



INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**EFEITOS DO PROCESSAMENTO POR RADIAÇÃO EM ESPÉCIES DA
FAMÍLIA ZINGIBERACEAE: AÇAFRÃO (*Curcuma longa* L.), GENGIBRE
(*Zingiber officinale* Roscoe) e ZEDOÁRIA (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe)**

MARIANA CORRÊA DE ALMEIDA

Dissertação apresentada como
parte dos requisitos para obtenção
do Grau de Mestre em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear – Aplicações.

Orientadora:
Profa Dra Anna Lucia C. H. Villavicencio

São Paulo

2012

*Aos meus pais, Gilberto e Ana Maria,
por todo incentivo e amor infinito.*

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Dra Anna Lucia C. H. Villavicencio, por sua orientação, por acreditar no meu trabalho e por não medir esforços para que ele se concretizasse;

A Profa Dra Deborah Helena Marcowicz Bastos, minha professora desde a graduação, pela valiosa e indispensável contribuição, paciência, disponibilidade e por todos os conselhos que me fez durante esta jornada. Obrigada também por disponibilizar o Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Saúde Pública - USP para a realização dos ensaios necessários para o desenvolvimento deste estudo;

Ao IPEN, em especial ao Dr Wilson Aparecido Parejo Calvo, gerente do CTR, e a Dra Margarida Hamada, chefe de divisão de pesquisa e desenvolvimento do CTR, pelo apoio financeiro;

A Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, que novamente me acolheu para a realização de mais um sonho.

A Santos Flora Comércio de Ervas Ltda pela doação da zedoária utilizada neste estudo;

A Dra Monica Beatriz Mathor, por me mostrar o caminho, por sempre me ouvir quando precisei e pela sua amizade;

Ao Sérgio Tinoco Panizza, por me apresentar o mundo fascinante das plantas medicinais, pela confiança e por tornar tudo isso possível;

A Dra Geni Rodrigues Sampaio, pelo fundamental e intenso apoio, por me apresentar o Laboratório de Bromatologia e, com paciência, me ensinar a trabalhar. Agradecimentos sem fim;

Ao amigo farmacêutico Msc Rogério da Silva Veiga, pelos ensinamentos constantes e conselhos técnicos que muito me ajudaram em momentos decisivos deste trabalho;

As amigas Daniela Moura e Érica Ferreira, por me acolherem no Laboratório e por sempre me disponibilizarem ajuda durante as análises. Por me ouvirem em momentos difíceis e compartilharem sorrisos em momentos de descontração;

Aos colegas do IPEN: Gustavo, Flavio, Amanda Santillo, Amanda Koike, Renato e Michel, que apesar da pouca convivência sempre me ajudaram com os assuntos administrativos;

Aos meus pais Gilberto e Ana Maria e ao meu irmão Lucas, minha família, meu porto seguro e minha inspiração;

Ao meu “Pequeno”, Ricardo, a quem tanto amo, pelo incentivo, carinho e por fazer minha vida ainda mais feliz;

A minha irmã postiça Jackie, pelos almoços, jantares e happy hours juntas;

A minha sogra Dra Marisa Frasson de Azevedo, pelos conselhos com a tese, fundamentais no final deste percurso,

Aos meus amigos de empresa: Rose, Teodora, Clemência, Fernando, Ana Paula, Priscila, Sueli, Cristiane, Mariciel e Diego. É sempre bom trabalhar com pessoas queridas e divertidas;

A todos aqueles que colaboraram para a criação, desenvolvimento e conclusão deste estudo os meus mais sinceros agradecimentos.

*“É do buscar e não do achar que
nasce o que eu não conhecia”*

(Clarice Lispector)

EFEITOS DO PROCESSAMENTO POR RADIAÇÃO EM ESPÉCIES DA FAMÍLIA ZINGIBERACEAE: AÇAFRÃO (*Curcuma longa* L.), GENGIBRE (*Zingiber officinale* Roscoe) e ZEDOÁRIA (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe)

MARIANA CORRÊA DE ALMEIDA

RESUMO

As espécies da família Zingiberaceae são caracterizadas por suas raízes. Constituintes fenóis como curcuminóides e gingeróis destacam-se por suas atividades biológicas. A irradiação de alimentos é um meio de preservação eficiente, porém, é importante garantir que suas propriedades funcionais sejam preservadas. Este trabalho vem avaliar o efeito do processamento por radiação gama de ^{60}Co em doses de 0, 5, 10, 15 e 20kGy sobre espécies de Zingiberaceae: açafrão (*Curcuma longa* L.), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e zedoária (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe). A determinação qualitativa do perfil de compostos bioativos foi realizada por cromatografia de camada delgada. A quantificação de compostos fenólicos foi realizada pelo método Folin-Ciocalteu e a avaliação do potencial da atividade antioxidante pelo teste de captura do radical livre [2,2 difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•)] e método Rancimat®. A quantificação de curcumina e 6-gingerol foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Não houve mudança no perfil fitoquímico das espécies após o tratamento por irradiação. Em relação às amostras controle, houve perdas significativas no teor de compostos fenólicos nas amostras de açafrão nas doses de 15kGy e 20kGy. Ocorreu decréscimo significativo da capacidade de captura do DPPH nos extratos de gengibre irradiados e no extrato de zedoária irradiado com 20kGy. O Índice de Atividade Antioxidante foi significativamente menor nos extratos de açafrão irradiados com 5kGy e 15kGy e nos extratos irradiados de zedoária. A quantificação de curcumina foi significativamente menor nos extratos de açafrão irradiados com 15 kGy e não houve diferença significativa na quantificação de 6-gingerol entre os extratos de gengibre. Conclui-se que a tecnologia de processamento de Zingiberaceae por radiação gama pode ser viável para as indústrias. Para segurança da manutenção da atividade antioxidante as doses devem ser de até 10kGy.

Palavras chaves: irradiação de alimentos, compostos bioativos, Zingiberaceae

EFFECT OF THE RADIATION PROCESSING IN SPECIES OF ZINGIBERACEAE FAMILY: TURMERIC (*Curcuma longa* L.), GINGER (*Zingiber officinale* Roscoe) AND ZEDOARIA (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe)

MARIANA CORRÊA DE ALMEIDA

ABSTRACT

The species of Zingiberaceae family are characterized for rhizome. Phenolic constituents like curcuminoids and gingerols have had reports of biological activities. Food irradiation is an effective means of preservation, however it is important to ensure that their functional properties are not compromised. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of gamma radiation from ^{60}Co in doses of 0, 5, 10, 15 and 20 kGy on species of Zingiberaceae: turmeric (*Curcuma longa* L.), ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and zedoaria (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe). The qualitative determination of bioactive compounds profile was performed by thin layer chromatography. The quantification of phenolic compounds was performed by Folin-Ciocalteu method and assessing the potential of antioxidant activity by the free radical [2,2 difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•)] scavenging and by Rancimat® method. The curcumin and 6-gingerol quantification was performed by High Performance Liquid Chromatography. Compared to control, there were significant losses of total phenolic compounds in turmeric samples irradiated with 15kGy and 20kGy. There were significant decreases in the ability to scavenge DPPH in irradiated ginger extracts and zedoaria extract irradiated with 20kGy. The Antioxidant Activity Index was significantly lower in 5kGy and 15kGy irradiated turmeric extracts and in irradiated zedoaria extracts. The curcumin quantification was significantly lower in 15kGy irradiated turmeric extracts and there was no significant difference in the 6-gingerol quantification between ginger extracts. It is concluded that gamma radiation processing technology in Zingiberaceae can be viable for industry. To maintain safety of antioxidant activity it should be applied doses up 10kGy.

Key words: food irradiation, bioactive compounds, Zingiberaceae

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1 Compostos Bioativos	5
3.2 Radicais livres	6
3.3 Estresse oxidativo	7
3.4 Atividade antioxidante	9
3.5 Compostos fenólicos	11
3.6 Produtos naturais como forma de prevenção e tratamento de doenças	13
3.7 A família Zingiberaceae	15
3.8 Açafrão (<i>Curcuma longa</i> L.)	18
3.9 Gengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe)	26
3.10 Zedoária (<i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe)	34
3.11 Irradiação de alimentos	40
4. MATERIAIS E MÉTODO	45
4.1 Materiais	45
4.1.1 Amostras	45
4.2 Métodos	45
4.2.1 Irradiação	45
4.2.2 Preparação dos extratos	46
4.2.3 <i>Screening fitoquímico</i> por cromatografia em camada delgada (CCD) ...	48
4.2.4 Determinação de sólidos solúveis	49
4.2.5 Quantificação dos fenólicos totais	49
4.2.6. Determinação da atividade antioxidante	50
4.2.6.1 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH (IC _{50%})	50
4.2.6.2 Avaliação da capacidade protetora da oxidação lipídica utilizando o aparelho Rancimat®	51
4.2.7 Quantificação de compostos bioativos por CLAE	52
4.2.8 Análises estatísticas	56

5. RESULTADOS	57
5.1 <i>Screening fitoquímico</i> por cromatografia em camada delgada (CCD)	57
5.2. Quantificação dos compostos fenólicos totais	62
5.3 Determinação da atividade antioxidante	66
5.3.1 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH (IC _{50%})	66
5.3.2 Avaliação da capacidade protetora da oxidação lipídica utilizando o aparelho Rancimat®	69
5.4 Quantificação de compostos bioativos por CLAE	72
5.4.1 Quantificação de curcumina nos extratos de açafrão	72
5.4.2 Quantificação de 6-gingerol nos extratos de gengibre	76
6. CONCLUSÕES	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83
ANEXO 1: Perfil cromatográfico do padrão de curcumina no comprimento de onde de 426 nm.....	105
ANEXO 2: Perfil cromatográfico do padrão de 6-gingerol no comprimento de onde de 200 nm.....	106
ANEXO 3: Comparação entre os perfis cromatográficos dos extratos de açafrão estudados.....	107
ANEXO 4: Comparação entre os perfis cromatográficos dos extratos de gengibre estudados.....	108

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1: Classe de compostos fenólicos em plantas	12
TABELA 2: Localização dos gêneros pertencentes às plantas da família Zingiberaceae em relação às tribos (número de espécies pertencentes a cada gênero)	17
TABELA 3: <i>Screening fitoquímico</i> das espécies estudadas por cromatografia em camada delgada	57
TABELA 4: Teor de compostos fenólicos presentes nos extratos estudados	62
TABELA 5: Atividade de inibição do DPPH (IC50%) pelos extratos estudados	66
TABELA 6: Índice de Atividade Antioxidante nos extratos estudados	69
TABELA 7: Quantificação de curcumina nos extratos de açafrão	73
TABELA 8: Quantificação de 6-gingerol nos extratos de gengibre	76
TABELA 9: Resultados referentes à validação do método nos extratos de açafrão e gengibre	80

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
FIGURA 1: Açafrão (<i>Curcuma longa</i> L.)	19
FIGURA 2: Estrutura química da curcumina	20
FIGURA 3: Gengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe)	27
FIGURA 4: Estrutura química do 6-gingerol	28
FIGURA 5: Zedoária (<i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe)	34
FIGURA 6: Unidade de isopreno	35
FIGURA 7: Radura: Símbolo utilizado para identificar produtos irradiados	43
FIGURA 8: Esquema das extrações de açafrão, gengibre e zedoária segundo CHEN <i>et al</i> (2008) com modificações	47
FIGURA 9: Espectro de absorção do padrão de curcumina	53
FIGURA 10: Curva de calibração, equação e coeficiente de determinação do padrão curcumina	54
FIGURA 11: Espectro de absorção do 6-gingerol	55
FIGURA 12: Curva de calibração, equação e coeficiente de determinação do padrão de 6- gingerol	55
FIGURA 13: CCD dos extratos de <i>Curcuma longa</i> com fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (90:5:5) e NP-PEG como revelador	58
FIGURA 14: CCD dos extratos de <i>Curcuma longa</i> com fase móvel hexano/ ácido de etila (60:40) e vanilina sulfúrica como revelador	58
FIGURA 15: CCD dos extratos de <i>Curcuma longa</i> com fase móvel clorofórmio e Dragendorf como revelador	59
FIGURA 16: CCD dos extratos de <i>Zingiber officinale</i> com fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (90:5:5) e NP-PEG como revelador	59
FIGURA 17: CCD dos extratos de <i>Zingiber officinale</i> com fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (90:5:5) e Anisaldeído como revelador	60
FIGURA 18: CCD dos extratos de <i>Zingiber officinale</i> com fase móvel hexano/ ácido de etila (60:40) e vanilina sulfúrica como revelador	60
FIGURA 19: CCD dos extratos de <i>Curcuma zedoaria</i> com fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (90:5:5) e NP-PEG como revelador	61
FIGURA 20: CCD dos extratos de <i>Curcuma zedoaria</i> com fase móvel hexano/	61

ácido de etila (60:40) e vanilina sulfúrica como revelador	
FIGURA 21: Mecanismo de ataque do benzeno pelo radical livre $\bullet\text{OH}$ (OPPENLÄNDER, 2003)	64
FIGURA 22: Perfil cromatográfico da amostra controle de açafão no comprimento de onda de 426 nm	74
FIGURA 23: Perfil cromatográfico da amostra de açafão irradiada com dose de 5kGy no comprimento de onda de 426 nm	74
FIGURA 24: Perfil cromatográfico da amostra de açafão irradiada com dose de 10kGy no comprimento de onda de 426 nm	75
FIGURA 25: Perfil cromatográfico da amostra de açafão irradiada com dose de 15kGy no comprimento de onda de 426 nm	75
FIGURA 26: Perfil cromatográfico da amostra de açafão irradiada com dose de 20kGy no comprimento de onda de 426 nm	76
FIGURA 27: Perfil cromatográfico da amostra controle de gengibre no comprimento de onda de 200 nm	77
FIGURA 28: Perfil cromatográfico da amostra de gengibre irradiada com dose de 5 kGy no comprimento de onda de 200 nm	78
FIGURA 29: Perfil cromatográfico da amostra de gengibre irradiada com dose de 10 kGy no comprimento de onda de 200 nm	78
FIGURA 30: Perfil cromatográfico da amostra de gengibre irradiada com dose de 15 kGy no comprimento de onda de 200 nm	79
FIGURA 31: Perfil cromatográfico da amostra de gengibre irradiada com dose de 20 kGy no comprimento de onda de 200 nm	79

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANVISA	agência nacional de vigilância sanitária
ATP	energia (adenosina trifosfato)
BHT	butil hidroxitolueno
CBA	compostos bioativos
CCD	cromatografia de camada delgada
CCl ₃ [•]	triclorometil
CCl ₄	carbono tetracloreto
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
CMEIA	comitê misto de especialistas em irradiação de alimentos
CNEN	comissão nacional de energia nuclear
Co	Cobalto
COX	ciclooxigenase
Cs	Césio
Cu ⁺	íon cuproso
Cu ²⁺	íon cúprico
DCNT	doenças crônicas não transmissíveis
DPPH	radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EAG	equivalente de ácido gálico
ERO	espécie reativa de oxigênio
FAO	food agriculture organization
FDA	<i>food and drug administration</i>
Fe ²⁺	íon ferroso
Fe ³⁺	íon férrico
g	grama
h	horas
H ⁺	íon hidrogênio
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
IAA	índice de atividade antioxidante
IEAE	agência internacional de energia atômica
IL	interleucina
iNOS	óxido nítrico-sintase induzível
IPEN	instituto de pesquisas energéticas e nucleares

K ⁺	íon potássio
Kg	quilo
kGy	quiloGray
L	litro
LD	limite de detecção
LOX	lipoxigenase
LQ	limite de quantificação
mg	miligrama
mL	mililitro
mm	milímetro
m/v	relação massa e volume
MeOH	metanol
MeV	mili-elétron volts
MMP	matriz metaloproteinase
n	número de amostra
NF-κB	fator nuclear kappa B
nm	nanômetro
NO [•]	óxido nítrico
O ₂	oxigênio molecular
O ₂ ^{•-}	íon superóxido
OH	grupo hidroxila
OMS	organização mundial da saúde
ONOO ⁻	peróxinitrito
p	nível descritivo
SOD	superóxido dismutase
SNC	sistema nervoso central
UV	ultravioleta
μg	microgramas
μm	micrometro
TBARS	substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico
TNF-α	fator de necrose tumoral alfa
v/v	relação volume e volume
%	porcentagem

1. Introdução

Desde a pré-história o homem encontrou nos vegetais uma fonte para manter sua vida saudável e uma ferramenta para o tratamento de doenças. Após décadas de esquecimento, os produtos naturais, plantas medicinais e fitoterápicos retornam no ocidente de um modo bastante amplo. Nos últimos tempos, multiplicaram-se as publicações de informações sobre as vantagens deste tipo de produto (PANIZZA, 2010).

Os vegetais são, no geral, fontes de energia, proteína, vitaminas e minerais e a única, ou principal fonte de vitamina C, folato, fibras e compostos bioativos (CBAs), dos quais o metabolismo humano também é dependente. (BASTOS *et al.*, 2009). Em um novo paradigma, a ingestão insuficiente de CBAs provenientes de vegetais, constitui importante componente de risco das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), contribuindo na mesma magnitude do consumo excessivo de energia e gorduras totais e saturadas na dieta. Isso indica que os CBAs, da mesma forma que os demais nutrientes, são essenciais para que se atinja a carga completa (geneticamente determinada) de longevidade. Segundo esse novo paradigma, as DCNT seriam doenças relacionadas também à deficiência de substâncias “essenciais para a longevidade” (*lifespan essential*) (HOLST & WILLIAMSON, 2008; WILLIAMSON & HOLST, 2008; JACOBS & TAPSELL, 2007).

A ação antioxidante é comum nos CBAs e deve-se ao potencial de óxido-redução, à capacidade de determinada molécula em competir por sítios ativos e receptores nas diversas estruturas celulares ou, ainda, à modulação da expressão de genes que codificam proteínas envolvidas em mecanismos intracelulares de defesa contra processos oxidativos degenerativos de estruturas celulares (DNA, membranas) (BASTOS *et al.*, 2009).

Compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas e estão presentes em todos os vegetais consumidos como alimentos. Muitos CBAs são classificados como compostos fenólicos. Em geral estes compostos são multifuncionais como antioxidantes, pois atuam de várias formas: combatendo os radicais livres, pela doação

de um átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila (OH) da sua estrutura aromática, que possui a capacidade de suportar um elétron desemparelhado através do deslocamento deste ao redor de todo o sistema de elétrons da molécula e algumas vezes como quelantes, metais de transição, como o Fe^{2+} e o Cu^+ , agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (PODSEDEK, 2007; KYUNGMI & EBELER, 2008).

Muitas espécies da família Zingiberaceae apresentam propriedades antioxidantes (VANKAR *et al.*, 2006). Destacam-se seus constituintes menos polares, compostos fenólicos, incluindo curcuminóides e gingeróis, os quais têm tido relatos sobre suas atividades biológicas não apenas como antioxidantes, mas como antifúngicos, inseticidas e anti-inflamatórios, particularmente importantes e relevantes por suas aplicações (HASBAH *et al.*, 2000; MAU *et al.*, 2003; SUHAJ, 2006).

Curcuma longa, conhecida popularmente como “açafraão da Índia” ou apenas açafraão como será denominada neste estudo, é a espécie mais estudada do gênero *Curcuma*, que possui mais de 70 espécies e que se mostra endêmico nas regiões Indo-Malaias, onde são cultivadas suas espécies e utilizada terapeuticamente pela população, principalmente na Índia, China e Indonésia (NETTO JR., 1999; CAO *et al.*, 2001; NICOLETTE, 2002; MATA *et al.*, 2004; MURNIGSIH *et al.*, 2005). O açafraão foi introduzido no Brasil nos tempos coloniais, sendo mencionada sua monografia na Farmacopéia Brasileira segunda edição (NETTO JR., 1999). A curcumina (diferuloilmetano) é a substância responsável pela cor amarela característica dos rizomas desta planta, e é um dos ingredientes ativos responsáveis por suas atividades biológicas, dentre elas a atividade antioxidante (PINO *et al.*, 2003; CECÍLIO FILHO *et al.*, 2004; LANTZ *et al.*, 2005).

O gengibre (*Zingiber officinale*) é uma das plantas mais conhecidas da família das Zingiberaceae, uma especiaria já utilizada a mais de dois mil anos que chegou a ser considerado o mais importante condimento na Ásia (PENNA *et al.*, 2003). As plantas desta família, em geral, apresentam grandes quantidades de ingredientes pungentes e no caso específico do gengibre, os compostos responsáveis pela pungência são principalmente os gingeróis. Estes compostos, principalmente o 6-gingerol, são os componentes mais ativos neste tipo de extrato, grandes responsáveis por sua atividade antioxidante (WANG *et al.*, 2003, HAWLADER *et al.*, 2006, PFEIFFER *et al.*, 2006).

A *Curcuma zedoaria* é conhecida popularmente por zedoária ou “gajitsu”. É uma planta herbácea, aromática e perene de ocorrência espontânea na Índia, Celião e Indochina (TESKE; TRENTINI, 2001, NAVARRO *et al.*, 2002, PEREIRA *et al.*, 2004). Assim como o açafrão, contém curcumina, um composto fenólico com reconhecida atividade antioxidante (PAMPLONA, 2006).

Um problema que tem afligido o setor de plantas medicinais é a contaminação microbiológica que afeta suas qualidades físicas, sanitárias e nutricionais. As condições de coleta, manipulação, secagem (quando é realizada), transporte e estocagem podem propiciar o desenvolvimento de microorganismos como fungos filamentosos, que quando em presença excessiva resulta na deterioração ou redução da vida útil do alimento / fitoterápico (LAZARETTI *et al.*, 2000; RENOVATTO & AGOSTINI, 2008; VALDUGA *et al.*, 2005).

A irradiação de alimentos é um meio de preservação dos alimentos que está em desenvolvimento desde o século XX (MOREHOUSE, 2002). Muitas empresas do ramo de alimentos, plantas medicinais e fitoterápicos utilizam-se da irradiação para garantir sua inocuidade alimentar sem prejudicar a qualidade nutricional do produto e promover o bem estar do consumidor. Este tratamento pode ser realizado após a embalagem do produto e possibilita mínimas alterações a produtos frescos e perecíveis, que podem ser conservados por mais tempo sem perder sua qualidade (MOREHOUSE, 2002).

Por muito tempo os alimentos irradiados foram estudados até que se chegou à conclusão final divulgada em uma reunião em setembro de 1997: a OMS aprova e recomenda a irradiação de alimentos, em doses que não comprometam suas características sensoriais, sem a necessidade de testes toxicológicos. No entanto, é importante lembrar que as propriedades funcionais dos alimentos também não podem ser comprometidas (DELINCEÉ, 2005).

2. Objetivos

Avaliar os efeitos do processamento por irradiação em diferentes doses nas plantas da família Zingiberaceae (açafrão, gengibre e zedoária) sob:

- O *screening fitoquímico* realizado através de cromatografia de camada delgada (CCD).
- A quantificação de compostos fenólicos;
- A ação dos compostos antioxidantes pelo método DPPH (1,1-difenil 2-picrilhidrazil);
- A proteção frente à oxidação lipídica utilizando o aparelho Rancimat®;
- A quantificação dos compostos fenólicos curcumina (para açafrão e zedoária) e 6-gingerol (para gengibre) por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência);

3. Revisão da literatura

3.1 Compostos Bioativos

O consumo de dietas ricas em vegetais reduz o risco das doenças crônicas não transmissíveis, haja vista a menor incidência deste tipo de doença em populações como a mediterrânea e a asiática. Esta constatação impulsionou pesquisas que identificaram substâncias nutrientes e não nutrientes atuantes em alvos fisiológicos específicos que interferem nos processos patológicos destas doenças. Estas substâncias foram denominadas compostos bioativos (CBAs) (BASTOS *et al.*, 2009).

Desta forma, em um novo paradigma, pode-se dizer que a ingestão insuficiente de CBAs provenientes de vegetais constitui importante componente de risco das doenças crônicas não transmissíveis, contribuindo na mesma magnitude do consumo excessivo de energia e de gorduras totais e saturadas na dieta. Os CBAs são então essenciais para que se atinja a carga completa (geneticamente determinada) de longevidade e as doenças crônicas não transmissíveis estão relacionadas diretamente com a deficiência do consumo destas substâncias (HOLST & WILLIAMSON, 2008; WILLIAMSON & HOLST, 2008; JACOBS & TAPSELL, 2007). As doenças crônicas não transmissíveis são, com o auxílio da nutrigenômica e nutrigenética (que visam identificar diferentes respostas dos genes às substâncias bioativas entre os indivíduos), reguladas pela ingestão de CBAs que ativam ou inativam seus respectivos genes (EVANS *et al.*, 2006).

Embora seja reconhecido que CBAs presentes na dieta atuem na manutenção da saúde, faz-se necessário reconhecer que o efeito protetor às doenças crônicas não transmissíveis parece não se reproduzir pela ingestão isolada, na forma de suplementos (BASTOS *et al.*, 2009). É bem conhecido que a eficácia terapêutica de alimentos “funcionais” e plantas medicinais advém de uma composição de fitoquímicos denominado “fitocomplexo” (CAPASSO *et al.*, 2000).

Na dieta habitual, alguns gramas de CBAs por dia são ingeridos. No entanto, as concentrações destes compostos no organismo humano são muito baixas, na faixa de micromoles, o que está relacionado à sua limitada absorção e biodisponibilidade (BASTOS *et al.*, 2009).

A ação protetora dos CBAs é atribuída em partes à sua ação antioxidante e, como consequência, à capacidade destas substâncias de auxiliarem no combate aos radicais livres e ao estresse oxidativo (SOUZA, 2009).

3.2 Radicais livres

Radicalis livres são átomos ou moléculas altamente reativos que contém um elétron desemparelhado na última camada eletrônica, o que confere ao átomo ou molécula alta reatividade. São formados por reações de óxido redução, após cederem ou receberem um elétron de outras moléculas instáveis (FERREIRA & MATSUBARA *et al.*, 1997).

A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo humano. Os radicalis livres são produzidos naturalmente, na maioria das vezes resultantes das reações do metabolismo celular aeróbio, que envolvem o oxigênio molecular (O₂), localizado na membrana interna da mitocôndria para a produção de energia (ATP) ou por alguma disfunção biológica através de processos metabólicos oxidativos (MONCADA *et al.*, 2001). São gerados tanto por fontes endógenas quanto exógenas. Por fontes endógenas, originam-se de processos biológicos que normalmente ocorrem no organismo: redução de flavinas e tióis, como resultado da atividade de oxidases, cicloxigenases, lipoxigenases, desidrogenases e peroxidases; presença de metais de transição no interior das células e de sistema de transporte de elétrons. As fontes exógenas geradoras de radicalis livres incluem tabaco, poluição do ar, solventes orgânicos, anestésicos, pesticidas e radiação (SOARES, 2002). Os macrófagos e neutrófilos também produzem radicalis livres como defesa contra microrganismos invasores, causando lesões a esses seres (SOUZA, 2009).

Em sua maioria, os radicais livres derivam do oxigênio e denominam-se genericamente de EROs (Espécies Reativas de Oxigênio) (SOARES, 2002). As EROs também podem se referir às espécies que não são radicais livres, e sim algumas moléculas derivadas de O₂ capazes de gerar radical livre (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000). A variedade de radicais livres formados engloba EROs como o íon superóxido (O₂⁻), hidroxila (OH^{*}), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), complexos de metais de transição como Fe⁺³/Fe⁺² e Cu⁺²/Cu⁺, radicais de carbono como triclorometil (CCl₃^{*}), assim como espécies reativas de nitrogênio como o óxido nítrico (NO^{*}) (SOARES, 2002).

A produção exacerbada de radicais livres leva a importantes alterações em nível molecular que estão associadas a danos às macromoléculas biológicas como lipídios, proteínas e DNA, gerando alterações teciduais que implicam em inúmeros processos patológicos (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000; HALLIWELL, 1994).

Os ácidos graxos poliinsaturados das membranas, por exemplo, são muito vulneráveis ao ataque dos radicais livres. Estas moléculas desencadeiam reações de oxidação nos ácidos graxos da membrana lipoprotéica, denominadas peroxidação lipídica, que afetarão a integridade estrutural e funcional da membrana celular, alterando sua fluidez e permeabilidade. Além disso, os produtos da oxidação lipídica da membrana podem causar alterações em certas funções celulares (RICE-EVANS & BURDON, 1993).

As proteínas também podem sofrer alterações estruturais na presença dos radicais livres. Elas podem sofrer modificações que levam a sua fragmentação, *cross linking*, agregação, e, em certos casos, ativação ou inativação de certas enzimas devido à reação dos radicais livres com aminoácidos constituintes da cadeia polipeptídica. Os ácidos nucleicos, por sua vez, reagem com os radicais livres e esta reação pode gerar mudanças em moléculas de DNA acarretando certas aberrações cromossômicas (ERENEL *et al.*, 1993).

Além de todos estes efeitos indiretos a alta concentração de íon superóxido e peróxido de hidrogênio nas células é extremamente tóxica para as mesmas (HALLIWELL *et al.*, 1995).

3.3 Estresse oxidativo

O estresse oxidativo consiste em um estado de desequilíbrio entre EROs e o sistema de defesa antioxidante. Ocorre quando há insuficiência das defesas antioxidantes do organismo ou excesso de produção de EROs devido à maior geração intracelular dos mesmos, promovendo a ocorrência de condição pró-oxidante. Esta condição resulta em danos oxidativos como o aumento no nível da peroxidação lipídica de membranas, aumento de carbonilação de proteínas e danos no DNA (CERUTTI, 1991; FERREIRA & MATSUBARA, 1997; SIES *et al.*, 2005).

Os danos oxidativos causados nas células e tecidos têm sido relacionados com o desenvolvimento de várias doenças crônicas degenerativas tais como diabetes, esclerose múltipla, cardiopatias, câncer, enfisema, doenças do sistema imune, catarata, aterosclerose, artrite, entre outras (SHAHIDI *et al.*, 1992; BIANCHI & ANTUNES, 1999).

São exemplos de espécies de radicais livres:

O_2^- radical superóxido

OH^\bullet radical hidroxila

NO^\bullet óxido nítrico

$ONOO^-$ peroxinitrito

Q^\bullet radical semiquinona (BIANCHI & ANTUNES, 1999)

3.4 Atividade antioxidante

Antioxidantes são substâncias capazes de inibir a oxidação de diversos substratos, de moléculas simples a polímeros e biosistemas complexos. É de um modo geral, qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz (SIES & STAHL, 1995). Os antioxidantes naturais, presentes em plantas e alimentos, são alvos de pesquisas para investigar seu possível uso na redução do risco das doenças crônicas não transmissíveis (MOON & SHIBAMOTO, 2009).

Os agentes que protegem as células contra os efeitos de radicais livres podem ser classificados como enzimáticos e não enzimáticos. O QUADRO 1 apresenta os principais agentes de defesa oxidante e sua respectiva classificação.

QUADRO 1: Principais agentes de defesa antioxidante (BIANCHI & ANTUNES, 1999).

<u>Não enzimáticos</u>	L-cisteína
α -tocoferol (vitamina E)	Curcumina
β -caroteno	<u>Enzimáticos</u>
Ácido ascórbico (vitamina C)	Superóxido dismutase
Flavonóides	Catalase
Proteínas do plasma	NADPH-quinona oxidoreductase
Selênio	Glutathione peroxidase
Glutathione	Enzimas de reparo
Clorofilina	

Os sistemas naturais de defesa incluem uma gama variada de substâncias, principalmente do tipo enzimáticos, que atuam em três diferentes níveis do processo

oxidativo: (1) bloqueando a etapa de iniciação, porque impedem a geração de espécies reativas ou sequestram-nas de forma a impedir sua interação com alvos celulares (como enzimas antioxidantes, tocoferóis, bioflavonóides e carotenoides; (2) bloqueando a etapa de progressão da cadeia radicalar ao sequestrarem radicais intermediários (como tocoferóis, tocotrienóis, flavonoides e antioxidantes sintéticos; e (3) reparando as lesões causadas por EROs. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas (ABDALLA, 2000; THOMAS, 2000; VANDENBROUCKE *et al.*, 2001).

Os antioxidantes não enzimáticos, em sua maioria, necessitam ser adquiridos pela alimentação. Os alimentos contêm compostos oxidantes, os quais podem ocorrer naturalmente ou ser introduzido durante o processo para o consumo (WATERS *et al.*, 1996). No entanto, os alimentos, principalmente frutas, verduras e legumes, também contêm agentes antioxidantes, que são capazes de restringir a propagação das reações em cadeia e as lesões induzidas pelos radicais livres (STAVRIC, 1994; FOTSIS *et al.*, 1997; POOL-ZOBEL *et al.*, 1997). Como foi dito anteriormente, a ação protetora dos CBAs, encontrados em fontes vegetais, é atribuída em partes à sua ação antioxidante. Para tal, os CBAs podem agir de diferentes formas, tanto no que se refere aos alvos fisiológicos como aos seus mecanismos de ação (BASTOS *et al.*, 2009).

A ação antioxidante dos CBAs deve-se ao potencial de óxido-redução de determinadas moléculas, à capacidade dessas moléculas em competir por sítios ativos e receptores nas diversas estruturas celulares, ou, ainda, à modulação da expressão de genes que codificam proteínas envolvidas em mecanismos intracelulares de defesa contra processos oxidativos degenerativos de estruturas celulares (DNA, membranas) (BASTOS *et al.*, 2009).

