

## Comparación de dos técnicas de extracción de jengibre (*Zingiber officinale Roscoe*) y cuantificación de fenólicos totales y capacidad antioxidante

Valadez-Villarreal A.<sup>1\*</sup>, López-Hernández E<sup>2</sup>, García-Jiménez R.<sup>1</sup>, Ruíz-Santiago F.L.<sup>1</sup>, Hernández-Becerra J.A.<sup>1</sup> y Rocher-Córdova R.<sup>1</sup>

Universidad Tecnológica de Tabasco. División de Procesos Industriales<sup>1</sup>. Carretera Villahermosa-Teapa Km. 14.6 S/N. Fracc. Parrilla II, Parrilla, C.P. 86286. Centro, Tabasco. [valadezantonio@hotmail.com](mailto:valadezantonio@hotmail.com)

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Programa de Ingeniería de Alimentos, DACA<sup>2</sup>. Carr. Villahermosa-Teapa Km. 25. Ranchería La Huasteca. C.P. 86280. Centro, Tabasco.

### RESUMEN:

Los compuestos polifenólicos son considerados debido a su estructura química como antioxidantes. En este trabajo se estudian los compuestos polifenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de jengibre (*Zingiber officinale Roscoe*), por obtenidos por los métodos de reflujo y de microondas asistida por ultrasonido. El contenido de polifenoles se determinó por medio del reactivo de Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante se evaluó por las técnicas de DPPH (2,2-difenil-2-picrylhidrazil). La extracción por microondas mostró concentraciones mayores de polifenoles así como de actividad antioxidante. El rendimiento fue significativamente mayor con una  $P \geq 0.5$  en los extractos obtenidos por microondas, de acuerdo al análisis estadístico realizado con el software Statistica versión 6.0.

**Palabras clave:** jengibre, polifenoles, *Zingiber*, actividad antioxidante

### ABSTRACT:

Polyphenolic compounds are considered due to their chemical structure as antioxidants. In this paper the polyphenolic compounds and antioxidant capacity of extracts ginger (*Zingiber officinale Roscoe*), by obtained by the methods of microwave assisted, reflux and ultrasound are studied. The polyphenol content was determined using the Folin-Ciocalteu and antioxidant activity by techniques DPPH (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Ultrasound extraction showed higher concentrations of polyphenols and antioxidant activity. Gallic acid content was higher in the extracts obtained by microwaves. The extraction yield was greater with the microwaves method, according the software Statistica.

**Keywords:** ginger, polyphenols, *Zingiber*, antioxidant activity

**Área:** Alimentos funcionales

### INTRODUCCIÓN

La creciente demanda mundial por productos naturales en fresco o procesados, o por productos terminados que contengan componentes naturales, es una oportunidad para nuestro país, dadas las ventajas comparativas que éste posee. En esa dirección, el procesamiento de especies y plantas aromáticas puede constituir una posibilidad para aumentar el nivel de exportaciones no tradicionales, dada la demanda mundial que existe por productos vegetales del trópico, por sus delicadas y exóticas características sensoriales. Dicha posibilidad se acentúa al aumentar el conocimiento sobre nuestros recursos naturales, tal cual ha ocurrido con algunas frutas tropicales (Duque & Morales, 2005).

La investigación de nuevas sustancias seguras para la conservación de los alimentos, se está realizando en diversas partes del mundo (Magnuson et al, 2013, Ortega-Ramírez et al, 2014). Muchas plantas presentan compuestos bioactivos que pueden ser considerados como una excelente alternativa para ser usadas como antioxidantes y como antimicrobiales (Silva-Espinosa et al, 2013).

Las plantas medicinales (raíces, tallos, hojas, flores y frutas), son ricos en compuestos diversos como son terpenos (safrol, terpineno, terpinoleno), y fenólicos (flavonoides y ácidos fenólicos) y se ha observado que estos compuestos son efectivos como aditivos alimentarios (Ortega-Ramírez et al, 2014).

Como consecuencia del proceso oxidativo, se generan las llamadas EROS (Especies reactivas del oxígeno), que son causantes de la generación de radicales libres que a su vez provocan una serie de alteraciones funcionales que son

enfermedades crónicas tales como cáncer, reumatismo, Alzheimer, aterosclerosis, enfisema, cirrosis y diabetes (Quiroz-Reyes et al, 2013).

Los antioxidantes se ingieren con los alimentos y bebidas como el café y el té, que se consumen en la mayoría de los países y que promueven la buena salud (Quiroz-Reyes et al, 2013). No obstante plantas como el jengibre, momo, la chaya o el chipilín, que son ampliamente consumidos en el sur del país, son fuentes naturales de estos compuestos antioxidantes.

