



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO PROFESSOR ANTÔNIO GARCIA FILHO  
CURSO DE FARMÁCIA

BARUC DE JESUS COUTINHO

**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE [6]-  
GINGEROL DOS RIZOMAS DE *Zingiber officinale* Roscoe**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Lagarto  
Fevereiro, 2019

BARUC DE JESUS COUTINHO

**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE [6]-GINGEROL DOS RIZOMAS  
DE *Zingiber officinale* Roscoe**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Sergipe, Campus Universitário Professor Antônio Garcia Filho, como exigência para a obtenção do diploma de Graduação em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. James Almada da Silva

Lagarto  
Fevereiro, 2019

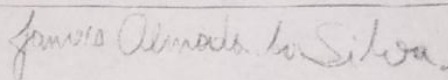
BARUC DE JESUS COUTINHO

**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE [6]-GINGEROL DOS  
RIZOMAS DE *Zingiber officinale* Roscoe**

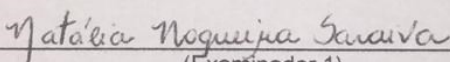
Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Universidade Federal de  
Sergipe, Campus Professor Antônio  
Garcia Filho, como exigência para a  
obtenção do Diploma de Graduação em  
Farmácia.

Orientador (a): Prof. Dr. James Almada  
da Silva

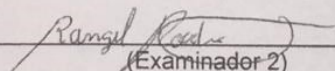
Aprovado em: 28/02/2019



(Orientador)  
Prof. Dr. James Almada da Silva



(Examinador 1)  
Prof. Dra. Natália Nogueira Saraiva



(Examinador 2)  
Prof. Dr. Rangel Rodrigues Bomfim

## OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE [6]-GINGEROL DOS RIZOMAS DE *Zingiber officinale* Roscoe

Baruc de Jesus Coutinho, Lagarto-Se, 2019.

*Zingiber officinale*, conhecido popularmente como “Gengibre”, tem sido utilizado como remédio para várias indicações, tais como: anti-inflamatório, analgésico, antiemético e carminativo. Com o aumento de estudos sobre os efeitos do Gengibre, vários outros usos terapêuticos foram elucidados, chamando atenção para o potencial neuroprotetor e antineoplásico atribuído ao Gengibre, em especial ao [6]-gingerol, componente bioativo mais abundante nos rizomas de *Z. officinale*. Assim, o objetivo do trabalho foi otimizar o processo de extração do [6]-gingerol dos rizomas de *Zingiber officinale*. As extrações utilizando os rizomas de *Z. officinale* foram executadas após sua desidratação em estufa (6 dias à 40°C e 1 dia à 80°C), seguida de pulverização. Os métodos extrativos empregados foram: maceração (24 horas); micro-ondas associada à maceração (MO: 3 min; maceração: 24 h); ultrassom associado à maceração (US: 1 h; maceração: 24 h) e turboextração associada à maceração (TE: 10 min; maceração: 24 h), utilizando etanol 95% (v/v) como solvente extrator. Estes extratos foram analisados em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e espectrofotometria UV-Vis no comprimento de onda de 280 nm. A otimização ocorreu através de um planejamento fatorial 2<sup>3</sup>, utilizando como variáveis: tipo de solvente (etanol e acetona), tempo de extração (24h e 48h) e temperatura (40°C e 50°C). Após análises estatística não foi observada diferença entre os resultados, o método de escolha para ser otimizado foi a maceração por sua simplicidade, onde foi obtido 6,22 ± 0,57 mg de [6]-gingerol e 35,31 mg/g de gingeróis. Os experimentos realizados através do planejamento fatorial durante 24h não demonstraram diferença estatística entre si, sendo o experimento que utiliza etanol, durante 24h sob 40°C, onde foi obtido 66,87 mg/g de gingeróis, o escolhido como melhor devido à baixa temperatura de operação e menor duração. Este resultado pode ser importante para a melhoria das condições de extração deste tão importante grupo de compostos bioativos, que se apresentam como promissores tratamentos para várias doenças.

**Palavras-chaves:** Gengibre; [6]-gingerol; Gingeróis; Técnicas de Extração.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Imagem da espécie <i>Zingiber officinale</i> .....	12
Figura 2: Estrutura química da molécula de [6]-gingerol.....	13
Figura 3: Quantidade de [6]-gingerol (mg/g), obtidas em cada extração analisadas em CLAE.....	26
Figura 4: Quantidade de gingeróis (mg/g), obtidas em cada extração analisadas em espectrofotometria UV-Vis.....	28
Figura 5: Concentração de gingeróis (mg/g) obtido pelas diferentes condições extrativas utilizando etanol como solvente extrator.....	30
Figura 6: Diagrama para interpretação dos dados do planejamento fatorial utilizando etanol como solvente extrator tendo como variáveis tempo de extração (24h e 48h) e temperatura (40°C e 50°C).....	31
Figura 7: Diagrama de Pareto representando a análise de variância entre os fatores na extração utilizando etanol como solvente extrator.....	32
Figura 8: Concentração de gingeróis (mg/g) obtido pelas diferentes condições extrativas utilizando acetona como solvente extrator.....	38
Figura 9: Diagrama para interpretação dos dados do planejamento fatorial utilizando acetona como solvente extrator tendo como variáveis tempo de extração (24h e 48h) e temperatura (40°C e 50°C).....	33
Figura 10: Diagrama de Pareto representando a análise de variância entre os fatores na extração utilizando etanol como solvente extrator.....	33
Figura 11: Figura 11: Concentração de gingeróis (mg/g) obtido pelas diferentes condições alterando solvente e temperatura extrativas durante 24 horas.....	34
Figura 12: Concentração de gingerol obtida nas diferentes extrações com temperaturas variadas utilizando etanol como solvente extrator.....	35

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Variáveis utilizadas no planejamento fatorial $2^3$ .....	23
Tabela 2: Massas e rendimento percentual obtidas após as extrações (Maceração: Mac; Ultrassom seguida de maceração: US-Mac; Micro-ondas seguida de maceração: MO-Mac; Turboextração seguida de maceração: TE-Mac).....	25
Tabela 3: Massas e rendimento percentual obtidas após as extrações da otimização.....	30

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PPARs - (Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma)

LH – Hormônio Luteinizante

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

Macrófagos M2 – Linhagem pró tumoral

Linfócitos TCD8+ - Células tumorocidas

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

LaSR - Proteína ativadora transcricional da *Pseudomonas aureginosa*

MHz – Quilohertz

GHz – Gigahertz

°C – Graus Celsius

V/v – volume/volume

RPM – Rotações por minuto

m/v – Massa/volume

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

UV-Vis – Ultra violeta – Visível

ANOVA – Análise de Variância

mg/g – Miligramas das substâncias/grama de Gengibre seco

EtOH – Etanol

ACET – Acetona

# SUMÁRIO

<b>1 Introdução</b> .....	<b>10</b>
<b>2 Revisão da literatura</b> .....	<b>12</b>
2.1 Zingiber officinale .....	12
2.2 Gingeróis.....	13
2.3 Benefícios farmacológicos .....	14
2.3.2 Atividade anticâncer.....	15
2.3.3 Atividade frente a desordens neurológicas.....	15
2.3.4 Atividade antimicrobiana.....	16
2.4 Métodos de extração.....	16
2.4.1 Maceração .....	16
2.4.2 Extração assistida por ultrassom .....	17
2.4.3 Extração assistida por micro-ondas .....	17
2.4.4 Extração assistida por turboextração .....	18
2.5 Planejamento fatorial .....	19
<b>3 Objetivos</b> .....	<b>20</b>
3.1 Objetivo geral .....	20
3.2 Objetivos específicos .....	20
<b>4 Material e Métodos</b> .....	<b>21</b>
4.1 Preparação do material vegetal .....	21
4.2 Maceração .....	21
4.3 Ultrassom associado à Maceração .....	21
4.4 Micro-ondas associado à Maceração.....	22
4.5 Turboextração associado à Maceração .....	22
4.6 Análise dos extratos de <i>Zingiber officinale</i> .....	22
4.6.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	22
4.6.2 Espectrofotometria UV-VIS.....	23
4.7 Otimização da extração .....	23
4.8 Análise estatística .....	24
<b>5 Resultados e Discussão</b> .....	<b>25</b>
5.1 Rendimento das massas dos extratos obtidos a partir de diferentes técnicas de extração .....	25
5.2 Quantificação do [6]-gingerol a partir de diferentes técnicas de extração.....	25

5.3 Otimização da extração .....	28
5.3.1 Rendimento das massas de gingeróis nos extratos obtidos a partir de diferentes condições de extração utilizando maceração como técnica extrativa.....	29
5.3.2 Extrações utilizando etanol como solvente extrator.....	30
5.3.4 Extrações utilizando acetona como solvente extrator.....	32
5.3.5 Comparação entre as extrações que ocorreram durante 24 horas com diferentes solventes extratores e temperatura.....	34
5.3.6 Comparação entre as massas obtidas utilizando etanol como solvente extrator durante 24 horas com diferentes temperaturas.....	35
<b>5 Conclusão .....</b>	<b>36</b>
<b>6 Referências .....</b>	<b>37</b>

# 1 Introdução

O *Zingiber officinale*, popularmente conhecido como Gengibre, tem sido uma das plantas de maior contribuição para a sociedade desde os povos antigos. Existem relatos de sua importância comercial para grandes civilizações da antiguidade como o Egito, Roma e Grécia, além de ter sido uma das especiarias mais movimentadas durante o período das grandes navegações (LAWS, 2013).