CBAs podem ativar, por exemplo, vias de sinalização intracelulares adaptativas contra o estresse oxidativo e à exposição do ambiente. Exercem benefícios à saúde atuando como “agentes de estresse de baixa dose” ou pró-oxidantes e preparam as células para resistirem às condições mais severas de estresse: doses baixas ativam vias de sinalização que resultam no aumento da expressão de genes, os quais codificam proteínas visando à proteção celular. Provavelmente, um CBA é capaz de modular uma ou duas reações *in vivo* que, como consequência, afetarão diferentes processos. A inibição de uma única enzima como a ciclo-oxigenase (COX-2), por exemplo, afeta a

inflamação e, conseqüentemente, o desenvolvimento de diversas doenças crônicas não transmissíveis (EVANS *et al.*, 2006; BASTOS *et al.*, 2009).

3.5 Compostos fenólicos

Dentre os CBAs capazes de agir como antioxidantes, grande parte deles são quimicamente classificados como compostos fenólicos. Os compostos fenólicos são amplamente distribuídos em plantas e tem sido muito estudados por apresentarem atividades farmacológicas, inibirem a oxidação lipídica e a proliferação de fungos, além de participarem de processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma em vários alimentos (PELEG *et al.*, 1998; MORAES-DE-SOUZA, 2007). São originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essencial para o seu crescimento e reprodução, além disso, se formam em condições de estresse como infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros (NACZK & SHAHIDI, 2004).

A fórmula química dos compostos fenólicos contém pelo menos um anel aromático, ao qual está unida uma ou mais hidroxilas. Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles destacam-se os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos ligninas e tocoferóis (SHAHIDI & NACZK, 1995). Os fenólicos englobam desde moléculas simples até moléculas com alto grau de polimerização. Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (BRAVO, 1998).

A diversidade estrutural dos compostos fenólicos deve-se à grande variedade de combinações que acontece na natureza e os compostos resultantes são chamados de polifenóis. Estas combinações fenólicas podem ser categorizadas em várias classes como mostradas na TABELA 1 (HARBONE, 1989; HARBONE *et al.*, 1999).

TABELA 1: Classe de compostos fenólicos em plantas

Classe	Estrutura
Fenólicos simples, benzoquinonas	C ₆
Ácidos hidróxibenzóicos	C ₆ -C ₁
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C ₆ -C ₂
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	C ₆ -C ₃
Nafitoquinonas	C ₆ -C ₄
Xantonas	C ₆ -C ₁ -C ₆
Estilbenos, antoquinonas	C ₆ -C ₂ -C ₆
Flavonóides, isoflavonóides	C ₆ -C ₃ -C ₆
Lignanas, neolignanas	(C ₆ -C ₃) ₂
Biflavonóides	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂
Ligninas	(C ₆ -C ₃) _n
Taninos condensados	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n

Fonte: HARBONE, 1989; HARBONE *et al.*, 1999

A estrutura química deste tipo de molécula é responsável por trazer a elas um papel importante na neutralização ou captação de radicais livres e quelação de metais de transição, o que os permite atuar tanto na etapa de iniciação como na etapa de propagação do processo oxidativo (ARUOMA *et al.*, 1994; SOARES, 2002). Além disso, como dito anteriormente, os compostos fenólicos bioativos podem modular genes e, conseqüentemente, ativar e desativar enzimas, melhorando a resposta do organismo aos danos oxidativos degenerativos.

O grau de hidroxilação e a posição dos grupos hidroxila na molécula dos compostos fenólicos estão entre os mais importantes fatores que determinam sua atividade antioxidante. A solubilidade e os efeitos estéricos de cada molécula podem ser afetados pelo tipo de estrutura, como no caso dos derivados glicosilados, que podem aumentar ou diminuir a atividade antioxidante (RICE-EVANS *et al.*, 1996).

Em face das várias funções biológicas atribuídas aos compostos fenólicos, especialmente sua atividade antioxidante, inúmeros trabalhos têm sido realizados com o objetivo de identificar e purificar estes compostos (FURGERI, 2009).

3.6 Produtos naturais como forma de redução do risco de doenças

Desde a antiguidade, as plantas tem sido utilizadas com o propósito de reduzir o risco, tratar ou curar distúrbios, disfunções ou mesmo doenças em homens e animais. Após décadas de esquecimento os produtos naturais, plantas medicinais e fitoterápicos retornam de um modo bastante amplo no ocidente, por estarem alicerçados em aspectos sociais e econômicos, como custo elevado de pesquisas que envolvem desenvolvimento de medicamentos sintéticos, além de dependência de matéria-prima farmacêutica e problemas relacionados com patentes (BUGNO *et al.*, 2005; PANIZZA, 2010).

A história do desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental é rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa, merecendo destaque a civilização Egípcia, Greco-romana e Chinesa (VEIGAS JR *et al.*, 2006). As primeiras descrições sobre plantas medicinais feitas pelo homem retomam às sagradas escrituras e ao papiro de Ebers. Este papiro foi descoberto e publicado por Georg Ebers, sendo traduzido pela primeira vez em 1890 por H. Joachin. Foi encontrado nas proximidades da casa mortuária de Ramsés II, porém pertence à época da XVIII dinastia. Enumera aproximadamente 100 doenças e descreve um grande número de drogas de natureza vegetal e animal (VILELA, 1977).

O profundo conhecimento do arsenal químico da natureza pelos povos primitivos e pelos indígenas pode ser considerado fator fundamental para descobrimento de substâncias tóxicas e medicamentosas ao longo do tempo. A convivência e o aprendizado com os mais diferentes grupos étnicos trouxeram valiosas contribuições para o desenvolvimento da pesquisa em produtos naturais (VEIGAS JR *et al.*, 2006). Os curares, por exemplo, eram drogas obtidas de diversas espécies de *Strychnos* e *Chondodendron* americanas e africanas, utilizadas pelos índios para produzir flechas envenenadas para a caça e pesca (PINTO, 1995; DEWICK, 1997).

Após a revolução industrial, os produtos naturais passaram a apresentar um significado místico e esta abordagem era oposta ao modo de vida das sociedades industrializadas, que consideravam a utilização de produtos naturais como uma opção

de pessoas incultas e de baixa renda e não afetaria a estes qualquer valor farmacológico (RATES, 2001).

Nos últimos tempos multiplicaram-se na imprensa ocidental informações e vantagens sobre os produtos naturais. Paralelamente, foi ocorrendo uma substituição de medicamentos sintéticos por medicamentos fitoterápicos e produtos de origem natural, em todo o mundo (PANIZZA, 2010). Tem se verificado, nas últimas décadas uma tendência mundial de aumento na demanda por plantas e preparações de origem vegetal como recurso terapêutico, influenciado por fatores econômicos, sociais e culturais (ABU-IRMAILEH & AFIFI, 2003; BENT & KO, 2004).

As potencialidades de uso das plantas medicinais encontram-se longe de estar esgotadas até os dias de hoje, afirmação endossada pelos novos paradigmas de desenvolvimento social e econômico baseados nos recursos renováveis. (SCHENKEL *et al.*, 2003). Muitas áreas estão sendo envolvidas na pesquisa de novas substâncias oriundas de vegetais, como a fitoquímica, que trabalha no isolamento, purificação e caracterização de princípios ativos como a etnobotânica e a etnofarmacologia, que buscam informações a partir do conhecimento de diferentes povos e etnias, além da farmacologia, que estuda os efeitos farmacológicos dos extratos e dos constituintes químicos isolados (MACIEL *et al.*, 2002; MENDONÇA-FILHO & MENEZES, 2003; VENDRUSCOLO *et al.*, 2005). Vêm sendo feitos investimentos de monta em pesquisas, financiadas tanto por setores governamentais como pela iniciativa privada, correspondendo a interesses mundiais e regionais (PANIZZA, 2010).

Atualmente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) acredita que 85% das pessoas utilizam plantas medicinais para tratar da saúde, 80% das pessoas dos países em desenvolvimento dependem da Medicina Tradicional e/ou Complementar para suas necessidades básicas de saúde, e que 85% da Medicina Tradicional envolve o uso de extratos de plantas (SOLER, 2000). O Brasil, com a grandeza de seu litoral, de sua flora e, sendo detentor da maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta, não pode abdicar de sua vocação para os produtos naturais (PINTO *et al.*, 2002).

O mercado mundial de fitoterápicos movimenta cerca de US\$ 22 bilhões por ano. Em 2000 o setor faturou US\$ 6,6 bilhões nos Estados Unidos e US\$ 8,5 bilhões na

Europa. No Brasil, estima-se que o comércio de fitoterápicos seja da ordem de 5% do mercado total de medicamentos, avaliado em mais de US\$ 400 milhões (SOLER, 2000).

O papel dos vegetais na manutenção da saúde e na redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis é indiscutível. Resultados de estudos epidemiológicos mostram que o aumento do consumo de alimentos de origem vegetal influencia positivamente a saúde (BASTOS *et al.*, 2009). Hoje, a possibilidade de reduzir o risco de doenças através da dieta e do consumo de produtos naturais tem atraído tanto a comunidade científica como as indústrias alimentícias e farmacêuticas com o objetivo comum de desenvolver produtos ricos em um ou mais compostos/ componentes bioativos que apresentam efeitos positivos na saúde, como a atividade antioxidante (PINTO, 2008).

A importância do emprego da matéria-prima vegetal, na obtenção de um fitoterápico, é de fundamental importância para a produção de um produto de qualidade. As matérias primas de origem vegetal requerem cuidados especiais devido à complexidade de sua composição. Isto inclui cuidados em relação ao armazenamento e também, durante sua transformação. Na produção de produtos fitoterápicos, grande atenção deve ser dada ao planejamento de preservação da qualidade físico-química e microbiológica, quer na matéria-prima, quer nos produtos intermediários e finais (SONAGLIO *et al.*, 2003).

3.7 A família Zingiberaceae

A família Zingiberaceae é a maior família da ordem Scitaminae e pertence à classe das Monocotiledoneae. Representada por plantas herbáceas perenes, aromáticas, geralmente com rizomas dos quais nascem caules aéreos, que transportam folhas com larga bainha na base e que envolve o caule (VIMALA *et al.*, 1999; SCHIMIDT, 2000).

Em uma classificação anterior a família Costaceae era incluída na família Zingiberaceae, mas pelo número de características distintas (como a pequena quantidade de óleos essenciais, hastes aéreas ramificadas, entre outras) elas agora são

aceitas como “irmãs” (KRESS, 1990, 1995; KRESS *et al.*, 2001). A família é ainda muito pouco conhecida taxonomicamente com muitas novas espécies e mesmo gêneros descritos nos últimos anos (KRESS *et al.*, 2002).

As Zingiberaceae são plantas caracterizadas por suas raízes tuberosas ou não tuberosas, considerando que raízes tuberosas são aquelas que acumulam materiais nutritivos de reserva, as quais apresentam marcantes características aromáticas e propriedades medicinais. São comumente conhecidas como ginger, e englobam por volta de 50 gêneros e 1300 espécies no território mundial, distribuídas principalmente no Sul e Sudeste da Ásia, porém com uma ampla dispersão nos trópicos e subtropicais de todo o mundo (WU *et al.*, 2000).

A classificação aceita atualmente (PETERSEN, 1889; SCHUMANN, 1904; HOLTUM, 1950; BURTT & SMITH, 1972; LARSEN *et al.*, 1998) inclui quatro tribos nesta família: Hedychieae, Alpiniaea, Zingibereae e Globbeae. Estas são assim classificadas de acordo com algumas características vegetativas e florais (KRESS *et al.*, 2002). A TABELA 2 mostra a localização dos gêneros da família Zingiberaceae em relação às quatro tribos (adaptada de KRESS *et al.*, 2002).

TABELA 2: Localização dos gêneros pertencentes às plantas da família Zingiberaceae em relação às tribos (número de espécies pertencentes a cada gênero)

	TRIBOS			
	Alpinieae A. Rich. (1841)	Hedychieae Horan. (1862)	Globbeae Meisn. (1842)	Zingibereae Mersn. (1842)
Gêneros pertencentes	<i>Aframomum</i> (50)	<i>Boesenbergia</i> (60)	<i>Globba</i> (100)	<i>Zingiber</i> (100)
	<i>Alpinia</i> (225)	<i>Camptandra</i> (4)	<i>Hemiorchis</i> (3)	
	<i>Amomum</i> (150)	<i>Caulokaempferia</i> (10)	<i>Mantisia</i> (4)	
	<i>Aulotandra</i> (6)	<i>Cautleya</i> (2)	<i>Gagnepainia</i> (3)	
	<i>Burbidgea</i> (8)	<i>Cornukaempferia</i> (2)		
	<i>Cyphostigma</i> (1)	<i>Curcuma</i> (50)		
	<i>Elettaria</i> (6)	<i>Curcumorpha</i> (1)		
	<i>Elettariopsis</i> (10)	<i>Distichochlamys</i> (3)		
	<i>Etlingera</i> (70)	<i>Haniffia</i> (2)		
	<i>Geocharis</i> (7)	<i>Haplochorema</i> (4)		
	<i>Geostachys</i> (18)	<i>Hedychium</i> (50)		
	<i>Hornstedtia</i> (50)	<i>Hitchenia</i> (3)		
	<i>Leptosolena</i> (1)	<i>Kaempferia</i> (40)		
	<i>Nanochilus</i> (1)	<i>Laosanthus</i> (1)		
	<i>Paramomum</i> (1)	<i>Paracautleya</i> (1)		
	<i>Plagiostachys</i> (20)	<i>Parakaempferia</i> (1)		
	<i>Pleuranthodium</i> (25)	<i>Pyrgophyllum</i> (1)		
	<i>Pommereschea</i> (2)	<i>Roscoea</i> (17)		
	<i>Renealmia</i> (75)	<i>Scaphochlamys</i> (30)		
	<i>Rhynchanthus</i> (6)	<i>Siliquamomum</i> (1)		
	<i>Riedelia</i> (60)	<i>Siphonochilus</i> (15)		
	<i>Siamanthus</i> (1)	<i>Smithatris</i> (2)		
	<i>Stadiochilus</i> (1)	<i>Stahlianthus</i> (7)		
	<i>Tamijia</i> (1)			
	<i>Vanoverberghia</i> (1)			

Fonte: adaptada de KRESS *et al.*, 2002

As plantas Zingiberaceae contêm principalmente óleos essenciais, incluindo terpenos, alcoóis, cetonas, flavonóides, carotenóides e fitoestrógenos. Os constituintes menos polares incluindo curcuminóides e gingeróis isolados de Zingiberaceae, os quais têm tido relatos sobre suas atividades biológicas como antioxidantes, antifúngicos, inseticidas e atividades antiinflamatórias, são particularmente importantes e relevantes por suas aplicações (HASBAH *et al.*, 2000; MAU *et al.*, 2003; SUHAJ, 2006). Propriedades medicinais como o tratamento de doenças como diarreia, coriza, dermatoses e reumatismo são amplamente mencionadas na medicina tradicional (MIQUEL *et al.*, 2002; SKRZYPEZAC-JANKUN *et al.*, 2000).

É certo que muitas espécies da família Zingiberaceae apresentam propriedades antioxidantes (VANKAR *et al.*, 2006) e são utilizadas para reduzir o risco de doenças crônicas não transmissíveis na medicina tradicional (particularmente a medicina oriental) ou por recomendação de profissionais de saúde, na forma de fitoterápicos.

Dentre elas, três espécies de plantas com utilização expressiva no Brasil são: Açafrão (*Curcuma longa* L.), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e zedoária (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe).

3.8 Açafrão (*Curcuma longa* L.)

O açafrão (*Curcuma longa* L.) (FIGURA 1) é a espécie mais estudada do gênero *Curcuma*, que possui mais de 70 espécies e que se mostra endêmico nas regiões Indo-Malaias, onde são cultivadas suas espécies e utilizada terapeuticamente pela população, principalmente na Índia, China e Indonésia (NETTO JR., 1999; CAO *et al.*, 2001; NICOLETTE, 2002; MATA *et al.*, 2004; MURNIGSIH *et al.*, 2005). O açafrão foi introduzido no Brasil nos tempos coloniais, é cultivada ou encontrada como subspontânea em vários estados, sendo mencionada sua monografia na Farmacopéia Brasileira segunda edição (NETTO JR., 1999).



FIGURA 1: Açafrão (*Curcuma longa* L.)

É uma planta herbácea e perene que apresenta características gerais do gênero, possuindo odor semelhante ao da pimenta, gosto amargo, coloração amarelada, devido principalmente à presença de curcumina (FIGURA 2), um de seus principais CBAs. Atinge em média 120 a 150 centímetros de altura em condições favoráveis de clima e solo. As folhas grandes, oblongo-lanceoladas e oblíquo-nervadas, emanam um perfume agradável quando amassadas. Possui pecíolos tão compridos quanto os limbos, que reunidos em sua base formam um pseudocaule. O rizoma principal ou central é periforme, arredondado ou ovóide, com ramificações secundárias laterais, compridas, também tuberizadas (HERTWIG, 1986). Estes crescem agrupados no solo, abaixo da planta, organizados numa estrutura normalmente denominada “mão”, onde os rizomas menores, “dedos”, agrupam-se ao redor de um maior chamado “pião” (MAIA, 1991). No Brasil, Mara Rosa, estado de Goiás, é o município que apresenta maior plantio comercial, com cerca de 150 hectares e produtividade média de 12 toneladas por hectares de rizomas, produção que se destina em quase toda sua totalidade às indústrias nacionais de corantes e alimentos (CECÍLIO FILHO *et al.*, 2000).

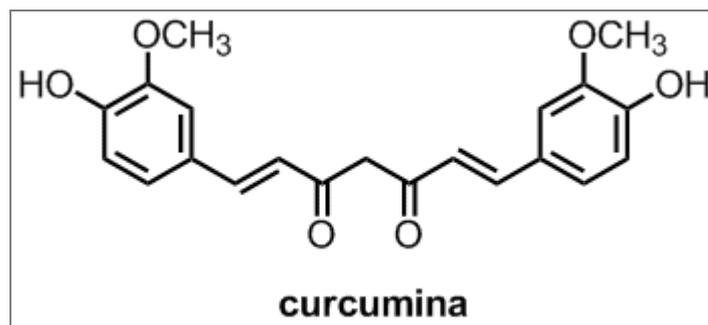


FIGURA 2: Estrutura química da curcumina

Largamente utilizada como condimento na culinária e como corante na indústria de alimentos, é um dos principais componentes do “curry” (PINO *et al.*, 2003; CECÍLIO FILHO *et al.*, 2004; LANTZ *et al.*, 2005).

Na Ásia é considerada uma planta mágica, dadas suas características sensoriais e suas propriedades terapêuticas e protetoras. Antigamente, os farmacêuticos da Ásia e da Europa a empregavam em virtude da teoria das “signaturas”: como é amarela parece totalmente indicada para curar icterícia e febres biliares, terapia que depois foi confirmada pela fitoterapia moderna (MESA *et al.*, 2000).

Entre os componentes dos extratos de açafrão estão: carboidratos (4,7 – 8,2%), ácidos graxos (1,7 – 3,3%), óleos essenciais (2,44%), curcuminoides (curcumina, demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina), cujo conteúdo aproximado é de 2%, mas também pode estar entre 2,5 – 5% do peso seco, e outros polipeptídeos como a turmerina (0,1% do extrato seco) (SRINIVAS *et al.*, 1992). RAMASWAMY & BANERJEE (1948) constataram que o pigmento fenólico curcumina, presente no açafrão, é o principal componente responsável pela sua atividade antioxidante.

O principal constituinte dos óleos da planta é a ar-turmerona (59%), seguido pelo zingibereno (25%). Outros compostos isolados foram D- α -felondreno, D-sabieno, cineol, borneol, β -cariofileno, β -farneseno, α -curcumeno, β -curcumeno, β -sesquiefelandreno, β -bisabolol, α -turmerol, curcufenol, curcumol, isocurcumol, germancrona, curdiona, neocurdiona, curcumenol, furanodienona, canfor, β -elemeno,

1,8-cineol, limoneno, p-cimeno, α -felandreno (CECÍLIO FILHO *et al.*, 2000; PINO *et al.*, 2003; YANG *et al.*, 2005).

Nos últimos anos, tem crescido o número de trabalhos científicos com a espécie, refletindo seu interesse mercadológico, principalmente de seu rizoma (CECÍLIO FILHO *et al.*, 2000). Estes trabalhos comprovam diversas atividades biológicas desta espécie, dentre elas:

- Atividade antimicrobiana:

SINDHU *et al.* (2011) avaliaram o potencial protetor do óleo essencial do açafraão no controle de fungos aflatoxinogênicos (*Aspergillus flavus*) e verificaram que soluções com 1 e 1,5% do óleo essencial apresentaram 95,3% e 100% de inibição da produção da toxina, respectivamente.

O estudo de KAUR *et al.* (2010) parte do princípio que o citoesqueleto de bactérias tem sido reconhecido como um alvo importante na terapia antimicrobiana, visto que estas proteínas são essenciais para viabilizar a vida destas bactérias. Os resultados deste estudo mostram que a curcumina, principal CBA do açafraão (*Curcuma longa* L.), inibe a formação do citoesqueleto das espécies *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*, inibindo conseqüentemente seu crescimento em um determinado meio.

KIM *et al.* (2009) investigaram a atividade antiviral do açafraão contra o vírus da hepatite B, já que esta espécie tem sido utilizada para tratar várias doenças do fígado causadas por este vírus na Ásia. Os dados deste estudo mostram que o extrato de açafraão reprimiu a replicação do vírus da hepatite B aumentando os níveis de proteína p53. Os dados indicam que a atividade antiviral do açafraão frente o vírus da hepatite B está ligada à inibição da expressão do gene deste vírus através de vias mediadas pela p53. Segundo KIM *et al.* (2009) o extrato de açafraão pode ser seguramente utilizado por pacientes com doenças causadas pela infecção pelo vírus da hepatite B.

- Atividade anti-inflamatória:

O NF- κ B é um fator de transcrição que desempenha um papel crítico na transdução de sinais de várias vias inflamatórias nas quais muitas doenças inflamatórias

crônicas estão envolvidas (BERNES *et al.*, 1997). A expressão de diversos genes envolvidos na resposta inflamatória é regulada pelo NF-κB.

A curcumina, composto bioativo do açafrão, é um potente inibidor do fator de transcrição NF-κB, e, conseqüentemente, possui atividade anti-inflamatória verificada em diversos modelos de inflamação crônica. Além do NF-κB, a curcumina também inibe outros mediadores pró-inflamatórios como COX-2, lipoxigenase (LOX) e óxido nítrico-sintase induzível (iNOS) (BENGMARK *et al.*, 2009).

Juntamente com o gengibre (*Zingiber officinale*) o açafrão tem sido utilizado no tratamento de artrite reumatóide, uma doença inflamatória crônica destrutiva do tecido conjuntivo que afeta 1% da população mundial (GABRIEL, 2001). Estas plantas medicinais foram aprovadas como drogas (fitoterápicos) com atividade anti-inflamatória pela *Food and Drug Administration* (FDA), órgão federal dos Estados Unidos da América (FUNK *et al.*, 2006). Estudos de RAMADAN *et al.* (2011) mostraram que os rizomas de açafrão são mais efetivos em aliviar a resposta inflamatória imune e o estresse oxidativo em modelos para artrite reumatóide que o gengibre e, até mesmo, que o medicamento indometacina, um anti-inflamatório não esteróide derivado do ácido indolacético. Estes resultados sugeriram efeito benéfico do açafrão contra o desenvolvimento e a progressão da artrite reumatóide.

O açafrão também possui atividade positiva sobre outras doenças inflamatórias crônicas como:

Aterosclerose: Previne a peroxidação lipídica, estabiliza a membrana celular, inibe a proliferação de células de músculo liso vascular e inibe a agregação de plaquetas (BENGMARK *et al.*, 2009)

Diabetes: Foram verificadas melhoras significativas no sangue de ratos que utilizaram açafrão ou mesmo a curcumina isolada em um modelo de diabetes induzida em comparação aos ratos controles, no que diz respeito à hemoglobina e hemoglobina glicosilada, assim como o conteúdo de TBARS (lipoperóxidos) e glutathiona (aminoácido antioxidante) no plasma e fígado (GILTAY *et al.*, 1998).

Doenças neurodegenerativas: Danos oxidativos significantes são observados em doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer. Porém, o uso de

antioxidantes como a vitamina E não tem mostrado resultados bem sucedidos no tratamento deste tipo de doença. No entanto, a curcumina tem mostrado um potencial de captação de radicais livres maior que o da vitamina E e, além disso, é um captador específico do radical livre óxido nítrico, diferentemente da vitamina E, o que a faz um fitoterápico promissor no que diz respeito à redução do risco de doenças neurodegenerativas (BENGMARK *et al.*, 2009). A prevalência de paciente com doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, na Índia, onde os indivíduos fazem um consumo significativo de açafrão, é muito menor que em países do Ocidente, especialmente os Estados Unidos (MUTHANE *et al.*, 1998). Este efeito preventivo do consumo do açafrão é intensificado com o consumo de outras frutas e vegetais ricos em polifenóis (BENGMARK *et al.*, 2009).

Além dos modelos de inflamação crônica, o açafrão também tem mostrado efeito positivo em modelos de inflamação aguda e subaguda (SRIMAL e DHARVAN, 1985).

- Atividades no trato gastrointestinal:

Componentes fitoquímicos do açafrão como a bisdematoxicurcumina e a curcumina aceleram o tratamento de úlceras gástricas. Além do efeito antiúlcera, o açafrão tem outras propriedades que os fazem eficazes no tratamento de úlceras gástricas como diminuir a secreção de ácido gástrico e o aumentar o mecanismo de defesa da mucosa gástrica, através da inibição da secreção de óxido nítrico-sintase induzível (iNOS), um mediador pró-inflamatório (MAHATTANADUL *et al.*, 2009).

Um estudo clínico realizado com açafrão em pó para tratamento de pacientes com úlceras pépticas encontrou efeitos benéficos na cura da úlcera após 12 dias de tratamento (PRUCKSUNAD *et al.*, 2001). Estudos analíticos revelaram que os três curcuminóides isolados, principais responsáveis por esta atividade benéfica, são curcumina, desmetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina. Estes três curcuminóides têm sido apresentados como bons inibidores da enzima COX-2, mediadora da resposta inflamatória (RAMSEWAK *et al.*, 2000).

Além dos efeitos acima, também já foi demonstrado que o extrato de açafrão e a curcumina são capazes de inibir o crescimento de *Helicobacter pylori*, cuja presença

tem sido associada ao desenvolvimento de úlceras gástricas, *in vitro*. DI MARIO *et al.* (2007), KOOSIRIRAT (2007) e WITTAYASATIANKUL *et al.* (2003) demonstraram que pacientes infectados com *H. pylori* tratados com açafrão em associação com outras drogas antibióticas apresentaram alívio nos sintomas, tendo sido a erradicação da bactéria sucessível ou não.

- Atividade hepatoprotetora:

O açafrão pode ser considerado um alimento funcional por regular níveis de colesterol plasmático e reduzir o risco do desenvolvimento da esteatose hepática em indivíduos que costumam ter uma dieta rica em colesterol. Esta atividade está relacionada ao fato do açafrão ter aumentado significativamente a expressão de colesterol 7 α -hidroxilase (enzima que participa na biosíntese de ácidos biliares), heme oxigenase 1 (enzimas que protegem as células contra os danos da oxidação) e receptores de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e ter diminuído significativamente níveis de 3-hidroxi-3-metil-gluatri-CoA redutase (enzima envolvida na biosíntese de colesterol), em ratos alimentados com dietas normais e ricas em colesterol (YIU *et al.*, 2011).

A atividade hepatoprotetora do açafrão também foi evidenciada pelo estudo de LEE *et al.* (2010), cujos resultados indicaram que o extrato deste rizoma possui um efeito protetor contra hepatotoxicidade induzida por carbono tetracloreto (CCl₄), uma potente toxina utilizada em modelos experimentais de hepatotoxicidade induzidos. Esta característica está relacionada à atividade antioxidante de suas enzimas detoxificantes de fase II, que se ligam ao fator de transcrição Nrf2 e ativam genes que protegem as células contra danos oxidativos. WU *et al.* (2010) demonstraram a quimioproteção de células hepáticas frente ao CCl₄ pela curcumina e saikosaponina, substâncias isoladas do açafrão, que diminuem a inflamação e a fibrogênese em fígados de ratos em modelo de lesão hepática induzidos.

- Atividade no sistema respiratório:

Foram relatados efeitos positivos do açafrão no trato respiratório em pacientes com bronquite asmática. A curcumina, composto bioativo do açafrão, tem sido utilizados há séculos como anti-inflamatório, inclusive para casos de asma. Em partes,

seu efeito anti-inflamatório é devido à inibição do fator de transcrição para inflamação NF- κ B (OH *et al.*, 2011).

Estudos de OH *et al.* (2011) mostrou que a curcumina atenua o desenvolvimento de inflamações das vias aéreas e hiper-reatividades, possivelmente inibindo a ativação do fator de transcrição NF- κ B no tecido pulmonar de indivíduos asmáticos. Estes resultados indicam, portanto, que a curcumina pode atenuar o desenvolvimento da asma através da inibição do NF- κ B.

O açafrão, através da curcumina, também é um potente inibidor de TGF- α e fibrogênese e sugere-se ter um efeito positivo em condições de fibroses do pulmão, incluindo fibrose cística (PUNITHAVATHIHI *et al.*, 2003).

Além desta atividade no sistema respiratório, também existem inúmeras evidências de que o açafrão pode ser um agente antiproliferativo de câncer de pulmão (MEHTA *et al.*, 1997, VERMA *et al.*, 1998, HONG *et al.*, 1999). SAHA *et al.* (2010) sugeriu que a curcumina regula os genes GADD45, que é efetivo do supressor de tumor p53, e GADD153, que está associado com função celular de proteção ao câncer, em uma linha de células do pulmão. Desta forma a curcumina media a apoptose de células humanas de câncer de pulmão. Este é um dos mecanismos de sua atividade anticâncer, que serão abordados detalhadamente abaixo. A atividade descrita acima poder ser aumentada por um composto ativo do chá verde (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze.) denominado (-)-epicatequina, uma catequina inerte (SAHA *et al.*, 2010b).

- Atividade antitumoral:

A curcumina, polifenol derivado do açafrão, tem sido caracterizada recentemente em possuir atividade anticâncer por seus efeitos em várias vias biológicas que envolvem a mutagênese, a expressão de oncogenes, a regulação do ciclo celular, apoptose, tumorigênese e metástase. A curcumina tem mostrado efeito anti-proliferativo em múltiplos cânceres por ser um inibidor do fator de transcrição NF- κ B e, conseqüentemente, de alguns produtos de genes como C-MYC (um oncogene), Bcl-2, COX-2, iNOS, Ciclina D1, TNF- α , interleucinas e MMP-9 (WILKEN *et al.*, 2011).

Além disso, a curcumina afeta uma grande variedade de receptores de fatores de crescimento e moléculas de adesão celular envolvidas no crescimento do tumor, angiogênese e metástase (WILKEN *et al.*, 2011).

A revisão de WILKEN *et al.* (2011) sugeriu que a curcumina é um potencial candidato para a terapêutica de diversos tipos de câncer como o de cabeça e pescoço e promissor como anticâncer de cólon, mama, pâncreas, próstata, ovários e melanomas (AGGARWAL *et al.*, 2004; LOTEMPIO *et al.*, 2005; WANG *et al.*, 2008; MUKHOPADHYAY *et al.*, 2001; MEHTA *et al.*, 1997; HANIF *et al.*, 1997; ELATTAR & VIRIJI, 2000; LIN *et al.*, 2007; SIWAK *et al.*, 2005; MOHANDAS & DESAI, 1999; ODA, 1995).

3.9 Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe)

O gengibre (FIGURA 3) é uma das plantas mais conhecidas da família das Zingiberaceae, uma especiaria já utilizada a mais de dois mil anos que chegou a ser considerado o mais importante condimento na Ásia. Sob sua epiderme ou casca, encontra-se um tecido constituído por numerosas glândulas de óleo resinosas onde se encerra a maior parte do principio ativo que a planta contém (PENNA *et al.*, 2003).



FIGURA 3: Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe)

É uma planta perene, reptante (cresce emitindo brotos de maneira rastejante bem junto ao solo), caracterizada por apresentar uma altura entre 60 e 120 centímetros. Possui um rizoma tuberoso e grosso, folhas envainantes, lanceoladas de 15 a 30 centímetros de longitude. Suas flores são verdes com manchas púrpuras e o fruto tem forma de cápsula, porém o gengibre raramente frutifica (ALONSO, 2007).

O gengibre é originário da Ásia tropical, especialmente da região entre a Índia e a China. Foi amplamente introduzido em todo o mundo e atualmente é cultivado na Índia, extremo Oriente, e regiões tropicais como as da Austrália, Nigéria, Serra Leoa, Jamaica, Indonésia, Argentina e no Brasil, onde se aclimatou muito bem e é cultivado em regiões de solo arenoso, férteis e com boa drenagem (ALONSO, 2007).

O gengibre é vastamente utilizado na culinária. Os gregos colocavam um rizoma fresco de gengibre dentro de um pão e comiam como se fosse sanduíche. Na Inglaterra faz-se uma cerveja de gengibre, a *ginger-ale*, assim como em Serra Leoa. Na África é usado para condimentar o cuscuz e no Brasil é fervido com a pinga para fazer o quentão, muito usado nas festas juninas. Outras inúmeras preparações levam o gengibre como condimento, inclusive preparações doces (FELIPPE, 2004).

