



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



ANA KAROLINE ALVES DE SOUZA

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E FARMACOLÓGICA DOS EXTRATOS DE
GENGIBRE AMARGO (*Zingiber zerumbet* Smith) PARA A ELABORAÇÃO DE
BEBIDA ENERGÉTICA**

MANAUS – AM

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



ANA KAROLINE ALVES DE SOUZA

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E FARMACOLÓGICA DOS EXTRATOS DE
GENGIBRE AMARGO (*Zingiber zerumbet* Smith) PARA A ELABORAÇÃO DE
BEBIDA ENERGÉTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.
Área de Concentração: Saúde.

ORIENTADOR: DR. CARLOS CLEOMIR DE SOUZA PINHEIRO

COORIENTADOR: DR. PATRICK GOMES DE SOUZA

MANAUS – AM

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S729a Souza, Ana Karoline Alves de
Avaliação fitoquímica e farmacológica dos extratos de gengibre amargo (Zingiber zerumbet Smith) para a elaboração de bebida energética / Ana Karoline Alves de Souza. 2023
74 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Carlos Cleomir de Souza Pinheiro
Coorientador: Patrick Gomes de Souza
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Extratos vegetais. 2. Alimentos funcionais. 3. Zingiber zerumbet (gengibre amargo). 4. Bebida energética. I. Pinheiro, Carlos Cleomir de Souza. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

ANA KAROLINE ALVES DE SOUZA

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E FARMACOLÓGICA DOS EXTRATOS DE
GENGIBRE AMARGO (*Zingiber zerumbet* Smith) PARA A ELABORAÇÃO DE
BEBIDA ENERGÉTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.
Área de Concentração: Saúde.

Orientador: Dr. Carlos Cleomir de Souza Pinheiro

Coorientador: Dr. Patrick Gomes de Souza

Aprovada em: 30 de junho de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Carlos Cleomir de Souza Pinheiro – INPA
Orientador e Presidente da Banca Examinadora

Dra. Rosemary Aparecida Roque – INPA
Membro da Banca Examinadora

Dr. Antonio Augusto Marques Rodrigues – INPA
Membro da Banca Examinadora



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



In memoriam

*À minha avó, Maria das Graças, por sua força,
coragem, aos puxões de orelha e sinceridade.*

*Ao meu primo, André, por ter me ensinado que cada
segundo é importante e que devemos valorizar cada dia
que passa.*



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



*Dedico essa dissertação à Deus e aos meus familiares, em especial,
Ao meu querido marido Dhyllan Dehan,
Aos meus pais Francinete Alves e Raimundo Vicente,
Ao meu irmão Alexssandro Alves e à minha cunhada Amanda Imbiriba,
À minha afilhada, Alissa Oliveira.
Eu amo vocês.*



AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter permitido que eu tivesse saúde e determinação para vencer todos os obstáculos encontrados ao longo da realização desse trabalho.

Ao meu marido, Dhyllan Dehan, por ser meu ombro direito e por suportar todos os meus momentos de estresse durante a realização desse trabalho. Obrigada por fazer parte da minha vida, ser compreensível, ser o meu melhor amigo e por permanecer ao meu lado.

Aos meus pais, Francinete e Raimundo, por todo apoio, carinho, dedicação, orações, e principalmente, por estarem sempre ao meu lado na realização desse projeto. Sinto-me privilegiada por ter pais especiais e grandes amigos.

Ao meu irmão e cunhada, Alexssandro e Amanda, por estarem presentes em minha vida, por todo conselho, puxões de orelha e por me fazer acreditar que tudo é possível desde que eu queira e acredite. Obrigada por todo apoio.

Aos familiares do meu marido, Elian, Naile, Socorro, Manoel, Delcimar e Ceíça, por me incentivar a continuar os meus estudos, enaltecerem a minha capacidade e por serem compreensíveis em nossas ausências em encontros familiares.

À minha parceira e amiga, Brenda Silva, por toda ajuda no desenvolvimento desse projeto e nas disciplinas realizados em conjunto, e principalmente, por me ajudar a ser uma pessoa mais tranquila (“good vibes”).

À Dr^a. Helyde Albuquerque, Dr^a. Dionísia Nagahama, as técnicas e alunos do Laboratório de Bioquímica da Nutrição, Grazielle, Tatiana, Socorro, Patrícia, Kedma, Karol e Zhamis por toda experiência e conhecimentos compartilhados, pela preocupação, apoio, disponibilidade em ajudar e incentivar na elaboração do produto.

Ao meu coorientador, Dr. Patrick, por ter sido professor e amigo maravilhoso. Obrigada por todas as correções, ensinamentos, incentivos aos estudos e por ter contribuído com a minha formação profissional e pessoal.

Ao meu orientador, Dr. Cleomir, pela dedicação, profissionalismo e conhecimentos compartilhados. Obrigada por acreditar em mim e não ter desistido em me orientar desde o programa de iniciação científica até o presente momento. Sou muito grata por todo incentivo.

Ao Laboratório Temático de Química e Farmacologia de Produtos Naturais – INPA, por fazer parte do desenvolvimento desse projeto e por todo apoio durante as análises fitoquímicas e farmacológicas. Agradeço em especial aos técnicos, Mirian, Souza e Ananias, por toda paciência, amizade, conhecimento e conselhos.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



À Coordenação de Pesquisas em Tecnologia de Alimentos – CPTA / INPA, por auxiliar nas análises físico-químicas dos materiais vegetais estudados nesse projeto. Agradeço em especial a técnica Aparecida, Dr^a. Joana, doutoranda Andreline, Bianca e aos demais alunos de iniciação científica;

Ao Biotério Centra – INPA, por ceder espaço e os animais para a realização das análises farmacológicas, com ajuda e apoio do Mestre Leonardo, dos funcionários Andressa, Antônio e dos demais que compõem a equipe do biotério;

Ao Laboratório de Abertura de Amostras e Ensaio Químicos – LAEQ / UFAM, por ajudar a realizar a análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas e pela disponibilidade para sanar as dúvidas, sob orientação do Dr. Felipe;

Ao Mestre Vanderlei Sabóia, do Centro de Biotecnologia da Amazônia – CBA, pelo fornecimento de dados e por contribuir para o desenvolvimento das análises dos teores de cafeínas;

À Professora Suely, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, pelo auxílio nas análises estatísticas.

À instituição de ensino, Faculdade Estácio do Amazonas, por me ajudar a realizar o estágio em docência, e por contribuir, mais uma vez, com a minha formação acadêmica. Obrigada, professora Luciana Belmont por auxiliar nessa etapa e pela amizade que construímos.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, por ser essencial no meu processo de formação profissional e ser responsável pela minha iniciação científica.