O Gengibre é originária do sudeste asiático, cultivada sazonalmente, sendo China e Índia os maiores produtores. Entretanto, seu uso é cosmopolita. É preponderantemente empregado na culinária, devido a sua característica pungente, sendo aplicado em uma infinidade de pratos. Todavia, também é utilizada no tratamento de uma extensa variedade de problemas de saúde (KRÜGER et al., 2018).

Tradicionalmente, remédios à base de Gengibre são utilizados como anti-inflamatório, analgésico, antitussígeno, antiemético, carminativo; no alívio de sintomas reumáticos e problemas relacionados à digestão (EZZAT et al., 2018). Recentemente, vem sendo amplamente utilizado para fins estéticos, por sua capacidade de auxiliar na melhoria do trânsito intestinal e auxiliar na perda de peso (SRINIVASAN, 2017)..

Esta planta é constituída por uma grande variedade de compostos bioativos que, isoladamente ou conjuntamente, exercem efeitos terapêuticos quando consumida. Dentre estes compostos, os mais abundantes são os gingeróis, com destaque para o [6]-gingerol, o metabólito secundário não volátil majoritário dos rizomas de *Zingiber officinale* (GHASEMZADEH et al., 2015). A esta substância é atribuída a pungência do Gengibre fresco, além de inúmeras aplicações farmacológicas (JUSTO et al., 2008).

O [6]-gingerol vem sendo extensivamente estudado nas mais variadas áreas, com o fim de elucidar seus mecanismos de ação frente a múltiplos problemas de saúde. Surge como protetor cardiovascular graças a sua atividade antioxidante (WANG et al., 2016), potencial tratamento a Doença de Alzheimer, antiepiléptico e anticonvulsivante (LEE et al., 2011). Além de se apresentar como antineoplásico, quimioprotetor e quimiopreventivo (JEONG et al., 2009).

Os métodos convencionais de extração de biocompostos a partir de matrizes vegetais apresentam algumas desvantagens como, a necessidade de longo tempo de

exposição, uso de grande quantidade de solventes e perda de compostos termossensíveis. Mas são metodologias que continuam em uso por sua fácil aplicação e bons rendimentos (WONG-PAZ et al., 2017).

Algumas destas técnicas alternativas já vêm sendo utilizadas para a extração de substâncias de *Zingiber officinale*. Liu, W. e colaboradores (2014) estudaram a melhor condição de extração de [6]-gingerol através da extração assistida por micro-ondas.

A extração associada a ultrassom é uma técnica versátil, de baixo custo, simples e eficiente para várias finalidades. É uma técnica em que normalmente não necessita de aquecimento, para a extração eficiente de metabólitos secundários, sendo apropriada para a extração de substâncias termolábeis (WONG-PAZ et al., 2017), desta forma pode ser aplicada para a extração de [6]-gingerol.

A turboextração é uma técnica que utiliza a força de cisalhamento liberar os princípios ativos contidos nas células vegetais. É uma técnica que opera sem a necessidade de aquecimento, podendo ser utilizada na extração de compostos termossensíveis, mesmo que casualmente, a dependendo do tempo da extração pode ocorrer ligeiro aquecimento (YALAVARTHI e THIRUVENGADARAJAN, 2013; MARTINS et al., 2017).

Devido a infinidade de benefícios farmacológicos conferidos ao [6]-gingerol, o alcance de metodologias extrativas que obtenham a maior quantidade possível desta substância é de extrema valia para a elaboração de matérias primas padronizadas utilizadas na produção de medicamentos à base de Gengibre. Por isso este trabalho visa alterar condições de extrações que ao serem combinadas possam fornecer maiores quantidades de gingeróis.

## 2 Revisão da literatura

### 2.1 *Zingiber officinale*

O *Zingiber officinale*, mais conhecido como Gengibre, é uma das 85 espécies da família Zingiberaceae (MEKURIYA e MEKIBIB, 2018). É uma planta que tem sido utilizada há milênios por inúmeros povos, tanto como condimento (ALI et al., 2008) quanto por seus usos medicinais, sempre apresentado como uma especiaria de grande valor (LAWS, 2013). Ainda hoje é amplamente consumido (SAMAD et al., 2017), movimentando milhões em dinheiro por todo o mundo (RAI et al., 2006).



**Figura 1: Imagem da espécie *Zingiber officinale*.** Fonte: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Zingiber\\_officinale-Illustrations\\_of\\_Medical\\_Botany-2-0097-98.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Zingiber_officinale-Illustrations_of_Medical_Botany-2-0097-98.png)

O *Zingiber officinale* pode atingir até 90 centímetros de altura, apresenta folhas longas e flores raras e pequenas (REHMAN et al., 2011). Os rizomas são as hastes subterrâneas (SHARIFI-RAD et al., 2017), apresentam corpo alongado, levemente achatado, com ramos fragmentados (ELPO e NEGRELLE, 2004) e são amarelados (REHMAN et al., 2011). É nesta parte onde encontram-se a maioria dos compostos bioativos presentes nesta planta (ADEKUNLE et al., 2018).

O Gengibre é uma planta que se adapta melhor a condições tropicais úmidas (SHARIFI-RAD et al., 2017). É cultivada apenas uma vez por ano (YUDTHAVORASIT et al., 2014) principalmente no sudeste asiático, com maior preponderância na China

e Índia desde a antiguidade (GHASEMZADEH et al., 2015). Além de seu uso na culinária, o Gengibre também tem vários componentes bioativos, substâncias - que podem ou não ser importantes para a vida da planta – que realizam efeitos benéficos à saúde humana (GHASEMZADEH et al., 2015).

## 2.2 Gingeróis

Os mais abundantes compostos bioativos contidos no *Zingiber officinale* são os gingeróis, a eles é atribuído a pungência característica do Gengibre fresco (JUSTO et al., 2008), além de inúmeros efeitos farmacológicos. O composto bioativo mais abundante desta planta é o [6]-gingerol (GHASEMZADEH et al., 2015), um polifenol aromático (SAMAD et al., 2017).

Os polifenóis são substâncias químicas que apresentam uma estrutura derivada do benzeno onde existe uma ou mais hidroxilas ligadas a ele. Formam o grupo de compostos bioativos mais presentes nos vegetais. Dentre as atividades bioativas desse tipo de fitoquímicos, a que mais se destaca é a antioxidante (MARTINS e NICOLETTI, 2016).

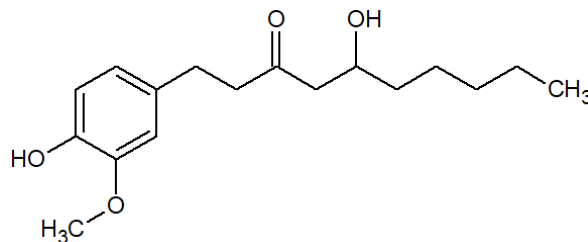


Figura 2: Estrutura química da molécula de [6]-gingerol.

O calor pode causar alterações químicas e físicas, reduzindo o teor de fitocompostos (SYED JAAPAR et al., 2017). O [6]-gingerol é uma substância termicamente instável, principalmente devido a presença de uma hidroxila na posição  $\beta$  em relação a cetona, que torna esta molécula suscetível à degradação quando submetida ao aquecimento (BHATTARAI et al., 2001).

## 2.3 Benefícios farmacológicos

Estudos vêm averiguando a capacidade do Gengibre em tratar uma grande variedade de problemas de saúde.

### 2.3.1 Atividades metabólicas

Problemas metabólicos como a resistência à insulina, obesidade e diabetes são aumentados com a idade (LIU, L et al., 2018). O Gengibre vem ganhando muito destaque no mercado pelas suas influências metabólicas. Este apresenta atividade antiobesogênica, estimulando a queima de calorias advindas da dieta. Foi observada que a administração de [6]-gingerol diminui a adiposidade, esse mecanismo deve estar ligado a ligação aos PPARs (Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma), que estão relacionados ao metabolismo (SRINIVASAN, 2017).

O uso de extrato aquoso de Gengibre em ratos diabéticos reduziu a glicose sérica, colesterol e triglicerídeos, além de eliminar totalmente a proteinúria, reduzir a ingestão de água e produção de urina indicando melhora na nefropatia induzida pela diabetes (AL-AMIN et al., 2006). Estudos também relacionam a capacidade hipoglicemiante à atividade bloqueadora de receptores de serotonina (PARVEEN et al., 2018).

A serotonina induz hiperglicemia e hipoinsulinemia em ratos normoglicêmicos, o suco de Gengibre reduz a hipoinsulinemia induzida por Estreptozotocina (antineoplásico)(AL-AMIN et al., 2006), este achado sugere uma possível atividade estimuladora da expressão de insulina por substâncias presentes no Gengibre (AL-AMIN et al., 2006; SAMAD et al., 2017). Outro benefício hipoglicêmico atribuído ao [6]-gingerol está relacionado com sua capacidade de regular os níveis de adiponectina no plasma, melhorando a sensibilidade à insulina (LIU, Li et al., 2018).

A diabetes mellitus também pode afetar a fertilidade masculina por afetar o controle endócrino da espermatogênese, através do aumento das espécies reativas do oxigênio. A suplementação de 3% de Gengibre na dieta de ratos machos diabéticos mostrou aumento do peso de estruturas do sistema reprodutor masculino, da contagem de espermatozoides e dos níveis de hormônios (LH, FSH e Testosterona) podendo conferir atividade androgênica. Entretanto, os autores sugerem a

necessidade de pesquisas mais aprofundadas para confirmar esta hipótese (GHLISSI et al., 2013).