Entre seus componentes químicos estão os óleos essenciais (0,5 – 3%), compostos por monoterpenos, alcoóis sesquiterpênicos e outras substâncias; princípios picantes ou pungentes (5 – 8%), presentes em sua fração resinosa como os gingeróis (6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol), amido (60%), ácido fosfatídico, lecitina, proteínas e minerais (ALONSO, 2007).

O gengibre é uma especiaria amplamente utilizada há vários séculos na medicina tradicional para aliviar sintomas como inflamação, doenças reumáticas e desconfortos gastrintestinais (PFEIFFER *et al.*, 2006, WEI *et al.*, 2005). A atividade biológica do gengibre vem sendo demonstrada em diversos estudos e tem sido associada principalmente a seus principais compostos pungentes, os gingeróis, que são considerados também os principais CBAs desta espécie. O 6-gingerol (FIGURA 4) tem sido destacado em literatura com um dos principais compostos bioativos do gengibre responsáveis por sua capacidade antioxidante (SEKIWA *et al.*, 2000).

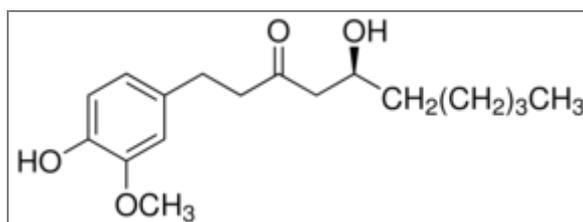


FIGURA 4: Estrutura química do 6-gingerol

Além da atividade antioxidante do gengibre destacam-se:

- Atividade antimicrobiana

As propriedades antimicrobianas de plantas como o gengibre foram descobertas e tem sido utilizadas há muitos anos.

O extrato alcoólico de gengibre a 80% do rizoma demonstrou ser ativo frente a espécies como *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*

epidermidis e *Staphylococcus hemolyticus*. Na mesma dose, mas extraído com 90% do rizoma o extrato foi eficaz contra *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Streptococcus faecalis* (MASCOLO *et al.*, 1989). Já o extrato metanólico do rizoma mostrou ter atividade inibitória *in vitro* frente ao *Bacillus cereus* (ALZOEKY *et al.*, 2003).

Estudos de WANG *et al.* (2010) investigou a eficácia de um extrato de gengibre combinado com antibióticos originalmente ineficazes frente a uma bactéria resistente denominada *Acinetobacter baumannii*. Os resultados deste estudo mostram que consumidos juntos, antioxidantes naturais como os do gengibre e inibidores de bactérias são potenciais resoluções para infecções com esta bactéria resistente. O constituinte do gengibre que apresentou resultados mais promissores foi a 6-dehidrogingerdiona.

Frente a fungos causadores de micoses em humanos não houve resultados positivos em relação ao gengibre com nenhum tipo de extrato (HABSAH *et al.*, 2000). No entanto, extratos de gengibre tem se demonstrado efetivos frente a fungos fitopatogênicos como *Drechslera oryzae*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium oryzae* e *Sclerotium rolfsii* (CÁCERES, 1997).

- Atividade no trato gastrintestinal:

A propriedade preventiva de úlceras pépticas pelo extrato aquoso de gengibre foi avaliada em ratos em modelo para indução de úlceras por estresse. Enquanto os ratos controles, que não estavam submetidos ao tratamento com extrato aquoso de gengibre, tiveram aumentos nos níveis de H⁺, na atividade da enzima K⁺-ATPase e no conteúdo de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico, os chamados TBARs (lipoperóxidos), ratos tratados com o extrato de gengibre apresentaram níveis normais destes marcadores. Além disso, os danos na mucosa gástrica dos ratos em tratamento foram recuperados em mais de 70%. Desta forma, este estudo demonstrou que o extrato aquoso de gengibre foi capaz de proteger a mucosa gástrica de lesões induzidas por estresse e de inibir a secreção de ácido gástrico, provavelmente através do bloqueio da produção de H⁺ e da ação da enzima K⁺-ATPase, inibindo desta forma o crescimento de *Helicobacter pylori*, além de fornecer proteção antioxidante contra o estresse oxidativo induzido pelo dano gástrico (SIDDARAJU *et al.*, 2009).

KUMAR *et al.* (2010) também demonstraram o efeito gastroprotetor de extratos etanólicos de gengibre em ratos e atribuíram a responsabilidade por esta atividade aos gingeróis. Neste estudo mostrou-se que o gengibre previne o dano oxidativo na mucosa gástrica, bloqueando a peroxidação lipídica e diminuindo significativamente a concentração da enzima superóxido dismutase (SOD) e aumentando significativamente a atividade da enzima catalase.

O gengibre também tem sido considerado efetivo para o tratamento de náuseas, vômitos e espasmos intestinais. Um estudo duplo cego, randomizado, controlado com placebo, demonstrou a eficácia de um xarope elaborado com gengibre (1g dividido em 4 tomadas), administrado durante o primeiro trimestre de gravidez em 26 mulheres. A maioria significativa das participantes teve diminuição de náuseas e vômitos neste período (KEATING *et al.*, 2002). PERTZ *et al.* (2011) demonstraram que a eficácia do gengibre em reduzir náuseas e vômitos pode estar baseada no efeito inibitório dos gingeróis e shoagóis sobre receptores colinérgicos e serotoninérgicos envolvidos nestes processos.

- Atividade antiagregante

A administração do gengibre traz uma inibição dose-dependente significativa na agregação plaquetária induzida por aminoácidos, em tromboxanos e prostaglandinas derivados de COX e na síntese de prostaciclina, o que resulta no aumento da atividade fibrinolítica. Esta atividade foi demonstrada em diversos estudos *in vitro* e *in vivo* (BORDIA *et al.*, 1997; THOMSON *et al.*, 2002; VERMA *et al.*, 2004; KOO *et al.*, 2001; NURTJAHJA-TJENDRAPUTRA *et al.*, 2003).

Um estudo realizado em ratas com administração do extrato aquoso do gengibre em doses orais de 500mg/kg ao longo de quatro semanas produziu uma diminuição importante nos níveis de tromboxano B2. Por outro lado, a mesma dose administrada intraperitonealmente não produziu mudanças significativas (THOMSON *et al.*, 2002)

Uma redução significativa na agregação plaquetária em humanos saudáveis que consumiam dietas com alto teor de gordura foi obtida com a inclusão de 5g de gengibre ao dia (BORDIA *et al.*, 1997). Segundo JIANG *et al.*, (2006) o consumo de gengibre

não afeta na farmacocinética e nem na farmacodinâmica do medicamento anticoagulante Warfarina, quando utilizados concomitantemente.

- Atividade anti-inflamatória

A atividade anti-inflamatória do gengibre tem sido bastante evidenciada em estudos da atualidade. Dentre as razões que justificam este fato estão as seguintes atividades desta especiaria: inibição de COX-2 e lipoxigenase-5, decréscimo na produção de TNF- α , IL-1 β , IL-1, IL-2, RANTES, MCP-1 (TRIPATHI *et al.*, 2008), preservação de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 e IL-4 (RAMADAN *et al.*, 2011), decréscimo da apresentação do antígeno pelos macrófagos (TRIPATHI *et al.*, 2008). Estas propriedades trazem ao gengibre além do aspecto anti-inflamatório o aspecto analgésico. É por este motivo que ele vem sendo incorporado como um nutracêutico em tratamentos para osteoartrite (OLSEN, 2011).

Tanto os gingeróis com as gingerdionas e dehidrogingerdionas tem sido evidenciados como potentes agentes inibidores da biossíntese de prostaglandinas in vitro, com uma eficácia superior a oferecida por medicamentos como a indometacina (KIUCHI *et al.*, 1982).

Juntamente com o açafrão (*Curcuma longa*) o gengibre tem sido utilizado no tratamento de artrite reumatóide, uma doença inflamatória crônica destrutiva do tecido conjuntivo que afeta 1% da população mundial (GABRIEL, 2001). Estas plantas medicinais foram aprovadas como drogas (fitoterápicos) com atividade anti-inflamatória pela *Food and Drug Administration* (FDA), órgão federal dos Estados Unidos da América (FUNK *et al.*, 2006). Em um estudo duplo cego realizado na Dinamarca que compreendeu 56 pacientes reumáticos, 28 deles os quais apresentavam artrite reumatóide, mais de 75% dos que consumiram gengibre obtiveram alívio sintomatológico da doença, especialmente referindo diminuição de dor e contrações musculares, sem apresentar efeitos indesejáveis (SRIVASTAVA, 1992).

Um recente estudo placebo-controlado, duplo cego demonstrou resultados positivos utilizando um extrato preparado com *Zingiber officinale* (gengibre) e *Alpinia galangal* (alpínia) em pacientes com osteoartrite nos joelhos. O grupo que consumiu o extrato que levava gengibre teve uma melhora significativamente maior que o grupo

controle após seis semanas de tratamento, com diminuição de dor após andar (ALTMAN & MARCUSSEN, 2001).

A obesidade e outras doenças crônicas não transmissíveis também estão associadas a um quadro de inflamação crônica de baixo grau. O gingerol, CBA contido no gengibre, bloqueia a translocação da subunidade NF- κ B, um fator de transcrição que aumenta a expressão de genes que codificam para proteínas envolvidas na resposta inflamatória, do citoplasma para o núcleo (BASTOS *et al.*, 2009). Desta forma o gengibre colabora para evitar ou diminuir este quadro de inflamação crônica apresentado por indivíduos obesos que pode levá-los à resistência à insulina e ao desenvolvimento do diabetes tipo 2 (BASTOS *et al.*, 2009).

- Atividade na diabetes

Tanto o extrato aquoso como o suco fresco de gengibre, administrados por via oral, exibem atividade hipoglicemiante em estudo feito com coelhos normoglicêmicos e diabéticos, sendo que o efeito mais marcante acontece justamente nos diabéticos (SHARMA & SHUKLA, 1977). Outro estudo realizado com coelhos diabéticos demonstrou a eficácia do extrato etanólico de gengibre em doses de 500mg/kg/dia por duas semanas de tratamento (KAR *et al.*, 2003)

O diabetes é uma desordem metabólica conhecida por produzir mudanças em vários órgãos do corpo como coração, rins, fígado e cérebro. Especificamente no sistema nervoso central (SNC) pode provocar algumas alterações neurocomportamentais, disfunções autonômicas e alterações nas funções neuroendócrinas (NISHIKAWA *et al.*, 2000; BRANDS *et al.*, 2004). Os estudos de SHANMUGAM *et al.* (2011) avaliaram o efeito do gengibre sob marcadores de estresse oxidativo em mitocôndrias de células de frações do córtex cerebral, cerebelo, hipocampo e hipotálamo de ratos diabéticos e verificaram o decréscimo destes marcadores, sugerindo que o gengibre pode ser utilizado como um agente terapêutico na redução do risco de complicações em pacientes diabéticos.

- Atividade em dislipidemias

Muitas espécies apresentam efeito hipolipidêmico e antioxidante e podem ser úteis para a redução do risco de complicações em pacientes com dislipidemias

(MADKOR *et al.*, 2011). A administração do extrato aquoso de gengibre administrado em ratas produziu, logo nas quatro primeiras semanas de tratamento, decréscimos significativos nos níveis plasmáticos de colesterol e triglicérides (THOMPSON *et al.*, 2002). Estudos mais recentes de ELROKH *et al.*, (2010) revelaram que ratos hipercolesterolêmicos tratados com extrato aquoso de gengibre do tipo infusão em três doses utilizadas entre duas a quatro semanas de tratamento tiveram decréscimo significativo nos parâmetros do perfil lipídico (colesterol sérico total, HDL-colesterol e níveis de triglicérides). A propriedade da oleorresina, um dos componentes fitoquímicos do gengibre, de sequestrar ácidos biliares e promover uma maior excreção de colesterol nas fezes é um dos mecanismos responsáveis pela atividade hipocolesterolêmica (STEINEGGER & HÄNSEL, 1988).

MADKOR *et al.*, (2011) verificaram o efeito modulatório do alho, açafreão e gengibre na síndrome metabólica e no estresse oxidativo em ratos. Os resultados mostram que estas espécies, e a mistura delas, aliviam significativamente os sinais na síndrome metabólica, particularmente a dislipidemia, além da hiperglicemia, aumentam o sistema de defesa antioxidante e diminuem a peroxidação lipídica.

- Atividade imunológica

O gengibre foi considerado um imunoestimulante em estudos de NYA & AUSTIN (2009) que avaliaram o controle de infecção por *Aeromonas hydrophila* em trutas do tipo arco-íris. Os animais foram alimentados com 0, 0.05, 0.1, 0.5 e 1g por 100g de peso de gengibre por 14 dias. Houve proliferação no número de neutrófilos, macrófagos e linfócitos, assim como aumento na fagocitose e outros parâmetros que mostraram o resultado positivo do gengibre frente ao sistema imune dos peixes.

CARRASCO *et al.*, (2009) verificaram o efeito imunomodulatório do óleo essencial de especiarias como o gengibre em camundongos previamente imunizados com antígenos inertes representados por eritrócitos de carneiro - sheep red blood cells (SRBCs). Foi observado um aumento no número total de glóbulos brancos do sangue e da resposta de hipersensibilidade tardia. O óleo essencial do gengibre recuperou a resposta humoral imune de camundongos imunossuprimidos.

3.10 Zedoária (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe)

A zedoária (FIGURA 5), também conhecida popularmente por “gajitsu”, é uma planta herbácea, aromática e perene de ocorrência espontânea na Índia. Além da Índia, a zedoária é também cultivada na China e no Japão e há muito tempo aclimatada no Brasil, onde também é cultivada (TESKE & TRENTINI, 1995; PAMPLONA, 2006). No período da dinastia Ming um erudito deixou registrado em seus livros que a zedoária era capaz de curar a má circulação sanguínea (TESKE & TRENTINI, 1995).



FIGURA 5: Zedoária (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe)

Externamente a planta apresenta folhas grandes, pecíolo tão comprido como o limbo, oblíquo-lanceoladas reunidas na base; flores pequenas, dispostas em espigas compridas e com brácteas côncavas verde-pálidas; as superiores também com uma mancha rósea (KATO & FISCHER, 1996) Possui um rizoma principal ou central, arredondado ou ovóide, com ramificações secundárias laterais, compridas, tuberizadas ou não. Estes crescem agrupados no solo, organizados numa estrutura normalmente denominada “mão”, onde os rizomas menores, “dedos”, agrupam-se ao redor de um

maior denominado “pião”. Partindo desta estrutura surgem raízes, denominadas raízes adventícias (CECÍLIO FILHO *et al.*, 2004).

As partes vegetais empregadas com fins terapêuticos são os rizomas, conhecidos na medicina popular e tradicional por algumas de suas atividades (PAMPLONA, 2006). Os rizomas secos de zedoária são selecionados para a produção de bebidas ou para a produção de extratos que serão utilizados medicinalmente (MAO *et al.*, 2002).

Em culinária a zedoária é usada como o gengibre, mais suave. Na culinária indiana é usada fresca ou como picles. O aroma desta planta lembra tanto o açafão (*Curcuma longa*) como a manga; por ter aroma de manga, é chamada de amb-halad na Índia, onde amb quer dizer manga (FELIPPE, 2004).

Os principais componentes químicos da zedoária são compostos terpênicos, particularmente os sesquiterpenos. Terpenos são fitoquímicos formados por sucessivas unidades de isopreno (FIGURA 6), enquanto que sesquiterpenos são estruturas que contém 3 unidades de isoprenos e 15 átomos de carbono. São substâncias com baixa solubilidade, que oxidam rapidamente, polimerizam e são os componentes dos óleos essenciais, substâncias voláteis (DEWICK, 2002). A deidrocurdiona é um sesquiterpeno encontrado nesta espécie e está relacionado com diversas atividades biológicas da zedoária. MAU *et al.*, (2002) identificaram 36 componentes no óleo essencial da zedoária, incluindo 17 terpenos, 13 álcoois e 6 cetonas.

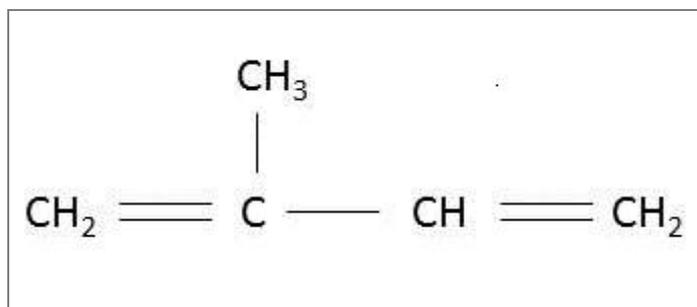


FIGURA 6: Unidade de isopreno

A zedoária também apresenta dentre seus componentes químicos amido (50%), resinas (3,5%), albuminoides, vitaminas (B1, B2 e B6), minerais (Ca, Mg, Fe, P, Na e K) e pigmentos curcuminóides, da mesma forma como ocorre na *Curcuma longa* ou açafrão (TESKE & TRENTINI, 1995). Extratos etanólicos, quando fracionados demonstram a presença de alguns curcuminóides, os quais foram identificados como curcumina e demetoxicurcumina.

A atividade antioxidante da zedoária foi comprovada por estudos científicos como o de MAU *et al.*, (2002) que a estudou especificamente através do óleo essencial desta espécie e a classificou como moderada a boa. No entanto, a presença de curcumina, renomado composto bioativo cujas funções de captação de radicais livres, inibidor da peroxidação lipídica e da oxidação do DNA são evidentes (PARK *et al.*, 2003; BRAGA *et al.*, 2003), nos sugerem a relacionar a atividade antioxidante da espécie *Curcuma zedoaria* também a esta substância. LOC *et al.*, (2008) determinaram a atividade antioxidante da zedoária através do isolamento de seus óleos essenciais e também do pigmento curcumina.

Além da atividade antioxidante, pode-se citar dentre as funções biológicas da zedoária:

- Atividade anti-inflamatória

A deidrocurdiona, um sesquiterpeno encontrado nesta espécie, apresentou atividade anti-inflamatória *in vivo* e *in vitro*, além de efeito analgésico quando testado pelo método das contorções induzidas utilizando ácido acético como agente irritativo em camundongos. As análises *in vitro* demonstraram que a deidrocurdiona possui capacidade de inibir a atividade da cicloxigenase e a formação de radicais livres. Os mesmos efeitos foram encontrados quando analisados por via oral, onde a substância, utilizada como coadjuvante, reduziu os efeitos da artrite crônica (YOSHIOKA *et al.*, 1998).

MAKABE *et al.*, (2005) isolaram sesquiterpenos de um extrato metanólico de zedoária e testou em ratos, em um modelo de inflamação induzida. Os compostos identificados com maiores atividades anti-inflamatórias neste estudo foram furanodieno e furanodianona, que diminuíram em 75% e 53% respectivamente a inflamação em

orelhas de ratos. A atividade destes compostos é comparável ao da indometacina, medicamento utilizado normalmente como anti-inflamatório.

Segundo JANG *et al.*, (2001) a atividade anti-inflamatória da *Curcuma zedoaria* também pode ser explicada pela inibição da produção de TNF- α , um dos principais mediadores inflamatórios produzidos pelo organismo, responsável pela ativação dos macrófagos. Curcuminóides e sesquiterpenos são as substâncias responsáveis por esta atividade da espécie, segundo o autor.

- Atividade no sistema digestório

As raízes de zedoária são utilizadas tradicionalmente como carminativo e estimulante digestivo. Segundo TESKE & TRENTINI (1995) ela atua principalmente no trato digestivo, promovendo seu bom funcionamento, pois inibe a secreção do ácido gástrico e aumenta a secreção biliar, evitando azia e má digestão, prisão de ventre, cólicas e gases intestinais e estomacais. Indicada na redução do risco e tratamento de úlceras gástricas e duodenais, bem como nas doenças do fígado. Em ensaios com animais, a planta apresentou efeito colerético, espasmolítico e antiácido leve (RAJASEKARAN, 2011).

MATSUDA *et al.*, (1998) demonstraram em seus estudos o efeito hepatoprotetor de extrato água/acetona de zedoária. Sesquiterpenos como furanodieno, curcumenol, isocurcumenol, germacrona, curdiona, neocurdiona, aerugidiol, zedoarondiol, além de substâncias como a curcumina foram considerados potentes protetores de doenças hepáticas, por inibirem uma cascata imunológica que induz danos ao fígado (D-galactosamina / Lipopolissacarídeo).

- Atividade larvicida e inseticida

Estudos de PITASAWAT *et al.*, (2007) analisaram a atividade larvicida de 5 plantas aromáticas, dentre elas a zedoária, contra espécies de insetos vetores de doença: *Anopheles dirus*, o principal vetor da malária na Tailândia e o *Aedes aegypti*, vetor de dengue e dengue hemorrágica em diversos centros urbanos. Os óleos essenciais de todas as plantas estudadas, inclusive da zedoária, apresentaram atividade larvicida contra os dois insetos estudados após uma exposição de 24 horas, enquanto que a zedoária foi a planta mais eficaz contra a espécie *Anopheles dirus*.

CHAIYASIT *et al.*, (2006) demonstraram em seus estudos a eficácia da zedoária contra larvas e insetos adultos de *Aedes aegypti* e em um segundo momento avaliaram formulações apropriadas para a utilização desta planta como tal, impregnando o óleo essencial da espécie em grãos de areia e comparou seus resultados com produtos disponíveis no mercado (CHAMPAKAEW *et al.*, 2007).

Já SUTHISUT *et al.*, (2011) avaliaram a eficácia dos óleos essenciais de três ervas aromáticas da família Zingiberaceae (dentre elas a zedoária, além das espécies *Alpinia conchigera* e *Zingiber zerumbet*), sob a toxicidade de contato, redução de apetite e repelência nas espécies *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*. Sob aplicações tópicas, ambos óleos essenciais, inclusive o da zedoária, apresentaram eficácia em relação a toxicidade de contato para as duas espécies. O óleo essencial das três espécies também demonstraram atividade em reduzir o apetite dos insetos estudados.

- Atividade antimicrobiana

A atividade antibacteriana e antifúngica da zedoária tem sido bem documentada (ANONYMOUS, 1985; FICKER *et al.*, 2003).

Os extratos de zedoária, assim como seu óleo essencial, mostram eficácia contra bactérias Gram positivas e Gram negativas e os fitoquímicos responsáveis por esta atividade são mono e sesquiterpenos (BANERJEE *et al.*, 1978; UECHI *et al.*, 2000). WILSON *et al.*, (2005) mostraram a atividade de diferentes extratos de zedoária contra a proliferação de seis espécies de bactérias (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae*), além de dois fungos (*Candida albicans* e *Aspergillus niger*).

A partir da utilização tradicional da zedoária contra microrganismos, especialmente fungos, GUPTA *et al.*, (1976) isolaram o principal princípio ativo responsável pela sua atividade antifúngica. Este componente, denominado etil p-metoxicinamato, inibiu o crescimento das espécies *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Epidermophyton floccosum*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium purpurogenum*, *Trignoposis variabilis*, *Microsporium gypseum*, *Sclerotium rolfsii*, *Geotricular candiade*, *Fusarium oxysporum*, *Helminthosporium oryzae*, *Candida krusei* e *Trichophyton mentagrophytes* em diferentes concentrações.

A aplicação tópica da zedoária na terapêutica antifúngica foi demonstrada frente às espécies *Candida albicans*, *Tricophyton mentagrophytes* e *Aspergillus niger*, com resultados satisfatórios. Desta forma, esta espécie pode ser utilizada como possível alternativa terapêutica no tratamento de micoses superficiais causadas por estes microorganismos por inibir grande variedade de fungos patogênicos, atuando inclusive em fungos resistentes a antifúngicos comuns como cetoconazol e anfotericina B (FICKER *et al.*, 2003; NICOLETTI, 2002).

- Atividade antimutagênica

PENG *et al.*, (2010) mostraram a atividade antimutagênica dos extratos metanólico e aquoso de zedoária em cepas de *Salmonella typhimurium*, sendo que o extrato metanólico apresentou melhor atividade. Ambos os extratos demonstraram atividade antioxidante similar. Os autores indicam os curcuminóides como os principais responsáveis pela atividade antimutagênica da espécie.

O efeito inibitório do extrato aquoso de zedoária sob a metástase pulmonar de células melanoma B16 foi investigado de forma experimental (SEO *et al.*, 2005). Neste estudo os ratos consumiram doses de 250 e 500 mg/kg de peso por seis semanas, duas semanas após a inoculação do tumor. Foi verificada redução significativa no número de nódulos metastáticos nos pulmões dos animais, resultando no aumento do tempo de vida dos mesmos. Para entender o mecanismo de ação da planta, os autores examinaram o papel do extrato de zedoária na modulação de macrófagos e verificaram que a ingestão do extrato gera um aumento na produção de óxido nítrico pelos mesmos. O óxido nítrico é um mediador citotóxico contra as células melanoma B16, o que sugere que o extrato de zedoária apresenta função antimigratória deste tipo de célula tumoral e função modulatória dos macrófagos (SEO *et al.*, 2005). Os resultados deste estudo sugeriram que o extrato de zedoária pode ter um importante papel na inibição da metástase do câncer.

Previamente, MATSUDA *et al.*, (1998) mostraram que a zedoária previne úlceras de estresse em ratos assim como protege o fígado do estresse oxidativo induzido por CCl₄, prevenindo carcinogêneses futuras. WONG *et al.*, (1992) mostraram os efeitos da *Curcuma zedoária* sob mutagênese induzida.

3.11 Irradiação de alimentos

Há tempos o homem procura formas de conservar melhor os alimentos que consome. As baixas temperaturas e a cura são os métodos de preservação mais antigos que se conhece. Já a irradiação é uma das formas de preservação de alimentos mais recentes (MOREHOUSE, 2002).

Muitas técnicas de preservação de alimento foram introduzidas na indústria de alimentos para melhorar a qualidade e o tempo de prateleira de alimentos, como: acidificação, adição de produtos químicos, embalagem em atmosfera modificada, tratamento com ultrassom, etc. Apesar destas técnicas protegerem os alimentos, elas apenas controlam a atividade dos microrganismos em várias escalas, sem mata-los, e afetam muitas das qualidades sensoriais dos alimentos (ALOTHMAN, 2009).

A irradiação é o fenômeno físico pelo qual ocorre a emissão e propagação de energia através do espaço ou de uma matéria (RADOMYSKI *et al.*, 1994). A irradiação de alimentos é um meio de preservação dos alimentos que está em desenvolvimento desde o século XX (FARKAS, 2011). No primeiro documento na área sobre essa tecnologia, datado de 1905, foi proposto o tratamento dos alimentos, principalmente os cereais e seus produtos, com raios alfa (α), beta (β) e gama (γ) provenientes de rádio ou outros elementos radioativos. O fato de seu emprego tornar desnecessário o uso de substâncias químicas na conservação de alimentos foi considerado marcante na nova tecnologia (DIEHL, 1990).

A década de 70 foi dedicada às pesquisas toxicológicas para comprovar a inocuidade dos alimentos irradiados, uma vez que esse era o aspecto mais questionado. Após intensivos estudos, o Comitê Misto de Especialistas em Irradiação de Alimentos (CMEIA), convocado pela Food Agriculture Organization (FAO), pela Organização Mundial da Saúde (OMS), e pela Agência Internacional de Energie Atômica (IEAE) conclui, em Novembro de 1980, “que a exposição de qualquer produto alimentício a doses de até 10 kGy não apresenta perigo toxicológico; portanto, testes toxicológicos com alimentos assim tratados não são mais necessários” (JAY *et al.*, 2005).

Hoje, a radiação mais utilizada no processo de conservação de alimentos e fitoterápicos é a do tipo gama (de isótopos radioativos de ^{60}Co , com energia podendo chegar até 1,33MeV e ^{137}Cs , com energia de 0,662MeV), mas também são utilizados em menor escala raios X (com energia máxima de 5MeV) e feixes de elétrons, que são gerados por máquinas que podem atingir energia máxima de até 10MeV (OLSON, 1998; FARKAS, 2006; FARKAS, 2011). Os limites de energia acima citados são de acordo com o Codex General Standard for Irradiated Food (2003). O uso da radiação proveniente de ^{60}Co possui grande penetrabilidade e são utilizadas principalmente, na irradiação de produtos de maior espessura (FANARO *et al.*, 2007).

Nenhuma destas fontes de irradiação tem energia suficiente para ser capaz de induzir radioatividade no alimento, entretanto têm energia suficiente para remover elétrons dos átomos para formar íons ou radical livres (OLSON, 1998). Isto porque a energia limiar para a reação (γ, n) está bem acima de 10MeV para todos os isótopos presentes no alimento (WAKEFORD *et al.*, 1991; FINDLAY *et al.*, 1993; WOODS & PIKAEV, 1994; ICGFI, 1995).

O procedimento por radiação requer uma exposição controlada e cuidadosa frente à radiação ionizante de energia conhecida. A exposição deve ser adequada para produzir o resultado desejado (FARKAS, 2001).

Atualmente, existe também um novo interesse das indústrias de alimentos pelas radiações não ionizantes, como a radiação da luz ultravioleta (UV) para o propósito de desinfecções (SELMA *et al.*, 2008; WALKLING-RIBEIRO *et al.*, 2008). Este tipo de radiação é do tipo eletromagnética e, portanto, não carrega quantidade de energia suficiente para ionizar átomos ou moléculas e é representada principalmente pelos raios UV (UV-A, UV-B e UV-C), além de luz visível, micro-ondas e infra vermelhos (ALOTHMAN, 2009).

Além de reduzir o número de microrganismos patogênicos dos alimentos, garantindo a inocuidade alimentar do produto, a irradiação é empregada também para prolongar a vida de prateleira do produto, melhorando a qualidade nutricional do alimento, bem como retardar brotamento das raízes e o amadurecimento de frutas e vegetais (MOREHOUSE, 2002; NUNES *et al.*, 2007). Estudos mostram que a irradiação de alimentos na forma de raios gama ou feixe de elétrons, é efetivo quanto à

descontaminação, desinfestação, assim como para melhorar o perfil nutricional e o tempo de prateleira do alimento (HONG *et al.*, 2008; LACROIX & OUATTARA, 2000; TEETS *et al.*, 2008).

O processo de irradiação também tem mostrado diminuir os componentes anti-nutricionais em algumas espécies de leguminosas, por exemplo, melhorando e promovendo mais uma vez a inocuidade alimentar (BHAT *et al.*, 2007; BRIGIDE & CANNIATTI-BRAZACA, 2006). Este processo pode também apresentar vantagens, como o baixo consumo de energia durante o processo e a redução no consumo de energia em métodos convencionais de conservação (MOREHOUSE, 2002).

Apesar de todas estas vantagens, a concepção do público em relação à irradiação de alimentos vem diminuindo o seu potencial de aplicação na indústria. Para o público consumidor a irradiação ainda está ligada a termos como carcinogênese ou efeitos destrutivos e outros aspectos que fazem com que a irradiação de alimentos ainda não seja tão aceita como a falta do real conhecimento de seus efeitos no alimento (ALOTHMAN, 2009). De qualquer forma, a legislação brasileira sobre irradiação de alimentos é considerada a mais avançada na área, internacionalmente.

As portarias nº09 de 8 de março de 1985 e nº 30 de 25 de setembro de 1989, aprovadas posteriormente pela Divisão de Vigilância Sanitária (ANVISA) regem a irradiação de alimentos no Brasil. Tendo como base as conclusões a que chegou o grupo de estudo formado pela FAO/IAEA/WHO (WHO, 2001), a legislação brasileira (RDC nº 21) aprova o uso da radiação em qualquer alimento com qualquer dose, desde que sejam observadas as seguintes condições: a) a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida; b) a dose máxima absorvida deve ser inferior àquela que comprometa as propriedades funcionais e/ou atributos sensoriais dos alimentos; c) a embalagem deve ter condições higiênicas aceitáveis para o processo de irradiação e d) o rótulo do produto deve ter os dizeres “ALIMENTO TRATADO POR IRRADIAÇÃO”.

A RDC nº 21 estabelece ainda que, quando um produto irradiado é usado como ingrediente em outro alimento, este fato deve ser mencionado na embalagem final com o símbolo “radura” (FIGURA 7) indicando que o alimento foi tratado por irradiação.



FIGURA 7: Radura: Símbolo utilizado para identificar produtos irradiados

Os alimentos em geral contêm alguns componentes-chaves que, embora presentes em concentrações muito baixas, regulam o sabor, aspecto e valor nutritivo (WHO, 1994; KITAZURU *et al.*, 2004; TRINDADE *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2007). Esses componentes são muito sensíveis à irradiação e, se a dose de radiação for alta, pode causar transformações prejudiciais no sabor, odor e cor desses alimentos (VILLAVICENCIO, 1998; DELINCÉE 1998). O processo de irradiação causa mínimas alterações no aroma, sabor, cor e perfil nutritivo dos alimentos (ALOTHMAN *et al.*, 2009). Segundo DIEHL (1992; 1995), com doses de até 1,0kGy, as perdas nutricionais são consideradas insignificantes e nenhuma das alterações conhecidas encontradas nos alimentos irradiados é nociva ou perigosa, estando dentro dos limites encontrados normalmente para alimentos (DELINCÉE *et al.*, 1998).

Entretanto, o nível das modificações (em aroma, sabor, cor e perfil nutritivo) pode variar dependendo da matriz de alimento utilizada (o tipo de alimento em questão), da dose de irradiação utilizada e do tipo de radiação empregada (BHAT & SRIDHAR, 2008; BHAT *et al.*, 2007; MEXIS *et al.*, 2009).

