sub>50</sub> (µg/mL), definido como a concentração de extrato natural suficiente para atingir 50% da atividade antioxidante máxima, estimada em 100%, obtida por regressão linear.

#### 2.2.3 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram quantificados colorimetricamente no extrato etanólico de gengibre pelo método de Folin-Ciocalteu, segundo metodologia descrita por Singleton e Rossi<sup>17</sup>. Este método baseia-se na redução dos

ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico em solução alcalina, e é o mais utilizado para a determinação de compostos fenólicos totais em alimentos.

Neste procedimento, pipetou-se 100  $\mu\text{L}$  da solução de extrato natural em tubos de ensaio e adicionou-se 500  $\mu\text{L}$  do reagente de Folin-Ciocalteu. Em seguida, adicionou-se 1,5 mL de solução saturada de carbonato de sódio 20% e 6 mL de água destilada. Esta mistura permaneceu em repouso por 2 horas sob temperatura ambiente, e a absorbância foi determinada a 765 nm.

A cor azul produzida pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos compostos fenólicos é medida espectrofotometricamente, neste comprimento de onda. Para a quantificação, foi feita uma curva padrão utilizando ácido gálico em concentrações de 0 a 500 mg/L.

#### 2.2.4 Estabilidade oxidativa

O extrato de gengibre foi aplicado ao óleo de soja em diferentes concentrações (0, 500, 1000, 1500, 2000 e 2500 mg/kg), com o objetivo de avaliá-lo quanto à sua estabilidade oxidativa. Utilizou-se o equipamento Rancimat (Metrohm), com fluxo de ar 20 L/h e temperatura de 100 °C, segundo método proposto pela AOCS<sup>18</sup>. A concentração de extrato etanólico de gengibre considerada de maior eficiência contra a oxidação lipídica foi aquela que apresentou maior período de indução, em horas.

Os resultados obtidos nas duas repetições da estabilidade oxidativa foram submetidos às análises de variância para estudar a regressão polinomial<sup>19</sup> e determinar a influência das concentrações sobre a estabilidade oxidativa dos óleos acrescidos de antioxidantes.

### 3 Resultados e Discussão

O valor de  $EC_{50}$  obtido por regressão linear, para o extrato de gengibre, mostrou elevado coeficiente de determinação, que foi  $R^2 = 0,9908$ . Os valores de atividade antioxidante máxima e  $EC_{50}$  atingidos pelo extrato de gengibre foram de 79,1% e 42,6  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente.

Vários autores têm encontrado em diferentes variedades de especiarias altos níveis de atividade antioxidante<sup>20,21</sup>. Estudo realizado por Sousa *et al.*<sup>15</sup> encontrou atividade antioxidante superior a 60% para os extratos etanólicos de folhas de *T. brasiliensis*, *T. fagifolia*, *C. macrophyllum*, *Q. grandiflora*, atingindo máximo de 91,36% para o extrato de *T. brasiliensis* contra 94,84% para o ácido gálico e 89,25% para a rutina.

A concentração de compostos fenólicos totais encontrada foi de 251 mg de equivalentes de ácido gálico por grama de extrato. A extração de compostos fenólicos de produtos naturais é fortemente influenciada pelo solvente utilizado<sup>12</sup>. Tem sido observado que quanto maior a polaridade do solvente de extração, maior a quantidade de compostos fenólicos extraídos<sup>22</sup>. Neste trabalho, a extração de fenólicos pode ter sido influenciada pelo potencial do solvente utilizado,

o etanol, que possui polaridade intermediária.

Kaur e Kapoor<sup>10</sup> avaliaram a atividade antioxidante e os compostos fenólicos totais do extrato etanólico de gengibre e encontraram porcentagem de atividade antioxidante de 71,8, próxima à encontrada neste estudo, que foi de 79,1%. Porém, o teor de compostos fenólicos totais encontrado por estes autores foi de 221,3 mg de catequina por 100g de extrato. Vale ressaltar que a curva-padrão utilizada neste trabalho, para a determinação dos compostos fenólicos totais, foi determinada com concentrações de ácido gálico. Mansour e Khalil<sup>23</sup> encontraram 77,4% de atividade antioxidante para o extrato etanólico de gengibre, em seu experimento.