### **2.3.2 Atividade anticâncer**

Outra área que vem atraindo o interesse de pesquisa de atividade dos compostos presentes no Gengibre é a oncologia. Estudos buscam desvendar as ações das substâncias provenientes desta planta. Um importante mecanismo de desencadeamento da carcinogênese é o estresse oxidativo, o qual promove danos ao DNA (SRINIVASAN, 2017) e supressão de genes supressores tumorais (LIMA et al., 2018).

Estudos demonstraram que o extrato de Gengibre exerce atividade inibitória sobre o ciclo celular e atividade apoptótica frente a várias linhagens de células mutantes responsáveis pelo câncer de próstata e de pâncreas (SRINIVASAN, 2017). O [6]-gingerol demonstrou efeitos benéficos em vários tipos de câncer como câncer de mama, pele, gastrointestinal, pulmonar e renal (HARIS et al., 2018).

O [6]-gingerol foi eficaz na indução de apoptose e inibição sobre o a proliferação de células do câncer de cólon sem afetar células saudias. Ainda demonstrou atividade quimioprotetora contra o câncer gastrointestinal, através da atividade modulatória sobre determinados indicadores (SRINIVASAN, 2017).

Yao e colaboradores (2018) demonstraram benefícios do [6]-gingerol frente ao câncer de pulmão. Este estudo demonstrou redução dos níveis de macrófagos M2 (Pró tumorais) além de favorecer a infiltração de Linfócitos TCD8+ (tumorocidas). Esse estudo ainda mostrou que esta substância apresenta atividade antitumoral sem efeitos colaterais como os presentes em outras alternativas terapêuticas.

### **2.3.3 Atividade frente a desordens neurológicas**

Choi et al. (2018) pesquisaram, *in vitro*, a atividade de compostos presentes no Gengibre sobre doenças neurológicas. Na Doença de Alzheimer, foi demonstrado efeito neuroprotetor do [6]-gingerol frente a toxicidade exercida pela proteína Beta Amilóide, além de reverter alterações como a fragmentação do DNA. Este mesmo estudo mostrou que o [6]-gingerol apresenta atividade antiepilética e anticonvulsivante.

### 2.3.4 Atividade antimicrobiana

Estudos demonstram benefícios antimicrobianos do [6]-gingerol. Este reduz a formação do biofilme e a virulência do *Pseudomonas aureginosa* (ALMEIDA et al., 2018; JIANG et al., 2018) e *Chromobacterium violaceum* (ALMEIDA et al., 2018). Em *P. aureginosa* impede a detecção de quorum sensing destas bactérias, isso se dá pela supressão de genes induzida pela substância em questão (JIANG et al., 2018). O [6]-gingerol liga-se à proteína LaSR por meio de acoplamento celular (ALMEIDA et al., 2018).

O [6]-gingerol também demonstrou efeito antifúngico através da redução da formação de biofilme de *Candida albicans*, além do crescimento de hifas, agregação celular e virulência deste fungo (LEE, J. H. et al., 2018).

## 2.4 Métodos de extração

A extração é o primeiro passo para o isolamento e purificação dos princípios ativos de origem vegetal (ĆUJIC et al., 2016). É de suma importância a utilização de técnicas de extração que preservem os compostos bioativos (SYED JAAPAR et al., 2017). O principal objetivo ao se escolher um método extrativo, é que ele seja capaz de extrair a maior quantidade possível do bioativo sem que haja alteração química indesejada (ĆUJIC et al., 2016). Graças a isso, muitas drogas potentes foram descobertas e são comercializadas hoje em dia (MANDAL et al, 2007).

### 2.4.1 Maceração

A maceração se trata de um método tradicional e bem aceito de extração de compostos bioativos de origem vegetal (JOVANOVIĆ et al., 2017). É um processo pelo qual uma amostra vegetal, normalmente pulverizada é mantida em contato com um solvente (ANVISA, 2011), que pode ser água ou solvente orgânico, com o intuito de amolecer as estruturas da célula vegetal e promover a liberação dos compostos contidos nela (SALAMAH e ROZAK, 2015).

Os solventes normalmente utilizados são água, etanol e metanol. Misturas entre alguns destes solventes são desejáveis pois pode aumentar a solubilidade dos

compostos no meio. Ao aumentar a relação entre o soluto e solvente, a extração é aumentada, uma vez que torna mais difícil a saturação do solvente, o que se torna uma desvantagem desse processo, o grande consumo de solvente (JOVANOVIĆ et al., 2017).

#### **2.4.2 Extração assistida por ultrassom**

A utilização da extração por ultrassom vem aumentando nos últimos tempos, por se tratar de um método eficiente e que pode ser expandido para a escala industrial. Esta técnica apresenta vantagens como a menor utilização de solventes e tempo de extração reduzido (SYED JAAPAR et al., 2017; VILKHU et al., 2008). Essa técnica baseia-se na emissão de ondas de baixa frequência (normalmente 20 KHz) e alta energia, não perceptíveis pela audição humana (OLIVEIRA, 2016), exercendo efeitos químicos, físicos e biológicos (SYED JAAPAR et al., 2017).

A extração assistida por ultrassom baseia-se em três mecanismos físicos, a difusão das bolhas até a parede celular, resultando em seu rompimento; a saída dos componentes de dentro da célula vegetal (SYED JAAPAR et al., 2017; VEGGI, 2013) e a transmissão acústica, que promove a solubilização dos componentes químicos (BRANDALIZE, 2014). Essas ondas promovem o chamado efeito de cavitação, que é o efeito que promove a criação de bolhas que crescem e explodem. Em estruturas vegetais, essas bolhas podem afetar a rigidez das paredes, através de dilatação dos poros promovendo a passagem do solvente e aumentando a extração dos compostos presentes na célula (OLIVEIRA, 2016).

#### **2.4.3 Extração assistida por micro-ondas**

As micro-ondas têm amplo uso desde a sua descoberta durante a Segunda Guerra Mundial. A priori foi utilizada como radares, mais tarde como forno e na década de 70 teve o primeiro uso na extração de substâncias (KAUFMANN e CHRISTEN, 2002). As micro-ondas são um tipo de radiação não ionizante, mantidas entre uma frequência de 300 a 300000 MHz (MANDAL et al., 2007).

O aquecimento através de micro-ondas acontece através de dois mecanismos: rotação de dipolo e condução iônica, normalmente ambos ocorrem simultaneamente. A rotação de dipolo ocorre em uma frequência de 2,45GHz, em substâncias polares.

Quando a radiação é emitida nessa frequência, os momentos dipolo das moléculas começam a tentar se alinhar, mas devido a constante emissão das ondas, o alinhamento falha e as moléculas começam a vibrar e gerar calor para o meio através do atrito e força. Em frequências maiores isso não ocorre. A condução iônica, ocorre através de migração de íons por ação do campo elétrico. A resistência exercida pela solução gera atrito que por sua vez, gera calor (KAUFMANN e CHRISTEN, 2002; MANDAL et al., 2007; TSUKUI e REZENDE, 2014).

Na extração assistida por micro-ondas devem ser utilizados solventes polares, de constante dielétrica elevada devido a capacidade de absorção deste tipo de onda (KAUFMANN e CHRISTEN, 2002; MANDAL et al., 2007; TSUKUI e REZENDE, 2014). As micro-ondas interagem com moléculas polares presentes no tecido vegetal, promovendo aquecimento, expansão, rompimento e, por fim, liberação das substâncias ativas para o solvente presente no meio (KAUFMANN e CHRISTEN, 2002; MANDAL et al, 2007).

Mesmo utilizando compostos secos, ainda existem moléculas de água na matriz. O aumento da temperatura promove evaporação desta água, gera uma pressão no interior da célula que age pressionando a parede e pode promover uma hidrólise dos ésteres de celulose – principal constituinte de paredes vegetais – reduzindo a rigidez da célula e facilitando a entrada do solvente. Estes dois fatores combinados culminam na quebra da parede (MANDAL et al., 2007).

As vantagens operacionais da utilização desse método são a rapidez com que ele oferece resultados, a diminuição do uso de solvente e massa para obtenção de resultados satisfatórios (TSUKUI e REZENDE, 2014). Em aspectos técnicos, as vantagens se dão por conta da ruptura de ligações de hidrogênio obtidas durante a rotação do momento dipolo das moléculas vegetais e pela eletroforese que permite uma maior penetração do solvente na matriz (KAUFMANN e CHRISTEN, 2002).

#### **2.4.4 Extração assistida por turboextração**

A turboextração funciona através da aplicação de uma grande força de cisalhamento sobre a mistura da matéria vegetal com o solvente, que leva a uma redução do tamanho das matrizes vegetais gerando quebra das células liberando as substâncias bioativas. Simultaneamente ocorre a homogeneização destas substâncias com o solvente presente no meio. O processo extrativo ocorre em poucos

instantes e tem um alto rendimento. (MARTINS et al., 2017; YALAVARTHI e THIRUVENGADARAJAN, 2013).

## **2.5 Planejamento fatorial**

A otimização refere-se a uma série de experimentos que buscam fornecer a melhor resposta possível. Se trata de uma estratégia que tem como intuito melhorar o desempenho de um processo visando o máximo possível de benefícios. Um recurso utilizado para esta finalidade é o planejamento fatorial (BEZERRA et al., 2017).

O planejamento fatorial é uma ferramenta que permite a avaliação de múltiplos fatores simultaneamente. A organização do planejamento fatorial consiste na seleção de fatores e níveis. Fatores compreendem às variáveis independentes do sistema, enquanto níveis são as condições em que os fatores irão operar no experimento (ARRUDA et al., 2017).

O uso de planejamento fatorial contribui para aprimorar a obtenção de compostos químicos. Esta ferramenta apresenta algumas vantagens como economia de recursos financeiros e resultados confiáveis isso graças a um número reduzido de experimentos (PEREIRA e PEREIRA-FILHO, 2018), que é determinado de acordo com o número de variáveis e seus respectivos níveis (ARRUDA et al., 2017).