Na reunião de setembro de 1997, a conclusão final divulgada foi: a OMS aprova e recomenda a irradiação de alimentos, em doses que não comprometam suas características sensoriais, sem a necessidade de testes toxicológicos. É importante lembrar que as propriedades funcionais dos alimentos também não podem ser

comprometidas (DELINCEÉ, 2005). Tem sido feitas investigações em todo mundo ao longo dos últimos anos e mais dados e trabalhos científicos disponíveis irão contribuir para o aumento da comercialização e aceitação desta técnica, além de garantir doses viáveis que não comprometam as qualidades e características dos alimentos (ALOTHMAN, 2009).

4. Materiais e Métodos

4.1 Materiais

4.1.1. Amostras

As amostras de açafrão e gengibre não irradiadas foram adquiridas da SANTOS FLORA COMÉRCIO DE ERVAS LTDA, uma empresa de comércio de ervas, especiarias e extratos secos da cidade de São Paulo – SP, Brasil. A amostra de zedoária, também não irradiada, foi doada pela mesma empresa. As plantas já foram adquiridas na forma seca, sendo que o açafrão e o gengibre foram adquiridos na forma de pó e a zedoária na forma rasurada. Conforme os laudos cedidos, o açafrão era originário da Turquia, colhido em 2009 e processado em setembro de 2009. O gengibre era originário do Brasil, foi colhido no ano de 2010 e processado em agosto de 2010. Já a zedoária adquirida era originária da Índia, foi colhido em 2010 e processado em julho de 2010.

As plantas foram pesadas e separadas em sacos plásticos contendo aproximadamente 1 Kg cada, e posteriormente armazenados em temperatura ambiente.

4.2 Métodos

4.2.1 Irradiação

As amostras de açafrão, gengibre e zedoária, previamente embaladas em sacos plásticos, foram irradiadas nas doses de 0; 5; 10; 15 e 20 kGy. As taxas de dose para açafrão foram de 3,7; 7,0; 15,2 e 26,4 kG/h, para gengibre de 3,5; 7,8; 4,7 e 29,7 kGy/h e para zedoária de 4,38; 9,3; 7,1 e 5,5 kGy/h para as amostras irradiadas com 5; 10; 15 e 20 kGy respectivamente. Dosímetros Amber 3042 Batch foram utilizados para a

medição da dose de irradiação. As irradiações foram feitas no irradiador multipropósito de ^{60}Co do Centro de Tecnologia de Radiações IPEN-CNEN/SP.

4.2.2 Preparação dos Extratos

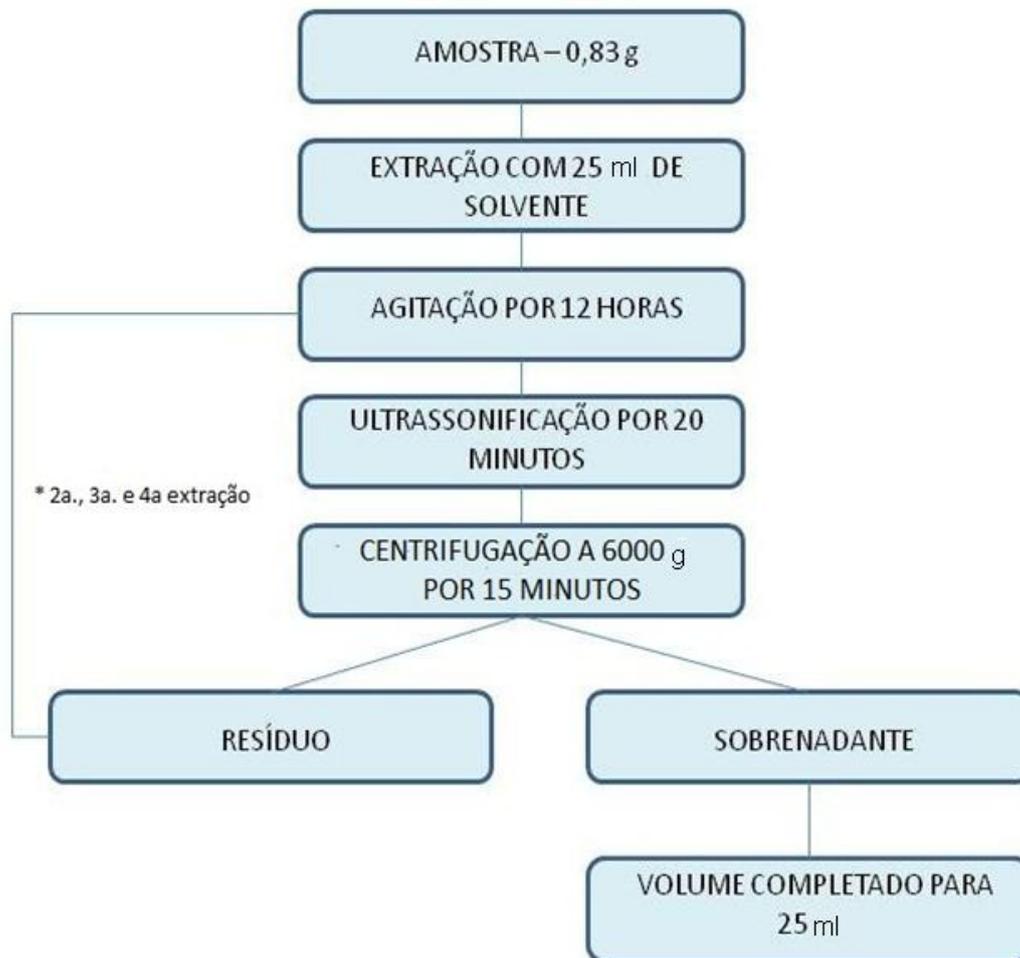
O processo de extração das substâncias presentes nos alimentos pode ocorrer de diversas maneiras. Por isso, foram realizados pré-testes com o intuito de avaliar cinco modificações de uma metodologia, no que diz respeito ao solvente utilizado em cada uma delas, para a obtenção dos extratos de açafrão, gengibre e zedoária e posteriormente, verificar qual seria a melhor extração para analisar a atividade antioxidante dentre os extratos irradiados e não irradiados. O critério utilizado para escolher o melhor solvente foi aquele que apresentou o maior teor de fenólicos totais. Segundo dados da literatura, o teor de fenólicos totais está diretamente relacionado a capacidade antioxidante, ou seja, quanto maior o teor de fenólicos totais, maior a atividade antioxidante (KAUR e KAPPOR, 2002; NUUTILA *et al.*, 2003).

A metodologia testada foi a descrita por CHEN *et al.*, (2008) com modificações, já que partiu-se de amostras secas e não frescas. Além disso, as amostras foram ultrassonificadas por 20 minutos e centrifugadas a 6000g por 15 minutos antes de serem concentradas em um rotavapor. A partir do resíduo coletado após a etapa de centrifugação foram feitas três novas extrações, conforme descrito na FIGURA 8. Os solventes utilizados no pré-teste foram: metanol, metanol/água (70:30, v/v), acetona, acetona/metanol (50:50, v/v) e acetona/metanol (70:30, v/v).

Depois de realizar o pré-teste optou-se por trabalhar com os seguintes solventes:

- Açafrão: acetona/metanol (70:30, v/v);
- Gengibre: acetona/metanol (50:50, v/v);
- Zedoária: acetona/metanol (50:50, v/v).

O critério de seleção foi o melhor resultado em teor de fenólicos totais SINGLETON e ROSSI (1965), com modificações. Este método será citado com maiores detalhes no item 4.2.5.



* As 2ª, 3ª e 4ª extrações foram agitadas por 1 hora

FIGURA 8: Esquema das extrações de açafão, gengibre e zedoária segundo CHEN *et al.*, (2008) com modificações.

Descrição do método de extração

Conforme apresentado na FIGURA 8, foram pesadas 0,83g de amostra seca das plantas estudadas e adicionados 25 ml de solvente, sendo acetona/metanol (70:30, v/v) para açafrão e acetona/metanol (50:50, v/v) para gengibre e zedoária. Em seguida as amostras foram agitadas por 12 horas ou mais (*overnight*) em agitadores magnéticos (marca Quimis, modelo Q.261.2) e ultrassonificadas (marca Thornton) por 20 minutos. Os extratos foram então centrifugadas (centrifuga marca ALC, modelo 4239R – Itália) a 6000g por 15 minutos. O sobrenadante foi recolhido e direcionado para o balão de rotavapor e a seguir sofreu novas extrações. O sobrenadante resultante das quatro extrações foi evaporado e o volume final foi ajustado para 20 ml de acetona.

Este procedimento foi realizado com todas as plantas estudadas, nas diversas doses de radiação propostas. Os extratos foram colocados em frascos âmbar, sob atmosfera de nitrogênio e armazenados no freezer até -18°C até o momento das análises.

4.2.3 *Screening* fitoquímico por cromatografia em camada delgada (CCD)

A determinação qualitativa do perfil de compostos bioativos foi realizada por cromatografia de camada delgada (CCD) segundo WAGNER E BLADT (1996). Os extratos de açafrão, gengibre e zedoária nas diversas doses de radiação estudadas foram aplicados em cromatofolhas de sílica gel sendo eluídas em diferentes sistemas de solventes, a saber: acetato de etila / ácido fórmico / água (90:5:5), hexano/ acetato de etila (60: 40) e clorofórmio. Como soluções reveladoras foram utilizadas: NP-PEG (substâncias polifenólicas, principalmente flavonóides), anisaldeído sulfúrico e vanilina sulfúrica (compostos de origem triterpênica) e Dragendorff (alcalóides), preparadas de acordo com WAGNER E BLADT (1996) e CHAVES (1997). Os extratos de zedoária foram concentrados para a análise da seguinte forma: 500µL foram evaporados sob atmosfera de nitrogênio e redissolvidos em 20µL de metanol.

4.2.4 Determinação de sólidos solúveis

Os sólidos solúveis foram determinados por gravimetria. Tubos de ensaio foram identificados e colocados em estufa a 105°C por 5 horas, retirados, resfriados em dessecador e pesados em balança analítica. Após a pesagem foram adicionados 1 ml dos extratos de açafão, gengibre e zedoária, em todas as doses de radiação estudadas. Os tubos foram colocados novamente em estufa a 105°C e deixados por 12 horas ou mais (*overnight*) para total evaporação da água. No dia seguinte os tubos foram retirados da estufa, resfriados em dessecador e pesados em balança analítica. A diferença entre o valor da pesagem final e inicial corresponde ao peso dos sólidos solúveis presentes em 1 ml dos respectivos extratos. O resultado foi obtido em mg/ml de extrato (AOAC, 1995). A finalidade de determinar os sólidos solúveis se deve a padronização da concentração dos diferentes extratos obtidos para a avaliação da atividade antioxidante dos mesmos.

4.2.5 Quantificação dos fenólicos totais

A determinação do teor de fenólicos totais foi realizada de acordo com o método descrito por SINGLETON & ROSSI (1965) com modificações. O método consiste em uma reação colorimétrica que utiliza como reagente o Folin-Ciocalteu e solução saturada de carbonato de sódio. O Folin-Ciocalteu reage quantitativamente com os compostos fenólicos da amostra e a absorbância é medida espectrofotometricamente no comprimento de onda de 750nm.

Para a análise das amostras os extratos nas diferentes doses de radiação testadas foram diluídos nas seguintes proporções: açafão 1:30, gengibre 1:15 e zedoária 1:10. Uma alíquota de 20µl da amostra nas suas respectivas concentrações foi adicionada a 100µl de reagente Folin-Ciocalteu e 80µl de solução saturada de carbonato de sódio (75g/L). A mistura reacional foi incubada a 37 °C por 30 minutos, ao abrigo da luz e a temperatura ambiente, para o desenvolvimento da cor. O ensaio foi realizado em leitor de microplacas Spectramax M5 (Molecular Devices) e a leitura da absorbância foi feita

no comprimento de onda de 750nm. O ácido gálico foi utilizado como padrão e água destilada como branco.

A quantidade total de fenólicos em cada extrato foi calculada empregando-se a equação da reta obtida a partir da curva analítica do padrão de ácido gálico (20-100 mg L⁻¹). Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) / g de resíduo seco da amostra.

4.2.6. Determinação da atividade antioxidante

4.2.6.1 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH (IC_{50%})

A capacidade antioxidante dos extratos nas diferentes doses de radiação estudadas foi avaliada a partir do método espectrofotométrico baseado na redução do radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), em solução, através do método descrito por BRAND-WILLIAMS *et al.*, (1995). Quando o DPPH reage com um antioxidante, que pode doar oxigênio, ele é reduzido. Esta reação leva a uma diminuição da absorvância, devido ao consumo do radical DPPH, entre 515 - 531nm.

A partir de uma solução de DPPH a 0,06mM em metanol (MeOH) 80% v/v foi preparada a curva de calibração utilizando alíquotas desta solução nas seguintes concentrações: 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 µM/ml.

A uma alíquota de 20µl dos extratos, em quatro diferentes concentrações, foi adicionado 200µl de solução de DPPH (150µM em MeOH 80% v/v). A mistura reacional foi incubada por 30 minutos, ao abrigo da luz e a temperatura ambiente. O ensaio foi realizado em leitor de microplacas Spectramax M5 (Molecular Devices), e o decaimento da absorvância foi avaliado a 520nm. Os resultados foram expressos em mg / g de resíduo seco de amostra necessária para reduzir em 50% (IC_{50%}) a concentração inicial de DPPH.

4.2.6.2 Avaliação da capacidade protetora da oxidação lipídica utilizando o aparelho Rancimat®

Para avaliar a capacidade protetora utilizou-se o aparelho Rancimat® 743, marca Metrohm, conectado ao programa PC: 743 Rancimat 1.0, onde foi medido o período de indução relativa aos ácidos graxos da banha (marca Sadia) contendo os extratos de açafraão, gengibre e zedoária, nas diferentes doses de radiação estudadas. O valor do extrato foi previamente calculado com base no resíduo seco do mesmo para que sua concentração no substrato (banha) fosse de 1 mg/ml. O volume dos extratos foram colocados nos tubos do Rancimat® e evaporados sob atmosfera de nitrogênio. Em seguida, aproximadamente 3,00g de banha de porco sem antioxidante foram adicionados a cada tubo.

Com a programação da temperatura de 110°C, $\Delta T = 1,5^\circ\text{C}$, fluxo de ar de 20L/h, os tubos foram acoplados ao aparelho Rancimat®, até que a curva de condutividade em relação ao tempo de indução (TI) fosse finalizada para se calcular o Índice de Atividade Antioxidante (IAA). Um controle foi também preparado com a banha de porco sem antioxidante. O BHT a 1,0 mg/ml foi utilizado como padrão.

Os resultados foram expressos como Índice de Atividade Antioxidante (IAA), calculado pela fórmula:

$$\text{IAA} = \frac{\text{TI amostra}}{\text{TI controle}}$$

Onde: TI amostra = tempo de indução (h) da banha de porco + extrato contendo a amostra.

TI controle = tempo de indução (h) da banha de porco sem o extrato.

4.2.7 Quantificação de compostos bioativos por CLAE

Os compostos bioativos quantificados foram: curcumina, nos extratos de açafão e zedoária e 6-gingerol, nos extratos de gengibre, selecionados por sua importância nas atividades biológicas das plantas estudadas, principalmente no que diz respeito à atividade antioxidante. Não apresentaremos os resultados da quantificação da curcumina nos extratos de zedoária, pois esta se deu em níveis menores que o limite de detecção, cuja metodologia será descrita posteriormente.

As análises dos compostos bioativos foram feitas em cromatógrafo líquido Shimadzu LC-10AD equipado com degaseificador DGU-20^a, bomba quaternária LC-20AT, forno de coluna CTO-20^a, injetor automático SIL-20AC HT, controlador CBM-20^a, detector de arranjo de diodos SPD M20A e software LC Solution versão 1,24SPS2. Os padrões utilizados foram curcumina – Curcumin from *Curcuma longa* (Turmeric) – Sigma-Aldrich e 6-gingerol Sigma-Aldrich.

Validação dos métodos

As metodologias para a determinação de curcumina e 6-gingerol foram validadas. A precisão do método foi determinada pela repetibilidade, calculada pelo coeficiente de variação (CV%) de 10 repetições de uma mesma amostra (AOAC, 2007).

A porcentagem de recuperação foi calculada pela fórmula:

$$\% \text{ de recuperação} = \frac{X_c - X}{C} \times 100$$

C

Sendo: X_c = média dos resultados de amostras contaminadas

X = média dos resultados de amostras não contaminadas

C = padrão adicionado

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram avaliados de acordo com AOAC (2007) e estão relacionados às condições do equipamento utilizado. Tais limites foram determinados através de diluições consecutivas da mesma amostra utilizada para a avaliação da repetibilidade. Utilizando a maior diluição possível, foram realizadas 6 injeções consecutivas. O limite de detecção foi determinado com sendo o desvio-padrão dos resultados obtidos multiplicados por três vezes e o limite de quantificação como sendo o desvio-padrão multiplicado por dez vezes.

Determinação da curcumina

Cinquenta μL do extrato de açafrão foram evaporados sob atmosfera de nitrogênio. O resíduo foi redissolvido com 1,5ml de metanol grau HPLC e filtrado em filtro 0,45 μm (Millipore PVDV). 20 μL da solução obtida foram injetadas no cromatógrafo líquido em triplicata. Foi utilizada coluna Thermo ODS-2 Hypersil (250 x 4,0mm, 4 μm) e pré coluna Shimadzu GVP-ODS (10 x 4,0mm, 5 μm), ambas mantidas em temperatura constante de 30°C. A fase móvel isocrática foi composta por acetonitrila:água deionizada (50:50, v/v), filtrada em membrana (Millipore, PVDF) em fluxo de 1ml/min.

A quantificação foi realizada por padronização externa utilizando solução padrão de curcumina em uma curva de calibração com 5 pontos (1,92; 9,60; 24,0; 40,0 e 50,0 $\mu\text{g/mL}$; $r^2 = 0,9998$). A identificação foi feita pela comparação do tempo de retenção e do espectro de absorção, relativamente aos padrões. A comparação do espectro de absorção foi feita no comprimento de onda de 426nm (FIGURA 9). Em anexo (ANEXO 1) encontra-se o perfil cromatográfico do padrão de curcumina.

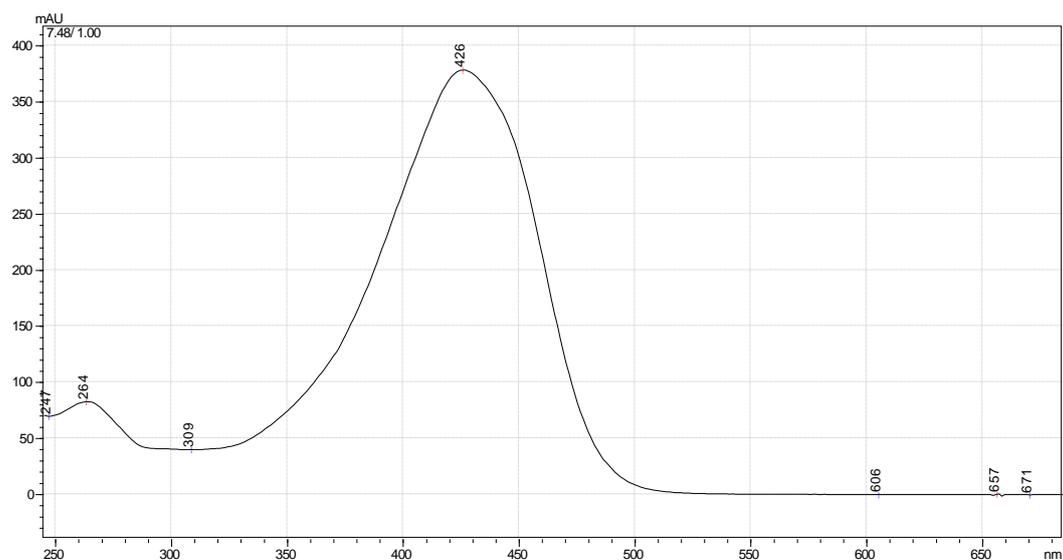


FIGURA 9: Espectro de absorção do padrão de curcumina

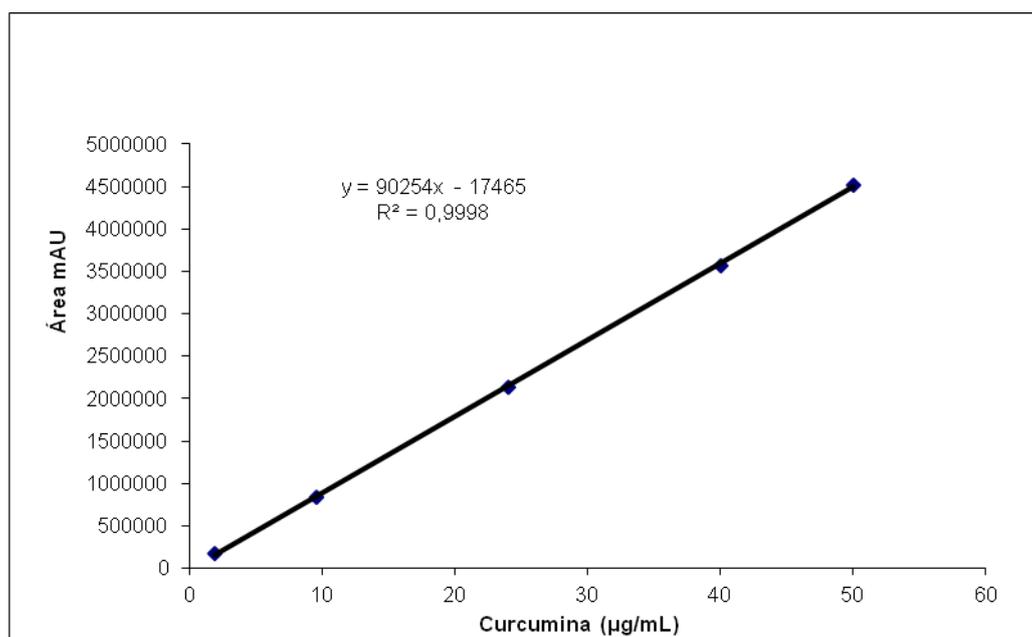


FIGURA 10: Curva de calibração, equação e coeficiente de determinação do padrão curcumina

Determinação do 6-gingerol

Cem μL do extrato de *Zingiber officinale* foram evaporados sob atmosfera de nitrogênio. O resíduo foi redissolvido com 1,5ml de metanol grau HPLC e filtrado em filtro 0,45 μm (Millipore PVDV). Vinte μL da solução obtida foram injetadas no cromatógrafo líquido em triplicata. Foi utilizada coluna Thermo ODS-2 Hypersil (250 x 4,0mm, 4 μm) e pré coluna Shimadzu GVP-ODS (10 x 4,0mm, 5 μm), ambas mantidas em temperatura constante de 30°C. A fase móvel isocrática foi composta por acetonitrila:água deionizada (40:60, v/v), filtrada em membrana (Millipore, PVDF) em fluxo de 1ml/min.

A quantificação foi realizada por padronização externa utilizando solução padrão de 6-gingerol em uma curva de calibração com 5 pontos (1,92; 4,80; 9,60; 12,0 e 24,0 $\mu\text{g/ml}$; $r^2 = 0,9927$). A identificação foi feita pela comparação do tempo de retenção e do espectro de absorção, relativamente aos padrões. A comparação do espectro de absorção foi feita no comprimento de onda de 200nm (FIGURA 11). Encontra-se em anexo (ANEXO 2) o perfil cromatográfico do padrão de 6-gingerol.

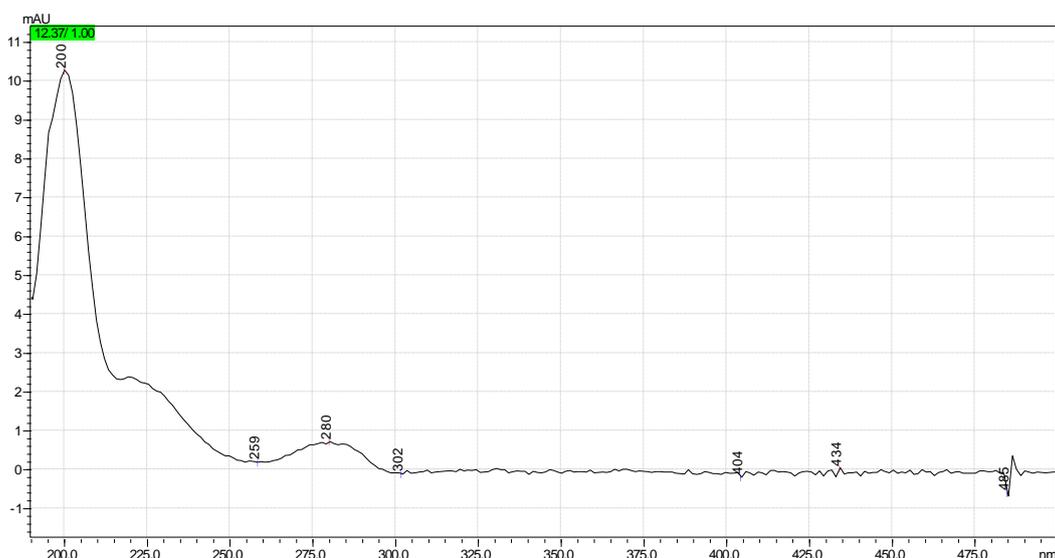


FIGURA 11: Espectro de absorção do 6-gingerol

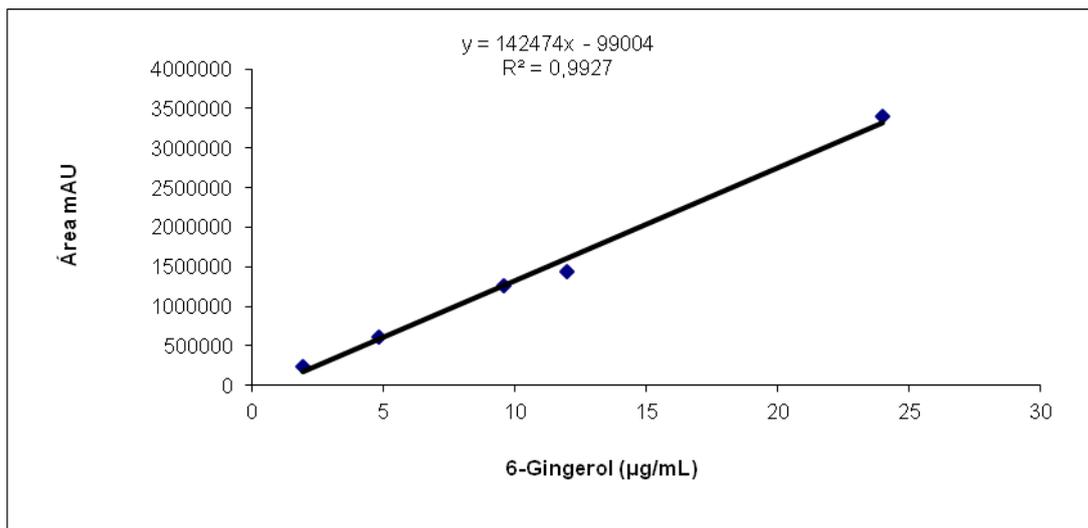


FIGURA 12: Curva de calibração, equação e coeficiente de determinação do padrão de 6- gingerol.

4.2.8 Análises estatísticas

Neste estudo, os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Para comparação das médias aritméticas, empregam-se o teste t de Student usando o software SPSS versão 16.0 for Windows. Adotou-se o nível de significância de 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

5. Resultados

5.1 *Screening* fitoquímico por cromatografia em camada delgada (CCD)

A fim de verificar a presença de algumas classes de metabólitos secundários nas espécies estudadas e possíveis mudanças no perfil fitoquímico das mesmas após o tratamento por irradiação foi realizado um *screening fitoquímico* utilizando técnicas de cromatografia em camada delgada e reações características de identificação, conforme proposto por WAGNER E BLADT (1996) e COSTA (2001). Esta é uma técnica que analisa qualitativamente o perfil fitoquímico de determinado vegetal e foi empregada por diversos autores no monitoramento/ identificação de compostos bioativos em diferentes espécies (PEREIRA *et al.*, 2004b; KHWANCHUEA *et al.*, 2007; TIBERTI *et al.*, 2007). Os resultados encontrados para a identificação das principais classes de compostos bioativos nas espécies estudadas encontram-se na TABELA 3.

TABELA 3: *Screening* fitoquímico das espécies estudadas por cromatografia em camada delgada

Espécie	Compostos esteroidais / Triterpênicos	Flavonóides (Compostos fenólicos)	Alcalóides
<i>Curcuma longa</i>	+	+	+
<i>Zingiber officinale</i>	+	+	-
<i>Curcuma zedoaria</i>	+	+	-

O *screening fitoquímico* foi realizado em todos os extratos estudados e através dos cromatogramas obtidos se pode observar que não há mudança no perfil fitoquímico das espécies estudadas após o tratamento por irradiação, nas doses de 5, 10, 15 e 20 kGy. As manchas obtidas pelos reveladores, que correspondem à substância marcadora do substrato, não diferem entre a amostra controle e as amostras irradiadas, como mostram os cromatogramas abaixo, FIGURAS 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20.