El jengibre es un tubérculo articulado, en forma de mano, a los cuales se les da el nombre de rizoma (Bartley & Jacobs, 2000). Parte esencial de la planta, de un olor fuerte aromático; sabor agrio, picante. Los rizomas son de color cenizo por fuera y blanco amarillento por dentro. Las hojas son alargadas como las de maíz cuando apenas brotan de la tierra y envuelven con su vaina el tallo. Además de ser un condimento muy apreciado, el jengibre (*Zingiber officinale*) ha sido utilizado con propósitos curativos desde hace miles de años. En la medicina ayurvédica de la India y en la medicina China, el jengibre ocupa un lugar importante. Existen estudios que apuntan a que en estos casos el jengibre es más efectivo que los medicamentos recetados (Lawrence, 1984, Magalhaes, 1997)

Existen diversas técnicas de extracción para compuestos fenólicos que son la maceración y reflujo con solventes, extracción con agua caliente, extracción asistida por enzimas, la utilización de rayos gama y flujo de electrones, además de los fluidos supercríticos y el uso de radiación ultrasónica asistida por sonicación (Quiroz-Reyes et al, 2013).

El uso de radiación ultrasónica (20-100 kHz) para extraer compuestos naturales tiene alta reproducibilidad y facilidad de manejo, bajo consumo de energía y equipamiento más barato comparado con otras técnicas novedosas. El ultrasonido facilita la humectación de los tejidos vegetales lo que permite una alta velocidad de difusión a través de la pared celular e incrementar la transferencia de masa (Vinatoru et al, 2001).

El objetivo de este estudio es hacer un comparativo de la efectividad de extracción de los compuestos polifenólicos, la actividad antioxidante y del rendimiento, entre el método de reflujo y el de microondas asistido por ultrasonido, para el jengibre comercializado en el estado de Tabasco.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

Los tubérculos de jengibre, fueron obtenidos en el mercado de la Sierra en la ciudad de Villahermosa, Tabasco, en la estación de primavera y con un estado de madurez comercial para su consumo. Los reactivos de Folin-Ciocalteu fue marca HYCEL, el DPPH, ABTS, ácido gálico, son de la marca SIGMA y los demás reactivos y disolventes son de las marcas nacionales.

#### **Contenido de humedad.**

El contenido de humedad fue medido de acuerdo al método 934.06 de la AOAC (2000)

#### **Obtención de los extractos**

1. Se seleccionaron rizomas de jengibre, se lavaron perfectamente con agua corriente y se les eliminó la piel externa.
2. La muestra de jengibre fue cortada en pequeños trozos de 0,3-0,5 mm, y se realizó el secado de las misma en un horno deshidratador de charolas a 50°C, de la marca Jersa modelo a vapor con 20 charolas, durante 3 horas. El material seco se molió en un molino marca Pulvex modelo 200, utilizando la fracción entre 40 y 60 mallas y el polvo resultante se guardó en frascos sellados, en un desecador, hasta su utilización.
3. Para la obtención de los extractos por reflujo se plantearon los siguientes experimentos; Se utilizaron mezclas de metanol al 100%, metanol-agua 75%. 50%. 25% y 0% de agua. Se extrajo 1 gr de muestra y se adicionaron 250 mL, de la mezcla de disolventes, en un extractor tipo Soxhlet marca RIOSA, durante tres horas. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró a vacío en un embudo Buchner, por un papel filtro Whatman No.1. El cartucho de extracción se llevó a peso constante y por diferencia de peso se calculó el rendimiento de extracción. Las extracciones se hicieron por triplicado,

- Los extractos obtenidos por microondas se obtuvieron utilizando un gramo de la muestra pulverizada y colocando 250 mL de cada una de las mezclas de disolventes antes mencionadas en el matraz de dilución. Se empleó un aparato de la marca MarsXpress marca Cem Corporation, y las condiciones de trabajo fueron; Potencia 800W, Temperatura 60°C y los tiempos de extracción fueron de 30, 60 y 120 min. Posteriormente, los extractos se filtraron a vacío, usando papel Whatman No. 1, se concentraron a vacío.
- Las muestras se almacenaron en frasco color ámbar en refrigeración a 4 °C hasta su posterior utilización.

#### **Determinación de compuestos fenólicos totales por el método de Folin-Ciocalteu.**

Se usó la técnica utilizada reportada por Chia-Ching *et al* (2002). Se elaboró una curva estándar (por triplicado) de ácido gálico. se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro marca Genesys 2. Se tomaron 2 mL de los extractos preparados previamente y se diluyeron a 25 mL con metanol. De esta dilución se tomó 1 mL, se colocó en un tubo de ensayo y se agregaron 5 mL de agua, 1.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 1.5 mL de carbonato de sodio al 20%. Se incubaron 30 min a 40°C, se dejó enfriar y se midió la absorbancia a 765 nm. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

#### **Actividad antioxidante por el método de DPPH.**

Se llevó a cabo de acuerdo con método reportado por Moura-Rufino *et al* (2007). Se preparó una curva estándar de DPPH 0.06 mM con las diluciones respectivas con metanol, para obtener concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 µM. La absorbancia se obtuvo a una longitud de onda de 515 nm.