## 3 Objetivos

### 3.1 Objetivo geral

Otimizar o processo de extração de [6]-gingerol dos rizomas de *Zingiber officinale* a partir de técnicas extrativas convencionais e não convencionais.

### 3.2 Objetivos específicos

- I. Obter extratos dos rizomas de *Zingiber officinale* utilizando diferentes técnicas de extração;
- II. Quantificar o [6]-gingerol e gingeróis presentes nos extratos obtidos por diferentes técnicas de extrações.
- III. Otimizar a extração do [6]-gingerol a partir da melhor condição de extração obtida previamente;
- IV. Quantificar os gingeróis presentes nos extratos da otimização utilizando espectrofotometria UV-Vis.

## **4 Material e Métodos**

### **4.1 Preparação do material vegetal**

Os rizomas de Gengibre fresco foram lavados, cortados em pequenos pedaços com o auxílio de um processador de alimentos, desidratados em estufa com circulação forçada de ar, por 6 dias à 40°C e 1 dia à 80°C (OK, 2012). Em seguida o material foi pulverizado, tamisado em tamis de aço (diâmetro da malha: 2 mm) e armazenado em frascos de vidro até o momento das extrações.

### **4.2 Maceração**

O Gengibre seco e pulverizado foi submerso em álcool etílico 95% (v/v) da marca Itajá®, em frasco de Erlenmeyer, na proporção 1:25, m/v (Gengibre seco/solvente) e mantido a temperatura de 25°C, durante um período de 24 horas (LIU, 2014). Posteriormente o extrato foi filtrado, e o solvente evaporado sob vácuo em rota-evaporador a 40°C.

### **4.3 Ultrassom associado à Maceração**

O Gengibre seco e pulverizado foi submerso em álcool etílico 95% (v/v) da marca Itajá®, em frascos de Erlenmeyer, na proporção 1:25, m/v (Gengibre seco/solvente), mantido a temperatura de 25°C, e submetido a ondas de ultrassom (40 KHz) por um período de 60 minutos (LIU, 2014). Em seguida, o processo de extração foi continuado por maceração, por um período total de 24 horas. Posteriormente, o extrato foi filtrado e o solvente evaporado sob vácuo em rota-evaporador a 40°C.

#### **4.4 Micro-ondas associado à Maceração**

O Gengibre seco e pulverizado foi submerso em álcool etílico 95% (v/v) da marca Itajá®, em frasco de Erlenmeyer, na proporção 1:25, m/v (Gengibre seco/solvente), mantido a temperatura de 25°C, e submetido a micro-ondas (1000 W, 60% de potência) por um período de 30 segundos três vezes (LIU, 2014). Após a primeira submissão do material ao micro-ondas, a solução foi resfriada à temperatura de 10°C. Quando esta temperatura for alcançada, a solução foi submetida novamente ao micro-ondas. Este processo foi repetido mais duas vezes. Em seguida o processo de extração foi continuado por maceração, por um período total de 24 horas. Posteriormente o extrato foi filtrado, e o solvente evaporado sob vácuo em rota-evaporador a 40°C.

#### **4.5 Turboextração associado à Maceração**

O Gengibre seco e pulverizado foi submerso em álcool etílico 95% (v/v) Itajá®, em frasco de Erlenmeyer, na proporção 1:25, m/v (Gengibre seco/solvente), mantido a temperatura de 25°C, e submetido à turboextração por 10 min, a 21.000 rpm (REDDY et al, 2012; ORTH et al, 1999; SERRANO et al, 2013). Em seguida, o processo de extração foi continuado por maceração, por um período total de 24 horas. Posteriormente, o extrato foi filtrado e o solvente evaporado sob vácuo em rota-evaporador a 40°C.

Todas as extrações foram realizadas em duplicata.

#### **4.6 Análise dos extratos de *Zingiber officinale***

##### **4.6.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

As análises dos extratos de *Zingiber officinale* foram realizadas em CLAE-DAD analítico da Shimadzu Proeminence System, equipado com degaseificador DGU-20A5, bomba binária LC-20AT, injetor automático SIL-10A, detector UV-Vis SPD-M10Avp, interface CBM-20A e "software" LC solution. Todas as separações foram conduzidas em coluna C18 Eclipse Plus Agilent (4,6 x 100 mm, 3,5 mm). A eluição foi

realizada no modo gradiente usando água(A)/acetonitrila(B): 0,0-2,0 min, 10-55% B; 2,0-9,0 min 55% B; 9,0-13,0 min, 65%; 13,0-20,00, 100% B. As análises foram precedidas por equilíbrio da coluna cromatográfica por 10 min. O volume de injeção foi de 20  $\mu$ L, e a vazão de 1 mL/min. O detector UV-Vis foi configurado para operar com o comprimento de onda de 280 nm (YUDTHAVORASIT, 2014). Para a quantificação do [6]-gingerol nos extratos, foi utilizada a seguinte equação da reta:  $y = 11291x + 20061$ ,  $R^2 = 0,9989$

#### 4.6.2 Espectrofotometria UV-VIS

As análises dos extratos foram feitas em espectrofotômetro modelo UV-5100 SPECTROPHOTOMETER. Utilizando detector UV-Vis de fotodiodo de silicone no comprimento de onda de 280 nm. O solvente utilizado para a preparação e leitura das amostras foi álcool metílico (Marca NEON®). Para a quantificação dos gingeróis foi utilizada a seguinte equação da reta:  $Y = 0,009x + 0,0175$ ,  $R^2 = 0,9978$

#### 4.7 Otimização da extração

Foi realizado um planejamento fatorial  $2^3$  (Tabela 1) utilizando como técnica a maceração. Os parâmetros avaliados na otimização foram: tipo de solvente (etanol e acetona (ambos marca ALPHATEC®)), temperatura (40°C e 50°C) e tempo de extração (24h e 48h).

Experimento	Solvente	Tempo de extração	Temperatura
1	Etanol	24h	40°C
2	Acetona	24h	40°C
3	Etanol	24h	50°C
4	Acetona	24h	50°C
5	Etanol	48h	40°C
6	Acetona	48h	40°C
7	Etanol	48h	50°C
8	Acetona	48h	50°C

Tabela 1: Variáveis utilizadas no planejamento fatorial  $2^3$

## 4.8 Análise estatística

Os resultados obtidos nos experimentos foram tratados estatisticamente no programa GraphPad Prism<sup>®</sup>, versão 8.0.2, através de Análise de Variância (ANOVA) de via única e teste de Tukey. Foram consideradas significativas as diferenças com  $p < 0,05$ . Foi utilizado o programa Statistica<sup>®</sup>, versão 13, para as análises do planejamento fatorial  $2^3$ .

## 5 Resultados e Discussão

### 5.1 Rendimento das massas dos extratos obtidos a partir de diferentes técnicas de extração

A massa média obtida na técnica de maceração foi de  $0,49 \pm 0,07$  g, apresentando um rendimento percentual de  $4,92 \pm 0,70$  % (Tabela 2). Na extração assistida por ultrassom associado a maceração foi obtida uma massa média de  $0,0883 \pm 0,008$  g e rendimento de  $4,41 \pm 0,40$ % (Tabela 2).

Na extração assistida por micro-ondas associado à maceração a massa média obtida foi de  $0,55 \pm 0,01$  e rendimento de  $5,52 \pm 0,13$  % (Tabela 2). Na técnica de turboextração associada à maceração foi obtida uma massa de  $0,08 \pm 0,005$  g, o que equivale a um rendimento de  $5,59 \pm 0,50$  % dos extratos (Tabela 2).

	Mac	US-Mac	MO-Mac	TE-Mac
Massa (g)	0,4925	0,0883	0,5520	0,0895
Desvio Padrão	0,0707	0,0081	0,0141	0,0050
Rendimento (%)	4,9250	4,4150	5,5295	5,5906
Desvio Padrão	0,7071	0,4031	0,1336	0,5062

**Tabela 2: Massas e rendimento percentual obtidas após as extrações (Maceração: Mac; Ultrassom seguida de maceração: US-Mac; Micro-ondas seguida de maceração: MO-Mac; Turboextração seguida de maceração: TE-Mac).**

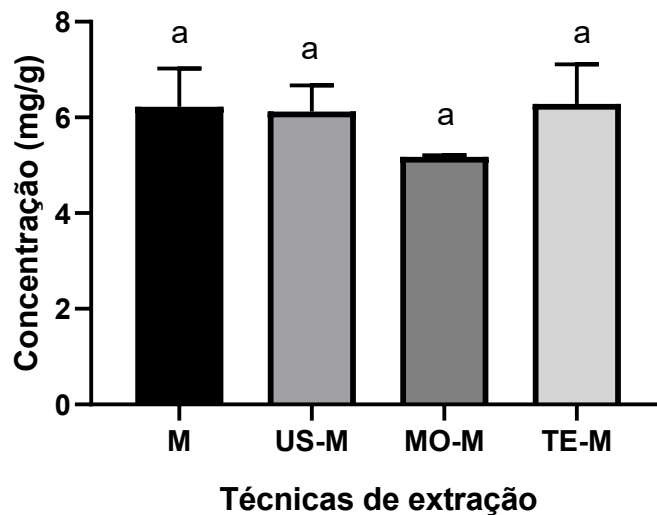
Ao observar os rendimentos percentuais das massas de extratos brutos obtidos através de diferentes metodologias extrativas, observa-se que não existe diferença estatística entre eles. Isso sugere que a maceração deve ter sido, dentre as duas metodologias associadas, a que limita a massa final obtida.