FIGURA 13: CCD dos extratos de *Curcuma longa* com fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (90:5:5) e NP-PEG como revelador

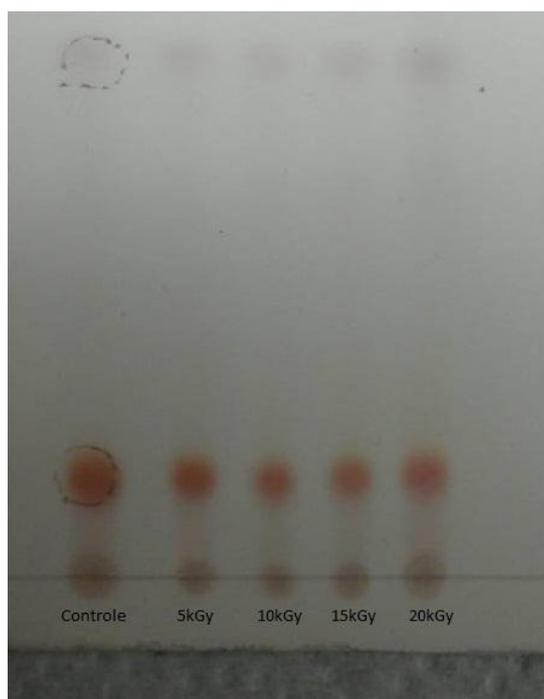


FIGURA 14: CCD dos extratos de *Curcuma longa* com fase móvel hexano/ ácido de etila (60:40) e vanilina sulfúrica como revelador

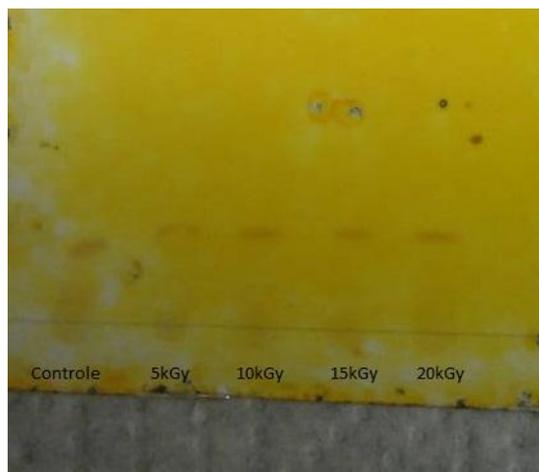


FIGURA 15: CCD dos extratos de *Curcuma longa* com fase móvel clorofórmio e Dragendorff como revelador



FIGURA 16: CCD dos extratos de *Zingiber officinale* com fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (90:5:5) e NP-PEG como revelador

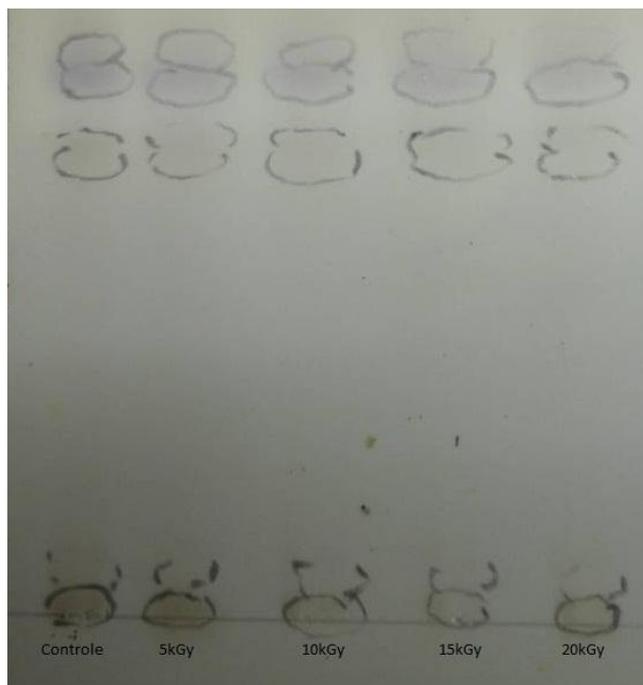


FIGURA 17: CCD dos extratos de *Zingiber officinale* com fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (90:5:5) e **Anisaldeído** como revelador

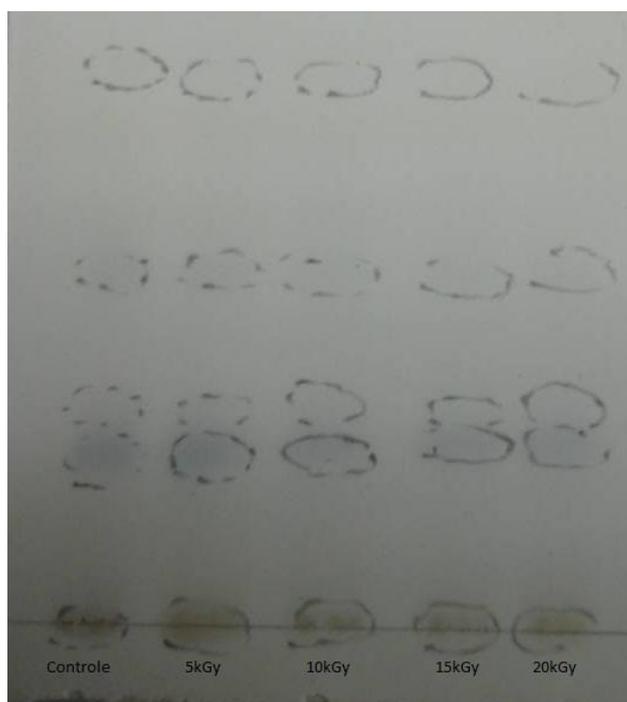


FIGURA 18: CCD dos extratos de *Zingiber officinale* com fase móvel hexano/ ácido de etila (60:40) e vanilina sulfúrica como revelador

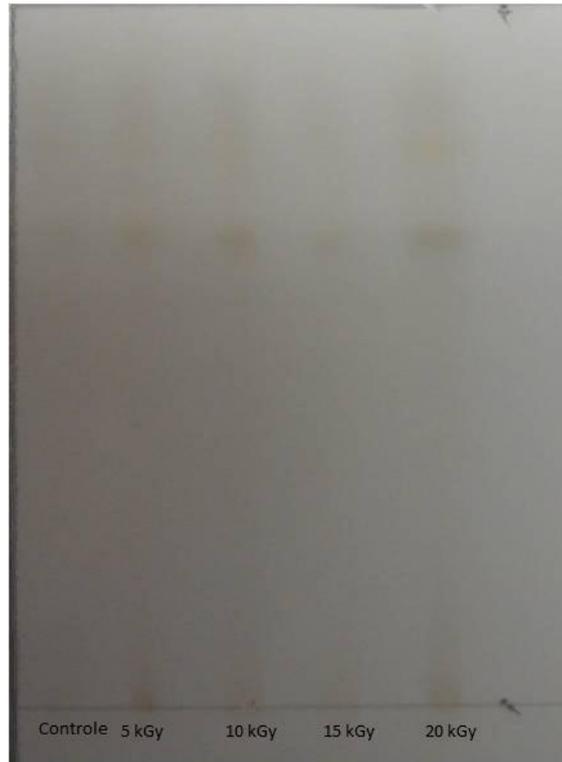


FIGURA 19: CCD dos extratos de *Curcuma zedoaria* com fase móvel acetato de etila/ ácido fórmico/ água (90:5:5) e NP-PEG como revelador



FIGURA 20: CCD dos extratos de *Curcuma zedoaria* com fase móvel hexano/ ácido de etila (60:40) e vanilina sulfúrica como revelador

AQUINO (2007) verificou através de análise cromatográfica em camada delgada (CCD) possíveis mudanças no perfil fitoquímico de algumas espécies de plantas medicinais após o tratamento por irradiação, entre elas: Boldo-do-Chile (*Peumus boldus*), Espinheira Santa (*Maytenus ilicifolia*), Guaraná (*Paullinia cupana*), Sene (*Cassia angustifolia*) e Chá verde (*Camellia sinensis*). Da mesma forma como ocorreu

no presente estudo, as manchas obtidas através desta análise não diferiram entre si, demonstrando que o tratamento por irradiação (nas doses de 5 e 10 kGy) não provocou mudanças no perfil fitoquímico qualitativo das plantas medicinais estudadas. KOSEKI *et al.*, (2002) também demonstraram, através de análises cromatográficas, que não houve diferença significativa nos níveis de flavonóides, compostos fenólicos, taninos e óleos essenciais de diferentes extratos de ervas desidratadas, tratadas pelo processo de irradiação, com doses de 10, 20 e 30 kGy.

5.2. Quantificação dos compostos fenólicos totais

A quantificação de compostos fenólicos totais teve o Ácido Gálico como padrão nos ensaios realizados com as três plantas estudadas.

A TABELA 4 apresenta a quantificação dos compostos fenólicos totais nos extratos de açafrão, gengibre e zedoária tratados por irradiação nas diversas doses de radiação estudadas e a comparação com os controles (sem o tratamento por irradiação).

TABELA 4: Teor de compostos fenólicos presentes nos extratos estudados.

Dose (kGy)	Teor de compostos fenólicos (mg Eq Ácido Gálico / g de resíduo seco)					
	Açafrão		Gengibre		Zedoária	
	Média ±DP	p	Média ±DP	p	Média ±DP	p
0	569,8 ± 20,2	-	255,1 ± 14,4	-	105,9 ± 3,3	-
5	577,1 ± 24,5	0,663	237,6 ± 8,5	0,082	101,3 ± 4,9	0,170
10	536,7 ± 95,1	0,521	246,3 ± 52,1	0,757	112,1 ± 11,4	0,340
15	498,4 ± 16,2	0,001	252,0 ± 21,5	0,818	119,8 ± 2,5	0,001
20	477,5 ± 18,6	0,001	286,5 ± 6,6	0,008	102,1 ± 8,4	0,426

(n) = 4. p<0,05 indica diferença significativa em relação à amostra controle (0 kGy)

No ensaio realizado com o açafrão observa-se que as amostras irradiadas com 15kGy e 20kGy foram as únicas que apresentaram perdas significativas no teor de compostos fenólicos totais em relação à amostra controle. O maior teor numérico foi verificado no extrato tratado com 5kGy (577,1 mg/g de resíduo seco).

Já no ensaio realizado com o gengibre não houve perda significativa no teor de compostos fenólicos totais nos extratos irradiados em relação ao controle. O maior teor de fenólicos totais foi verificado no extrato irradiado com 20kGy com 286,5 mg/g de resíduo seco.

As amostras de extrato de zedoária irradiadas também não apresentaram perdas significativas no teor de compostos fenólicos totais em relação à amostra controle, que não sofreu processo de tratamento por irradiação. O maior teor foi verificado no extrato tratado com 15kGy (119,8 mg/g de resíduo seco). Os extratos irradiados com 5kGy e 20kGy obtiveram os menores resultados numéricos em relação ao teor de compostos fenólicos totais, mas esta diferença não variou de maneira significativa em relação a amostra controle.

Dentre as três plantas estudadas, a zedoária foi a que apresentou menor teor de compostos fenólicos. No entanto, já está bem documentado que os principais princípios ativos responsáveis pelas atividades biológicas desta planta, dentre elas a atividade antioxidante, são sesquiterpenos, como o curcumenol e a deidrocurdiona (PAMPLONA, 2006). Os resultados de YOSHIOKA *et al.*, (1998) confirmaram o efeito antioxidante da deidrocurdiona e estes resultados são suportados pelos estudos de HARAGUCHI *et al.* (1996) que demonstraram a inibição da peroxidação lipídica por sesquiterpenos.

A perda significativa observada nos extratos de açafrão irradiados com 15kGy e 20kGy podem ser atribuídas à formação de produtos de degradação induzidos pela irradiação (SAJILATA & SINGHAL, 2006; WONG & KITTS, 2001). BREITFELLNER *et al.*, (2002) mostraram que a irradiação gama (1 – 10 kGy) em morangos proporcionaram a degradação de ácidos fenólicos como ácido cinâmico, p-cumárico, gálico e hidroxibenzóico. A hidroxilação (decomposição) destes ácidos fenólicos tem sido atribuída à formação de radicais hidroxilas livres durante o tratamento por irradiação. SCHINDLER *et al.*, (2005) também observaram a degradação de compostos fenólicos em tomates irradiados com 2kGy, 4kGy e 6kGy e

atribui este resultado à reação de radicais OH com o anel benzeno do sistema, o que resulta na formação do radical intermediário hidroxiciclohexadienil. A adição de oxigênio aos radicais OH seguidos da eliminação do radical HO₂ leva a hidroxilação do anel aromático, conforme mostra a FIGURA 21.

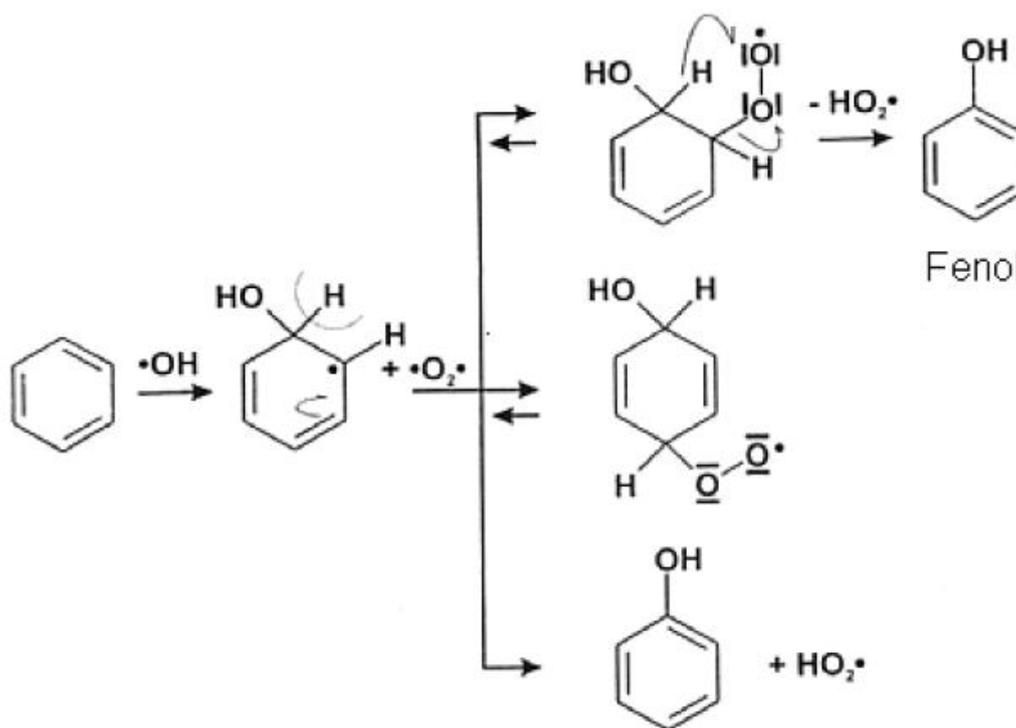


FIGURA 21: Mecanismo de ataque do benzeno pelo radical livre $\cdot\text{OH}$
(OPPENLÄNDER, 2003)

O fato do teor de compostos fenólicos em algumas amostras irradiadas, como o gengibre irradiado com 20kGy e a zedoária com 15kGy, terem sido maiores que os encontrados em amostras controle também podem ser explicados. Segundo ZOBEL (1997) vários fatores podem contribuir para a produção de fitoquímicos, como compostos fenólicos, pelo vegetal em diferentes níveis, como exposição a fontes de radiação, estocagem a baixas temperaturas e exposição a temperaturas extremas. Em termos de exposição a fontes de radiação a produção de fitoquímicos dependerá da dose aplicada, sensibilidade da substância em relação à irradiação e o efeito da irradiação por si só sob os constituintes do vegetal que podem ser responsáveis pela produção e/ou

acumulação de fitoquímicos / antioxidantes em determinadas plantas (ALOTHMAN, 2009). BENÔIT *et al.*, (2000) encontraram um aumento no teor de compostos fenólicos em cogumelos *Agáricus* irradiados com 2kGy em relação a amostra controle, não irradiada.

Além disso, a quebra de determinadas moléculas de polifenóis pela radiação gama em outras de peso menor peso molecular pode resultar em uma maior extratabilidade dos tecidos dos vegetais (BHAT *et al.*, 2007b; GONZÁLEZ-AGUILLAR *et al.*, 2007; TOMAS-BARBERAN & ESPIN, 2000). ADAMO *et al.*, (2004) relataram que o processo destrutivo da oxidação e da irradiação com raios do tipo gama são capazes de quebrar ligações químicas de polifenóis, resultando assim em fenóis solúveis, com menores pesos moleculares, capazes de aumentar o teor de fenólicos com capacidade antioxidante no extrato final.

VARIYAR (1998) atribui a degradação de taninos pela irradiação e a interrupção da estrutura de compostos fenólicos ao aumento da extração e consequente teor de compostos fenólicos em pimentas irradiadas.

A maior parte dos extratos irradiados estudados não apresentaram diferença significativa em relação ao teor de fenólicos totais comparando-se com o controle não irradiado e os resultados do presente estudo vem de encontro ao que tem sido apresentado na literatura. CHATTERJEE *et al.*, (2009) mediram o teor de compostos fenólicos em amostras de açafrão (*Curcuma longa*) e feno grego (*Trigonella foneum*) irradiados com 10kGy e compararam com as amostras controles, isentas do tratamento por irradiação. Nenhuma diferença significativa foi encontrada.

SOMMER *et al.*, (2009) estudaram os efeitos da radiação gama sob o teor de compostos fenólicos em cogumelos do tipo *Agáricus* e também não encontraram diferenças significativas entre eles. Outros estudos que avaliaram fenólicos totais em vegetais irradiados, também não demonstraram perda significativa desses compostos (HARRISON & WERE, 2007; LEE *et al.*, 2009; VILLAVICENCIO *et al.*, 2000)

5.3 Determinação da atividade antioxidante

5.3.1 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH (IC_{50%})

A capacidade de captação de radicais livres foi determinada utilizando-se o radical estável 1,1-difenil-2-picrilhidasil (DPPH), de acordo com o método proposto por BRAND-WILLIAMS *et al.*, (1995) com modificações.

A TABELA 5 mostra os resultados do Coeficiente de Inibição de 50% (IC_{50%}) do radical livre DPPH nos extratos tratados com as diferentes doses de radiação estudada e sua comparação com a amostra controle, que não sofreu processo de tratamento por irradiação.

TABELA 5: Atividade de inibição do DPPH (IC_{50%}) pelos extratos estudados

Dose (kGy)	Atividade de inibição do DPPH (IC _{50%}) (mg / g de resíduo seco)					
	Açafrão		Gengibre		Zedoária	
	Média ±DP	P	Média ±DP	p	Média ±DP	p
0	10,8 ± 0,7	-	15,4 ± 1,3	-	93,0 ± 3,0	-
5	10,3 ± 0,6	0,386	25,2 ± 0,8	> 0,001	79,2 ± 2,7	> 0,001
10	7,6 ± 1,1	0,003	29,6 ± 2,5	> 0,001	86,8 ± 2,0	0,014
15	10,6 ± 0,3	0,635	25,0 ± 1,2	> 0,001	78,0 ± 2,7	> 0,001
20	7,5 ± 0,2	> 0,001	42,7 ± 3,1	> 0,001	135,4 ± 5,2	> 0,001

(n) = 4. p<0,05 indica diferença significativa em relação à amostra controle (0 kGy)

As amostras irradiadas de açafrão não apresentaram perdas significativas na atividade antioxidante em relação à amostra de extrato controle. A avaliação da atividade de inibição do DPPH mostrou que as doses de 10kGy e 20kGy apresentaram atividade antioxidante superior às amostras controle e tratadas com 5kGy e 15kGy.

A avaliação antioxidante dos extratos de gengibre mostrou uma perda na atividade de inibição de DPPH nos extratos irradiados em relação ao controle. O extrato irradiado com 20kGy foi o que apresentou menor atividade antioxidante entre os estudados.

Apenas o extrato irradiado de zedoária com dose de 20kGy apresentou perda significativa na atividade de inibição do DPPH em relação a amostra controle, o que confere a este extrato uma menor atividade antioxidante. Os extratos irradiados com 5kGy e 15kGy apresentaram maiores valores na atividade de inibição do DPPH.

É fato que a literatura mostra resultados conflitantes em relação à influência da radiação gama na atividade antioxidante de alimentos em geral. Segundo estudos atuais, a irradiação pode tanto aumentar, diminuir como não influenciar na capacidade de sequestrar radicais livres (ALOTHMAN, 2009).

Os fenólicos são cotados como os maiores responsáveis pela atividade antioxidante de um alimento quando esta é medida pela capturação de radicais livres. No entanto, a quantificação destes compostos não é o único modo de avaliar esta característica (RICE-EVANS *et al.*, 1996; CZAPSKI, 2005), já que a atividade antioxidante depende também do número e da localização de radicais hidroxila no anel aromático, assim como suas posições mútuas. Isto pode explicar a diferença entre os resultados obtidos neste ensaio com relação ao ensaio de quantificação de compostos fenólicos (SOMMER *et al.*, 2009).

SOMMER *et al.*, (2009) encontraram resultados conflitantes entre o teor de compostos fenólicos e a análise da atividade antioxidante em cogumelos irradiados. Amostras irradiadas com 5kGy apresentaram menores teores de fenólicos totais e, ao mesmo tempo, maiores quantidades de equivalentes de Trolox, ou seja, maior atividade antioxidante, dentre as amostras estudadas. No entanto, assim como aconteceu com as amostras de açafraão e zedoária (esta última até a dose de 15kGy), não houve perda da atividade antioxidante nas amostras irradiadas em relação ao controle.

Outra possível causa para o fato da radiação gama aumentar a atividade antioxidante de vegetais já documentados em literatura é o aumento da atividade de enzimas como a fenilalanina amônia-liase e peroxidase (BHAT *et al.*, 2007b;

GONZÁLEZ-AGUILLAR *et al.*, 2007; TOMAS-BARBERAN & ESPIN, 2000). Esta é outra hipótese para a obtenção de valores de captação de radicais livres mais altos em alguns extratos irradiados de açafrão e zedoária em comparação ao controle.

Da mesma forma como ocorreu no presente estudo, CHATTERJEE *et al.*, (2009) não encontraram perdas na capacidade de captação de radicais livres em amostras de açafrão (*Curcuma longa*) irradiadas com 10kGy. MISHRA *et al* (2006) utilizaram doses de irradiação de até 10kGy para a mesma análise em folhas de “chá” (*Camellia sinensis*) e também não obteve perdas significativas. JO *et al.*, (2008) obtiveram perdas significativas irradiando “chá” (*Cammelia sinensis*) na dose de 20kGy, resultado semelhante aos obtidos nos extratos de gengibre e zedoária.

Perdas na capacidade antioxidante, mais especificamente na capacidade de captação de radicais livres, pela radiação gama também tem sido documentadas. Em geral, esta perda é atribuída à formação de produtos de degradação induzidos pela irradiação, como discutido no item anterior, e à formação de radicais livres (SAJILATA & SINGHAL, 2006; WONG & KITTS, 2001).

A perda ocorrida nos extratos de gengibre irradiados encontrada neste estudo não se deve a degradação de ácidos fenólicos, já que a quantificação destes fitoquímicos não foi alterada pelo processo de irradiação. Apesar de esta perda ter sido evidenciada, o custo benefício do processamento por irradiação ainda é positivo se levarmos em conta a importância da manutenção das condições sanitárias do alimento e a alta capacidade antioxidante do gengibre. HE *et al.*, (1998) mostraram que o gengibre tem um efeito antioxidante maior que outras especiarias como a canela e atribui este resultado a presença de tocoferóis, fosfolipídios e compostos fenólicos, ou mesmo ao efeito sinérgico de todos eles.

5.3.2 Avaliação da capacidade protetora da oxidação lipídica utilizando o aparelho Rancimat®

As plantas estudadas (açafrão, gengibre e zedoária) foram testadas pelo aparelho Rancimat®. O índice de atividade antioxidante (IAA) dos extratos destas plantas irradiados nas diversas doses estudadas, assim como os dos extratos controles serão apresentados abaixo. Quanto maior o valor do IAA, melhor a proteção oxidativa, e consequentemente melhor a atividade antioxidante.

Conforme citado anteriormente, o IAA foi calculado considerando-se o tempo de indução da amostra dividido pelo tempo de indução do controle. Ou seja, valores acima de 1,0 indicam que a amostra apresentou atividade antioxidante.

A TABELA 6 apresenta o índice de atividade antioxidante (IAA) dos extratos estudados medida pelo aparelho Rancimat® e a comparação dos diversos tratamentos de irradiação com o controle, onde nenhum tratamento foi aplicado.

TABELA 6: Índice de Atividade Antioxidante nos extratos estudados

Dose (kGy)	IAA					
	Açafrão		Gengibre		Zedoária	
	Média \pm DP	p	Média \pm DP	p	Média \pm DP	p
0	3,43 \pm 0,2	-	3,82 \pm 0,3	-	2,48 \pm 0,2	-
5	2,65 \pm 0,1	> 0,001	4,24 \pm 0,3	0,099	1,80 \pm 1,3	0,001
10	2,72 \pm 0,3	0,054	4,23 \pm 0,3	0,115	1,89 \pm 1,3	0,003
15	2,67 \pm 0,3	0,003	3,97 \pm 0,3	0,495	1,99 \pm 0,2	0,010
20	3,05 \pm 0,5	0,182	4,16 \pm 0,2	0,122	1,81 \pm 0,2	0,005

(n) = 4. p<0,05 indica diferença significativa em relação à amostra controle (0 kGy)

Todas as amostras de açafão testadas apresentaram atividade antioxidante e houve perda significativa entre os extratos irradiados com 5kGy e 15kGy em relação ao extrato controle. Este último apresentou maior valor numérico de IAA (3,05).

Com relação aos extratos de gengibre todas as amostras apresentaram atividade antioxidante e não houve diferença significativa entre a amostra controle e as irradiadas. O maior valor numérico de IAA foi encontrado no extrato irradiado com 5kGy.

Todas as amostras de zedoária apresentaram atividade antioxidante, porém, neste ensaio verificou-se diferença significativa entre o IAA da amostra controle em relação às irradiadas. Houve perda na capacidade protetora da oxidação lipídica dos extratos de zedoária irradiados.

O valor do IAA para o padrão de BHT do ensaio foi de 3,72. Apenas as amostras de gengibre apresentaram valores superiores ao padrão, o que já era esperado, pois o padrão foi utilizado na forma pura, e os extratos das plantas estudadas são extratos totais, ou seja, contêm diversas outras substâncias além dos compostos antioxidantes.

Os resultados do presente estudo vêm de encontro com o que tem sido publicado em literatura. MURCIA *et al.*, (2004) avaliaram a influência da irradiação na atividade antioxidante por meio da proteção da oxidação lipídica em especiarias: anis, canela, menta, noz-moscada, alcaçuz, baunilha, além do gengibre que também foi objeto do presente estudo. A metodologia utilizada pelos autores também foi o teste do Rancimat®. As amostras irradiadas (1, 3, 5 e 10kGy) não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) na atividade antioxidante em comparação às amostras não irradiadas, da mesma forma como os resultados obtidos neste estudo para o açafão nas doses de 10kGy e 20kGy e para o gengibre. O efeito insignificante da irradiação na composição de plantas secas pode ser explicado pela sua baixa concentração de água, que limita a possibilidade da formação de radicais livres que poderiam interferir na atividade antioxidante das amostras irradiadas (VENSKUTONIS *et al.*, 1998).

A possível degradação de compostos fenólicos e outros fitoquímicos responsáveis pela atividade antioxidante por meio da proteção lipídica após a irradiação pode explicar a diferença significativa encontrada nos ensaios realizados com os extratos de açafão irradiados com 5kGy e 15kGy, como discutido em itens anteriores.

No caso da zedoária, como já mencionado anteriormente, os princípios ativos com maior responsabilidade frente à atividade antioxidante são sesquiterpenos, ou seja, óleos essenciais (compostos voláteis) (PAMPLONA, 2006; YOSHIOKA *et al.*, 1998). De acordo com ARAÚJO (2004) o alto teor de compostos terpênicos presentes na composição de um óleo essencial implica num produto instável, sensível ao calor assim como à luz. Desta forma, diferentemente do gengibre e do açafrão, a atividade antioxidante da zedoária não é mantida muito tempo em altas temperaturas, o que pode explicar o baixo valor de IAA obtido no teste de Racimat® para esta espécie.

A zedoária foi também a única espécie que apresentou diferenças significativa no IAA de todas as amostras irradiadas em relação à amostra controle. TAJIMA & HOSSAIN (1989) mostraram em seus estudos que a irradiação com raios gama na dose de 5kGy afetou a recuperação de óleos essenciais em muitas espécies, dentre elas o açafrão, o que relata a instabilidade deste fitoquímico frente a irradiação. Isto explica os resultados obtidos no presente estudo.

Ao contrário da zedoária, os principais fitoquímicos responsáveis pela atividade antioxidante do açafrão e do gengibre são compostos fenólicos, substâncias mais resistentes à irradiação gama que os sesquiterpenos. (SOMMER *et al.*, 2009; HARRISON & WERE, 2007; LEE *et al.*, 2009; VILLAVICENCIO *et al.*, 2000).

A Zingiberaceae com maior IAA encontrado neste estudo foi o gengibre. No trabalho realizado por MURCIA *et al.*, (2004) o gengibre foi uma das especiarias que apresentou maior IAA, com valores maiores que noz-moscada, baunilha e alcaçuz. Da mesma forma como ocorreu neste estudo, o gengibre apresentou valores de IAA maiores que o padrão de BHT.

A atividade antioxidante do extrato de gengibre no estudo de MURCIA *et al.*, (2004) foi mantida mesmo após 30 minutos da ebulição da água a 100°C, o que indica que os constituintes desta especiaria, responsáveis por esta atividade, são resistentes à desnaturação pelo calor. Este resultado sugere também que o gengibre pode ser utilizado como aditivo em alimentos cujo processamento envolve altas temperaturas a fim de evitar a oxidação lipídica. Muitos estudos têm proposto a adição do gengibre para a conservação de produtos cárneos (MANSOUR *et al.*, 2000), pescados (RAMANATHAN & DAS, 1993), óleos e gorduras (MOCHINAGA, 2000). Da mesma

forma, o açafrão também pode ser utilizado com esta finalidade, já que também apresentou valores altos de IAA, sendo um potente inibidor da peroxidação lipídica (KUNCHANDY & RAO, 1990; SUBRAMANIAN *et al.*, 1994). Ambas as especiarias poderão ser utilizadas como aditivos após a irradiação com raios gama, pois esta não interfere nos IAA dos extratos de gengibre e, apesar da perda significativa encontrada nos extratos de açafrão irradiados com 5kGy e 15kGy, mantém os IAA consideravelmente altos para a aplicação desta especiaria como tal.

5.4 Quantificação de compostos bioativos por CLAE

Na análise por CLAE quantificou-se os compostos fenólicos que se destacam por serem os principais responsáveis pela atividade antioxidante das plantas estudadas: Curcuminóides, mais especificamente a curcumina, no caso do açafrão e Gingeróis, mais especificamente 6-gingerol, no caso do gengibre. A quantificação de curcumina também foi feita com os extratos de zedoária, mas os resultados não foram quantificáveis. Desta forma, apresentaremos os resultados da análise de CLAE apenas para os extratos de açafrão e de gengibre.

5.4.1 Quantificação de curcumina nos extratos de açafrão

A TABELA 7 apresenta os resultados de quantificação de curcumina nos extratos de açafrão irradiados nas diversas doses estudadas e sua comparação com a quantificação realizada no extrato controle, que não foi tratado por irradiação.

TABELA 7: Quantificação de curcumina nos extratos de açafrão

Amostras	mg / g de resíduo seco	
	Média \pm DP	p
0	858,55 + 11,4	-
5	882,92 + 17,4	0,031
10	889,03 + 83,6	0,443
15	740,78 + 16,4	> 0,001
20	902,78 + 97,6	0,344

(n) = 6. $p < 0,05$ indica diferença significativa em relação à amostra controle (0 kGy)

O resultado da análise dos extratos de açafrão demonstrou diferença significativa de 5% ($p < 0,05$) na dose 15kGy para quantificação de curcumina, evidenciando menor concentração deste composto bioativo neste extrato. Este resultado vem de encontro ao observado nos ensaios de quantificação de compostos fenólicos e na avaliação da capacidade protetora da oxidação lipídica utilizando o aparelho Rancimat®. O extrato de açafrão irradiado com 15kGy apresentou diferenças significativas nos resultados dos respectivos ensaios em relação ao controle: menor teor de fenólicos totais e menor índice de atividade antioxidante. Desta forma é possível verificar a importância do composto fenólico curcumina na atividade antioxidante do açafrão.

Os outros extratos estudados não apresentaram perdas significativas na quantificação de curcumina em relação ao extrato controle. O extrato irradiado com 20kGy foi o que apresentou maior valor numérico (902,78 mg de curcumina/ g de resíduo seco).

Apesar da perda significativa no teor de curcumina evidenciada no extrato irradiado com 15kGy, os perfis cromatográficos (FIGURAS 22, 23, 24, 25 e 26) da análise não apresentaram diferenças entre uma amostra e outra, apresentando a mesma ordem de eluição e tempo e retenção aproximados. O número 1 representa o pico referente à curcumina, substância analisada neste ensaio.

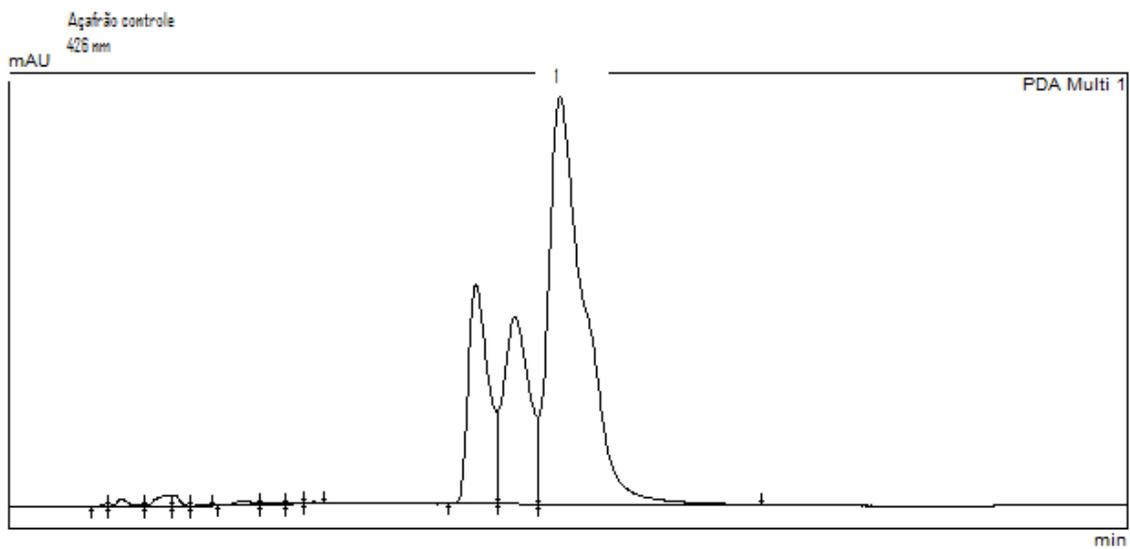


FIGURA 22: Perfil cromatográfico da amostra controle de açafrão no comprimento de onda de 426 nm.

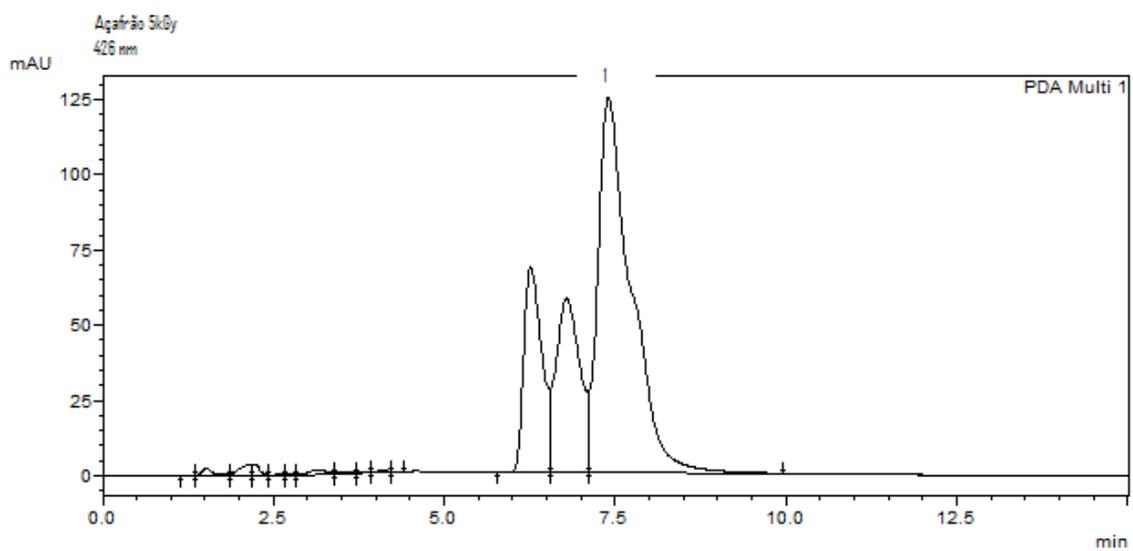


FIGURA 23: Perfil cromatográfico da amostra de açafrão irradiada com dose de 5kGy no comprimento de onda de 426 nm.