#### **Análisis estadístico**

Los datos se analizaron usando el software Statistica. Se realizaron pruebas de ANOVA y de comparación de medias de Tukey para determinar las diferencias significativas. Los resultados se analizaron para una probabilidad del 95% (P<0,05). La desviación estándar fue calculada usando el software Excel.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El contenido de humedad de la muestra fue de 7±0,034% P/P y en estado fresco de 85,0±0,4765% P/P.

En la Tabla I se muestra el rendimiento de extracción por el método de reflujo y de microondas a tres tiempos de extracción. y se observa que para el caso del reflujo, a todas las condiciones de extracción, los valores son estadísticamente diferentes y los valores de rendimiento son menores en comparación a los de extracción por microondas y que los valores más altos de extracción lo están con las mezclas metanol-agua 75-25 metanol-agua y a 50-50, a un tiempo de 120 min. Esto indica que al usar un tiempo de 30 minutos para estas mezclas de extracción, este es equivalente estadísticamente a los otros dos tiempos, lo que da la ventaja de hacer las determinaciones más cortas y de exponer por menos tiempo a las muestras a temperatura lo que podría llevar a una posible pérdida de compuestos polifenólicos. Esto está de acuerdo con lo que indica Sulaiman *et al*, 2011, para la extracción de polifenoles y antioxidantes en diversas plantas, evaluando el efecto de varios disolventes.

**Tabla I.** Rendimiento de la extracción del rizoma de jengibre por los métodos de reflujo con diferentes mezclas de disolventes.

Tiempo	METANOL 100%	75/25	50/50	25/75	100% AGUA
Reflujo	5,17±0,079 b	6,48±0,240 c	5,90±0,149 b	6,15±0,270 b	3,24±0,513 c
30	6,52±0,106 a	7,49±0,532 a	6,72±0,355 a	7,16±0,461 a	5,33±0,147ab
60	7,03±0,348 a	7,17±0,612 ab	7,16±0,165 a	6,93±0,535 a	5,29±0,275 b
120	6,91±0,468 a	7,24±0,104 b	7,21±0,025 a	5,25±0,258 c	5,96±0,241 a

Las medias con diferentes letras en cada columna fueron significativamente diferentes P<0,05).

#### **Compuestos polifenólicos totales**

La Tabla II se muestra el contenido de polifenólicos totales reportados como miligramos de ácido gálico/g de planta seca, donde los valores mayores son para las mezclas metanol-agua 75-25 y metanol agua 50-50. Como en el caso de los polifenoles totales los valores de reflujo fueron menores comparados con los de microondas lográndose los mayores valores a los 120 minutos, aunque estando bastante cercanos los valores de 30 y 60 min. Conde-Hernández et al (2009), obtiene resultados parecidos aunque utilizando el método de agitación y comparándolo con microondas. Quiroz-Reyes et al, (2013) trabajó con maceración y ultrasonido en cacao y encuentra que es más eficiente el método de microondas en relación a la maceración.

**Tabla II.** Contenido de compuestos polifenólicos por el método de reflujo y de microondas, en cinco concentraciones de metanol-agua (mg de ácido gálico/g de muestra seca).

Tiempo	METANOL				100% AGUA
	100%	75/25	50/50	25/75	
Reflujo	7,81±0,0392 a	10,60±0,0792 a	9,05±0,0608 a	7,08±0,0908 a	2,04±0,5882 c
30	8,88±0,2941 b	12,77±0,3962 b	9,82±0,6886 a	7,26±0,1480 a	4,13±0,1904 a
60	9,30±0,1961 b	13,17±0,1335 b	9,57±0,1563 a	9,04±0,2961 c	7,99±0,2273 b
120	10,57±0,1080 c	15,05±0,1335 c	13,89±0,1480 b	11,71±0,5990d	11,13±0,206 b

Las medias con diferentes letras en cada columna fueron significativamente diferentes P<0,05).