### 5.2 Quantificação do [6]-gingerol a partir de diferentes técnicas de extração

Para a maceração, foi obtida uma massa de  $6,22 \pm 0,57$  mg de [6]-gingerol por grama de Gengibre seco (Figura 3). A vantagem da utilização da maceração se dá pela simplicidade do processo, já que é necessário apenas o contato do material

vegetal e o solvente em frascos de vidro ou de aço inox para promover o comprometimento das estruturas vegetais e, assim, a liberação dos componentes fitoquímicos contidos nela (JOVANOVIĆ et al., 2017).

Ao comparar este resultado com o obtido por Liu, W. e colaboradores (2014), os rendimentos são próximos. Entretanto, ele utilizou tempo menor de extração assim como o solvente numa concentração menor. Isso sugere que a temperatura ambiente, o tempo de extração não interfere no rendimento.



**Figura 3: Quantidade de [6]-gingerol (mg/g), obtidas em cada extração analisadas em CLAE.** Maceração: Mac; Ultrassom seguida de maceração: US-Mac; Micro-ondas seguida de maceração: MO-Mac; Turboextração seguida de maceração: TE-Mac. ANOVA ( $p < 0,05$ ).

Na extração assistida por ultrassom associada a maceração foi obtida uma massa de  $6,12 \pm 0,38$  mg de [6]-gingerol por grama de Gengibre seco (Figura 3). O processo de cavitação causado pelo ultrassom compromete as estruturas vegetais e, conseqüentemente, aumenta a liberação das substâncias contidas nas células (VEGGI, 2013; BRANDALIZE, 2014; SYED JAAPAR et al., 2017). Além disso, promove um processo de homogeneização dos compostos e solvente, o que diminui a saturação durante a ação do ultrassom (BRANDALIZE, 2014).

O ultrassom é um método extrativo consideravelmente recente, tendo entrado em uso a partir da década de 1980, e tem sido largamente utilizado na extração de

compostos de origem vegetal (WONG-PAZ et al., 2017). Este apresenta vantagem por não utilizar calor, preservando compostos termossensíveis (PANIWNYK et al., 2017; SYED JAAPAR et al., 2017; WONG-PAZ et al., 2017) como o [6]-gingerol.

Syed Jaapar e colaboradores (2017), analisaram a extração de [6]-gingerol através da técnica de ultrassom, onde observaram que a baixa frequência e o tempo de extração reduzem a quantidade obtida deste composto. Segundo eles, o aumento do tempo de extração pode degradar a substância assim como o efeito de cavitação. Isso pode justificar o porquê esta técnica não forneceu quantidade de extração superior às outras comparadas neste trabalho.

Na extração assistida por micro-ondas associada à maceração foi obtida massa de  $5,18 \pm 0,019$  mg de [6]-gingerol por g de Gengibre seco (Figura 3). O etanol apresenta uma alta absorção de micro-ondas. Isso faz com que durante a submissão destas micro-ondas o meio sofra um aquecimento, o que favorece o processo de enfraquecimento das paredes vegetais. Isto possibilita, primeiramente, um acesso mais fácil do solvente ao interior da célula e uma quebra da estrutura liberando os compostos contidos nela (MANDAL et al., 2007; TSUKUI e REZENDE, 2014).

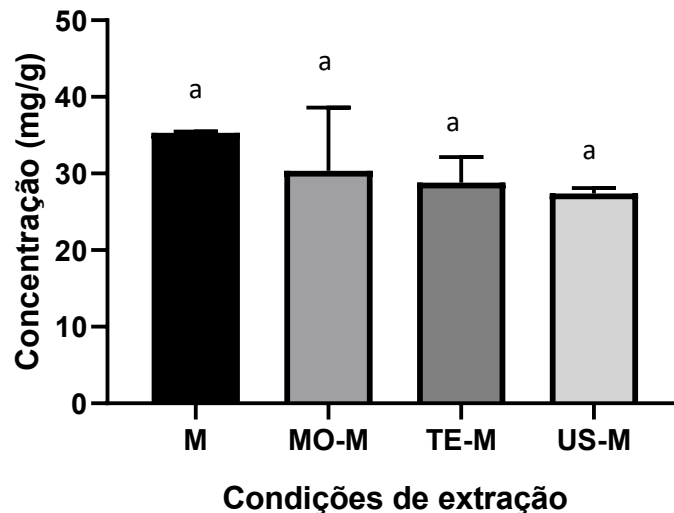
Entretanto, estudos apontam que menores quantidades de [6]-gingerol são obtidas em concentrações de etanol superiores a 90% (Liu, W. et al., 2014; Kubra, et al., 2013). Segundo Kubra e colaboradores (2013), o aumento da proporção de água no solvente deve aumentar a constante dielétrica da solução, favorecendo o aquecimento e assim a extração.

Isso pode justificar o motivo pelo qual esta metodologia não forneceu quantidades superiores. Pois como foi utilizado etanol 95% como solvente extrator, pode não ter aquecido o meio o suficiente para conseguir fragilizar a maioria das células vegetais.

Na turboextração associada à maceração foi obtida uma massa de  $6,28 \pm 0,38$  mg/g de Gengibre seco (Figura 3). Tendo em vista que a força de cisalhamento, ocasionada por esta técnica, tende a comprometer quase a totalidade das estruturas vegetais, além promover um maior contato entre o solvente e a amostra, ocorre uma grande liberação de compostos bioativos (YALAVARTHI e THIRUVENGADARAJAN, 2013; MARTINS et al., 2017).

A espectrofotometria UV-Vis é uma técnica analítica simples, robusta e com custo de operação relativamente baixo, por isso é utilizada amplamente na quantificação de compostos químicos (ALVES et al., 2010; ROCHA e TEIXEIRA,

2004). Então, a quantificação dos gingeróis foi realizada utilizando como método a espectrofotometria UV-Vis a fim de estimar a quantidade de gingeróis presente nos extratos, em alternativa a CLAE, que se trata de uma técnica mais dispendiosa e que conta com aparelhagem mais complexa.



**Figura 4: Quantidade de gingeróis (mg/g), obtidas em cada extração analisadas em espectrofotometria UV-vis.** Maceração: Mac; Ultrassom seguida de maceração: US-Mac; Micro-ondas seguida de maceração: MO-Mac; Turboextração seguida de maceração: TE-Mac. ANOVA ( $p < 0,05$ ).

### 5.3 Otimização da extração

Esperava-se que a utilização das técnicas não-convencionais micro-ondas, ultrassom e ultra agitação, fossem capazes de aumentar a extração do [6]-gingerol, no entanto, isso não foi observado. Uma vez que não houve diferença no rendimento de extrato e de [6]-gingerol entre os processos, a maceração, por se tratar de uma técnica simples e de baixo custo, apresenta vantagens sobre as outras. A facilidade de aumento de escala dessa técnica também é uma vantagem frente as técnicas assistida por micro-ondas, ultrassom e ultra agitação.

Foram então realizadas as extrações em diferentes condições. As massas e rendimentos percentuais dos extratos obtidos após as extrações estão listadas na Tabela 3.

Experimento	1	2	3	4	5	6	7	8
Massa (g)	0,1904	0,1897	0,1937	0,186	0,1671	0,1443	0,2163	0,1439
	± 0,0051	± 0,0093	± 0,0088	± 0,0051	± 0,0021	± 0,0001	± 0,0535	± 0,0023
Rendimento (%)	9,52	9,49	9,69	9,30	8,35	7,21	10,82	7,19
	± 0,25	± 0,46	± 0,44	± 0,25	± 0,10	± 0,00	± 2,67	± 0,12

**Tabela 3: Massas e rendimento percentual obtidas após as extrações da otimização.** 1-Etanol 24h 40°C; 2-Acetona 24h 40°C; 3-Etanol 24h 50°C; 4-Acetona 24h 50°C; 5-Etanol 48h 40°C; 6-Acetona 48h 40°C; 7-Etanol 48 50°C; 8-Acetona 48h 50°C.

Ao se avaliar os rendimentos de extratos brutos obtidos nos experimentos da otimização, não ocorreu diferença estatística entre eles. Ao comparar os rendimentos dos extratos brutos obtidos nas diferentes técnicas de extração a temperatura ambiente (Tabela 2, página 25) e os realizado na otimização (Tabela 3), é possível observar que o aumento da temperatura fornece maiores massas.

### 5.3.1 Rendimento das massas de gingeróis nos extratos obtidos a partir de diferentes condições de extração utilizando maceração como técnica extrativa

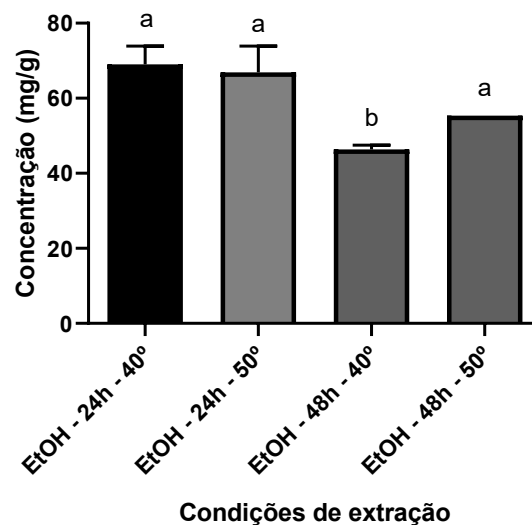
Após as análises em espectrofotometria UV-Vis, ocorreu então a quantificação dos gingeróis presentes nas amostras dos extratos. Na extração utilizando etanol como solvente extrator durante 24 horas sob temperatura de 40°C (1), foi obtida uma massa de 69,05 mg/g. Na extração utilizando acetona como solvente extrator durante 24 horas sob temperatura de 40°C (2) foi obtida uma massa de 59,14 mg/g.