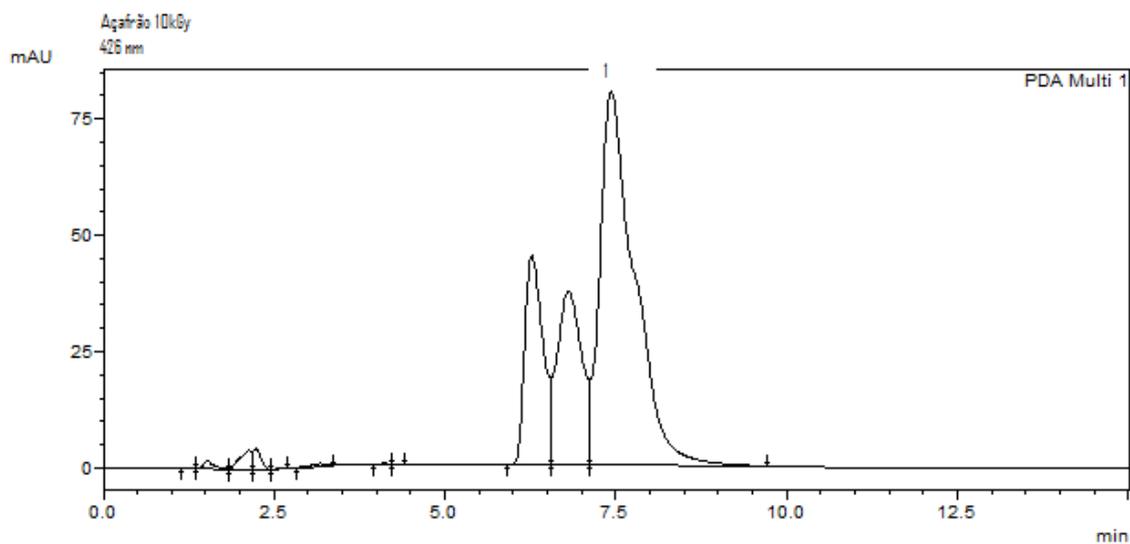


FIGURA 24: Perfil cromatográfico da amostra de açafrão irradiada com dose de 10kGy no comprimento de onda de 426 nm.

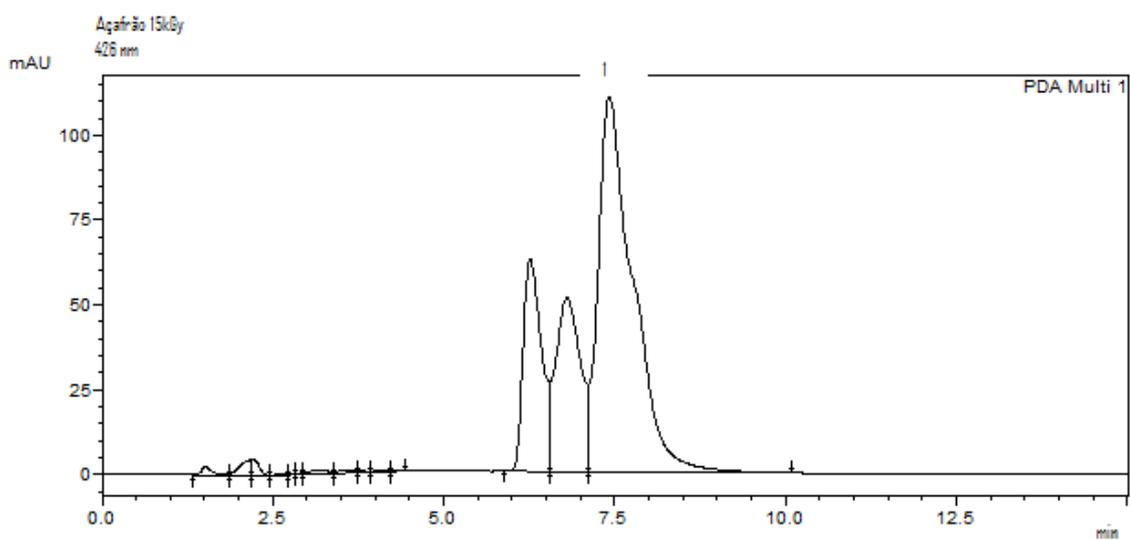


FIGURA 25: Perfil cromatográfico da amostra de açafrão irradiada com dose de 15kGy no comprimento de onda de 426 nm.

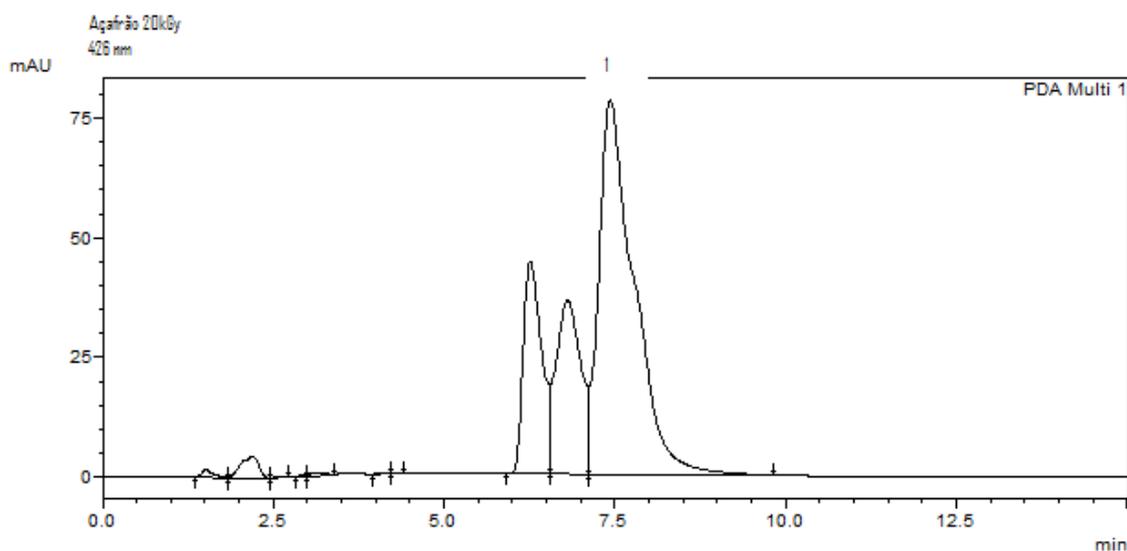


FIGURA 26: Perfil cromatográfico da amostra de açafrão irradiada com dose de 20kGy no comprimento de onda de 426 nm.

O ANEXO 3 mostra a comparação entre os cromatogramas dos extratos de açafrão estudados.

5.4.2 Quantificação de 6-gingerol nos extratos de gengibre

A TABELA 8 apresenta resultados da quantificação de 6-gingerol nos extratos de gengibre, controle e irradiados nas diversas doses estudadas.

TABELA 8: Quantificação de 6-gingerol nos extratos de gengibre

Amostras	mg / g de resíduo seco	
	Média \pm DP	p
0	94,08 + 4,8	-
5	89,34 + 4,2	0,099
10	102,6 + 2,5	0,003
15	103,4 + 18,4	0,261
20	103,2 + 4,8	0,008

(n) = 6. $p < 0,05$ indica diferença significativa em relação à amostra controle (0 kGy)

Os resultados acima mostram que não houve perda significativa na quantificação de 6-gingerol nas amostras irradiadas em relação à amostra controle.

Da mesma forma como ocorreu nas análises de açafrão, os perfis cromatográficos (FIGURAS 27, 28, 29, 30 e 31) da análise não apresentaram diferenças entre uma amostra e outra, apresentando a mesma ordem de eluição e tempo e retenção aproximados. O número 1 representa o pico referente ao 6-gingerol, analisado nesta cromatografia.

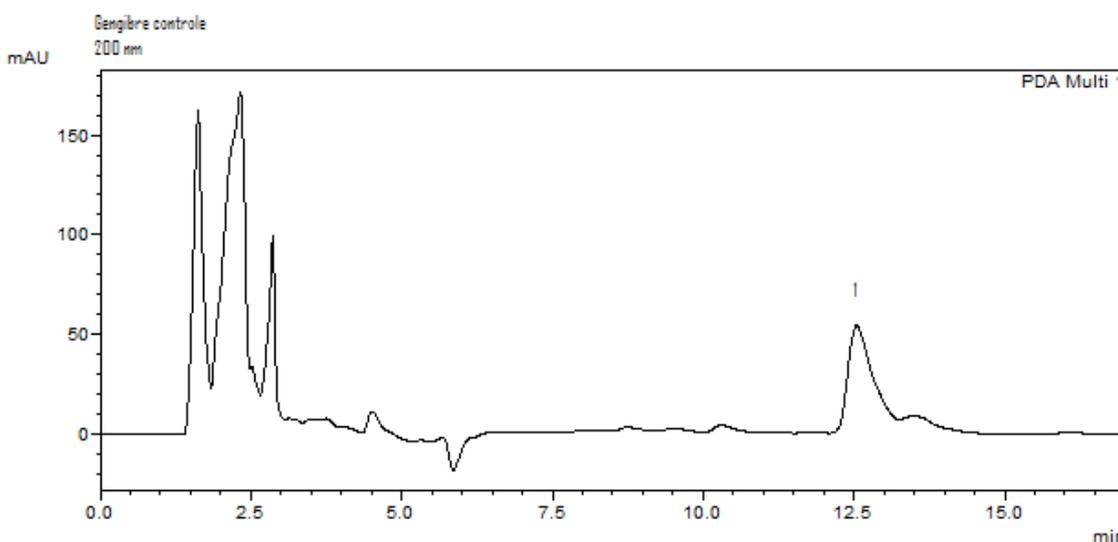


FIGURA 27: Perfil cromatográfico da amostra controle de gengibre no comprimento de onda de 200 nm.

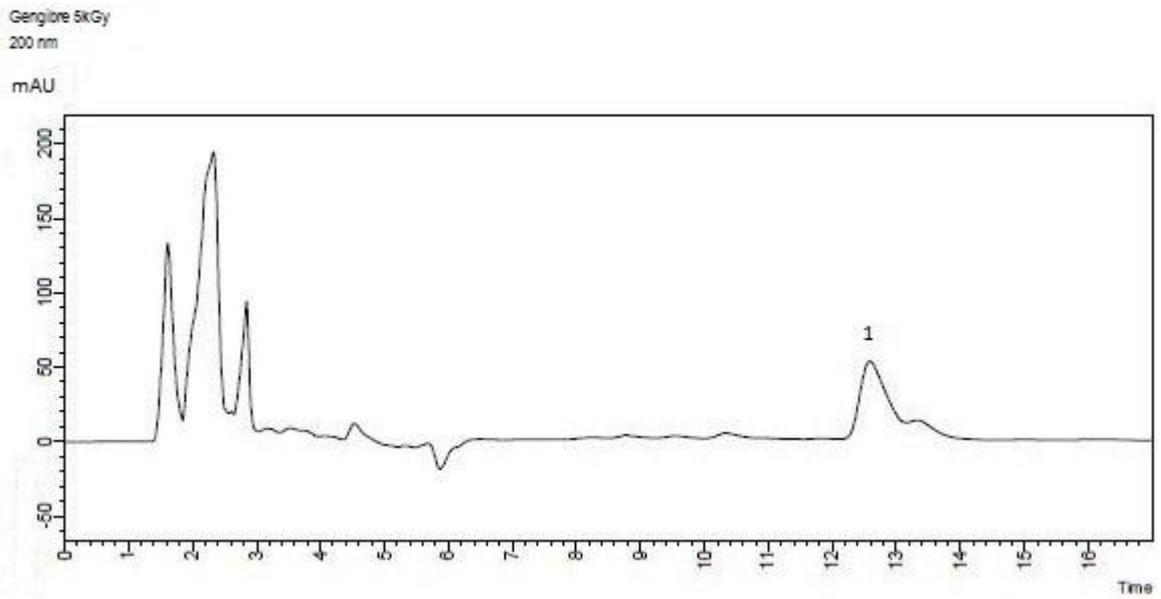


FIGURA 28: Perfil cromatográfico da amostra de gengibre irradiada com dose de 5 kGy no comprimento de onda de 200 nm.

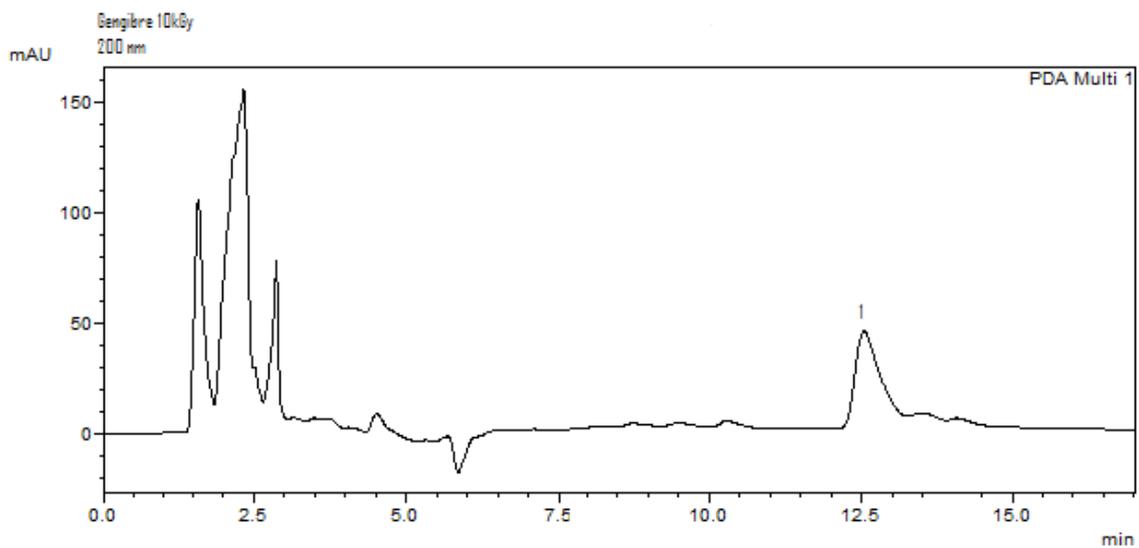


FIGURA 29: Perfil cromatográfico da amostra de gengibre irradiada com dose de 10 kGy no comprimento de onda de 200 nm.

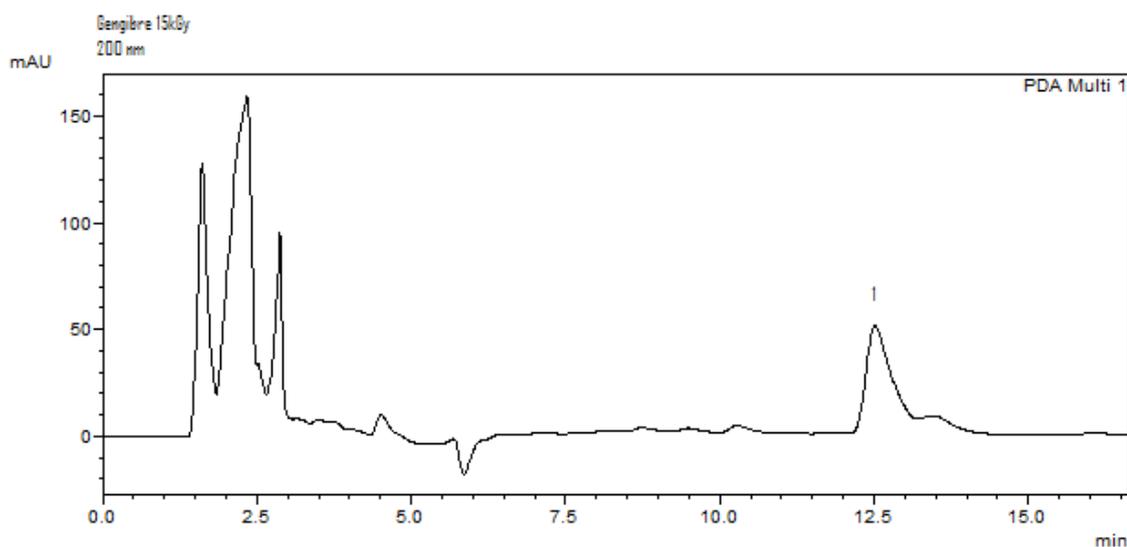


FIGURA 30: Perfil cromatográfico da amostra de gengibre irradiada com dose de 15 kGy no comprimento de onda de 200 nm.

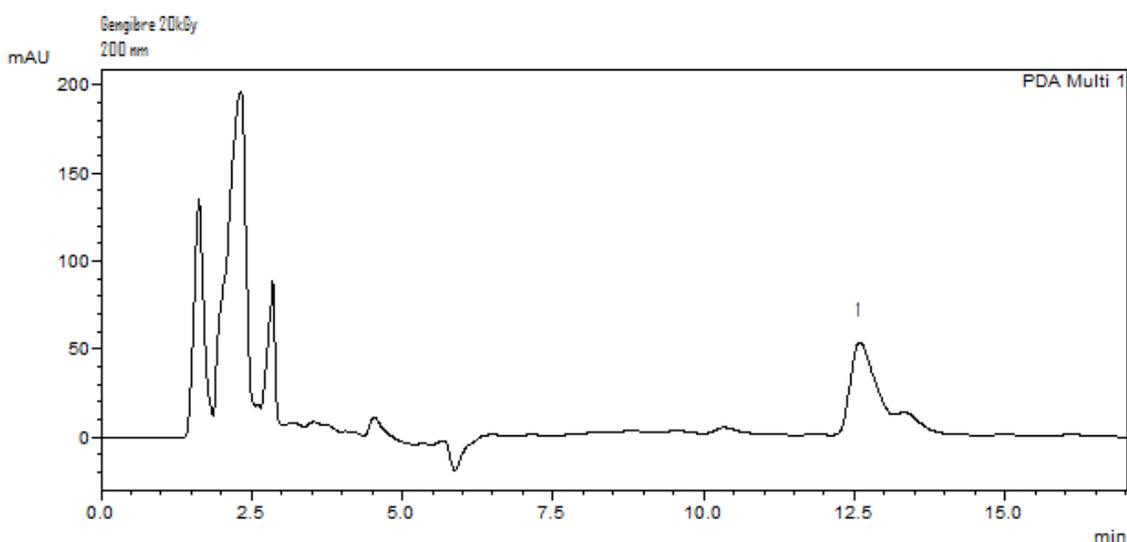


FIGURA 31: Perfil cromatográfico da amostra de gengibre irradiada com dose de 20 kGy no comprimento de onda de 200 nm.

O ANEXO 4 mostra a comparação entre os cromatogramas obtidos dos extratos de gengibre estudados.

Na literatura sobre irradiação de alimentos, percebemos que alguns vegetais têm uma sensibilidade maior ao processamento por irradiação, podendo ser evidenciada através da análise de quantificação por CLAE (KOSEKI *et al.*, 2002).

A irradiação gama em dose de 10kGy não afetou a quantificação de curcuminóides como a curcumina, demetoxi curcumina e bisdemetoxi curcumina em amostras de açafrão nos estudos de CHATTERJEE *et al.*, (1999). Estudo realizado com *Ginkgo biloba* e guaraná não demonstrou diferença significativa na quantificação de seus compostos bioativos em doses de até 17,8kGy (SORIANI *et al.*, 2005).

No entanto, SCHINDLER *et al.*, (2005) encontraram reduções na concentração de fenólicos como o p-hidroxibenzaldeído, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, rutina e naringenina em tomates irradiados com 2kGy, 4kGy e 6kGy em análise feita por CLAE e atribui este resultado à formação de radicais hidroxilas livres durante o tratamento por irradiação.

Temos representado na TABELA 9 o limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), o coeficiente de variação (CV) e a recuperação da análise de curcumina para os extratos de açafrão e de 6-gingerol para os extratos de gengibre.

TABELA 9: Resultados referentes à validação do método nos extratos de açafrão e gengibre.

	LD ug/ mg de padrão ^a	LQ ug/ mg de padrão ^a	Repetibilidade (CV)^b	Recuperação % ^c
Curcumina	0,2	0,6	1,51	93,9
6-gingerol	0,18	0,55	0,77	100,06

^a (n) = 6, ^b (n) = 3, ^c (n) = 10

6. Conclusões

- Não há diferenças no screening fitoquímico das plantas estudadas após o tratamento por irradiação.
- O processamento por radiação não causou diferenças no teor de fenólicos totais nos extratos de gengibre e zedoária em relação à amostra controle. Os extratos de açafraão irradiados com 15kGy e 20kGy apresentaram diferença significativa no teor de fenólicos totais em relação ao controle.
- Não houve perda significativa na capacidade de captar radicais livres (DPPH) nas amostras de açafraão irradiadas em relação ao controle e para a zedoária esta perda foi significativa apenas na dose de 20kGy. Os extratos de gengibre irradiados apresentaram perda significativa na capacidade de captar radicais livres, mas o custo benefício do processamento por irradiação ainda é considerado positivo.
- A capacidade protetora da oxidação lipídica não foi perdida após a irradiação nos extratos de gengibre e para os extratos de açafraão esta perda foi evidenciada nos extratos irradiados com 5kGy e 15kGy. No entanto, estes extratos de açafraão continuam com IAA relativamente altos. Estes resultados sugerem que o açafraão e o gengibre irradiados podem ser utilizados como aditivos para a conservação de produtos alimentícios cujo processamento envolve altas temperaturas a fim de evitar a oxidação lipídica. Já no caso da zedoária, devido ao fato de seus princípios ativos antioxidantes serem em sua maior parte sesquiterpenos (óleos essenciais) houve perda na capacidade protetora da oxidação lipídica.
- O perfil cromatográfico dos extratos de gengibre não apresentou diferenças significativas na quantificação de 6-gingerol. Já o perfil cromatográfico dos extratos de açafraão mostrou uma perda na quantificação de curcumina na dose de 15kGy. O extrato irradiado com 20kGy não apresentou a mesma perda.
- Nas condições do presente experimento, pode-se concluir que os resultados apresentados foram promissores e que a tecnologia de processamento de Zingiberaceae,

mais especificamente de açafrão (*Curcuma longa*), gengibre (*Zingiber officinale*) e zedoária (*Curcuma zedoaria*), por radiação gama pode ser viável para as indústrias.

- Para segurança da manutenção da atividade antioxidante das plantas estudadas, deve-se aplicar doses de radiação até 10kGy, já que as maiores perdas foram encontradas nas doses de 15kGy e 20kGy.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- [1] ABDALLA, D.S.P. Estresse oxidativo e alimentação. In: TIRAPEGUI, J. (ed) **Nutrição: Fundamentos e aspectos atuais**. São Paulo: Atheneu, 2000: 179-200.
- [2] ABU-IRMAILEH, B.E.; AFIF, F.U. Herbal medicine in Jordan with special emphasis on commonly used herbs. *J. Ethnopharmacol.*, v. 89, p. 193-197.
- [3] ADAMO, M.; CAPITANI, D.; MANNINA, L.; CRISTINZIO, M.; RAGNI, P.; TATA, A., *et al.* Truffles decontamination treatment by ionizing radiation. *Radiat Phys Chem*, v. 71, n.1-2, p.165-168, 2004.
- [4] AGGARWAL, S.; TAKADA, Y.; SINGH, S.; MYERS, J.N.; AGGARWAL, B.B. Inhibition of growth and survival of human head and neck squamous cell carcinoma cells by curcumin via modulation of nuclear factor-kB signaling. *Int J Cancer*, v. 111, p. 679-692, 2004.
- [5] ALONSO, J. **Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos**. Rosario, Argentina: Ed Corpus, 2004.
- [6] ALTMAN, R.D.; MARCUSSEN, K.C. Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis. *Arthritis Rheum.*, v. 44, p. 2531-2538, 2001.
- [7] ALZOREKY N.; NAKAHARA, K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Int J Food Microbiol.*, v. 80, n. 3, p. 223-230, 2003.
- [8] ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A.A. Effects of radiation processing on phytochemicals and antioxidants in plant produce. *Trends Food Sci Tech*, v. 20, p. 201-212, 2009.
- [9] ANONYMOUS. **The Wealth of India—Raw Materials IA (Revised): A Dictionary of Indian Raw Materials and Industrial Products**. vol. 69, New Delhi: CSIR, p. 401–406, 1985.
- [10] AQUINO, S. **Avaliação da microbiota fúngica e da presença de micotoxinas em amostras de plantas medicinais irradiadas adquiridas no comércio varejista e atacadista**. 2007. Tese (Doutorado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Universidade de São Paulo, SP.
- [11] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. *Official Methods of Analysis*. 16.ed. Washington, DC: AOAC, 1995.
- [12] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18.ed. Washington, DC: AOAC, 2007.
- [13] ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3.ed. Viçosa, MG: UFV, 2004.
- [14] ARUOMA, O.I. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food Chem Tox.*, v. 32, n. 7, p. 671-683, 1994.

- [15] BANERJEE, A.; KAUL, U.K.; NIGAM, S.S. Antimicrobial efficiency of essential oil of *Curcuma zedoaria*. *Ind Perfumery*, v. 22, p. 214–217, 1978.
- [16] BASTOS, D.H.M.; ROGERO, M.M.; ARÊAS, J.A.G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 53, n. 5, p. 646-656, 2009.
- [17] BENGMARK, S.; MESA, M.D.; GIL, A. Plant-derived health – the effects of turmeric and curcuminoids. *Nutr Hosp.*, v. 24, n. 3, p. 273-281, 2009.
- [18] BENÔIT, M.A.; D'APRANO, G.; LACROIX, M. Effect of γ -irradiation on phenylalanine ammonia-lyase activity, total phenolic content, and respiration of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *J. Agric. Food Chem.*, v. 48, n. 12, p. 6312-6316, 2000.
- [19] BENT, S.; KO, R. Commonly used herbal medicine in the United States: a review. *Am. J. Med.*, v. 116, p. 478-485, 2004.
- [20] BERNES, P.J.; KARIN, M. Nuclear factor-kappa B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med.*, v. 336, p. 1066-1071, 1997.
- [21] BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev Nutr Campinas*, v. 12, n. 2, p.123-130, 1999.
- [22] BHAT, R.; SRIDHAR, K.R.; YOKOTANI, K.T. Effect of ionizing radiation on antinutritional features of velvet bean seeds (*Mucuna pruriens*). *Food Chem*, v. 103, p. 860-866, 2007.
- [23] BHAT, R.; SRIDHAR, K.R.; BHUSHAN, B. Free radicals in velvet bean seeds (*Mucuna pruriens* L. DC.) and their status after gamma- irradiation and conventional processing. *LWT - Food Scie Technol.*, v. 40, p. 1570-1577, 2007b.
- [24] BHAT, R.; SRIDHAR, K.R. Nutritional quality evaluation of electron beam irradiated (*Nelumbo nucifera*) seeds. *Food Chem*, v. 107, p. 174-184, 2008.
- [25] BORDIA, A.; VERMA, S.K.; SRIVASTAVA, K.C. Effect of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and fenugreek (*Trigonella foenumgraecum* L.) on blood lipids, blood sugar and platelet aggregation in patients with coronary artery disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids*, v. 56, p. 379-384, 1997.
- [26] BRAGA, M.E.; LEAL, P.F.; CARVALHO, J.E.; MEIRELES, M.A.A. Comparison of yield, composition, and antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa* L.) extracts obtained using various techniques. *J Agric Food Chem*, v. 51, p. 6604–6611, 2003.
- [27] BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. The phenolic constituents of *Prunus domestica* I.-The quantitative analysis of phenolic constituents. *Lebensm Wiss Technology*, v.28, p.25-30, 1995.
- [28] BRANDS, A.M.A.; KESSELS, R.P.C.; DE HAAN, E.H.F.; KAPPELLE, L.J.; BIESSELS, G.J. Cerebral dysfunction in type I diabetes: effects of insulin, vascular risk factors and blood glucose levels. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 490, p. 159–168, 2004.

- [29] BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. *Nutr Rev*, v. 56, n. 11, p. 317-33, 1998.
- [30] BREITFELLNER, F.; SOLAR, S.; SONTAG, G. Effect of g-irradiation on phenolic acids in strawberries. *J Food Sci.*, v. 67, n. 2, p. 517-521, 2002.
- [31] BRIGIDE, P.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Antinutrients and 'in vitro' availability of iron in irradiated common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Food Chem.*, v. 98, p. 85-89, 2006.
- [32] BUGNO, A.; BUZZO, A.A.; NAKAMURA, C.T.; PEREIRA, T.C.; MATTOS, D.; PINTO, T.J.A. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. *Rev Bras Cienc Farmac.*, v. 41, p. 491-497, 2005.
- [33] BURTT, B.L.; SMITH, R.M. Tentative keys to the subfamilies, tribes and genera of the Zingiberales. *Notes Royal Bot Garden Edinburgh*, v. 31, p. 171-176, 1972.
- [34] CÁCERES, A. **Plantas de uso medicinal en Guatemala**. Edit. Universitária, 1996.
- [35] CAO, H.; SASAKI, Y.; FUSHIMI, H.; KOMATSU, K. Molecular analysis of medicinally-used chinese and japanese Curcuma based on 18S rRNA gene and trnK gene sequences. *Biol. Pharm. Bull.*, v. 24, n. 12, p. 1389-1394, 2001.
- [36] CAPASSO, R.; IZZO, A.A.; PINTO, L.; BIFULCO, T.; VITOBELLO, C.; MASCOLO, N. Phytotherapy and quality of herbal medicines. *Fitoterapia*, v. 71, n. 1, S58-S65, 2000.
- [37] CARRASCO, F.R.; SCHMIDT, G.; ROMERO, A.L.; SARTORETTO, J.L.; CAPARROZ-ASSEF, S.M.; BERSANI-AMADO, C.A.; CUMAN, R.K. Immunomodulatory activity of *Zingiber officinale* Roscoe, *Salvia officinalis* L. and *Syzygium aromaticum* L. essential oils: evidence for humor- and cell-mediated responses. *J Pharm Pharmacol.*, v. 61, n. 7, p. 961-7, 2009.
- [38] CECÍLIO FILHO, A.B.; SOUZA, R.J.; BRAZ, L.T.; TAVARES, M. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. *Cienc Rural*, v. 30, n. 1, p. 171-175, 2000.
- [39] CECÍLIO FILHO, A.B.; SOUZA, R.J.; FAQUIM, V.; CARVALHO, C.M. Época e densidade de plantio na produção de *Curcuma*. *Cienc Rural*, v. 34, n. 4, p. 1021-1026, 2004.
- [40] CERUTTI, P.A.; Oxidant stress and carcinogenesis. *Europ J of Clinic Investigation*, v. 21, n. 1, p. 1-5, 1991.
- [41] CHAIYASIT, D., CHOOCHOTE, W.; RATTANACHANPICHAI, E.; CHAITONG, U.; CHAIWONG, P.; JITPAKDI, A.; TIPPAWANGKOSOL, P.; RIYONG, D.; PITASAWAT, B. Essential oils as potential adulticides against two populations of *Aedes aegypti*, the laboratory and natural field strains, in Chiang Mai province, northern Thailand. *Parasitol Res.*, v. 99, n. 6, p. 715-721, 2006.

- [42] CHAMPAKAEW, D.; CHOOCHOTE, W.; PONGPAIBUL, Y.; CHAITONG, U.; JITPAKDI, A.; TUETUN, B.; PITASAWAT, B. Larvicidal efficacy and biological stability of a botanical natural product, zedoary oil-impregnated sand granules, against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Parasitol Res.*, v. 100, n. 4, p. 729-737, 2007.
- [43] CHATTERJEE, S.; PAWDAL DESAI, S.R.; THOMAS, P. Effect of γ -irradiation on the antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa* L.) extracts. *Food Res Intern*, v. 32, p. 487-490, 1999.
- [44] CHATTERJEE, S.; VARIYAR, P.S.; SHARMA, A. Stability of lipid constituents in radiation processed fenugreek seeds and turmeric: role of phenolic antioxidants. *J. Agric Food Chem.*, v.57, n.19, p.9226-9233, 2009.
- [45] CHAVES, M.H. Análise de extratos de plantas por CCD: uma metodologia aplicada à disciplina “Química orgânica”. *Química Nova*, v. 20, n. 5, p. 560-562, 1997.
- [46] CHEN, I.N.; CHANG, C.C.; NG, C.C.; WANG, C.Y.; SHYU, Y.T.; CHANG, T.L. Antioxidant and Antimicrobial activity of Zingiberacea plants in Taiwan. *Plants Foods Hum Nutr.*, v. 63, p. 15-20, 2008.
- [47] COSTA, A.F. **Farmacognosia Experimental**, vol. 3, 3^a ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.
- [48] CZAPSKI, J. Antioxidant activity and phenolic content in some strains of mushrooms. *Veg. Crops Res. Bull.* v. 62, p.165–173, 2005.
- [49] DELINCEÉ, H. Detection of food treated with ionizing radiation. *Trends Food Sci. Tech.*, v. 9, n. 2, p. 73-82, 1998.
- [50] DELINCEÉ, H. **Chemical and biological methods for identification of irradiated food**. European school of advanced Studies on Nuclear and ionizing radiation Technologies: University of Pavia; 2005.
- [51] DEWICK, P.M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**, John Wiley & Sons: New York, 1997.
- [52] DEWICK, P.M. **The mevalonate and deoxyxylulose phosphate pathways: terpenoids and steroids. Medicinal Natural Products**. 2^a Ed. University of Nottingham, UK: John Wiley & Sons, Ltd., 2002.
- [53] DI MARIO, F.; CAVALLARO, L.G.; NOUVENNE, A.; STEFANI, N.; CAVESTRO, G.M.; IORI, V.; *et al.* A curcumin-based 1-week triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* infection: something to learn from failure? *Helicobacter*, v. 12, p. 238–43, 2007.
- [54] DIEHL, J.F. **Safety of irradiated food**. New York: Marcel Dekker Inc., 1990.
- [55] DIEHL, J.F. Food Irradiation: is it an alternative to chemical preservatives? *Food Addit. Contam.*, v. 9, p. 409-416, 1992.