À Universidade Federal do Amazonas, pela disponibilização do espaço para realizar a pós-graduação e por todo apoio acadêmico e profissional.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM, pelo incentivo da bolsa.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para o meu crescimento pessoal e profissional, além de participar no desenvolvimento desse projeto.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



*“O importante é não parar de questionar. A curiosidade
tem sua própria razão de existir. ”*

Albert Einstein



RESUMO

A preocupação com a saúde e a qualidade de vida estimulou pesquisas na área de alimentos funcionais, sendo necessário que o produto apresente compostos bioativos, como antioxidantes, anti-inflamatório, entre outras substâncias que são responsáveis por sua funcionalidade. Entre os alimentos funcionais mais comuns estão as bebidas energéticas. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo a elaboração de bebida energética a partir de gengibre amargo (*Zingiber zerumbet* Smith) e guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) com o intuito de obter um produto funcional. Foi realizado a extração de óleo essencial dos rizomas e raízes de *Z. zerumbet* em 4 e 8 horas, por meio da hidrodestilação, com amostras frescas e secas em estufa, de acordo com a sazonalidade climática de Manaus, além das análises fitoquímicas para avaliação dos compostos químicos presentes nas amostras, físico-químicas do *Z. zerumbet* e *P. cupana* para quantificação dos teores de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, fibras, carboidratos, valor energético, potencial hidrogeniônico, densidade, acidez e cor, assim como as análises farmacológicas do óleo essencial de *Z. zerumbet*, após a submissão do projeto ao CEUA/INPA, para a aplicação do teste screening hipocrático, toxicidade aguda (doses via intraperitoneal 250 mg.kg⁻¹; 500 mg.kg⁻¹; e 1000 mg.kg⁻¹; e via oral 1500 mg.kg⁻¹ e 2500 mg.kg⁻¹) e anti-inflamatório (500 mg.kg⁻¹ via oral), e a elaboração das formulações das bebidas energéticas. Os resultados encontrados indicaram o maior percentual de rendimento para amostras secas em estufa com 4 horas, coletadas em agosto (3,48%), com diferença entre os meses sazonais de maio (3,16%), fevereiro (2,32%) e novembro (2,20%). As amostras frescas com menor tempo de extração não apresentaram diferença em relação a sazonalidade. O óleo essencial apresentou sete constituintes químicos nas amostras frescas e secas, com a Zerumbona sendo o composto majoritário, exceto para uma fração seca. A composição físico-química dos rizomas e raízes *in natura* de *Z. zerumbet* apresentou destaque para o valor energético com 100,21 kcal.g⁻¹, teor de umidade (84,09 g.g⁻¹), fibra bruta (17,18 g.g⁻¹), carboidratos (9,84 g.g⁻¹), e pH (11,03). A cor do gengibre apresentou tendência ao croma amarelo e a luminosidade intermediária. A composição do pó do guaraná também apresentou alto valor energético (326,25 kcal.g⁻¹), porém a matéria seca foi de 89,58 g.g⁻¹ por ser um produto desidratado. A cor da amostra G1 e G2 do pó do guaraná apresentaram tendência ao amarelo, sendo que G2 indicou um produto mais claro. A avaliação toxicológica do óleo essencial de *Z. zerumbet* demonstrou baixo efeito tóxico para as doses 250 mg.kg⁻¹; 500 mg.kg⁻¹; e 1000 mg.kg⁻¹ (via intraperitoneal), assim como para as doses de 1500 mg.kg⁻¹ e 2500 mg.kg⁻¹ (via oral). O óleo essencial também indicou atividade anti-inflamatória na dose 500 mg.kg⁻¹ com até 2 horas, assim como ocorreu com o uso da indometacina, como controle positivo. As bebidas energéticas formuladas com extratos alcoólicos e hidroalcoólicos de gengibre amargo e de guaraná apresentaram características organolépticas únicas e peculiares, que garantem interesse comercial. Por fim, o óleo essencial de *Z. zerumbet* das amostras secas em estufa, com o mesmo tempo de coleta, indicaram variabilidade sazonal para o mês de agosto (período seco). A secagem em estufa apresentou os melhores percentuais de rendimento, e o aumento de tempo de coleta dos óleos essenciais se mostrou ineficiente. O perfil cromatográfico *zerumbet* detectou sete componentes químicos, com destaque para a Zerumbona. A análise físico-química do gengibre amargo e guaraná apresentaram resultados similares aos dados verificados na literatura, exceto para o gengibre por abordar outra metodologia. O óleo essencial de *Z. zerumbet* apresentou baixo efeito tóxico para doses aplicadas, e demonstrou atividade anti-inflamatória. Os xaropes simples e as bebidas foram elaborados de acordo com a legislação.

Palavras-chave: Extratos vegetais, alimentos funcionais, *Zingiber zerumbet*, bebida energética.



ABSTRACT

The concern for health and quality of life has stimulated research in the area of functional foods, requiring the product to present bioactive compounds, such as antioxidants, anti-inflammatory, among other substances that are responsible for its functionality. Among the most common functional foods are energy drinks. In this context, the present study aimed to develop an energy drink from bitter ginger (*Zingiber zerumbet* Smith) and guarana (*Paullinia cupana* Kunth) to obtain a functional product. The extraction of essential oil from the rhizomes and roots of *Z. zerumbet* was carried out in 4 and 8 hours, through hydrodistillation, with fresh and oven-dried samples, according to the climatic seasonality of Manaus, in addition to phytochemical analyzes to evaluate the chemical compounds present in the samples, physical chemistry of *Z. zerumbet* and *P. cupana* for quantification of moisture, ash, lipids, proteins, fibers, carbohydrates, energy value, hydrogen potential, density, acidity and color, as well as analyzes pharmacological properties of the essential oil of *Z. zerumbet*, after project submission to CEUA/INPA, for the application of the Hippocratic screening test, acute toxicity (intraperitoneal doses 250 mg.kg⁻¹; 500 mg.kg⁻¹; and 1000 mg.kg⁻¹; and orally 1500 mg.kg⁻¹ and 2500 mg.kg⁻¹) and anti-inflammatory (500 mg.kg⁻¹ orally), and the development of energy drink formulations. The results found indicated the highest percentage of yield for samples dried in an oven for 4 hours, collected in August (3.48%), with a difference between the seasonal months of May (3.16%), February (2.32%), and November (2.20%). Fresh samples with shorter extraction times did not show a difference in relation to seasonality. The essential oil showed seven chemical constituents in fresh and dry samples, with Zerumbona being the major compound, except for a dry fraction. The physical-chemical composition of rhizomes and roots in natura of *Z. zerumbet* highlighted the energy value with 100.21 kcal.g⁻¹, moisture content (84.09 g.g⁻¹), crude fiber (17.18 g.g⁻¹), carbohydrates (9.84 g.g⁻¹), and pH (11.03). The ginger color showed a tendency toward yellow chroma and intermediate luminosity. The composition of the guarana powder also showed a high energy value (326.25 kcal.g⁻¹), but the dry matter was 89.58 g.g⁻¹ because it is a dehydrated product. The color of the G1 and G2 samples of the guarana powder tended towards yellow, with G2 indicating a lighter product. The toxicological evaluation of the essential oil of *Z. zerumbet* showed a low toxic effect for doses of 250 mg.kg⁻¹; 500 mg.kg⁻¹; and 1000 mg.kg⁻¹ (intraperitoneal route), as well as for the doses of 1500 mg.kg⁻¹ and 2500 mg.kg⁻¹ (oral route). The essential oil also showed anti-inflammatory activity at a dose of 500 mg.kg⁻¹ for up to 2 hours, as occurred with the use of indomethacin as a positive control. Energy drinks formulated with alcoholic and hydroalcoholic extracts of bitter ginger and guarana have unique and peculiar organoleptic characteristics, which guarantee commercial interest. Finally, the essential oil of *Z. zerumbet* from the oven-dried samples, with the same collection time, indicated seasonal variability for the month of August (dry period). Kiln drying showed the best yield percentages, and increasing the collection time of essential oils proved to be inefficient. The zerumbet chromatographic profile detected seven chemical components, with emphasis on Zerumbona. The physical-chemical analysis of bitter ginger and guarana showed results similar to those found in the literature, except for ginger, which was approached using another methodology *Z. zerumbet* essential oil showed a low toxic effect for applied doses, and demonstrated anti-inflammatory activity. Simple syrups and drinks were prepared in accordance with the legislation.