Na extração utilizando etanol como solvente extrator durante 24 horas sob 50°C (3) a massa obtida foi de 66,87 mg/g. Na extração utilizando acetona como solvente extrator durante 24 horas sob temperatura de 50°C(4), foi obtida uma massa de 55,73 mg/g. A extração utilizando etanol como solvente extrator durante 48 horas sob 40°C (5) forneceu uma massa de 46,34 mg/g. Na extração utilizando acetona como solvente extrator durante 48 horas sob 40°C (6) forneceu 19,75 mg/g.

A extração utilizando com etanol como solvente extrator durante 48 horas sob 50°C (7) foi obtida uma massa de 55,37 mg/g. Na extração utilizando acetona como solvente extrator durante 48 horas sob 50°C foi obtida uma massa de 2,44 mg/g.

### 5.3.2 Extrações utilizando etanol como solvente extrator

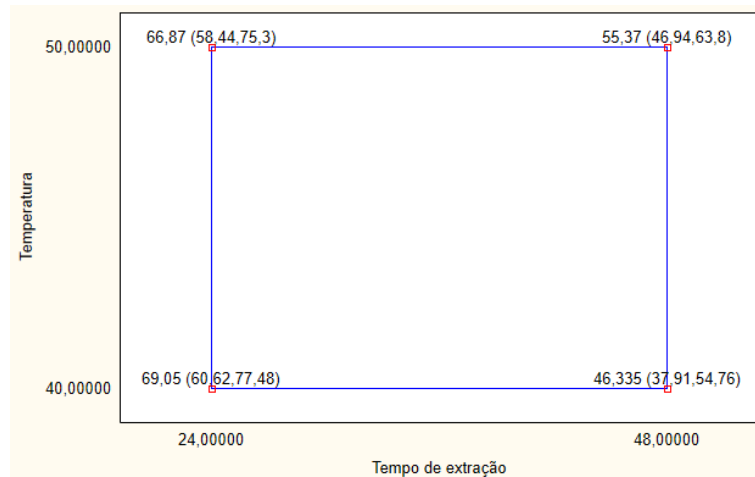
Como uma forma de facilitar a análise dos dados obtidos com o planejamento fatorial, construiu-se gráficos para cada solvente separadamente. Ao se analisar estatisticamente os experimentos utilizando etanol como solvente extrator, observou-se que não existiu diferença estatística entre os experimentos que utilizaram este solvente durante 24 horas sob 40°C e 50°C e durante 48 horas sob 50°C.



**Figura 5: Concentração de gingeróis (mg/g) obtido pelas diferentes condições extrativas utilizando etanol como solvente extrator.** ANOVA ( $p < 0,05$ ). Letras diferentes indicam que houve diferença significativa.

A única extração onde etanol era o solvente extrator que apresentou resultado estatisticamente diferente foi a que ocorreu durante 48h sob 40°C. Isso pode ser justificado com uma possível limitação da extração em uma temperatura mais baixa em um primeiro momento e subsequente degradação dos compostos já extraído. Observa-se que nestas mesmas condições utilizando acetona como solvente extrator (Figura 8, página 32) também ocorre redução do teor de gingeróis.

Já na extração durante 48h sob 50°C, a obtenção pode ter sido aumentada por conta da temperatura maior. O aumento da temperatura melhora a extração devido uma maior abertura da matriz celular assim a extração dos compostos (KUBRA et al, 2013). Sendo assim, possivelmente o número de células vegetais que forneceram gingeróis deve ter sido maior em 50°C durante 48h que em 40°C no mesmo tempo.



**Figura 6: Diagrama para interpretação dos dados do planejamento fatorial utilizando etanol como solvente extrator tendo como variáveis tempo de extração (24h e 48h) e temperatura (40°C e 50°C).**

Através do diagrama de Pareto (Figura 7), fica visível que ao se utilizar etanol como solvente extrator, o tempo de extração se apresenta como a variável que mais interfere na obtenção de gingeróis. Isso está de acordo com Syed Jaapar e colaboradores (2017), que ao avaliar a extração de [6]-gingerol sobre ultrassom, observou que o tempo de extração consegue ser mais determinante no aumento da obtenção deste composto que o solvente.

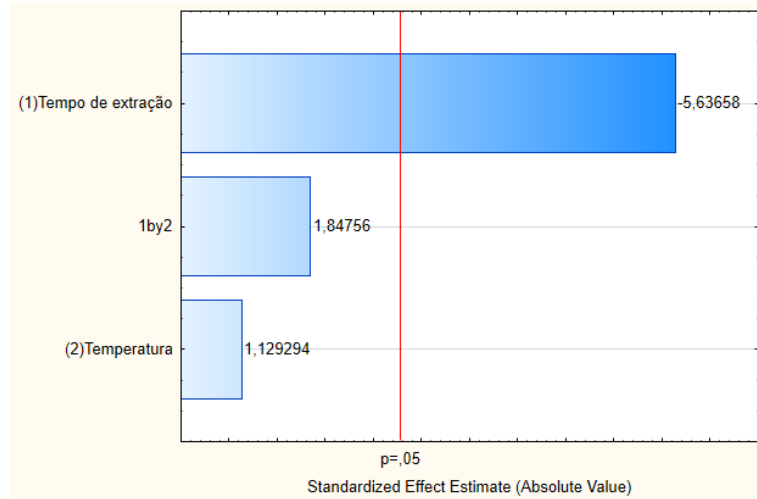


Figura 7: Diagrama de Pareto representando a análise de variância entre os fatores na extração utilizando etanol como solvente extrator.

### 5.3.4 Extrações utilizando acetona como solvente extrator

Ao analisar estatisticamente os experimentos utilizando acetona como solvente extrator, foi observado que não houve diferença estatística entre os experimentos que utilizaram este solvente durante 24 horas sob 40°C e 50°C. Entretanto, houve diferença estatística com os experimentos durante 48 horas 40°C e 50°C.

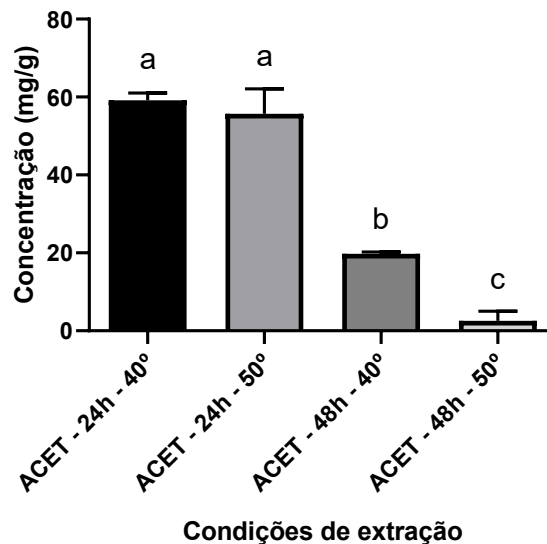
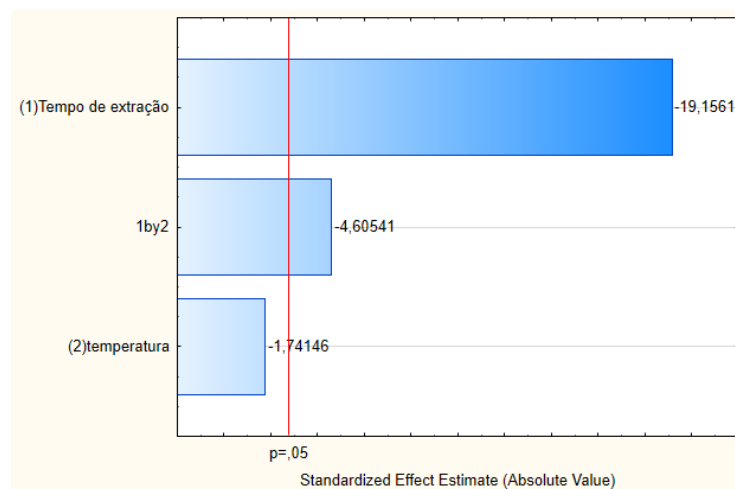


Figura 8: Concentração de gingeróis (mg/g) obtido pelas diferentes condições extrativas utilizando acetona como solvente extrator. ANOVA ( $p < 0,05$ ). Letras diferentes indicam que houve diferença significativa.



**Figura 9:** Diagrama para interpretação dos dados do planejamento fatorial utilizando acetona como solvente extrator tendo como variáveis tempo de extração (24h e 48h) e temperatura (40°C e 50°C).

Isso sugere que com o aumento do tempo de extração associado ao aumento de temperatura ocorre a redução na massa de gingeróis. Essa redução pode estar relacionada com a temperatura de extração próxima ao ponto de fusão deste solvente que é de 56°C, o que poderia promover a evaporação do mesmo e, subsequentemente, uma saturação do restante de solvente que se mantém em contato com amostra. Além disso, o aquecimento desta solução saturada poderia degradar os gingeróis.

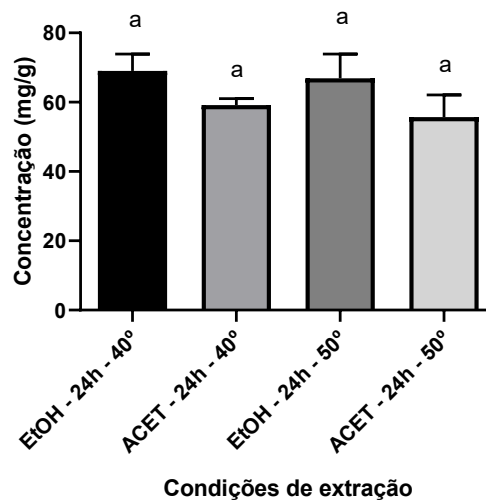


**Figura 10:** Diagrama de Pareto representando a análise de variância entre os fatores na extração utilizando etanol como solvente extrator.