- [56] DIEHL, J.F. **Safety of Irradiated Foods**. New York: Marcel Dekker Inc., 1995.
- [57] ELATTAR, T.M.; VIRJI, A.S. The inhibitory effect of curcumin, genistein, quercetin and cisplatin on the growth of oral cancer cells in-vitro. *Anticancer Res.*, v. 20, p. 1733-1738, 2000.
- [58] ELROKH, E.M.; YASSIN, N.A.Z.; EL-SHENAWY, S.M.A.; IBRAHIM, B.M.M. Antihypercholesterolaemic effect of ginger rhizome (*Zingiber officinale*) in rats. *Inflammopharmacol.*, v. 18, p. 309-315, 2010.
- [59] ERENEL, G.; ERBAS, D.; ARICIOGLU, A. Free radicals and antioxidants systems. *Mat Med Polona*, Warsaw, v. 1, n. 85, p.37-43, 1993.
- [60] EVANS, D.A.; HIRSCH, J.B.; DUSHENKOV S. Phenolics, inflammation and nutrigenomics. *J Sci Food and Agric.*, v. 86, p. 2503-2509, 2006.
- [61] FANARO, G.B.; ARAÚJO, M.M.; THOMAZ, F.S.; DUARTE, R.C.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Comparison of treatment in soybean grains between ⁶⁰Co and e-beams applications. In: International Nuclear Atlantic Conference (INAC) – VII ENAN, 2007, Santos, SP. International Nuclear Atlantic Conference (INAC).
- [62] FARKAS, J. **Physical methods of food preservation**. 2^a ed., Washington: ASM, p. 567-591, 2001.
- [63] FARKAS, J. Irradiation of better foods. *Tren Food Scien. Technol.*, v. 17, p. 148-152, 2006.
- [64] FELIPPE, G. **No Rastro de Afrodite – Plantas Afrodisíacas e Culinárias**. São Paulo: Ed Senac, 2004.
- [65] FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Brasil*, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.
- [66] FICKER, C.E.; SMITH, M.L.; SUSIARTI, S.; LEAMAN, D.J.; IRAWATI, C.; ARNASON, J.T. Inhibition of human pathogenic fungi by members of Zingiberaceae used by the Kenyah (Indonesian Borneo). *J Ethnopharmacol*, v. 85, p. 289–293, 2003.
- [67] FINDLAY, D.J.S.; PARSON, T.V.; SENÉ, M.R. Irradiation of food and the induction of radioactivity. *Radiat Phys Chem.*, v. 42, n. 1-3, p. 417-420, 1993.
- [68] FOTSIS, T. *et al.* Flavonoids, dietary-derived inhibitors of cell proliferation and in vitro angiogenesis. *Cancer Res*, v.57, n.14, p.2916-2921, 1997.
- [69] FUNK, J.L.; FRYE, J.B.; OYARZO J.N.; KUSCUOGLU, N.; WILSON, J.; MCCAFFREY, G.; STAFFORD, G.; GENOVESE, G.; LANTZ, R.C.; JOLAD, S.D.; SOLYOM, A.M.; KIELA, P.R.; TIMMERMANN, B.N. Efficacy and mechanism of action of turmeric supplements in the treatment of experimental arthritis. *Arthritis Rheum.*, v. 54, n. 11, p. 3452–3464, 2006.

- [70] FURGERI, C. **Efeito do processamento por radiação de ^{60}Co na erva-mate (*Ilex paraguariensis*)**. 2009. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Universidade de São Paulo – SP.
- [71] GABRIEL, S.E. The epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheumatic Dis. Clinic of North Am.*, v. 27, n. 2, p. 269–281, 2001.
- [72] GILTAY, E.J.; HOOGEVEEN, E.K.; ELBERS, J.M.H.; GOOREN, L.J.; ASSCHEMAN, H.; STEHOUWER, C.D. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy, non-obese subjects. *Letter to the Editor. Atherosclerosis*, v. 139, p. 197-198, 1998.
- [73] GUPTA, S.K.; BANERJEE, A.B.; ACHARI, B. Isolation of ethyl p-methoxycinnamate, the major antifungal principle of *Curcuma zedoaria*. *Lloydia*, v. 39, p. 218–222, 1976.
- [74] HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nut Reviews*, New York, v. 52, n. 8, p.253-265, 1994.
- [75] HALLIWELL, B.; AESCHBASCH, R.; LÖLINGER, J.; ARUOMA, O.I. The characterization on antioxidants. *Food Chem Tox*, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.
- [76] HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. New York: Clarendon Press; Oxford: Oxford University Press, 3 ed. p. 285-293, 2000.
- [77] HANIF, R.; QIAO, L.; SCHIFF, S.J.; RIGAS, B. Curcumin, a natural plant phenolic food additive, inhibits cell proliferation and induces cell cycle changes in colon adenocarcinoma cell lines by a prostaglandin-independent pathway. *J Lab Clin Med.*, v. 130, p. 576-584, 1997.
- [78] HARAGUCHI, H.; SAITO, T.; ISHIKAWA, H.; SANCHEZ, Y.; OGURA, T.; KUBO, I. Inhibition of lipid peroxidation by sesquiterpenoid in *Heterotheca inuloides*. *J Pharm Pharmacol*, v. 48, p. 441-443, 1996.
- [79] HARBORNE, J.B. **General procedures and measurement of total phenolics. Methods in plant biochemistry**. In Harborne, J.B., *Methods in plant biochemistry*. Vol I. London: Academic Press, 1989.
- [80] HARBONE, J.B.; BAXTER, H.; MOSS, G.P. **Phytochemical dictionary: A handbook of bioactive compounds from plants**, 2a ed., Padstow: TJ International, 1999.
- [81] HARRISON, K.; WERE, L.M. Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of Almond skin extracts. *Food Chem.*, v. 102, p. 932-937, 2007.
- [82] HASBAH, M.; AMRAN, M.; MACKEN, M.M.; LAJIS, N.H.; KIKUZAKI, H.; NAKATANI, H.; RAHMAN, A.; GHAFAR, A.; ALI, A.M. Screening of Zingiberaceae

extracts for antimicrobial and antioxidant activities. *J Ethnopharmacol.*, v. 72, p. 403-410, 2000.

[83] HAWLADER, M.N.A.; PERERA, C.O.; TIAN, M. Comparison of the retention of 6-gingerolin drying under modified atmosphere heat pump drying and other drying methods. *Dry Technol.*, V. 24, P. 51–6, 2006.

[84] HE, X.; MATTHEW, W.B.; LIAN, L.; LIN, L. High-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometric analysis of pungent constituents of ginger. *J Chromatog.*, v. 796, n. 2, p. 327-334, 1998.

[85] HERTWIG, I.F. von. **Plantas aromáticas e medicinais**. São Paulo: Icone, 1986.

[86] HOLST, B.; WILLIAMSON, G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Curr Opin Biotechnol.*, v. 19, n. 2, p. 73-82, 2008.

[87] HOLTUM, R.E. The Zingiberaceae of the Malay Peninsula. *Gardener's Bull of Singapore*, v.13, p. 1–249, 1950.

[88] HONG, R.L.; SPONHN, W.H.; HUNG, M.C. Curcumin inhibits tyrosine kinase activity of p185neu and also depletes p185neu. *Clin Cancer Res.*, v. 5, n. 7, p. 1884-1891, 1999.

[89] HONG, Y.H.; PARK, J.Y.; PARK, J.H.; CHUNG, M.S.; KWON, K.S.; CHUNG, K.; *et al.* Inactivation of *Enterobacter sakazakii*, *Bacillus cereus*, and *Salmonella typhimurium* in powdered weaning food by electron-beam irradiation. *Rad Phys Chem.*, v. 77, p. 1097-1100, 2008.

[90] ICGFI. **The development of X-ray machine for food irradiation**. Vienna, Austria, 1995.

[91] JACOBS, D.R.; TAPSELL, L.C. Food, not nutrients, is the fundamental unit in nutrition. *Nutr Rev.*, v. 65, n. 10, p. 439-450, 2007.

[92] JANG, M.K.; SOHN, D.H.; RYU, J.H. A curcuminoid and sesquiterpenes as inhibitors of macrophage TNF- α release from *Curcuma zedoaria*. *Letters. Planta Med.*, v. 67, p. 550-552, 2001.

[93] JAY, J.M, LOESSNER, M.J.; GOLDEN, D.A. **Modern food microbiology**. 7a. ed. NewYork: Springer Science + Business Media Inc., 2005.

[94] JIANG, X.; BLAIR, E.Y.; MCLACHLAN, A.J. Investigation of the effects of herbal medicines on warfarin response in healthy subjects: a population pharmacokinetic–pharmacodynamic modelling approach. *J Clin Pharmacol.*, v. 46, n. 11, p. 1370–1378, 2006.

- [95] JO, C.; JEONG, S.; KIM, S.; PARK, E.; LEE, S. Effect of irradiation on the antioxidative and antigenotoxic activities of a green tea leaf and stem extract. *Inter. J. Food Scie Tech.*, v. 43, n. 3, p. 400-405, 2008.
- [96] KAR, A.; CHOUDHARY, B.; BANDYOPADHYAYA, N. Comparative evolution of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetics rats. *J. Ethnopharmacol.*, v. 84, n. 1, p. 105-108, 2003.
- [97] KATO, E.T.M.; FISCHER, D.C.H. Estudo morfo-Histológico e cromatográfico em camada delgada comparativo de raízes e de rizomas de *Curcuma zedoaria* (Bergius) Roscoe – droga, óleo essencial e extrato fluido. *Lecta*, v. 4, n. 2, p. 9-26, 1996.
- [98] KAUR, C.; KAPPOR, H.C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Inter J Food Scie Technol.*, v. 37, p. 153-161, 2002.
- [99] KAUR, S.; MODI, N.H.; PANDA, D.; ROY, N. Probing the binding site of curcumin in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* FtsZ-A structural insight to unveil antibacterial activity of curcumin. *Europ J Med Chem.*, v. 45, p. 4209-4214, 2010. .
- [100] KEATING A.; CHEZ, R. Ginger syrup as an antiemetic in early pregnancy. *Altern Ther Health Med.*, v.8, n.5, p. 89-91, 2002.
- [101] KHWANCHUEA, R.; JANSAKUL, C.; MULVANY, M.J.; QUEIROZ, E.F.; HOSTETTMANN, K. Cardiovascular Effects of an n-Butanol Extract from Fresh Fruits of *Randia siamensis*. *Biol Pharm Bull.*, v. 30, n. 1, p. 96-104, 2007.
- [102] KIM, H.J.; YOO, H.S.; KIM, J.C.; PARK C.S.; CHOI, M.S.; KIM, M.; CHOI, H.; MIN, J.S., KIM, Y.S.; YOON, S.W.; AHN, J.K. Antiviral effect of *Curcuma longa* Linn extract against hepatitis B virus replication. *J Ethnopharmacol.*, v. 124, p. 189-196, 2009.
- [103] KITAZURU, E.R.; MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCEÉ, H.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Effects of irradiation on natural antioxidants of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* N.). *Rad Phys Chem.*, v. 71, p. 37-39, 2004.
- [104] KIUCHI, F. *et al.* Inhibitors of prostaglandin biosynthesis from ginger. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 30, p. 754-757, 1982.
- [105] KOO, K.; AMMIT, A.; TRAN, V.; DUKE, C.; ROUFOGALIS, B. Gingerols and related analogues inhibit arachidonic acid-induced human platelet serotonin release and aggregation. *Thromb Res.*, v. 103, p. 387-397, 2001.
- [106] KOOSIRIRAT, C. *Helicobacter pylori* eradication with curcumin versus omeprazolebased triple therapy, an open randomized controlled trial. *Uttaradit Hospital Med Bull*, v. 22, p. 43-49, 2007.
- [107] KOSEKI, P.M.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; BRITO, M.S.; NAHME, L.C.; SEBASTIÃO, K.I.; RELA, P.R.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; MANCINI-FILHO, J.; FREITAS, P.C.D. Effects of irradiation in medicinal and eatable herbs. *Radiat Phys Chem.*, v. 63, p. 681-684, 2002.

- [108] KRESS, W.J. The phylogeny and classification of the Zingiberales. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 77, p. 698–721, 1990.
- [109] KRESS, W.J. Phylogeny of the Zingiberanae: morphology and molecules. In RUDALL, P.; CRIBB P.J.; CUTLER D.F.; HUMPHRIES C.J. [eds.], **Monocotyledons: systematics and evolution**. Royal Botanic Gardens, Kew, UK, 1995.
- [110] KRESS, W.J.; PRINCE, L.M.; HAHN W.J.; ZIMMER E.A. Unraveling the evolutionary radiation of the families of the Zingiberales using morphological and molecular evidence. *Systematic Biology*, v. 51, p. 926–944, 2001.
- [111] KRESS, W.J.; PRINCE, L.M.; WILLIAMS, K.J. The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data. *Am J of Botany*, v. 89, n. 11, p. 1682-1696, 2002.
- [112] KUMAR, A.; RAO, C.; VIJAYAKUMAR, M.; AHMAD, A.; SHAHZAD, N.; KHAN, M.I. Anti-ulcerogenic and ulcer healing effects of *Zingiber officinale* (L.) on experimental ulcer models: Possible mechanism for the inhibition of acid formation. *Int J Pharm Res.* v.1, p.75–85, 2010.
- [113] KUNCHANDY, E.; RAO, M.N.A. Oxygen radical scavenging activity of curcumin. *Internat J Pharmacol.*, v. 58, p. 237-240, 1990.
- [114] KYUNGMI, M.S.; EBELER, E. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. *Food Chem Toxicol*, v. 46, p. 96-104, 2008.
- [115] LACROIX, M.; OUATTARA, B. Combined industrial processes with irradiation to assure innocuity and preservation of food products e a review. *Food Res Intern.*, v. 33, p. 719-724, 2000.
- [116] LANTZ, R.C.; CHEN, G.J.; SOLYOM, A.M.; JOLAD, S.D.; TIMMERMANN, B.N. The effect of turmeric extracts on inflammatory mediator production. *Phytomedicine.*, v. 12, n. 6-7, p. 445-452, 2005.
- [117] LARSEN, K.; LOCK, J.M.; MAAS, H.; MAAS, P.J.M. Zingiberaceae. In KUBITZKI K., **The families and genera of vascular plants**, vol. 3, p. 474–495, 1998.
- [118] LAZARETTI, K.E.S.; BEUX, M. R.; PIMENTEL I.C.; TALAMINI, A.; GABARDO, J. Comparação entre os meios de cultura para contagem de fungos no controle microbiológico de erva-mate. *B.Ceppa*, v. 18, n. 2, p. 163-170, 2000.
- [119] LEE, J.W.; KIM, J.K.; SRINIVASAN, P.; CHOI, J.; KIM, J.H.; HAN, S.B.; KIM, D.; BYUN, M.W. Effect of gamma irradiation on microbial analysis, antioxidant activity, sugar content and color of ready-to-use tamarind during storage. *LWD – Food Scie Tech.*, v.42, p.101-105, 2009.
- [120] LEE, H.S.; LI, L.; KIM, H.K.; BILEHAL, D.; LI, W.; LEE, D.S.; KIM, Y.H. The protective effects of *Curcuma longa* Linn. extract on carbon tetrachloride-induced

hepatotoxicity in rats via upregulation of Nrf2. *J Microbiol Biotechnol.*, v. 20, n. 9, p. 1331-1338, 2010.

[121] LIN, Y.G.; KUNNUMAKKARA, A.B.; NAIR, A.; MERRITT, W.M.; HAN, L.Y.; ARMAIZ-PENA, G.N.; KAMAT, A.A.; SPANNUTH, W.A.; GERSHENSON, D.M.; LUTGENDORF, S.K.; AGGARWAL, B.B.; SOOD, A.K. Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in ovarian carcinoma by targeting the nuclear factor-kappaB pathway. *Clin Cancer Res.*, v. 13, p. 3423-3430, 2007.

[122] LOC, N.H.; DIEM, D.T.H.; BINH, D.H.N.; HUONG, D.T.; KIM, T.G.; YANG, M.S. Isolation and characterization of antioxidant enzymes from cells of zedoary (*Curcuma zedoaria* Roscoe) cultured in a 5-1 bioreactor. *Mol Biotechnol*, v. 38, n.81-87, 2008.

[123] LOTEMPIO, M.M.; VEENA, M.S.; STEELE, H.L.; RAMAMURTHY, B.; RAMALINGAM, T.S.; COHEN, A.N.; CHAKRABARTI, R.; SRIVATSAN, E.S.; WANG, M.B. Curcumin suppresses growth of head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, v. 11, p. 6994-7002, 2005.

[124] MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA JR, V.F.; GRYNBERG, N.F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim Nova*, v. 25, p. 429-438, 2002.

[125] MADKOR, H.R.; MANSOUR, S.W.; RAMADAN, G. Modulatory effects of garlic, ginger, turmeric and their mixture on hyperglycaemia, dyslipidaemia and oxidative stress in streptozotocin-nicotinamide diabetics rats. *British J Nutr.*, v. 105, p. 1210-1217, 2011.

[126] MAHATTANADUL, S.; NAKAMURA, T.; PANICHAYUPAKARANANT, P.; PHDOONGSOMBUT, N.; TUNGSINMUNKONG K.; BOUKING P. Comparative antiulcer effect of Bisdemethoxycurcumin and Curcumin inagastric ulcer model system. *Phytomed.*, v. 16, p. 342-351, 2009.

[127] MAIA, N.B. A cúrcuma como corante. In: **SEMINÁRIO DE CORANTES NATURAIS**, 2, 1991, Campinas, SP.

[128] MAKABE, H.; MARU, N.; KUWABARA, A.; KAMO, T.; HIROTA, M. Anti-inflammatory sesquiterpenes from *Curcuma zedoaria*. *Nat Prod Res.*, v. 20, n. 7, p. 680-685, 2005.

[129] MANSOUR, E.H.; KHALIL, A.H. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. *Food Chem.* v. 69, n. 2, p. 135-141, 2000.

[130] MAO, C.; XIE, H.; LU, T. Studies on antiplatelet aggregation and anticoagulant action of *Curcuma phaeocaulis*. *Zhong Yao Cai*, v. 23, n. 4, p. 212-213, 2000.

[131] MASCOLO, N.; JAIN, R.; JAIN, S.; CAPASSO, F. Ethnopharmacologic investigation of *Zingiber officinale*. *J. Ethnopharmacol.*, v. 17, p. 129-140, 1989.

- [132] MATA, A.R.; NELSON, D.L.; AFONSO, R.J.C.F.; GLORIA, M.B.A.; JUNQUEIRA, R.G.J. Identificação dos compostos voláteis da cúrcuma empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 24, n. 1, p. 151-157, 2004.
- [133] MATSUDA, H.; NINOMIYA, K.; MORIKAWA, T.; YOSHIKAWA, M. Inhibitory effect and action mechanism of sesquiterpenes from *Zedoariae rhizoma* on D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced liver injury. *Bioorg Med Chem Lett.*, v. 8, n. 4, p. 339–344, 1998.
- [134] MAU, J.L.; LAI, E.Y.C.; WANG, N.P.; CHEN, C.C.; CHANG, C.H.; CHYAU, C.C. Composition and antioxidant activity of the essential oil from *Curcuma zedoaria*. *Food Chem.*, v. 82, p. 583-591, 2003.
- [135] MEHTA, K.; PANTAZIS, P.; MCQUEEB, T.; AGGARWAL, B. Antiproliferative effects of curcumin (diferuloilmethane) against human breast tumor cell lines. *Anti-cancer Drugs*, v. 8, p. 470-481, 1997.
- [136] MENDONÇA-FILHO, R.F.W.; MENEZES, F.S. Estudo da utilização de plantas medicinais pela população da Ilha Grande-RJ. *Rev Bras Farmacogn.*, v. 13, S55-S58, 2003.
- [137] MESA, M.D.; RAMÍREZ-TORTOSA, M.C.; AGUILERA, C.M.; RAMÍREZ-BOSCÁ, A.; GIL, A. Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los curcuminoides. *Ars Pharmaceutica*, v. 41, n. 3, p. 307-321, 2000.
- [138] MEXIS, S.F.; BADEKA, A.V.; CHOULIARA, E.; RIGANAKOS, K.A. KONTOMINAS, M.G. Effect of g-irradiation on the physicochemical and sensory properties of raw unpeeled almond kernels (*Prunus dulcis*). *Innov Food Sci Em Technol*, v. 10, p. 87-92, 2009.
- [139] MIQUEL, J.; BERND, A.; SEMPERE, J.M.; DIAZ-ALPERI, J.; RAMIREZ, A. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. A review. *Arch Gerintol Geriatrics*, v. 34, p. 37-46, 2002.
- [140] MISHRA, B.B.; GAUTAM, S.; SHARMA, A. microbial decontamination of tea (*Camellia sinensis*) by gamma radiation. *J Food Sci.*, v. 71, n. 6, p. 151-156, 2006.
- [141] MOCHINAGA, H. Peroxidation of lipids in boiling water. *Kenkyu kiyo-Tokyo Kasei Daigaku Shizen Kagaku*, v. 40, p. 129-133, 2000.
- [142] MOHANDAS, K.M.; DESAI, D.C. Epidemiology of digestive tract cancers in India. V. Large and small bowel. *Indian J Gastroenterol.*, v. 18, p. 118-121, 1999.
- [143] MONCADA, S.; HIGGS, A. **Nitric oxide: role in human disease**. Encyclopedia of Life Sciences, 2001.

- [144] MOON, J.K.; SHIBAMOTO, T. Role of roasting conditions in the profile of volatile flavor chemicals formed from coffee beans. *J Agric Food Chem*, v. 57, n. 13, p. 5823-5831, 2009.
- [145] MORAES-DE-SOUZA, R.A. **Potencial antioxidante e composição fenólica de infusão de ervas consumidas no Brasil**. 2007. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Universidade de São Paulo – SP.
- [146] MOREHOUSE, M. Food irradiation – US regulatory considerations. *Rad. Phys. Chem.*, v. 63, p. 281-284, 2002.
- [147] MUKHOPADHYAY, A.; BUESO-RAMOS, C.; CHATTERJEE, D.; PANTAZIS, P.; AGGARWAL, B.B. Curcumin downregulates cell survival mechanisms in human prostate cancer cell lines. *Oncogene*, v. 20, p. 7597-7609, 2001.
- [148] MURCIA, M.A.; EGEE, I.; ROMOJARO, F.; PARRAS, P.; JÍMENEZ, A.M.; MARTÍNEZ-TOMÉ, M. Antioxidant evaluation in dessert spices compared with common food additives. Influence of irradiation procedure. *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, n. 7, p. 1872-1881, 2004.
- [149] MURNIGSIH T, SUBEKI MH, TAKAHASHI K, YAMASAKI M, YAMATO O, MAEDE Y, KATAKURA K, SUZUKI M, KOBAYASHI S, CHAIRUL YT. Evaluation of the inhibitory activities of the extracts of Indonesian traditional medicinal plants against *Plasmodium falciparum* and *Babesia gibsoni*. *J Vet Med.*, v. 67, n. 8, p. 829-831, 2005.
- [150] MUTHANE, U.; YASHA, T.C.; SHANKAR, S.K. Low numbers and no loss of melanized nigral neurons with increasing age in normal human brains from India. *Ann Neurol.*, v. 43, p. 283-287, 1998.
- [151] NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A.*, v. 1054, n. 1/2, p. 95-111, 2004.
- [152] NAVARRO, D.F.; SOUZA, M.M.; NETO, R.A.; GOLIN, V.; NIERO, R.; YUNES, R.A.; MONACHE, F.D.; CECHINEL FILHO, V. Phytochemical analysis and analgesic properties of *Curcuma zedoaria* grown in Brazil. *Phytomedicine*, v. 9, n. 5, p. 427-432, 2002.
- [153] NETTO JR, N.L. Cúrcuma. *Rev Racine*, v. 9, n. 5, p.51-55, 1999.
- [154] NICOLETTI, M.A. Fitoterapia: *Curcuma zedoaria* (Christm) Roscoe, Uma possibilidade terapêutica com antifúngico tóxico. *Rev Infarma*, v. 14, p. 9-10, 2002.
- [155] NISHIKAWA, T.; EDELSTEIN, D.; DU, X.L.; YAMAGISHI, S.; MATSUMURA, T.; KANEDA, Y.; YOREK, M.A.; BEEBE, D.; OATES, P.J.; HAMMES, H.P.; GIARDINO, I.; BROWNLEE, M. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*, v. 404, n. 6779, p. 787–790, 2000.
- [156] NUNES, T.C.F.; ROGOVSCHI, V.D.; THOMAZ, F.S.; TRINDADE, R.A.; ALENCAR, S.M.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Effects of gamma radiation in

cauliflower (*Brassica* spp) minimally processed. **INTERNATIONAL NUCLEAR CONFERENCE – INAC 2007**. Santos-SP, 2007.

[157] NUUTILA, A.M. PUUPPONEN-PIMIA, R.; AARNI, M.; OKSMAN-CALDENTEY, K.M. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chem.*, v. 81, p. 485-493, 2003.

[158] NURTJAHJA-TJENDRAPUTRA, E.; AMMIT, A.; ROUFOGALIS, B.; TRAN, V.; DUKE, C. Effective anti-platelet and COX-1 enzyme inhibitors from pungent constituents of ginger. *Thromb Res.*, v. 111, n. 4-5, p. 259-65, 2003.

[159] NYA, E.J.; AUSTIN, B. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunoestimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J Fish Dis.*, v. 32, p. 971-977, 2009.

[160] ODA, Y. Inhibitory effect of curcumin on SOS functions induced by UV irradiation. *Mutat Res.*, v. 348 p. 67-73, 1995.

[161] OH, S.W.; CHA, J.Y.; JUNG, J.E.; CHANG, B.C.; KWON, H.J.; LEE, B.R.; KIM, D.Y. Curcumin attenuates allergic airway inflammation and hyper-responsiveness in mice through NK- κ B inhibition. *J Ethnopharmacol.*, v. 136, p. 414-421, 2011.

[162] OLSEN, N.J. Nutraceuticals for the treatment of osteoarthritis. *Minerva Med.*, v. 102, p. 33-40, 2011.

[163] OLSON, D.G. Irradiation of food. *Food Technol.*, v. 52, p. 56-62, 1998.

[164] OPPENLÄNDER, T. **Photochemical purification of water and air**. Germany: Wiley-VCH, 2003.

[165] PAMPLONA, C.R. **Perfil fitoquímico e biológico de diferentes partes da *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, (Zingiberaceae) em relação à variação sazonal**. 2006. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Vale do Itajaí – SC.

[166] PANIZZA, S.T. **Como prescrever ou recomendar plantas medicinais e fitoterápicos**. 1ª Ed. São Paulo, SP: CONBRAFITO, 2010.

[167] PARK, Y.; PATEK, R.; MAYERSOHN, M. Sensitive and rapid isocratic liquid chromatography method for the quantitation of curcumin in plasma. *J Chromat B Anal Technol Biomed Life Sci*, v. 796, p. 339-346, 2003.

[168] PELEG, H.; BODINE, K.K.; NOBILE, A.C.; The influence of acid on adstringency of alum and phenolic compounds. *Chem Senses*, v. 23, n. 3, p. 71-78, 1998.

[169] PENG, C.H.; CHIU, W.T.; JUAN, C.W.; MAU, J.L.; CHEN, C.C.; PENG, C.C.; LAI, E.Y.; CHYAU, C.C. Pivotal role of curcuminoids on the antimutagenic activity of *Curcuma zedoaria* extracts. *Drug Chem Toxicol.*, v. 33, n. 1, p. 64-76, 2010.

- [170] PENNA, S.C.; MEDEIROS, M.V.; AIMBERE, F.S.; FARIA NETO, H.C.; SERTIÉ, J.A.; LOPES MARTINS, R.A. Anti-inflammatory effect of the hidroalcoholic extract of *Zingiber officinale* rhizomes on rat paw and skin edema. *Phytomed.*, v. 10, n. 5, p. 381-385, 2003.
- [171] PEREIRA, A.V.; FARAGO, P.V.; PEREIRA, M.F.P.; BRITO, F.S.; SCARANELLO, V.F.L. Análises de soluções aquosas magistrais de *Curcuma zedoaria* (Roscoe) Bergius. Publ. UEPG *Cienc. Biol. Saúde*, v. 10, n. 2, p. 39-47, 2004.
- [172] PEREIRA, C.A.M.; YARIWAKE, J.H.; LANÇAS, F.M.; WAUTERS, J.N.; TITS, M.; ANGENOT, L. A HPTLC densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P. caerulea* and comparison with HPLC method. *Phytochem Anal.*, v. 15, p. 241–248, 2004b.
- [173] PETERSEN, O.G. Musaceae, Zingiberaceae, Cannaceae, Marantaceae. In ENGLER, A.; PRANTL, K., **Die Natürlichen Pflanzenfamilien**. 1^a ed., vol. 2, n. 6, Leipzig, Alemanha: Verlag von Wilhelm Engelmann, 1889.
- [174] PERTZ, H.H.; LEHMANN, J.; ROTH-EHRANG, R.; ELZ, S. Effects of ginger constituents on the gastrointestinal tract: role of cholinergic M3 and serotonergic 5-HT3 and 5-HT4 receptors. *Planta Med.*, v. 77, n. 10, p. 973-978, 2011.
- [175] PFEIFFER, E.; HEUSCHMID, F.F.; KRANZ, S.; METZLER, M.J. Microsomal Hydroxylation and Glucuronidation of [6]-gingerol. *J Agric Food Chem*, v. 54, n. 23, p. 8769-8774, 2006.
- [176] PINO, J.; MARBOT, R.; PALAU, E.; RONCAL, E. Essential oil constituents cuban turmeric rhizomes. *Rev. Latin. Quim.*, v. 31, n. 1, 2003.
- [177] PINTO, A.C.; O Brasil dos viajantes e dos exploradores e a química de produtos naturais brasileira. *Quim Nova*. vol. 18 , p. 608 – 615, 1995.
- [178] PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, S.; LOPES, N.P.; EPIFANIO, R.A. Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas. *Quim Nova*, v. 25, Supl. 1, 45-61, 2002.
- [179] PINTO, M.S. **Compostos bioativos de cultivares brasileiras de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.): caracterização e estudo da biodisponibilidade dos derivados de ácido elálgico**. 2008. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo – SP.
- [180] PITASAWAT, B.; CHAMPAKAEW, D.; CHOOCHOTE, W.; JITPAKDI, A.; CHAITONG, U.; KANJANAPOTHI, D.; RATTANACHANPICHAI, E.; TIPPAWANGKOSOL, P.; RIYONG, D.; TUETUN, B.; CHAYIASIT, D. Aromatic plant-derived essential oil: An alternative larvicide for mosquito control. *Fitoterapia*, v. 78, p. 205-210, 2007.
- [181] PODSEDEK, A. Natural antioxidants capacity of brassica vegetables: a review. *J of Food Comp Anal*, v. 40, p. 1-11, 2007.

- [182] POOL-ZOBEL, B.L., BUB, A., MÜLLER, H., WOLLOWSKI, I., RECHKEMMER, G. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid--rich foods. *Carcinogenesis*, v.18, n.9, p.1847-1850, 1997.
- [183] PRUCKSUNAD, C.; INDRASUKHSRI, B.; LEETHOCHAWALIT, M.; HUNGSPREUGS, K. Phase II clinical trial on effect of the long turmeric on healing of peptic ulcer. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, v. 32, n. 1, p. 208-215, 2001.
- [184] PUNITHAVATIHI, D.P.; VENKATESAN, N.; BABU, M. Protective effects of curcumin against amimodarone-induced pulmonary fibrosis in rats. *Br J Pharmacol.*, v. 139, p. 1342-1350, 2003.
- [185] RADOMYSKI, T.; MURANO, E.A.; OLSON, D.G.; MURANO, P.S. Elimination of pathogens of significance in food by low-dose irradiation: a review. *J Food Prot.*, v. 57, n. 1, p. 73-86, 1994.
- [186] RAJAZEKARAN, S.A. Therapeutic potential of curcumin in gastrointestinal diseases. *World J Gastrointest Pathophysiol.*, v. 2, n. 1, p. 1-14, 2011.
- [187] RAMADAN, G.; AL-KAHTANI, M.A.; EL-SAYED, W.M. Anti-inflammatory and anti-oxidant properties of *Curcuma longa* (turmeric) versus *Zingiber officinale* (ginger) rhizomes in rat adjuvant-induced arthritis. *Inflammation*, v. 34, n. 4, p. 291-301, 2011.
- [188] RAMANATHAN, L.; DAS, N. P. Natural products inhibit oxidative rancidity in salted cooked ground fish. *J Food Sci.*, v. 58, n. 2, p. 318-320, 1993.
- [189] RAMASWAMY, T.S., BANERJEE, B.N. Vegetable dyes as antioxidant for vegetable oils. *Annals Bioch Exp Med*, v. 8, p. 55, 1948.
- [190] RAMSEWAK, R.S.; DEWITT, D.L.; NAIR, M.G. Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumins I-III from *Curcuma longa*. *Phytomed.*, v. 7, n. 4, p. 303-308, 2000.
- [191] RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. *Toxicon*, v. 39, p. 603-613, 2001.
- [192] RENOVATTO, Y.P.; AGOSTINI J.; Qualidade microbiológica e físico-química de amostras de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) comercializadas em dourados, MS. *Interbio*, v.2 p.1981- 3775, 2008.
- [193] RICE-EVANS, C.; BURDON, R. Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Prog in Lipid Res*, Oxford, v. 32, n. 1, p. 71-110, 1993.
- [194] RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenol acids. *Free Radical Biol Med.* v. 20, n.7, 933-956, 2006.
- [195] SAHA, A.; KUZUHARA, T.; ECHIGO, N.; FUJII, A.; SUGANUMA, M.; FUJIKI, H. Apoptosis of human lung cancer cells by curcumin mediated through up-

regulation of “growth arrest and DNA damage inducible genes 45 and 153. *Biol Pharm Bull.*, v. 33, n. 8, p. 1291-1299, 2010.