Keywords: Plant extracts, functional foods, *Zingiber zerumbet*, energy drink.



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa global dos herbários (pontos vermelhos) que armazenam <i>Zingiber zerumbet</i>	7
Figura 2. Classificação taxonômica do rizoma <i>Zingiber zerumbet</i>	7
Figura 3. Folhas e caules de <i>Zingiber zerumbet</i> , procedentes de Manaus-AM.	8
Figura 4. Inflorescência de <i>Zingiber zerumbet</i> verde (lado esquerdo), transição do verde para vermelha (meio) e vermelha (lado direito), procedentes de Manaus-AM.....	8
Figura 5. Rizomas de <i>Zingiber zerumbet</i> , procedentes de Manaus-AM.....	9
Figura 6. Estrutura química da Zerumbona.....	10
Figura 7. Guaraná (<i>Paullinia cupana</i> Kunth).	11
Figura 8. Produtos comercializado com guaraná (<i>Paullinia cupana</i>), como o fruto <i>in natura</i> , sementes torradas, pó do guaraná, bebida (guaraná em pó), xarope, bastão e cápsulas.....	13
Figura 9. Estrutura da molécula de cafeína.....	15
Figura 10. Estrutura da molécula de taurina.	15
Figura 11. Fluxograma da elaboração de bebida energética ou de refrigerantes.	19
Figura 12. Material fresco (lado esquerdo) e seco em estufa (lado direito) de gengibre amargo.....	21
Figura 13. Exsicata de <i>Zingiber zerumbet</i> (esquerda) e amostra para comparação (direita).....	22
Figura 14. Pó de guaraná (<i>Paullinia cupana</i>).	22
Figura 15. Método de hidrodestilação.....	23
Figura 16. Óleo essencial de <i>Z. zerumbet</i>	24
Figura 17. Processo de obtenção do extrato de gengibre amargo.	25
Figura 18. Processo de obtenção do extrato alcoólico de guaraná.....	25
Figura 19. Processo de obtenção do extrato hidroalcoólico de guaraná.	26
Figura 20. Equipamento de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.....	27
Figura 21. Xarope com extrato hidroalcoólico de guaraná (béqueres à esquerda) e com extrato alcoólico de guaraná (béqueres à direita).	35
Figura 22. Fluxograma da elaboração da bebida energética.	36



Figura 23. Sazonalidade climática de Manaus, Amazonas, de acordo com médias mensais dos elementos climáticos de 1990 – 2020.....	38
Figura 24. Sazonalidade do óleo essencial de <i>Zingiber zerumbet</i> em relação ao tempo de coleta.....	40
Figura 25. Cromatograma da Zerumbona Padrão Sigma 98%.	45
Figura 26. Espectro de massas revelando o peso molecular 218,15 m/z da Zerumbona.....	45
Figura 27. Cromatograma (CG-MS) da composição dos óleos essenciais de <i>Z. zerumbet</i> fresco com 4 horas.	46
Figura 28. Cromatograma (CG-MS) da composição dos óleos essenciais de <i>Z. zerumbet</i> fresco com 8 horas.	46
Figura 29. Cromatograma (CG-MS) da composição dos óleos essenciais de <i>Z. zerumbet</i> seco em estufa com 4 horas.	47
Figura 30. Cromatograma (CG-MS) da composição dos óleos essenciais de <i>Z. zerumbet</i> seco em estufa com 8 horas.	47
Figura 31. Inflamação do edema de pata em Ratos Wistar.....	56
Figura 32. Bebidas energéticas com gengibre amargo e guaraná.	57



LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Delineamento experimental da bebida energética.	34
Tabela 2. Índice de Porcentagem Normal – IPN e classificação de severidade climática anual de Manaus, Amazonas, no período de 1971 a 2010.	39
Tabela 3. Percentual de rendimento dos óleos essenciais de <i>Zingiber zerumbet</i> , coletados após 4 horas, sobre a sazonalidade climática da cidade de Manaus, Amazonas.	40
Tabela 4. Constituintes químicos encontrados no material fresco de <i>Zingiber zerumbet</i> , em relação ao tempo de coleta 4 e 8 horas.	43
Tabela 5. Constituintes químicos encontrados no material seco em estufa de <i>Zingiber zerumbet</i> , em relação ao tempo de coleta 4 e 8 horas.	44
Tabela 6. Composição físico-química do gengibre amargo (<i>Zingiber zerumbet</i>) <i>in natura</i> . ..	48
Tabela 7. Determinação de cor do gengibre amargo (<i>Zingiber zerumbet</i>), proveniente do Ramal do Pau Rosa, BR-174.	49
Tabela 8. Composição físico-química do pó do guaraná (<i>Paullinia cupana</i>).	50
Tabela 9. Determinação de cor do guaraná (<i>Paullinia cupana</i>), proveniente de Maués.	51
Tabela 10. Determinação de cor do guaraná (<i>Paullinia cupana</i>), proveniente do empório de Manaus.	51
Tabela 11. Teor de cafeína do pó e extratos de guaraná (<i>Paullinia cupana</i> Kunth).	51
Tabela 12. Avaliação comportamental e sistêmica do óleo essencial dos rizomas e raízes de <i>Zingiber zerumbet</i> por 14 dias de observação.	54
Tabela 13. Inflamação das patas de Ratos Wistar de acordo com o tempo de tratamento.	56
Tabela 14. Composição nutricional das formulações com extrato alcoólico de guaraná.	58
Tabela 15. Composição nutricional das formulações com extrato hidroalcoólico de guaraná.	59
Tabela 16. Determinação de cor das formulações com extrato alcoólico de guaraná.	61
Tabela 17. Determinação de cor das formulações com extrato hidroalcoólico de guaraná. ...	61



SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	4
2.1.	DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS (DCNT)	4
2.2.	ALIMENTOS FUNCIONAIS	5
2.3.	GENGIBRE AMARGO	6
2.3.1.	Aspectos botânicos	7
2.3.2.	Teores fitoquímicos.....	9
2.4.	GUARANÁ	10
2.4.1.	Características botânicas	11
2.4.2.	Composição química.....	11
2.4.3.	Propriedades terapêuticas do guaraná	12
2.4.4.	Formas de comercialização do guaraná	12
2.5.	BEBIDAS ENERGÉTICAS	13
2.5.1.	História da bebida energética	14
2.5.2.	Cafeína	14
2.5.3.	Taurina	15
2.5.4.	Açúcares.....	16
2.5.5.	Efeitos colaterais da bebida energética.....	17
2.5.6.	Processo de elaboração da bebida energética	18
3.	OBJETIVOS	20
3.1.	GERAL	20
3.2.	ESPECÍFICOS.....	20
4.	MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1.	COLETA DA PLANTA	21
4.2.	PREPARAÇÃO DA EXSICATA	21
4.3.	AQUISIÇÃO DO GUARANÁ.....	22
4.4.	AQUISIÇÃO DOS DEMAIS MATERIAIS PARA O ENERGÉTICO.....	23
4.5.	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	23
4.5.1.	Extração dos óleos essenciais de gengibre amargo	23
4.5.2.	Extrato hidroalcoólico de gengibre amargo	24
4.5.3.	Extrato alcoólico de guaraná	25



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



4.5.4. Extrato hidroalcoólico de guaraná.....	25
4.6. CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA	26
4.6.1. Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas – CG-EM.....	26
4.7. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICAS	27
4.7.1. Teor de umidade	27
4.7.2. Matéria seca	28
4.7.3. Cinzas.....	28
4.7.4. Lipídio.....	28
4.7.5. Proteína total.....	29
4.7.6. Fibra bruta	29
4.7.7. Carboidrato	30
4.7.8. Valor energético	30
4.7.9. Determinação do potencial hidrogeniônico	30
4.7.10. Acidez titulável.....	31
4.7.11. Determinação de cor.....	31
4.8. DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA DO GUARANÁ.....	31
4.9. ENSAIOS FARMACOLÓGICOS	32
4.9.1. Testes gerais de atividades farmacológicas (Screening Hipocrático).....	32
4.9.2. Toxicidade aguda (doses simples).....	33
4.9.3. Atividade anti-inflamatória: edema de pata induzido por formalina.....	33
4.10. ELABORAÇÃO DA BEBIDA ENERGÉTICA	34
4.10.1. Delineamento experimental	34
4.10.2. Xarope de guaraná	34
4.10.3. Bebida energética.....	35
4.11. PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA BEBIDA ENERGÉTICA.....	36
4.11.1. Determinação do potencial hidrogeniônico	36
4.11.2. Acidez titulável.....	36
4.11.3. Sólidos solúveis totais	37
4.11.4. Determinação de cor.....	37
4.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	38
5.1. RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL	38



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



5.2.	CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSA	42
5.3.	FÍSICO-QUÍMICA DO GENGIBRE AMARGO E GUARANÁ.....	48
5.3.1.	Composição físico-química do gengibre amargo	48
5.3.2.	Determinação de cor do gengibre amargo.....	49
5.3.3.	Composição nutricional do guaraná	49
5.3.4.	Determinação de cor do guaraná	50
5.4.	DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA DO GUARANÁ.....	51
5.5.	ENSAIOS FARMACOLÓGICOS	52
5.5.1.	Avaliação comportamental, sistêmica e toxicidade aguda.....	52
5.5.2.	Atividade anti-inflamatória do gengibre amargo: edema de pata induzido por formalina	55
5.6.	FORMULAÇÃO DA BEBIDA ENERGÉTICA.....	56
5.7.	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICA DAS BEBIDA ENERGÉTICAS	58
5.7.1.	Determinação do potencial hidrogeniônico, sólidos solúveis totais e acidez titulável das formulações das bebidas energéticas	58
5.7.2.	Determinação de cor das formulações das bebidas energéticas	61
6.	CONCLUSÃO	62
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
8.	ANEXOS.....	73



1. INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) abrangem quatro grupos são eles circulatórias, diabetes, câncer e respiratórias crônicas, com indicações de que os seus fatores de riscos são o tabagismo, consumo de bebidas alcoólicas, inatividade física, alimentação não saudável e obesidade (Malta *et al.*, 2017). Logo, essas doenças atingem todas as camadas socioeconômicas, principalmente os grupos mais vulneráveis (Melo *et al.*, 2019).

As DCNT são um dos principais fatores que causam mortes no mundo, e podem ser consideradas como um dos maiores problemas de saúde pública por conta do aumento de custos econômicos e sociais, pois a estimativa de mortes em nível global em 2016 apresentou 41 milhões de óbitos, correspondendo a 71% de todas as mortes. Essa estimativa é semelhante ao percentual de mortes ocorrentes no Brasil, naquele mesmo período, onde o país apresentou 76% das causas de mortes (Malta *et al.*, 2021a).

Essas doenças estão relacionadas aos hábitos alimentares, por conta do reflexo da globalização da cultura alimentar. A difusão nos meios de comunicação e a ampla disseminação de informações pela publicidade de alimentos não saudáveis colaboram com o aumento dessa estatística (Martins; Silva, 2018).

Nesse contexto de cenário epidemiológico, a preocupação com a saúde e a qualidade de vida estimulou pesquisas na área de alimentos. O tema se tornou relevante para a compreensão de que os alimentos funcionais fornecem energia e nutrientes essenciais na alimentação (Campideli, 2017).

Os alimentos funcionais estão relacionados aos valores culturais, sociais, afetivos e sensoriais, tendo como objetivo atender as determinadas exigências do corpo humano, além de contribuir com a redução de risco de doenças (Dias *et al.*, 2020). Dessa forma, estes alimentos devem apresentar compostos bioativos, como antioxidantes, anti-inflamatórios, entre outras substâncias que são responsáveis por sua funcionalidade (Henrique *et al.*, 2018). Entre os alimentos funcionais mais comuns estão os iogurtes, kombucha e, até mesmo, as bebidas energéticas.

As bebidas energéticas são constituídas de diferentes tipos de substâncias como cafeína, taurina, carboidratos, vitaminas (Santos *et al.*, 2017). Sua funcionalidade está ligada ao efeito de redução no tempo de instalação da fadiga muscular no sistema nervoso central, aumento do potencial de treinamento, aumento da performance física, dentre outros aspectos a elas atribuídas (Buxton; Hagan, 2012).



Para ter efetividade, a bebida energética deve apresentar a cafeína que possui propriedades estimulantes do sistema nervoso central, coração e os músculos esqueléticos; o inositol que participa do metabolismo das gorduras e do cérebro; e a taurina que está envolvida na neuromodulação, neuroproteção e osmoregulação (Maioli, 2014; Silva, 2016). Assim, o consumo de bebidas energéticas foi e continua crescendo no mercado mundial, englobando várias faixas etárias, o que resulta na conquista de mais espaço na prateleira (Ramada, Nacif, 2019).

As bebidas energéticas têm sido elaboradas há muito tempo com o intuito de fornecer um produto com atividade nutracêutica (Vieira, 2019). Contudo, o consumo excessivo dessas bebidas pode ocasionar efeitos colaterais como aumento de pressão arterial e da frequência cardíaca, devido aos altos níveis de concentração de ingredientes. Logo, é necessário obedecer às legislações brasileiras vigentes (Santos *et al.*, 2017; Ribeiro, 2018a).

Segundo a RDC nº 273, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a bebida energética poderá ser adicionada de outros ingredientes (BRASIL, 2005). Uma bebida energética adicionada de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth), extrato dos rizomas e raízes de gengibre amargo (*Zingiber zerumbet* Smith) poderá ter outras funcionalidades agregadas a sua qualidade intrínseca.