Para este solvente, o diagrama de Pareto (Figura 10) mostra que o tempo de extração é a variável que demonstra maior significância estatística na extração. Além disso, a associação entre as duas variáveis utilizadas (temperatura e tempo de extração) também demonstra significância estatística.

### 5.3.5 Comparação entre as extrações que ocorreram durante 24 horas com diferentes solventes extratores e temperatura

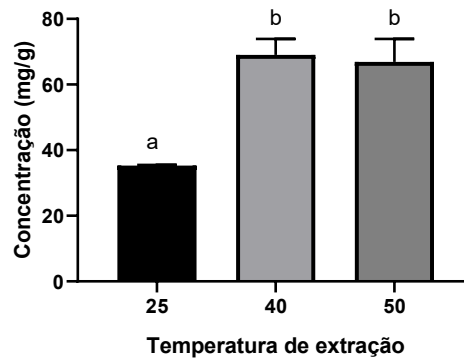
Como exposto na Figura 11, observa-se que não ocorre diferença estatística entre os experimentos que foram realizados durante 24 horas, independente do solvente e temperatura



**Figura 11: Concentração de gingeróis (mg/g) obtido pelas diferentes condições alterando solvente e temperatura extrativas durante 24 horas. ANOVA ( $p < 0,05$ ). Letras iguais indicam que não houve diferença significativa.**

Isso corrobora o que é exposto nos diagramas de Pareto para etanol (Figura 7) e acetona (Figura 10) onde demonstram que o tempo de extração é a variável que apresenta mais significância estatística para a extração de gingeróis.

### 5.3.6 Comparação entre as massas obtidas utilizando etanol como solvente extrator durante 24 horas com diferentes temperaturas



**Figura 12: Concentração de gingerol obtida nas diferentes extrações com temperaturas variadas utilizando etanol como solvente extrator. ANOVA ( $p < 0,05$ ). Letras diferentes indicam que houve diferença significativa.**

Ao comparar as massas obtidas utilizando etanol como solvente de extração durante 24 horas sob 40°C e 50°C com a extração de [6]-gingerol com etanol 95% (v/v) a temperatura ambiente (Figura 12), observa-se um rendimento maior de gingeróis com o aumento da temperatura. Isso mostra que as temperaturas utilizadas afetam a estrutura vegetal resultando em uma maior obtenção destes compostos.

## 5 Conclusão

Foram realizadas extrações utilizando diferentes metodologias extrativas com o intuito de avaliar qual delas forneceria a maior quantidade de [6]-gingerol. Após análise estatística das massas obtidas nestas extrações ficou constatado que não ocorreu diferença entre eles. Sendo assim, a maceração, que forneceu 6,22 mg/g de [6]-gingerol e 35,31 mg/g de gingeróis foi a técnica escolhida para ser otimizada. A escolha dessa metodologia se deu, principalmente, por sua simplicidade.

A otimização do processo de extração por maceração foi realizada utilizando um planejamento fatorial  $2^3$  variando solvente (etanol e acetona), tempo de extração (24h e 48h) e temperatura (40°C e 50°C). Ao avaliar a quantidade de gingeróis obtida em cada um dos experimentos, foi demonstrado que não existiu diferença estatística entre as massas de gingeróis obtidas durante 24h independente do solvente e da temperatura.

Sendo assim, a extração escolhida como melhor por este trabalho é utilizando etanol como solvente extrator durante 24 horas a 40°C. Essas condições foram escolhidas por ser realizada em menor tempo e menor temperatura. Este resultado pode ser importante para ajudar na busca de condições ainda melhores para obtenção dessa substância que demonstra fornecer inúmeros e valiosos benefícios à saúde.

## 6 Referências

- ADEKUNLE, I. A.; IMAFIDON, C. E.; OLADELE, A. A.; AYOKA, A. O. Ginger polyphenols attenuate cyclosporine-induced disturbances in kidney function: Potential application in adjuvant transplant therapy. **Pathophysiology**, v. 25, n. 2, p. 101–115, 1 jun. 2018.
- AL-AMIN, Z. M.; THOMSON, M.; AL-QATTAN, K. K.; PELTONEN-SHALABY, R.; ALI, M. Anti-diabetic and hypolipidaemic properties of ginger (*Zingiber officinale*) in streptozotocin-induced diabetic rats. **British Journal of Nutrition**, v. 96, n. 4, p. 660–666, out. 2006.
- ALI, B. H.; BLUNDEN, G.; TANIRA, M. O.; NEMMAR, A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research. **Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 46, n. 2, p. 409–420, fev. 2008.
- ALMEIDA, F. A. DE; VARGAS, E. L. G.; CARNEIRO, D. G.; PINTO, U. M.; VANETTI, M. C. D. Virtual screening of plant compounds and nonsteroidal anti-inflammatory drugs for inhibition of quorum sensing and biofilm formation in *Salmonella*. **Microbial Pathogenesis**, v. 121, p. 369–388, 1 ago. 2018.
- ALVES, L. D. S.; ROLIM, L. A.; FONTES, D. A. F.; ROLIM-NETO, P. J.; SOARES, M. F. DE L. R.; SOARES SOBRINHO, J. L. UV-Vis spectrophotometry analytical method development for quantifying efavirenz. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1967–1972, 2010.
- ARRUDA, A. P.; FRAGA, I. M.; SOUSA, D. D. A.; ITOKAGI, D. M.; PEREIRA, C. S.; PEREIRA, N. G. PLANEJAMENTO FATORIAL PARA OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO ALCALINA DO ÓLEO DE PEQUI (*Caryocar brasiliense* Cambess). **Engevista**, v. 19, n. 1, p. 132–145, 30 jan. 2017.
- BEZERRA, M. A.; NOVAES, C. G.; YAMAKI, R. T.; PAULA, V. F. DE; JÚNIOR, B. B. N.; BARRETO, J. A.; VALASQUES, G. S. Otimização de Métodos Analíticos Usando Metodologia de Superfícies De Resposta - Parte I: Variáveis de Processo. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, 6 abr. 2017.

BHATTARAI, S.; TRAN, V. H.; DUKE, C. C. The stability of gingerol and shogaol in aqueous solutions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, n. 10, p. 1658–1664, out. 2001.

BRANDALIZE, M. V. Extração de óleo de *Chlorella pyrenoidosa* assistida em ultrassom. 2014.

CHOI, J. G.; KIM, S. Y.; JEONG, M.; OH, M. S. Pharmacotherapeutic potential of ginger and its compounds in age-related neurological disorders. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 182, p. 56–69, 1 fev. 2018.

ĆUJIĆ, N.; ŠAVIKIN, K.; JANKOVIĆ, T.; PLJEVLJAKUŠIĆ, D.; ZDUNIĆ, G.; IBRIĆ, S. Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. **Food Chemistry**, v. 194, p. 135–142, 1 mar. 2016.

ELPO, E. R. S.; NEGRELLE, R. R. B. *Zingiber officinale* ROSCOE: ASPECTOS BOTÂNICOS E ECOLÓGICOS. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, 2004.

EZZAT, S. M.; EZZAT, M. I.; OKBA, M. M.; MENZE, E. T.; ABDEL-NAIM, A. B. The hidden mechanism beyond ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) potent in vivo and in vitro anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 214, p. 113–123, 25 mar. 2018.

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E.; RAHMAT, A. Optimization protocol for the extraction of 6-gingerol and 6-shogaol from *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and improving antioxidant and anticancer activity using response surface methodology. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 15, p. 258, 30 jul. 2015.

GHLISSI, Z.; ATHEYMEN, R.; BOUJBIHA, M. A.; SAHNOUN, Z.; AYEDI, F. M.; ZEGHAL, K.; FEKI, A. E.; HAKIM, A. Antioxidant and androgenic effects of dietary ginger on reproductive function of male diabetic rats. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 64, n. 8, p. 974–978, 1 dez. 2013.

HARIS, P.; MARY, V.; SUDARSANAKUMAR, C. Probing the interaction of the phytochemical 6-gingerol from the spice ginger with DNA. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, p. 124–131, 1 jul. 2018.

JEONG, C.-H.; BODE, A. M.; PUGLIESE, A.; CHO, Y.-Y.; KIM, H.-G.; SHIM, J.-H.; JEON, Y.-J.; LI, H.; JIANG, H.; DONG, Z. [6]-Gingerol suppresses colon cancer

growth by targeting leukotriene A4 hydrolase. **Cancer Research**, v. 69, n. 13, p. 5584–5591, 1 jul. 2009.

JIANG, Y.; LIAO, Q.; LI, H.; ZOU, Y. Ginger: Response to pathogen-related diseases. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 102, p. 88–94, 1 abr. 2018.  
JOVANOVIĆ, A.; PETROVIĆ, P.; ĐORĐEVIĆ, V.; ZDUNIĆ, G.; ŠAVIKIN, K.; BUGARSKI, B. Polyphenols extraction from plant sources. **Lekovite sirovine**, n. 37, p. 45–49, 2017.

JUSTO, O. R.; MORAES, Â. M.; BARRETO, G. P. DE M.; MERCADANTE, A. Z.; ROSA, P. DE T. V. E. Evaluation of the antioxidant potential of plant extracts obtained by supercritical fluid extraction. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1699–1705, 2008a.

KAUFMANN, B.; CHRISTEN, P. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. **Phytochemical analysis: PCA**, v. 13, n. 2, p. 105–113, abr. 2002.