[196] SAHA, A.; KUZUHARA, T.; ECHIGO, N.; SUGANUMA, M.; FUJIKI, H. New role of (-)- Epicatechin in enhancing the induction of growth inhibition and apoptosis in human lung cancer cells by curcumin. *Cancer Prev Res.*, v. 3, n. 8, p. 953-962, 2010b.

[197] SAJILATA, M.G.; SINGHAL, R.S. Effect of irradiation and storage on the antioxidative activity of cashew nuts. *Radiat Phys Chem*, v. 75, n.2, p. 297-300, 2006.

[198] SCHENKEL E.P.; GOSMANN G; PETROVICK, P.R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C.M.O., *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª Ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2003.

[199] SCHIMIDT, D.F.N. **Estudo Químico, Farmacológico e Biológico dos Rizomas de *Curcuma zedoaria* (ZINGIBERACEAE)**. 2000. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

[200] SCHINDLER, M.; SOLAR, S.; SONTAG, S. Phenolic compounds in tomatoes. Natural variation and effect of gamma-irradiation. *Eur Food Res Technol.*, v. 221, p. 439-445, 2005.

[201] SCHUMANN, K. Zingiberaceae. In ENGLER, A., **Das Pflanzenreichv**. Leipzig, Alemanha, 1904.

[202] SEKIWA, Y.; KUBOTA, K.; KOBAYASHI, A. Isolation of novel glucosides related to gingerdiol from ginger and their antioxidants activities. *J Agric Food Chem.*, v. 48, n. 2, p. 373-377, 2000.

[203] SELMA, M. V.; ALLENDE, A.; LÓPEZ-GÁLVEZ, F.; CONESA, M. A.; GIL, M. I. Disinfection potential of ozone, ultraviolet C, and their combination in wash waster for the fresh-cut vegetable industry. *Food Microbiol.*, v. 25, p. 809-814, 2008.

[204] SEO, W.G.; HWANG, J.C.; KANG, S.K.; JIN, U.H.; SUH, S.J.; MOON, S.K.; KIM, C.H. Suppressive effect of Zedoariae rhizome on pulmonary metastasis of B16 melanoma cells. *J. Ethnopharmacol.*, v. 101, p. 249-257, 2005.

[205] SHAHIDI, F.; JANITHA, P.K.; WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Scie Nut*, v. 32, n. 1, p.67-103, 1992.

[206] SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic, 1995.

[207] SHANMUGAN, K.R.; MALLIKARJUNA, K.; KESIREDDY, N. REDDY, K.S. Neuroprotective effect of ginger on anti-oxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Chem Tox.*, v. 49, p. 893-897, 2011.

SHARMA, M.; SHUKLA, S. Hypoglycaemic effect of ginger. *J. Res. Ind. Med. Yoga. Hom.*, v. 12, p. 127-130, 1977.

[208] SIDDARAJU, M.N.; ANNAIAH, H.N.; SHYLAJA, M.D. Gastroprotective Effect of Ginger Rhizome (*Zingiber officinale*) Extract: Role of Gallic Acid and Cinnamic Acid in H⁺, K⁺-ATPase/H.pylori Inhibition and Anti-oxidative Mechanism. *Evid Based Complement Alternat Med.* v. 6, p. 1–13, 2009.

[209] SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, β -carotene and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr*, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.

[210] SIES, H.; WILHELM, S.; SEVANIAN, A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *The J of Nutrition*, v. 135, n. 5, p. 969-972, 2005.

[211] SILVA, P.V.; FURGERI, C.; SALUM, D.C.; ROGOVSCHI, V.D.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Sensorial analysis of peanuts processed by e-beam. Irradiation as a decontamination processing for Rice paper sheet. In: **INTERNATIONAL NUCLEAR CONFERENCE – INAC 2007**, Santos-SP, 2007.

[212] SINDHU, S.; CHEMPAKAM, B.; LEELA, N.K.; BHAI, S. Chemoprevention by essential oil of turmeric leaves (*Curcuma longa* L.) on the growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. *Food Chem Tox.*, v. 49, p. 1188-1192, 2011.

[213] SINGLETON, V.L.; ROSSI JR, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Etnol Vitic*, v. 16, p. 144-158, 1965.

[214] SIWAK, D.R.; SHISHODIA, S.; AGGARWAL, B.B.; KUZROCK, R. Curcumin-induced antiproliferative and proapoptotic effects in melanoma cells are associated with suppression of IkappaB kinase and nuclear factor kappa B activity and are independent of the B-Raf/mitogen-activated/ extracellular signal-regulated protein kinase pathway and the Akt pathway. *Cancer*, v. 104, p. 879-890, 2005.

[215] SKRYPEZAC-JANKUN, E.; MCCABE, N.B.; SELMAN, S.H.; JANKUN, J. Curcumin inhibits by binding to its central cavity: theoretical and X-ray evidence. *Int J Mol Med.*, v. 6, p. 521-526, 2000.

[216] SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev Nutr Campinas*, v. 15, n 1, p. 71-81, 2002.

[217] SOLER, O. **Biodiversidade, bioeconomia e fitoterapia**. 2000. Tese (Doutorado) – Faculdade de Economia – Universidade Federal do Paraná – PR.

[218] SOMMER, I.; SCHWARTZ, H.; SOLAR, S.; SONTAG, G. Effect of γ -irradiation on agaritine, γ -glutaminy-4-hydroxybenzene (GHB), antioxidant capacity, and total phenolic content mushrooms (*Agaricus bisporus*). *J Agric Food Chem.*, v. 57, n. 13, p. 5790-5794, 2009.

- [219] SONAGLIO, D.; ORTEGA, G.G.; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V.L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C.M.O., *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª Ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2003.
- [220] SOUZA, M.F.F. **Chá mate (*Ilex paraguariensis*): compostos bioativos e relação com atividade biológica**. 2009. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Saúde Pública – Universidade de São Paulo - SP.
- [221] SORIANI, R.R.; SATOMI, L.C.; PINTO, T.J.A. Effects of ionizing radiation in ginkgo and guarana. *Rad Phys Chem.*, v. 73, n. 4, p.239-242, 2005.
- [222] SRIMAL, R.C.; DHAWAN, B.N. In: ARORA, R.B. **Development of unani drugs from herbal sources and the role of elements in their mechanism of action**. New Delhi: Hamdard National Foundation, 1985.
- [223] SRINIVAS, L.; SHALINI, V.K.; SHYLAJA, M. Turmerin: a water soluble antioxidant peptide from turmeric (*Curcuma longa*). *Arch Biochem Biophys*, v. 292, n. 2, p. 617-623, 1992.
- [224] SRIVASTA, K. Ginger in rheumatism and musculoskeletal disorders. *Medic Hypoth.*, v. 39, n. 4, p. 342-348, 1992.
- [225] STAVRIC, B. Antimutagens and anticarcinogens in foods. *Food Chem Tox*, v.32, n.1, p.79-90, 1994.
- [226] STEINEGGER, E.; HANSEL, R. **Lehrbuch der Pharmakognosie und Phytopharmazie**. German: Springer-Verlag, 1988.
- [227] SUBRAMANIAN, M.; SREEJAYAN; RAO, M.N.; DEVASAGAYAM, T.P.; SINGH, B.B. Diminution of singlet oxygen-induced damage by curcumin and related antioxidants. *Mutation Res.*, v. 311, n. 2, p. 249-255, 1994.
- [228] SUHAJ, M. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *J Food Compost Anal.*, v. 19, p. 31-537, 2006.
- [229] SUTHISUT, D.; FIELDS, P.G.; CHANDRAPATYA, A. Contact toxicity, feeding reduction, and repellency of essential oils from three plants from the ginger family (Zingiberaceae) and their major components against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum*. *J Econ Entomol.*, v. 104, n. 4, p. 1445-1454, 2011.
- [230] TAJIMA, M.; HOSSAIN, T. Sterilization of commercial spices by g-irradiation and its effects on essential oil. *Shokuhin Shosha*, v. 24, p. 21-25, 1989.
- [231] TEETS, A.S.; SUNDARARAMAN, M.; WERE, L.M. Electron beam irradiated almond skin powder inhibition of lipid oxidation in coked salted ground chicken breast. *Food Chem.*, v. 111, p. 934-941, 2008.
- [232] TESKE, M.; TRENTINI, A.M.M. **Compêndio de Fitoterapia**. Curitiba: Ed Herbarium, 2001.

- [233] THOMAS, M.J. The role of free radicals and antioxidants. *Nutrit.*, v. 16, n. 7/8, p. 16-18, 2000.
- [234] THOMSON, M.; AL-QATTAN, K.; AL-SAWAN, S.; ALNAQEEB, M.; KHAN, I.; ALI, M. The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids*, v. 67, n. 6, p.475–478, 2002.
- [235] TIBERTI, L.A.; YARIWAKE, J.H.; NDJOKO, K.; HOSTETTMANN, K. Identification of flavonols in leaves of *Maytenus ilicifolia* and *M. aquifolium* (Celastraceae) by LC/UV/MS analysis. *J Chromatog.*, v. 846, p. 378–384, 2007.
- [236] TOMAS-BARBERAN, F.A.; ESPIN, J.C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruit and vegetables. *J Scie Food Agric*, v. 81, n.9, p.853-876, 2001.
- [237] TRINDADE, R.A.; MANCINI-FILHO, J.; SABUNDJIAN, I.T.; NUNES, T.C.F.; ROGOVSCHI, V.D.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Changes on lipid profile in beef burgers prepared with Rosemary extract and submitted to e-beam processing. In: **INTERNATIONAL NUCLEAR CONFERENCE – INAC 2007**, Santos-SP, 2007
- [238] TRIPATHI, S.; MAIER, K.G.; BRUCH, D.; KITTUR, D.S. Effect of 6- gingerol on pro-inflammatory cytokine production and costimulatory molecule expression in murine peritoneal macrophages. *J. Surg. Res.*, v. 138, p. 209–213, 2008.
- [239] UECHI, S.; ISHIMINE, Y.; HONG, F. Antibacterial activity of essential oil derived from *Curcuma zedoaria* against foodborne pathogenic bacteria and their thermal stability. *Sci Bull Fac Agr, University of the Ryukyus*, v. 47, p. 129-136, 2000.
- [240] VALDUGA, E.; JAVORNIK G.; SORDI M.; REZENDE D.F. Avaliação das características de qualidade da erva-mate (chimarrão) Acondicionada em Diferentes Embalagens. *Braz J Food Technol.*, v.8, n.2, p. 99-105, abr./jun., 2005.
- [241] VANDENBROUCKE, I.D.; VERICEL, E.; JANIEL C.; CARRERAS, M.; LECOMTE, M.; LAGARDE, M. Dual regulation of glutathione peroxidase by docosahexaenoic acid and endothelial cells depending on concentration and vascular bed origin. *Free Rad Biol Med.*, v. 30, n. 8, p. 895-904, 2001.
- [242] VANKAR, P.S.; TIWARI, V.; SINGH, L.W.; SWAPANA, N. Antioxidant properties of some exclusive species of Zingiberaceae family of Manipur. *Electronic J Environ Agric Food Chem*, v. 5, n. 2, p. 1318-1322, 2006.
- [243] VARIYAR, P.S.; THOMAS, B.P. Effect of gamma-irradiation on the phenolic acids of some Indian spices. *Int J Food Scie Technol*, v. 33, p.533-537, 1998.
- [244] VEIGAS JR, C.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Quim Nova*, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.
- [245] VENDRUSCOLO, G.S.; RATES, S.M.K.; MENTZ, L.A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro

Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Rev Bras Farmacogn.*, v. 15, p. 361-372, 2005.

[246] VENSKUTONIS, R.; POLL, L.; LARSEN, M. Influence of drying and irradiation on the composition of volatile compounds of thyme (*Thymus Vulgaris* L.). *Flavour Fragrance J.*, v. 11, n. 2, p. 123-128, 1996.

[247] VERMA, S.P.; GOLDIN, B.R.; LIN, P.S. The inhibition of the estrogenic effects of pesticides and environmental chemicals by curcumin and isoflavonoids. *En Health Persp.*, v. 106, p. 807-812, 1998.

[248] VERMA, S.K.; SINGH, M.; JAIN, P.; BORDIA, A. Protective effect of ginger, *Zingiber officinale* Rosc on experimental atherosclerosis in rabbits. *Indian J Exp Biol.*, v. 42, n. 7, p.736–738, 2004.

[249] VILELA, J.D. Mummification and medicine in ancient Egypt. *Rev. Paul. Med.*, v. 89, n. 5/6, p. 115-124.

[250] VILLAVICENCIO, A.C.L.H. **Avaliação dos efeitos da radiação ionizante de ⁶⁰Co em propriedades físicas, químicas e nutricionais dos feijões *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** 1998. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, SP.

[251] VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J. DELINCEÉ, H.; GREINER, R. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. *Radiat Phys Chem.*, v. 57, n.3-6, p.299, 2000.

[252] VIMALA, S.; NORHANOM, S.V.; YADAV, M. Anti-tumor activity in Malaysian Ginger rhizobia used is traditional medicine. *Br J Cancer*, v. 80, p. 110-116, 1999.

[253] WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis – a thin layer chromatography atlas.** 2^a ed. Berlin: Springer, 1996.

[254] WAKEFORD, C.A.; BLACKBURN, R.; SWALLOW, A.J. Induction and detection of radioactivity in foodstuffs irradiated with 10MeV electrons and X-rays. *Radiat Phys Chem.*, v. 38, n. 1, p. 29-38, 1991.

[255] WALKLING-RIBEIRO, M.; NOCI, F.; CRONIN, D. A.; RIENER, J.; LYNG, J. G.; MORGA, D. J. Reduction of *Staphylococcus aureus* and quality changes in apple juice processed by ultraviolet irradiation, pre-heating and pulsed electric fields. *J Food Eng*, v. 89, p. 267-273, 2008.

[256] WANG, C.C., CHEN, L.G., LEE, L.T., YANG, L.L. Effects of 6-gingerol, an antioxidant from ginger, on inducing apoptosis in human leukemic HL-60 cells. *In vivo*. v. 17, n. 6, p. 641:645, 2003.

[257] WANG, D.; VEENA, M.S.; STEVENSON, K.; TANG, C.; HO, B.; SUH, J.D.; DUARTE, V.M.; FAULL, K.F.; MEHTA, K.; SRIVATSAN, E.S.; WANG, M.B. Liposome-encapsulated curcumin suppresses growth of head and neck squamous cell

carcinoma in vitro and in xenografts through the inhibition of nuclear factor kappa B by an AKT-independent pathway. *Clin Cancer Res.*, v. 14, p. 6228-6236, 2008.

[258] WANG, H.M.; CHEN, C.Y.; CHEN, H.A.; HUANG, W.C.; LIN, W.R.; CHEN, T.C.; LIN, C.Y.; CHIEN, H.J.; LU, P.L.; LIN, C.M.; CHEN, Y.H. *Zingiber officinale* (Ginger) compounds have tetracycline-resistance modifying effects against clinical extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Phytother Res.*, v. 24, p. 1825-1830, 2010.

[259] WATERS, M.D.; STACK, H.F.; JACKSON, M.A.; BROCKMAN, H.E.; DEFLORE, S. Activity profiles of antimutagens: in vitro and in vivo data. *Mutation Res.*, v. 350, n. 1, p. 109-129, 1996.

[260] WEI, Q.Y.; MA, J.P.; CAI, Y.J.; YANG, L.; LIU, Z.L. Cytotoxic and apoptotic activities of diarylheptanoids and gingerol-related compounds from the rhizome of Chinese ginger. *J Ethnopharmacol.*, v. 102, n. 2, p. 177-184, 2005.

[261] WILKEN, R.; VEENA, M.S.; WANG, M.B.; SRIVATSAN, E.S. Curcumin: a review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. *Mol Cancer*, v. 10, p. 12-31, 2011.

[262] WILLIAMSON, G.; HOLST, B. Dietary reference intake (DRI) value for dietary polyphenols: are we heading in the right direction? *Br J Nutr.*, v. 99, p. S55-8, 2008. Supplement 3.

[263] WILSON, B.; ABRAHAN, G.; MANJU, V.S.; MATHEW, M.; VIMALA, B.; SUNDARESAN, S.; NAMBIAN, B. Antimicrobial activity of *Curcuma zedoaria* and *Curcuma malabarica* tubers. *J Ethnopharmacol.*, v. 99, p. 147-151, 2005.

[264] WITTAYASATIANKUL, K.C.S.; PISETPONGSA, P.; KACHINTORN, U. *Helicobacter pylori* eradication with curcumin: a pilot study. *Uttaradit Hospital Med Bull*, v. 18, p. 1-10, 2003.

[265] WOODS, R.J.; PIKAEV, A.K. **Applied Radiation Chemistry**. Radiation Processing. New York, USA, 1994.

[266] WONG, B.Y.; LAU, B.H.; TEEL, R.W. Chinese medicinal herbs modulate mutagenesis, DNA binding and metabolism of benzo[a]pyrene 7,8-dihydrodiol and benzo[a]pyrene 7,8-dihydrodiol-9, 10-epoxide. *Cancer Lett*, v. 62, n. 2, p. 123-131, 1992.

[267] WONG, P.Y.Y.; KITTS, D.D. Factors influencing ultraviolet and electron beam irradiation-induced free radical damage of ascorbic acid. *Food Chem.*, v. 74, n. 1, p. 75-84, 2001.

[268] WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Safety and nutritional adequacy of irradiated food*. Geneva, 1994.

- [269] WORLD HEALTH ORGANIZATION. High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. Disponível em <<http://www.who.int/das/justpub/irrad.htm>> Acesso em: 09 de julho de 2001.
- [270] WU, T.L.; LARSEN, K. Zingiberacea. *Flora of China*, v. 24, p. 322-377, 2000.
- [271] WU, S.J.; TAM, K.W.; TSAI, Y.H.; CHANG, C.C.; CHAO, J.C.J. Curcumin and saikosaponin A inhibit chemical-induced liver inflammation and fibrosis in rats. *Am J Chinese Med.*, v. 38, n. 1, p. 99-111, 2010.
- [272] YANG, F.Q.; LI, S.P.; CHEN, Y.; LAO, S.C.; WANG, Y.T.; DONG, T.T.; TSIM, K.W. Identification and quantification of eleven sesquiterpenes in three species of *Curcuma* rhizomes by pressurized liquid extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v. 39, n. 3-4, p. 552-558, 2005.
- [273] YIU, W.F.; KWAN, P.L.; WONG, C.Y.; KAM, T.S.; CHIU, S.M.; CHAN, S.W.; CHAN, R. Attenuation of fatty liver and prevention of hypercholesterolemia by extract of *Curcuma longa* through regulating the expression of CYP7A1, LDL-receptor, HO-1, and HMG-CoA reductase. *J Food Science*, v. 76, n. 3, p. H80-H89, 2011.
- [274] YOSHIOKA, T.; GUJII, E.; ENDO, M.; WADA, K.; TOKUNAGA, Y.; SHIBA, N.; HOSHO, H.; SHIBUYA, H.; MURAKI, T. Antiinflammatory potency of dehydrocurdione, a zedoary-derived sesquiterpenes. *Inflamm Res.*, v. 47, n. 12, p. 476-481, 1998.
- [275] ZOBEL, A.M. Coumarins in fruit and vegetables. In F. A. Toma's- Barbera'n, & R. J. Robbins (Eds.), *Photochem of fruit and vegetables*. Oxford, UK: Clanderon Press, 1997.

ANEXO 1

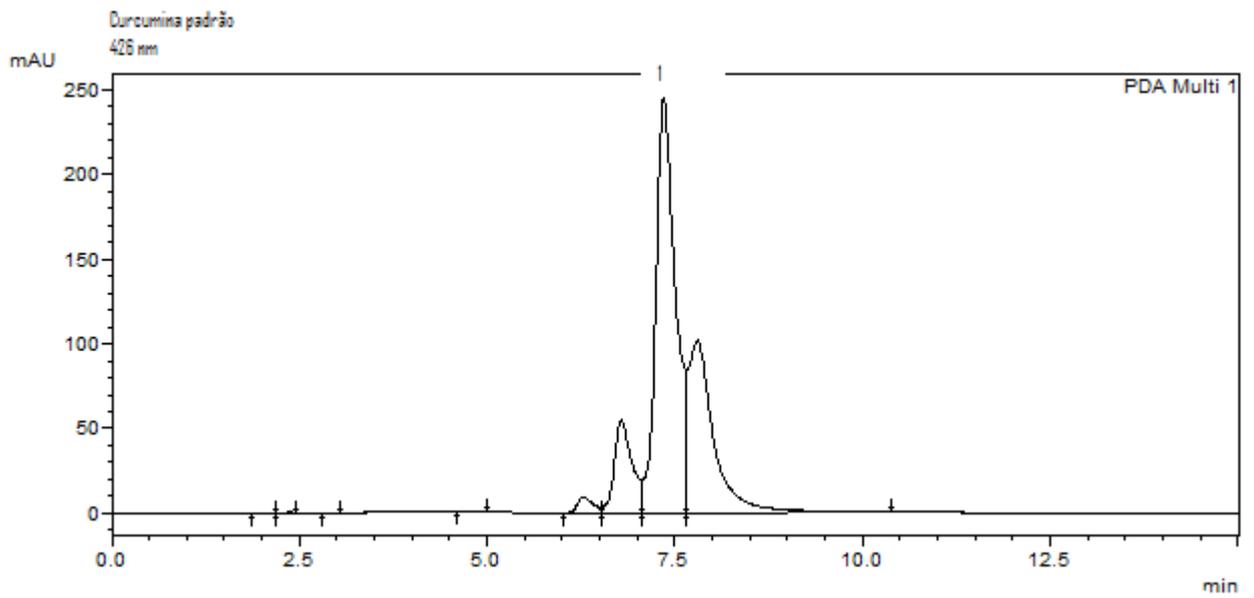


FIGURA – Perfil cromatográfico do padrão de curcumina no comprimento de onda de 426 nm.

ANEXO 2

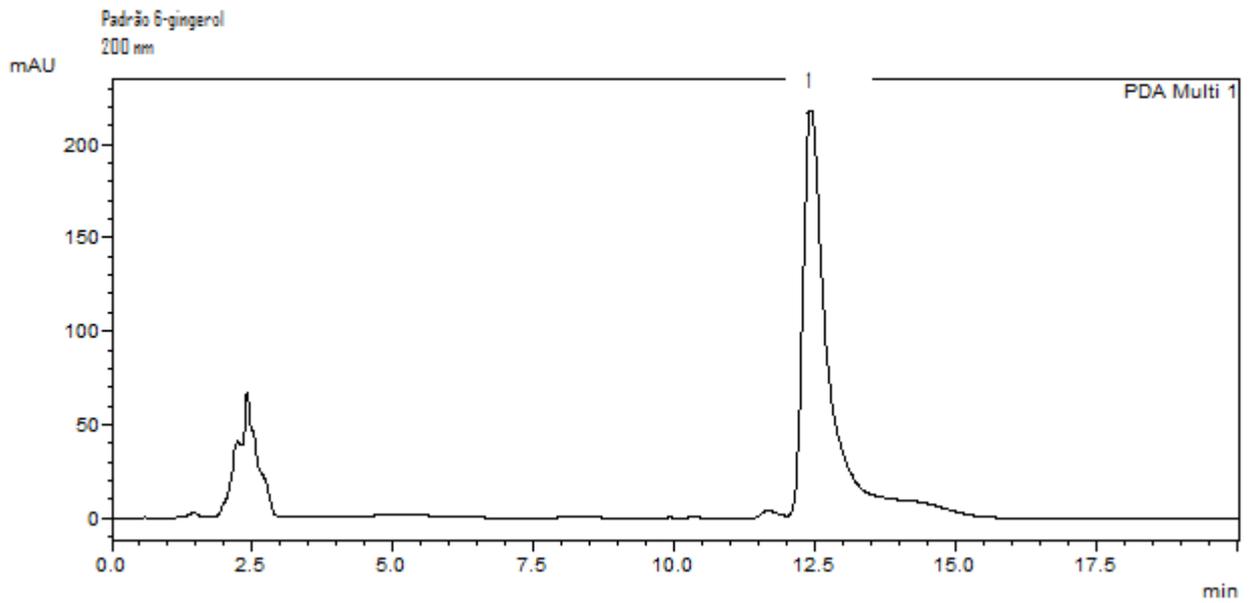


FIGURA – Perfil cromatográfico do padrão de 6-gingerol no comprimento de onda de 200 nm.

ANEXO 3

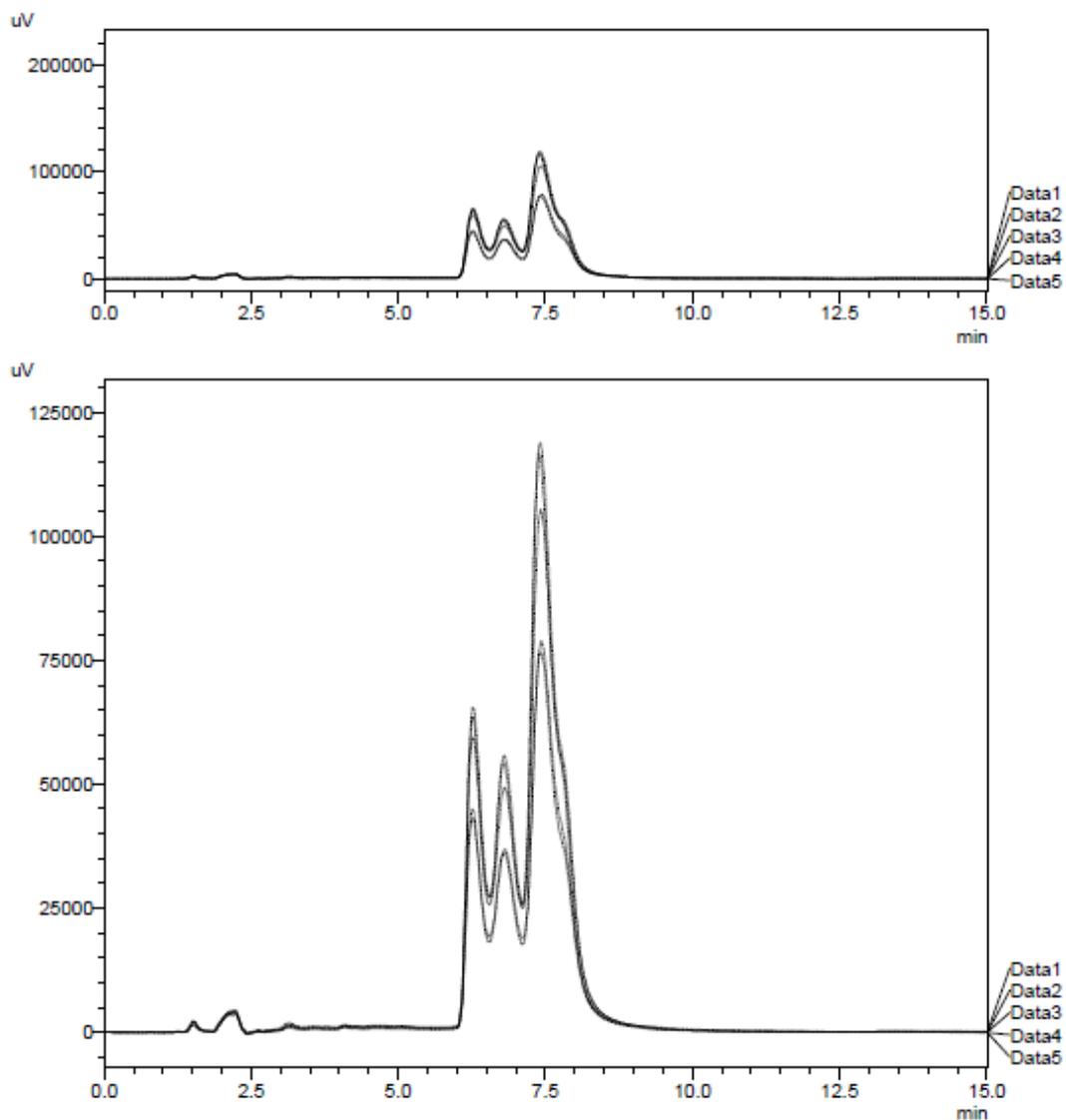


FIGURA – Comparação entre os perfis cromatográficos dos extratos de açafão estudados.

Sendo:

Data 1: Açafão controle

Data 2: Açafão irradiado com dose de 5kGy

Data 3: Açafão irradiado com dose de 10kGy

Data 4: Açafão irradiado com dose de 15kGy

Data 5: Açafão irradiado com dose de 20 kGy

ANEXO 4

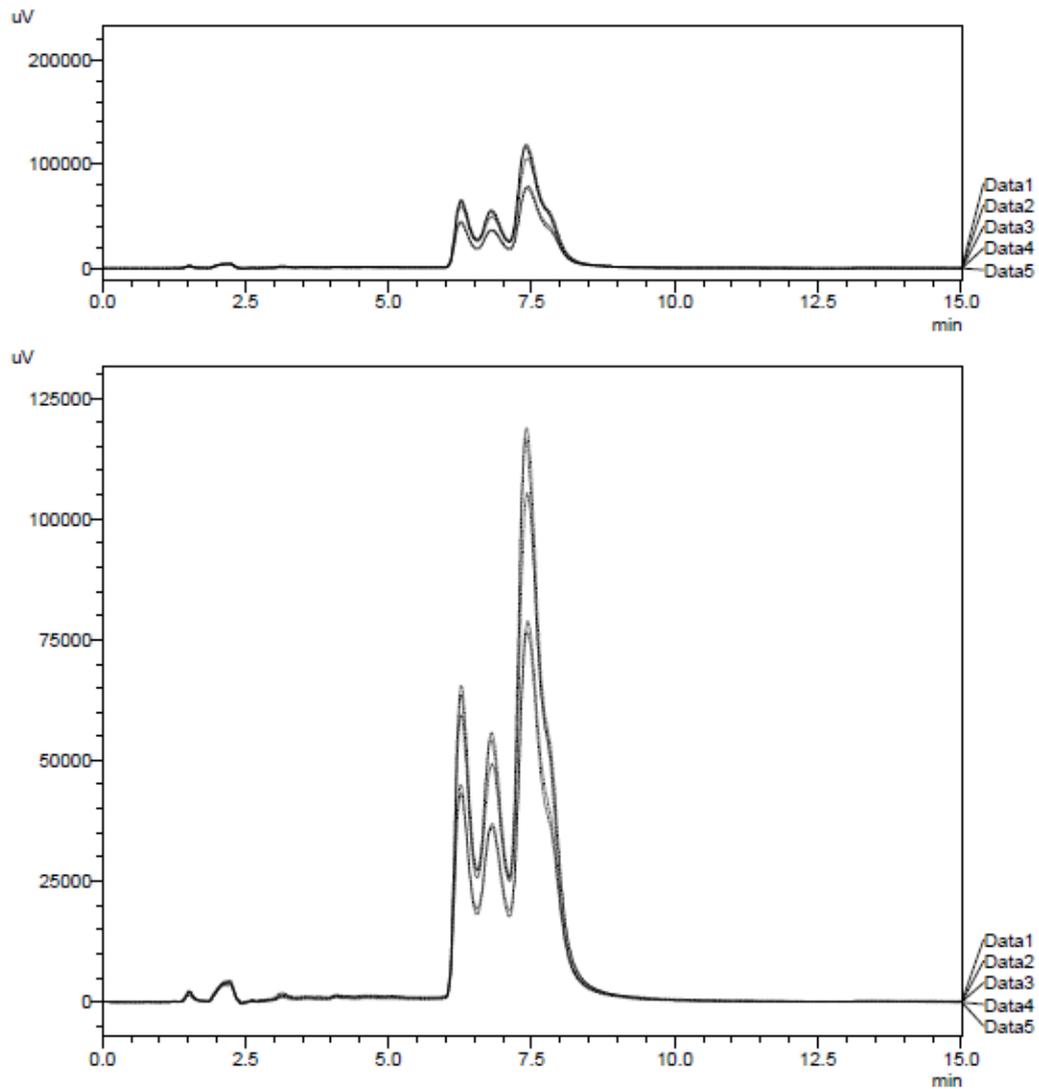


FIGURA – Comparação entre os perfis cromatográficos dos extratos de gengibre estudados.

Sendo:

Data 1: Gengibre controle

Data 2: Gengibre irradiado com dose de 5kGy

Data 3: Gengibre irradiado com dose de 10kGy

Data 4: Gengibre irradiado com dose de 15kGy

Data 5: Gengibre irradiado com dose de 20 kGy