O gengibre amargo é uma planta originária do sudoeste e norte da Ásia, mas possui uma ampla distribuição geográfica por ser bem adaptada aos climas tropicais. Os seus rizomas são utilizados em diversas terapias de uso tradicional, aromatizantes e condimentos culinários, além de ser utilizado no tratamento de náuseas, perda de apetite, diarreia, tosse, enxaqueca (Pinheiro, 2017).

O gengibre amargo apresenta propriedades farmacológicas como hepato proteção, antiúlcera, citotóxico, antitumoríferos, antibacteriano, anti-inflamatório, antiespasmódico, além de recomendação para o tratamento do câncer, e pode ser usado para acrescentar essas propriedades em diversos alimentos, como o energético (Pinheiro, 2009; Souza, 2022).

O guaraná é uma planta originária da região Amazônica sendo amplamente utilizada na indústria alimentícia como na elaboração de xaropes, extratos, fonte de cafeína, bebidas caseiras e tônicos, por apresentar melhor custo benefício por ser obtido de fontes naturais (Souza *et al.*, 2010; Marques *et al.*, 2019).

O guaraná apresenta os principais constituintes químicos: metilxantinas (cafeína, teofilina e teobromina) e taninos condensados (catequina e a epicatequina) (Figueira, 2021). O teor de cafeína presente no guaraná é superior ao das sementes de café, apresentando quantidade



três vezes maior, com concentração média de cafeína de $20,68 \text{ mg.g}^{-1}$ (cafeína/grama de pó) (Oliveira *et al.*, 2018).

O guaraná pode ser adicionado na bebida energética por apresentar a cafeína que exerce efeito estimulante sobre o sistema nervoso central, músculos cardíacos, sistema respiratório e secreção de ácido gástrico. A teobromina com ação diurética e a teofilina com ação broncodilatadora (Souza *et al.*, 2010). Além de estar relacionado com a perda de peso e ações protetoras contra hipertensão arterial, de acordo com a concentração adequada (Lima *et al.*, 2018).

Portanto, uma bebida energética adicionada de matérias-primas com efeitos benéficos comprovados por meio de pesquisas científicas poderá configurar um produto saudável ao consumidor e de valor agregado, pois é de suma importância apresentar o máximo de insumos naturais, contribuindo com a saúde do consumidor e com estudos científicos.



2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS (DCNT)

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) representam um dos maiores problemas de saúde pública em consequência das ameaças na qualidade de vida de milhões de pessoas. Causam limitações e incapacidades para realizar as atividades diárias, e além de impactos de alto custo para os sistemas de saúde pública (Souza, 2016).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) avaliou que pessoas portadoras de DCNT afetam o setor econômico, agravando a situação de pobreza e de vulnerabilidade, ocasionando a exposição ao risco e sobrecarga dos sistemas de saúde. A estimativa dos custos socioeconômicos em relação a essas doenças, nos anos de 2011 a 2025, nos países de baixa e média renda, foi de aproximadamente de US\$ 7 trilhões (Malta *et al.*, 2017).

Dessa forma, esse cenário contribuiu para a criação da Declaração de Alto Nível, na Organização das Nações Unidas em 2011, que define ações concretas de enfrentamento e de redução das taxas de mortalidade por DCNT. Posteriormente, foi aprovado o Plano de Ação Global de DCNT, pela Assembleia Mundial da Saúde em 2013, que garantia um compromisso com a redução de índice de morte por DCNT em 25% e redução dos fatores de risco, entre os anos 2015 a 2025 (Malta *et al.*, 2019).

No caso do Brasil, o Ministério da Saúde criou em 2011 o seu Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) entre os anos 2011 e 2022, com o intuito de preparar o país para enfrentar essas doenças nos próximos dez anos, além de reduzir as taxas de mortalidade prematura de 30 a 69 anos, em 2% ao ano e implantar políticas públicas efetivas para a prevenção e o controle das DCNT (Silocchi; Junges, 2017).

Segundo Souza e colaboradores (2016), o Plano de Ações Estratégicas no Brasil, criada em 2011, comprova que as políticas públicas estavam sendo satisfatórias, apresentando fortalecimento nos programas e diminuição dos fatores de riscos, exceto a obesidade por estar em ascensão. Entretanto, a pandemia da COVID-19 (Sars-CoV-2) dificultou a execução dos planos, inclusive as metas de redução das DCNT e de fatores de risco até 2035 do Desenvolvimento Sustentável (ODS) (Malta *et al.*, 2021a).

Com a pandemia de COVID-19, foi evidenciado que as DCNT e os seus fatores de risco foram responsáveis pelo agravamento da condição clínica, do tempo de internação e dos índices elevados de mortalidade. Além disso, a COVID-19 causou mudanças nos estilos de vida nos adultos apresentando elevação de consumo de álcool, tabaco, alimentos ultraprocessados e



sedentarismo. Em consequência, esses motivos exigem medidas de prevenção e controle das DCNT em conjunto com os problemas advindos da COVID-19 (Malta *et al.*, 2021b), como o consumo de alimentos funcionais.

2.2. ALIMENTOS FUNCIONAIS

O alimento funcional pode ser definido como aquele que atinge positivamente uma ou mais funções fisiológicas do organismo, além de exercer as suas funções básicas nutricionais. Com isso, esses alimentos conferem melhorias na qualidade de vida, favorecem a saúde e auxiliam na redução de riscos de enfermidades (Silva *et al.*, 2016).

Segundo Salgado (2017), a denominação de alimentos funcionais varia conforme os discursos científicos e a legislação vigente em cada país. Assim, a Sociedade Brasileira de Alimentos Funcionais (SBAF) considera como:

“[...] alimentos ou ingredientes que, além das funções nutricionais básicas, quando consumidos como parte da dieta usual, produzem efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou benéficos à saúde, devendo ser seguros para consumo sem supervisão médica, sendo que sua eficácia e segurança devem ser asseguradas por estudos científicos”.

A Functional Food Science in Europe (FUFOSE) / International Life Sciences Institute (ILSI) denomina alimentos funcionais como aqueles que mantêm ou melhoram a saúde, podendo reduzir os riscos de alguma doença e/ou afetar benéficamente uma ou mais funções do organismo (Salgado, 2017).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) criou as resoluções nº 18 e 19, de 30 de abril de 1999 (BRASIL, 1999) determinando que os alimentos funcionais não são conceituados, mas definidos em duas categorias:

- a) Alegação de Propriedade Funcional: é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento e outras funções normais do organismo humano;
- b) Alegação de Propriedade de Saúde: é aquela que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre o alimento ou ingrediente com doença ou com condição relacionada à saúde.

Há aproximadamente 2500 anos a.C., o filósofo grego Hipócrates mencionava a atividade benéfica dos alimentos como visto na frase “faça do seu alimento seu remédio”. O uso de alguns alimentos para tratar doenças era praticado por gregos, egípcios e os romanos,



sem ainda ser denominados funcionais. Em 1000 anos a.C., os chineses também começaram a praticar o uso de alimentos em prol da prevenção e cura de doenças (Cañas; Braibante, 2019).