En la Tabla III se muestran los valores de EC<sub>50</sub> para el extracto de jengibre en las cinco mezclas de disolventes y para los dos métodos de extracción. La EC<sub>50</sub> se define como la cantidad de antioxidante necesario para reducir la concentración inicial de DPPH en un 50%. A valores de EC<sub>50</sub>, más grande es la actividad de los extractos como inhibidores del radical DPPH (Wooton-Beard y Ryan, 2011). Los valores menores que son los que representan la mayor capacidad de inhibición se encuentran a 120 minutos y en las mezclas metanol-agua 75-25 y 50-50

**Tabla III.** Valores de EC<sub>50</sub> de extracto de jengibre en cinco sistemas de disolventes y con los dos métodos de extracción.

	Metanol al 100%	75/25	50/50	25/75	100% agua
Reflujo	0,4756±0,0086b	0,0687±0,0009a	1,0453±0,0075b	0,775±0,0065c	0,9324±0,0080b
30 min	0,5874±0,0051c	0,7783±0,0038b	1,0159±0,0065a	0,8125±0,0076d	0,9236±0,0075b
60 min	0,0578±0,0043a	1,2043±0,0047c	1,0715±0,0032c	0,4238±0,0023b	0,7976±0,0067a
120	-0,3765±0,0023d	1,4365±0,0067d	-1,145±0,0021d	0,3536±0,0020a	0,6065±0,0010c

Las medias con diferentes letras en cada columna fueron significativamente diferentes P<0,05).

## CONCLUSIÓN

El emplear microondas facilita la extracción de los compuestos polifenólicos presentes incrementando los valores de extracción de manera significativa. La actividad antioxidante medida por el método de DPPH muestra que los valores obtenidos por microondas, son más efectivos para extraer los compuestos antioxidantes presentes.

Así mismo podemos concluir que el método de microondas es mucho más efectivo que el de reflujo, ya que es menos drástico al emplear tiempos y temperaturas más bajas, y preservar aquellos compuestos con actividad biológica como los antioxidantes.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bartley, J.P. and JACOBS, A.L. (2000) Effects of Drying on Flavour Compounds in Australian-Grow Ginger (*Zingiber officinale*). *Journal of Science and Food Agriculture* 80, 209-215
- Chia-Chi Chang, Ming-Hua Yang, Hwei-Mei Wen And Jiing-Chuan Chern 2002 Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 10, No. 3, Pages 178-182

- Conde-Hernández L.A. & Guerrero-Beltrán J.A. (2009) Extracción supercrítica de antioxidantes naturales a partir de hierbas y especias. *Temas selectos de Ingeniería de alimentos* 3-1 96-110.
- Lawrence B.M. (1984) Major tropical spices: Ginger (*Zingiber officinale* Rose.), *Parfum and Flavor*. 9(5), 1-40
- Magalhaes, M. (1997) Brazilian Ginger: General Aspects, Essential Oil and Oleoresin. Part 1. General Aspects, Essential Oil. *Ciencia Tecnología de Alimentos*., 17, 64-69
- Magnuson B, Munro I, Abbot P, Baldwin N, López-García R, Ly K, McGirr L, Robeerts A, Socolovsky S. 2013. Review of the regulation and safety assessment of good substances in various countries and jurisdictions. *Food Additives and Contaminants: Part A* 30(7):1147-1220.
- Moura Rufino M.S, Elesbao, A.R., Sousa B.E., Maia M.S. Goes S.C., Pérez-Jiménez J y Saura-Calixto, F.D. 2010. Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH . *Metodologia científica. Empresa Embrasa. Brasil*
- Ortega-Ramírez LA, Rodríguez-García I, Leyva JM, Cruz-Valenzuela MR, Silva-Espinoza BA, González-Aguilar GA, Siddiqui MW, Ayala-zavala JF. 2014. Potential of medicinal plants as antimicrobial and antioxidant agents in food industry: A hypothesis. 79(2) R129-R137.
- Quiroz-Reyes, CN, Aguilar-Méndez, MA, Ramírez-Ortíz, ME, Ronquillo-de Jesús, E. 2013. Comparative study of ultrasound and maceration techniques for the extraction of polyphenols from cocoa. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 12(1), 11-18
- Sánchez Y, Pino O, Correa T.M., Naranjo E, Iglesia A. 2009. Estudio químico y microbiológico del aceite de *Piper auritum* Kunth (Caisimón de anís). *Revista de Protección Vegetal*, 24, 110-115.
- Silva-Espinoza BA, Ortega-Ramírez LA, González-Aguilar GA, Olivas I, Ayala-Zavala JF. 2013. Protección antifúngica y enriquecimiento antioxidante de fresa con aceite de hoja de canela. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36(3):217-224
- Sulaiman, S.F., Bakar Sajak, A.A., Ooi, K.L. Seow, M.E. 2011. Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis* 24, 506-515
- Vinatoru M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry* 8, 303-313
- Wooton-Beard P.C. Ryan, L 2011. Improving public health? The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. *Food Research International* 44, 3135-3148