KRÜGER, S.; BERGIN, A.; MORLOCK, G. E. Effect-directed analysis of ginger (*Zingiber officinale*) and its food products, and quantification of bioactive compounds via high-performance thin-layer chromatography and mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 243, p. 258–268, 15 mar. 2018.

LAWS, B. **50 Plantas que Mudaramo Rumo da História**. Rio de Janeiro: Sextante, 2013.

LEE, C.; PARK, G. H.; KIM, C.-Y.; JANG, J.-H. [6]-Gingerol attenuates  $\beta$ -amyloid-induced oxidative cell death via fortifying cellular antioxidant defense system. **Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 49, n. 6, p. 1261–1269, jun. 2011.

LEE, J.-H.; KIM, Y.-G.; CHOI, P.; HAM, J.; PARK, J. G.; LEE, J. Antibiofilm and Antivirulence Activities of 6-Gingerol and 6-Shogaol Against *Candida albicans* Due to Hyphal Inhibition. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 8, p. 299, 2018.

LIMA, R. M. T. DE *et al.* Protective and therapeutic potential of ginger (*Zingiber officinale*) extract and [6]-gingerol in cancer: A comprehensive review. **Phytotherapy research: PTR**, v. 32, n. 10, p. 1885–1907, out. 2018.

LIU, L. *et al.* 6-Gingerol Improves Ectopic Lipid Accumulation, Mitochondrial Dysfunction and Insulin Resistance in Skeletal Muscle of ageing Rats: Dual

Stimulation of the AMPK/PGC-1 $\alpha$  Signalling Pathway via Plasma Adiponectin and Muscular AdipoR1. **Molecular Nutrition & Food Research**, p. e1800649, 21 dez. 2018.

LIU, W.; ZHOU, C.-L.; ZHAO, J.; CHEN, D.; LI, Q.-H. Optimized microwave-assisted extraction of 6-gingerol from *Zingiber officinale* Roscoe and evaluation of antioxidant activity in vitro. **Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria**, v. 13, n. 2, p. 155–168, jun. 2014.

MANDAL, V.; MOHAN, Y.; HEMALATHA, S. Microwave assisted extraction - An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, n. 1, p. 7, 1 jan. 2007.

MANSINGH, D. P.; O J, S.; SALI, V. K.; VASANTHI, H. R. [6]-Gingerol-induced cell cycle arrest, reactive oxygen species generation, and disruption of mitochondrial membrane potential are associated with apoptosis in human gastric cancer (AGS) cells. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 32, n. 10, p. e22206, out. 2018.

MARTINS, P. M.; LANCHOTE, A. D.; THORAT, B. N.; FREITAS, L. A. P.; MARTINS, P. M.; LANCHOTE, A. D.; THORAT, B. N.; FREITAS, L. A. P. Turbo-extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* using a fractional factorial design. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 510–518, ago. 2017.

MARTINS, P. P.; NICOLETTI, M. A. POLIFENÓIS NO VINHO: RESVERATROL E SEUS BENEFÍCIOS. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 28, n. 4, p. 216–225, 27 dez. 2016.

MEKURIYA, W.; MEKIBIB, B. Review on the Medicinal Values of Ginger for Human and Animal Ailments. **Journal of Veterinary Science & Technology**, p. 519, 23 fev. 2018.

OK, S.; JEONG, W.-S. Optimization of Extraction Conditions for the 6-Shogaol-rich Extract from Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 17, n. 2, p. 166–171, jun. 2012.

OLIVEIRA, V.B. et al. **Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de dicksonia sellowiana (presl.). Hook, dicksoniaceae.** Rev. bras. plantas med. [online]. 2016, vol.18, n.1, suppl.1, pp.230-239. ISSN 1516-0572. [http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15\\_106](http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15_106).

PANIWNYK, L.; ALARCON-ROJO, A.; RODRIGUEZ-FIGUEROA, J. C.; TOMA, M. Chapter 10 - The Use of Ultrasound as an Enhancement Aid to Food Extraction. *In*: GRUMEZESCU, A. M.; HOLBAN, A. M. (Eds.). . **Ingredients Extraction by Physicochemical Methods in Food**. Handbook of Food Bioengineering. [s.l.] Academic Press, 2017. p. 399–440.

PARVEEN, A.; JIN, M.; KIM, S. Y. Bioactive phytochemicals that regulate the cellular processes involved in diabetic nephropathy. **Phytomedicine**, v. 39, p. 146–159, 15 jan. 2018.

PEREIRA, F. M. V.; PEREIRA-FILHO, E. R. APLICAÇÃO DE PROGRAMA COMPUTACIONAL LIVRE EM PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS: UM TUTORIAL. **Química Nova**, v. 41, n. 9, p. 1061–1071, set. 2018.

RAHATH KUBRA, I.; KUMAR, D.; RAO, L. J. M. Effect of microwave-assisted extraction on the release of polyphenols from ginger (*Zingiber officinale*). **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, n. 9, p. 1828–1833, 1 set. 2013.

RAI, S.; MUKHERJEE, K.; MAL, M.; WAHILE, A.; SAHA, B. P.; MUKHERJEE, P. K. Determination of 6-gingerol in ginger (*Zingiber officinale*) using high-performance thin-layer chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 29, n. 15, p. 2292–2295, out. 2006.

REHMAN, R.; AKRAM, M.; AKHTAR, N.; JABEEN, Q.; TARIQ, S.; SHAH, S. M. AL.; AHMED, K.; SHAHEEN, G.; ASIF, H. M. *Zingiber officinale* Roscoe (pharmacological activity). **Journal of Medicinal Plants Research**, p. 344–348, 4 fev. 2011.

ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Strategies to increase sensitivity in UV-VIS spectrophotometry. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 807–812, out. 2004.

SALAMAH, N.; ROZAK, M. THE EFFECT OF EXTRACTION METHOD ON TOTAL ALKALOID LEVELS OF “JEMBIRIT” LEAVES (*Tabernaemontana sphaerocarpa* BL). **Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia**, v. 8, n. 2, p. 47–57, 1 dez. 2015.

SAMAD, M. B.; MOHSIN, M. N. A. B.; RAZU, B. A.; HOSSAIN, M. T.; MAHZABEEN, S.; UNNOOR, N.; MUNA, I. A.; AKHTER, F.; KABIR, A. U.; HANNAN, J. M. A. [6]-Gingerol, from *Zingiber officinale*, potentiates GLP-1 mediated glucose-stimulated insulin secretion pathway in pancreatic  $\beta$ -cells and increases RAB8/RAB10-regulated membrane presentation of GLUT4 transporters in skeletal muscle to improve hyperglycemia in *Leprdb/db* type 2 diabetic mice. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 17, n. 1, p. 395, 9 ago. 2017.

SHARIFI-RAD, MEHDI *et al.* Plants of the Genus Zingiber as a Source of Bioactive Phytochemicals: From Tradition to Pharmacy. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 22, n. 12, 4 dez. 2017.

SRINIVASAN, K. Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*): A spice with multiple health beneficial potentials. **PharmaNutrition**, v. 5, n. 1, p. 18–28, 1 mar. 2017.

SYED JAAPAR, S. Z.; MORAD, N. A.; IWAI, Y.; NORDIN, M. F. M. Effects of processing parameters in the sonic assisted water extraction (SAWE) of 6-gingerol. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 38, p. 62–74, set. 2017.

TSUKUI, A.; REZENDE, C. M. Extração Assistida por Micro-ondas e Química Verde. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 6, p. 1713–1725, 10 nov. 2014.

VEGGI, P. C. Obtenção de compostos fenólicos de plantas brasileiras via tecnologia supercrítica utilizando cossolventes e extração assistida por ultrassom. 2013.

VILKHU, K.; MAWSON, R.; SIMONS, L.; BATES, D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Food Innovation: Emerging Science, Technologies and Applications (FIESTA) Conference. v. 9, n. 2, p. 161–169, 1 abr. 2008.

WANG, S.; SUN, X.; JIANG, L.; LIU, X.; CHEN, M.; YAO, X.; SUN, Q.; YANG, G. 6-Gingerol induces autophagy to protect HUVECs survival from apoptosis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 256, p. 249–256, 25 ago. 2016.

WONG-PAZ, J. E.; MUÑIZ-MÁRQUEZ, D. B.; AGUILAR-ZÁRATE, P.; ASCACIO-VALDÉS, J. A.; CRUZ, K.; REYES-LUNA, C.; RODRÍGUEZ, R.; AGUILAR, C. N. Chapter 5 - Extraction of Bioactive Phenolic Compounds by Alternative Technologies. *In*: GRUMEZESCU, A. M.; HOLBAN, A. M. (Eds.). **Ingredients Extraction by Physicochemical Methods in Food**. Handbook of Food Bioengineering. [s.l.] Academic Press, 2017. p. 229–252.

YALAVARTHI, C.; THIRUVENGADARAJAN, V. S. A review on identification strategy of phyto constituents present in herbal plants. **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 4, p. 123–140, 1 jan. 2013.

YAO, J. *et al.* 6-Gingerol as an arginase inhibitor prevents urethane-induced lung carcinogenesis by reprogramming tumor supporting M2 macrophages to M1 phenotype. **Food & Function**, v. 9, n. 9, p. 4611–4620, 19 set. 2018.

YUDTHAVORASIT, S.; WONGRAVEE, K.; LEEPIPATPIBOON, N. Characteristic fingerprint based on gingerol derivative analysis for discrimination of ginger (*Zingiber officinale*) according to geographical origin using HPLC-DAD combined with chemometrics. **Food Chemistry**, v. 158, p. 101–111, 1 set. 2014.