Em 1955, Keys desenvolveu uma hipótese sobre o alto consumo de gorduras que poderia levar um indivíduo a sofrer doenças cardíacas. Mais tarde, entre 1960 e 1970, surgiu a Revolução Verde, o que potencializou o uso de insumos químicos nas atividades agrícolas. Em 1980, a expressão “alimentos funcionais”, Foods for Specified Health Use (FOSHU), foi introduzida no Japão com o objetivo de desenvolver alimentos que ofertassem benefícios à saúde para diminuir os gastos em saúde pública e atingir a prevenção de doenças crônicas (Cañas; Braibante, 2019).

O mercado alimentar funcional apresenta alto potencial de crescimento e diversificação, sendo caracterizado pela crescente complexidade e aumento da cadeia de alimentos com grande participação da indústria e ciência (Neves, 2020).

De acordo com a Cia da Saúde (2021), o Brasil ocupa a sétima posição no mercado de alimentos e bebidas saudáveis no mundo. Além disso, a Euromonitor Internacional indicou um crescimento de 33% nesse mercado, entre 2015 e 2020, e a expectativa é que cresça mais 27% até 2025. Os alimentos funcionais podem apresentar essa propriedade a partir de matérias primas ricas em compostos ativos, como o gengibre amargo.

2.3. GENGIBRE AMARGO

O *Zingiber zerumbet* Smith é conhecido como gengibre amargo, pinha, shampoo de gengibre, entre outros nomes de acordo com a cultura local de outros países. É uma planta perene com raiz tuberosa e bastante ramificada, podendo ser encontrada naturalmente em ambiente úmido, planície ou encostas sombreadas (Tan *et al.*, 2018).

O gengibre amargo está presente em vários herbários do mundo todo (Figura 1), assim como é amplamente cultivado em regiões tropicais e subtropicais (Koga *et al.*, 2016). Em razão da sua facilidade de adaptação, a sua origem tornou-se incerta, mas estudos criaram hipóteses que a planta é nativa da Índia e da Península da Malásia (Ghasemzadeh *et al.*, 2017).

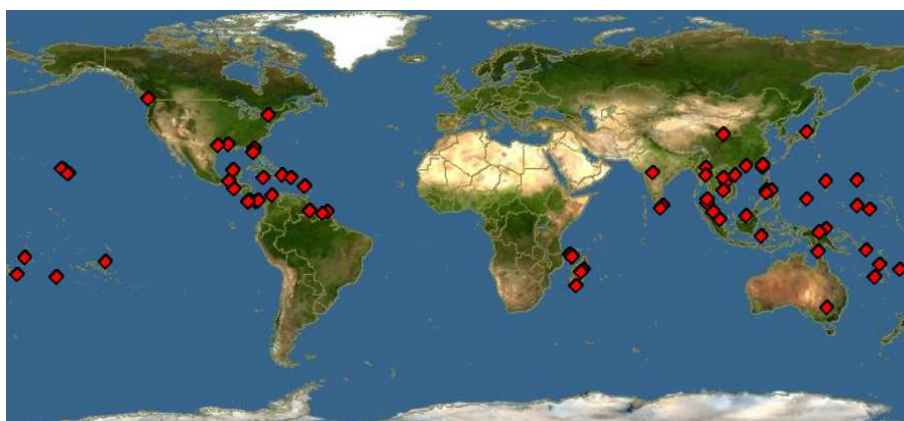


Figura 1. Mapa global dos herbários (pontos vermelhos) que armazenam *Zingiber zerumbet*.
Fonte: Discoverlife (2022).

2.3.1. Aspectos botânicos

O *Z. zerumbet* pertence à família Zingiberacea – cerca de 53 gêneros e 1200 espécies de plantas – que está distribuída em regiões tropicais, especialmente no sul e sudeste da Ásia, na África tropical e América do Sul (Koga *et al.*, 2016). O gênero *Zingiber* inclui cerca de 141 espécies, e é uma importante fonte de óleo essencial que é amplamente utilizado nas indústrias de perfumes, cosméticos, alimentos e produtos farmacêuticos (Tian *et al.*, 2020). Sua classificação taxonômica está apresentada na Figura 2.

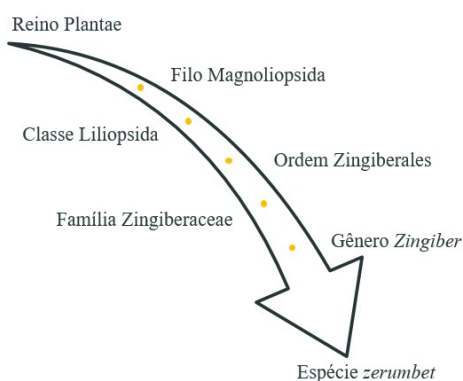


Figura 2. Classificação taxonômica do rizoma *Zingiber zerumbet*.
Fonte: NCBI (2022).

O *Z. zerumbet* é uma planta aromática e tuberosa, com caules eretos com aproximadamente 90 cm de altura. As suas folhas apresentam cerca de 26 cm de comprimento e 3 cm de largura, com características dísticas, com glabras a pubescentes na parte abaxial, sendo as basilares reduzidas a simples bainhas superiores, terminam com limbo séssil e lanceolado (Figura 3) (Gonçalves *et al.*, 2017).



Figura 3. Folhas e caules de *Zingiber zerumbet*, procedentes de Manaus-AM.
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

As inflorescências possuem aproximadamente 6 a 12 cm de comprimento, com coloração verde quando jovem e vermelha quando adultas, são hermafroditas, zigomorfas, dispostas em espigas elipsoides. Tanto as folhas como as inflorescências brotam de um rizoma e crescem logo abaixo da superfície do solo, de forma que ambos ficam separados (Figura 4) (Yob *et al.*, 2011; Gonçalves *et al.*, 2017).



Figura 4. Inflorescência de *Zingiber zerumbet* verde (lado esquerdo), transição do verde para vermelha (meio) e vermelha (lado direito), procedentes de Manaus-AM.

Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

Os rizomas do gengibre amargo são perenes, espessos, escamosos, aromáticos e amarelo pálido internamente, com corpo alongado e um pouco achatado (Figura 5). Outra característica está relacionada ao seu odor específico e sabor amargo (Doloking *et al.*, 2022).



Figura 5. Rizomas de *Zingiber zerumbet*, procedentes de Manaus-AM.
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

2.3.2. Teores fitoquímicos

O conteúdo fitoquímico dos rizomas de *Z. zerumbet* está representado por uma ampla variedade de metabólitos químicos, como polifenóis, alcaloides e terpenos (Nag *et al.*, 2013; Koga *et al.*, 2016), o que levou as extensas investigações químicas por conta das suas propriedades medicinais.

As investigações químicas iniciaram com as tentativas de isolar e identificar os compostos bioativos do rizoma do gengibre amargo, entre os compostos obtidos estão: humuleno, monoterpenos e zerumbona. Depois, foram isolados novos sesquiterpenóides através de frações obtidas dos óleos essenciais de *Z. zerumbet*, como por exemplo, epóxido humuleno-I e álcoois de sesquiterpeno (humulenol-I e humulenol-III). Em seguida, através dos óleos essenciais, foi isolado o óxido de zerumbona (Yob *et al.*, 2011).