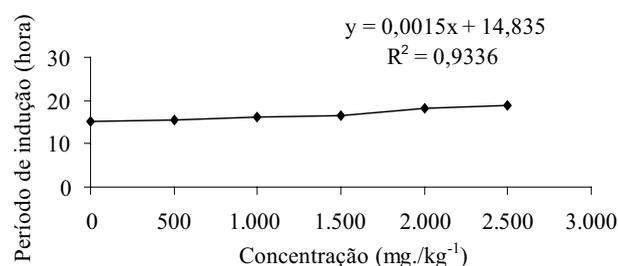
Em estudo realizado por Rababah *et al.*<sup>24</sup>, o extrato de gengibre atingiu apenas 6% de atividade antioxidante, e a quantidade de compostos fenólicos totais encontrada foi de 39,9 mg de equivalentes em ácido clorogênico por g de extrato.

Sabe-se que o gengibre atua como antioxidante quando utilizado individualmente e também sinergicamente com outras especiarias. Shobana e Naidu<sup>25</sup> obtiveram resultado positivo para o extrato de gengibre, em extração etanol:água (1:1), quanto à inibição da peroxidação lipídica, em sistema biológico. Neste experimento, o valor de  $EC_{50}$  (concentração que inibiu 50% da atividade enzimática) encontrado para o extrato de gengibre foi de 7,5 mg, sendo que a combinação de gengibre com alho (1:1), inibiu cerca de 80% da peroxidação lipídica.

Em estudo realizado por Murcia *et al.*<sup>5</sup>, o extrato aquoso de gengibre inibiu cerca de 74% da peroxidação lipídica, aplicado na dose de 5%, reafirmando a eficiência do extrato de gengibre como antioxidante natural.

Para avaliar a concentração mais efetiva de extrato etanólico de gengibre, foram aplicadas concentrações de 0, 500, 1000, 1500, 2000 e 2500 mg/kg de extrato no óleo de soja e a estabilidade oxidativa foi determinada.

A figura 1 ilustra o gráfico da regressão linear obtida pelo efeito das concentrações de EG, cujo coeficiente de determinação foi  $R^2 = 0,9336$ .



**Figura 1:** Período de indução da oxidação em função da concentração de extrato de gengibre

Verifica-se, pela análise da figura 1, que é possível estabelecer relação entre a estabilidade oxidativa e as

concentrações de extrato natural no óleo de soja. Observa-se que a reta indica ação antioxidante crescente das concentrações, ou seja, à medida que se aumenta a concentração de extrato no óleo, a tendência é o aumento da estabilidade oxidativa.

De acordo com a equação da regressão linear observada na figura 1, pode-se determinar o período de indução correspondente às concentrações utilizadas, para o extrato etanólico de gengibre. Com relação ao controle (óleo de soja), o período de indução correspondente foi de 14,84 horas e para a concentração de 2500 mg/kg foi de 18,59 horas.

Ensaio envolvendo a determinação do período de indução podem ser utilizados para avaliar a vida de prateleira de óleos vegetais. Quanto maior o período de indução em horas, maior a durabilidade do produto<sup>26</sup>. No presente trabalho, pode-se dizer que a concentração de 2500 mg/kg aumentou a vida de prateleira do óleo de soja com maior eficiência que as demais concentrações estudadas.

Em geral, as mesmas características são encontradas na literatura para a ação antioxidante dos extratos naturais, ou seja, a tendência é o aumento da atividade antioxidante conforme o aumento da concentração de extrato<sup>27,28</sup>.

Antioxidantes naturais, obtidos pela extração etanólica, têm sido avaliados como eficientes na inibição da oxidação lipídica em estudos encontrados na literatura<sup>29</sup>.

Com base nos resultados da estabilidade oxidativa, obtidos pela regressão polinomial, entre as concentrações de extrato avaliadas, a mais efetiva foi de 2500 mg/kg, para retardar da oxidação lipídica. Luzia e Jorge<sup>30</sup> estudaram o comportamento do óleo de soja adicionado de extrato de sementes de limão galego em diferentes concentrações e concluíram que a concentração de 2400 mg/kg foi a que conferiu melhor estabilidade oxidativa ao óleo.

#### 4 Conclusão

Foi possível determinar a porcentagem máxima de atividade antioxidante, por meio do método do radical livre DPPH, assim como a quantidade de compostos fenólicos totais, do extrato etanólico de gengibre, indicando a presença de atividade antioxidante do extrato estudado. Observou-se também que a estabilidade oxidativa do extrato de gengibre foi diretamente proporcional ao aumento da sua concentração no óleo de soja. Após a análise dos resultados foi possível concluir que o extrato etanólico de gengibre pode ser aplicado em óleo de soja como antioxidante natural.

#### Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa de Produtividade em Pesquisa.