Diante dessa mistura de compostos voláteis detectados nos óleos essenciais de *Z. zerumbet*, como polifenóis e terpenos, a zerumbona é o composto predominante nos óleos essenciais, mesmo com a localização variada da plantação de gengibre amargo (Preshahdin *et al.*, 2023).

A zerumbona (2,6,10-cycloundecatrien- 1-one, 2,6,9,9-tetramethyl) é um composto sesquiterpeno cíclico (Figura 6), componente majoritário dos óleos essenciais extraídos dos rizomas de *Z. zerumbet*. Em relação a porcentagem de pureza obtida em laboratório os resultados variam entre 12,6 e 99% devido aos fatores climáticos, tipos de solo e período de colheita (Pinheiro, 2017).

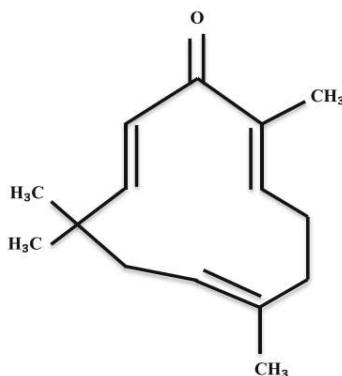


Figura 6. Estrutura química da Zerumbona.
Fonte: Silva e colaboradores (2018).

A zerumbona apresenta atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, citotóxica para células cancerígenas, antioxidante, antinociceptiva, anti-inflamatório não esteroide – AINE (Pinheiro, 2009). Outros compostos bioativos são encontrados em espécies vegetais, como guaraná.

2.4. GUARANÁ

O guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) é uma planta da família Sapindaceae, originária da região Amazônica que possui clima tropical, quente e úmido. O guaraná é amplamente utilizado como bebidas caseiras e industriais, sendo tônico ou estimulante (Souza *et al.*, 2010).

As sementes de *P. cupana* (Figura 7) são mais utilizadas nas indústrias alimentícia e farmacêutica pelos teores de cafeína e taninos. As sementes são secas, levemente torradas e trituradas para a obtenção do pó de guaraná, ingrediente utilizado nesses setores. Além disso, as sementes torradas são amplamente utilizadas no Brasil, devido suas propriedades medicinais, mas também é consumida em países europeus, e em tribos amazônicas como bebida à base de ervas (Hamerski *et al.*, 2013; Prado *et al.*, 2017).



Figura 7. Guaraná (*Paullinia cupana* Kunth).
Fonte: Oliveira e colaboradores (2018).

2.4.1. Características botânicas

O guaraná é um arbusto de várzea, tropical, lenhoso e trepador. Os ramos são pilosos na extremidade, mas glabros na base, medindo entre 4 e 8 mm de diâmetro. As folhas medem cerca de 40 cm de comprimento, em arranjo dístico, compostas pinadas, com 5 folíolos. As inflorescências podem ter mais de 30 cm, e são tirsos, axilares, racemiformes, solitárias, puberulentas, com 5 a 8 flores, brácteas e bractéolas (Marques *et al.*, 2019).

As flores são unissexuais, zigomorfas e pequenas, com comprimento aproximado entre 1,5 e 2 cm do caule. Os frutos são cápsulas elipsoidais ou esféricas, apresentam cor vermelha quando maduras e medem de 2 a 3 cm. E as sementes são ovóides, marrom-escuras, com uma sarcotesta carnosa branca, chamado de arilo que serve para dispersão da semente (Hamerski *et al.*, 2013; Ferreira *et al.*, 2022).

2.4.2. Composição química

Os principais constituintes químicos que se destacam do guaraná são as metilxantinas: cafeína (1,3,7-trimetilxantina), teofilina (1,3-dimetilxantina) e teobromina (3,7-dimetilxantina) e taninos condensados, sendo as principais proantocianidina – catequina e epicatequina (flavan-3-ol). Além desses constituintes químicos, temos as procianidinas B1, B2, B3, B4, A2 e C1, tratam-se de dímeros compostos pelas unidades de flavan-3-ol (Oliveira *et al.*, 2018).



Nas sementes do guaraná encontra-se alta concentração de cafeína, alcaloides purínicos e taninos, saponinas e vestígios de outros compostos. Além de apresentar compostos fenólicos com teores expressivos que comprovam a atividade antioxidante (Ferreira *et al.*, 2022).

2.4.3. Propriedades terapêuticas do guaraná

O guaraná está associado a redução dos fatores de risco para doenças cardiovasculares e tem efeitos positivos no metabolismo lipídico (Portela *et al.*, 2013). Esses fatores estão interligados com ação do guaraná na perda de peso, proteção contra a hipertensão arterial, capacidade em reduzir a ingestão de alimentos e aos genes modulares relacionados à adipogênese, além de apresentar ação anti-hiperglicêmica (Lima *et al.*, 2018; Steffani *et al.*, 2022).

Outras propriedades farmacológicas que o guaraná pode apresentar é o efeito estimulante no sistema nervoso central, sistema respiratório, secreção de ácido gástrico, diurético e relaxante muscular. Assim como, atividade antioxidante, atividade antifúngicas para *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* e *Penicillium cyclopium*, e atividade antimicrobiana para *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* e *Streptococcus mutans* (Souza *et al.*, 2010; Hamerski e *et al.*, 2013).

2.4.4. Formas de comercialização do guaraná

O fruto do guaraná é colhido na estação seca e são armazenados de 2 a 5 dias para a fermentação natural. Para a elaboração do pó do guaraná, os frutos *in natura* fermentados passam por um processo de remoção da casca vermelha e da polpa, com o intuito de secar, torrar e triturar as sementes. Com a obtenção do pó, pode-se elaborar o bastão, xarope e as cápsulas. E no caso do bastão, as sementes precisam ser amassadas e misturadas com água para moldá-las em cilindro e secá-las ao sol (Figura 8) (Figueira, 2021).



Figura 8. Produtos comercializado com guaraná (*Paullinia cupana*), como o fruto *in natura*, sementes torradas, pó do guaraná, bebida (guaraná em pó), xarope, bastão e cápsulas.
Fonte: Figueira (2021).

O guaraná por apresentar elevada concentração de cafeína pode ser empregado como fonte natural desse composto para produção de alimentos e bebidas diversas, como os energéticos.

2.5. BEBIDAS ENERGÉTICAS

O composto líquido pronto para consumo inclui as bebidas energéticas ou *energy drinks*, expressões permitidas pela legislação, contendo os ingredientes específicos como inositol e/ou glucoronolactona, e/ou taurina, e/ou cafeína, podendo ser adicionados vitaminas e/ou minerais até 100% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) na porção do produto. Além disso, a legislação permite outro (s) ingrediente (s), desde que não haja descaracterização do produto (BRASIL, 2005).

Outro fator que a legislação aborda está relacionado com os requisitos adicionais de rotulagem, que inclui a obrigatoriedade em apresentar advertências em destaque, em negrito e da seguinte forma ("crianças, gestantes, nutrízes, idosos e portadores de enfermidades: consultar o médico antes de consumir o produto") e ("não é recomendado o consumo com bebida alcoólica"). E deve-se acrescentar também na rotulagem, a lista de ingredientes seguidos das suas concentrações (ANVISA, 2005).