#### Referências

1. Newman DJ, Cragg, GM, Snader KM. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J Nat Prod* 2003;66(7):1022-37.
2. Shoeb M. Anticancer agents from medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 2006;1(2):35-41.
3. Mariutti, LRB, Barreto, GPM, Bragagnolo, N, Mercadante AZ. Free radical scavenging activity of ethanolic extracts from herbs and spices commercialized in Brazil. *Braz Arch Biol Technol* 2008;51(6):210-5.
4. Corrêa-Júnior C, Ming LC, Scheffer MC. Cultivo de plantas medicinais, condimentos e aromáticas. Jaboticabal: Funep; 1994.
5. Murcia MA, Egea I, Romojaro F, Parras P, Jiménez AM, Martínez-Tomé M. Antioxidant evaluation in desserts spices compared with common food additives. Influence of irradiation procedure. *J Agric Food Chem* 2004;52(7):1872-81.
6. Jitoe A, Masuda T, Tengah IGP, Suprpta DN, Gara IW, Nakatani N. Antioxidant activity of tropical ginger extract and analysis of the contained curcuminoids. *J Agric Food Chem* 1992;40(8):1337-40.
7. Amarowicz R, Pegg RB, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, Weil JA. Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chem* 2004;84(4):551-62.
8. Anwar F, Naseer R, Bhangar MI, Ashraf S, Talpur FN, Aladedunye FA. Physico-chemical characteristics of citrus seeds and seed oils from Pakistan. *J Am Oil Chem Soc* 2008;85(1):321-30.
9. Zancan KC, Marques MOM, Petenate AJ, Meireles MA. Extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin with CO<sub>2</sub> and co-solvents: a study of the antioxidant action of the extracts. *J Superc Fluids* 2002;24(1):57-76.
10. Kaur C, Kapoor HC. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int J Food Sci Technol* 2002;37(2):153-61.
11. Rehman ZU, Salariya AM, Habib F. Antioxidant activity of ginger extract in sunflower oil. *J Sci Food Agr* 2003;83(7):624-9.
12. Julkunem-Tiito R. Phenolic constituents in the leaves of northern willows, methods for the analysis of certain phenolics. *J Agr Food Chem* 1985;33(2):213-7.
13. Marinova EM, Yanishlieva NVI. Antioxidant activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. *Food Chem* 1997;58(3):245-8.
14. Gordon M. Measuring antioxidant activity. In: Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M. Antioxidants in food: practical applications. Boca Raton: Woodhead; 2001.
15. Sousa CMM, Rocha e Silva H, Vieira-Jr GM, Ayres MCC, Costa CLS, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim Nova* 2007;30(2):351-5.
16. Mensor LL, Menezes FS, Leitão GG, Reis AS, Santos TC, Coube CS, et al. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother Res*. 2001;15(2):127-30.
17. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic and phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 1965;16:144-58.
18. Aocs. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society. Champaign: Aocs; 1993.
19. Banzatto DA, Kronka SN. Experimentação agrícola. Jaboticabal: Funep; 2006.

20. Guerra NB, Lajolo FM. Ação antioxidante de especiarias face diferentes atividades de água. *Ciênc Tecnol Aliment* 2005;25(1):45-50.
21. Krishnaiah D, Sarbatly R, Nithyanandam R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food Bioprod Proc* 2010. doi 10-1016/j.fbp2010.04.008.
22. Gámez-Meza N, Noriega-Rodriguez JA, Medina-Juárez LA, Ortega-García J, Cázarez-Casanova R, Angulo-Guerrero O. Antioxidant activity in soybean oil of extract from Thompson grape bagasse. *J Am Oil Chem Soc* 1999;76(12):1445-7.
23. Mansour EH, Khalil AH. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. *Food Chem* 2000;69(2):135-41.
24. Rababah TM, Hettiarachchy NS, Horax R. Total phenolics and antioxidant activities of fenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, gotu kola, and ginkgo extracts, vitamin E, and tert-butylhydroquinone. *J Agr Food Chem* 2004;52(16):5183-6.
25. Shobana S, Naidu K. A. Antioxidant activity of selected Indian spices. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2000;62(2):107-10.
26. Ramalho VC, Jorge N. Antioxidant action of rosemary extract in soybean oil submitted to thermoxidation. *Grasas Aceites* 2008;59(2):128-31.
27. Azizah AH, Ruslawati NMN, Tee TS. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. *Food Chem* 1999;64(2):199-202.
28. Lee YB, Kim YS, Ashmore CR. Antioxidant properties in ginger rhizome and its application to meat products. *J Food Sci* 1986;51(1):20-3.
29. Rehman ZU, Habib F, Shah WH. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chem* 2004;85(2):215-20.
30. Luzia DMM, Jorge J. Potencial antioxidante de extratos de sementes de limão (*Citrus limon*). *Ciênc Tecnol Aliment* 2010;30(2):489-93.