Dentre as bebidas, existem os energéticos produzidos exclusivamente para atletas e os energéticos para o público geral, suas funções e composições são diferentes. Dessa forma, a Resolução RDC nº 18 de 27 de abril de 2010 do Ministério da Saúde se aplica aos alimentos



especialmente formulados para auxiliar os atletas a atender suas necessidades nutricionais específicas e auxiliar no desempenho do exercício (BRASIL, 2010).

As bebidas para atletas não abrangem substâncias com ação ou finalidade terapêutica ou medicamentosa, incluindo produtos fitoterápicos, e nem substâncias estimulantes, hormônios ou outras consideradas como “doping”. Os ingredientes são carboidratos, vitaminas e minerais, proteína, sódio, lipídios, fibras alimentares, creatina e cafeína, variando conforme as classificações dos produtos (BRASIL, 2010).

2.5.1. História da bebida energética

A bebida Lipovitan-D, fabricada em 1962 pela empresa farmacêutica Taisho Pharmaceuticals no Japão, foi a primeira bebida que apresentava taurina, niacina e uma mistura de vitaminas B1, B2 e B6, com o propósito de fornecer energia e concentração. Em 1984, o empresário austríaco chamado Dietrich Mateschitz tomou uma bebida com grandes doses de cafeína e taurina que se chamava Krating Daeng, na qual lhe ajudou com distúrbio *Jet Leg*, devido a diferença de fuso de horário na sua viagem longa a Tailândia (Amaral, 2012).

O Dietrich Mateschitz se interessou pela bebida e começou a fabricá-la na Áustria. A sua bebida, conhecida como Red Bull®, se popularizou por toda a Europa em 1987. A bebida energética chegou no Brasil somente em 1998, mas entre 2006 e 2010 apresentou um aumento de 325% no consumo de bebidas energéticas (Silva, 2016; Ribeiro, 2018a).

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas Não Alcoólicas – ABIR (2018) existem no Brasil cerca de 50 fabricantes de bebidas energéticas. O consumo em 2016 apresentou 500 ml por habitante por ano, ultrapassando o índice de 2010, com 300 ml.

2.5.2. Cafeína

A cafeína é um alcaloide purínico da classe das metilxantinas (1, 3, 7-trimetilxantina), possui a fórmula $C_8H_{10}N_4O_2$ e massa molecular $194,19 \text{ g.mol}^{-1}$ (Figura 9), sendo encontrada em cerca de 63 tipos de plantas que está associada a teofilina e a teobromina. Essa substância é capaz de estimular o sistema nervoso, inibindo o cansaço e o sono (Pinto *et al.*, 2022).

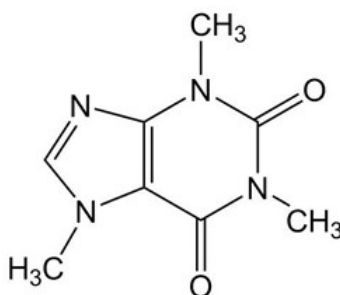


Figura 9. Estrutura da molécula de cafeína.
Fonte: Ribeiro (2018a).

A cafeína é capaz de inibir também a fosfodiesterase e levar ao aumento da frequência cardíaca, pressão arterial, glicose e broncodilatação. Assim como, melhora a capacidade psicomotora, de memória e aprendizado. Porém, deve-se ter cuidado com a quantidade de ingestão por dia, uma vez que o consumo elevado poderá causar efeitos colaterais preocupantes (Yonamine; Teng, 2019).

Essa substância é amplamente utilizada pelas indústrias de alimentos e farmacêuticas como estimulante, tratamento para dores de cabeça, enxaquecas, analgésicos, diuréticos, controladores de peso e entre outros (Carvalho *et al.*, 2006).

2.5.3. Taurina

A taurina, ácido 2-aminoetanossulfônico, é um aminoácido intracelular encontrado em vários tecidos de animais (Figura 10) e presente em grande quantidade na retina e nos tecidos muscular esquelético e cardíaco. Mas a sua maior concentração ocorre em frutos do mar, peixes, carne escura de aves e leite materno (Pereira *et al.*, 2012).

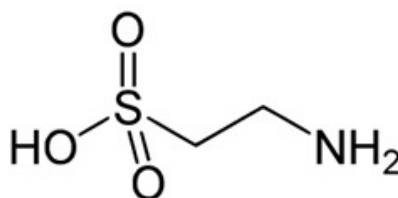


Figura 10. Estrutura da molécula de taurina.
Fonte: Ribeiro (2018a).

Esse aminoácido é derivado do metabolismo da metionina e cisteína, em reações de descarboxilação e oxidação através do ácido cisteína sulfínico. Quando a taurina é ingerida, ocorre o seu acúmulo no plasma e no citoplasma, diante da atividade do seu transportador (Tau-



T) (Mendonça, 2020). A atividade da Tau-T está interligada com íons, glicose e insulina, sendo necessário dois íons de sódio e um íon de cloro para o transporte pela membrana (Caletti; Bock, 2009).

A taurina participa de processos fisiológicos, como a conjugação de ácidos biliares, osmoregulação, inibição de fosforilação de proteínas, antioxição de substâncias, estabilização da membrana celular, modulação celular de fluxo de cálcio e modulação de excitabilidade neuronal (Caletti; Bock, 2009).

2.5.4. Açúcares

A glucoronolactona, amplamente utilizada em bebidas energéticas, é um tipo de carboidrato biossintetizado a partir da glicose, sendo absorvido e metabolizado rapidamente no organismo. Esse açúcar pode ser encontrado em vinho tinto, cereais, maçãs e peras. O seu uso está direcionado como precursor para a produção de ácido ascórbico, e no auxílio dos processos de eliminação de toxinas endógenas e exógenas, na diminuição da fadiga e no melhoramento da performance (Santos, 2017; Berto *et al.*, 2022).

O açúcar é definido como produto obtido da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) através dos processos que se constituem em cristais, com exceção do açúcar líquido. A classificação do açúcar é estabelecida em função dos seus requisitos de identidade e qualidade (BRASIL, 2018), podendo ser mascavo, demerara, entre outros.

O açúcar mascavo é um produto obtido da cana-de-açúcar (*S. officinarum* L.) que não passa por processos de refinamento ou beneficiamento. Em consequência, o açúcar mascavo apresenta coloração escura, menor quantidade de sacarose em comparação com o açúcar refinado (açúcar branco), e não compromete a absorção de nutrientes pelo organismo (Mendonça *et al.*, 2000).

Por outro lado, na ausência de processos de refinamento, a qualidade do açúcar e os aspectos sensoriais podem ser comprometidos, em razão do teor de sacarose ou polarização, teor de umidade, contaminação por agentes microbiológicos e contaminação por ferro (Lotumolo, 2022).

O açúcar demerara, assim como o mascavo são obtidos da cana-de-açúcar. Apresenta cristais de melaço e mel residual da extração e recebe um refinamento leve, sem aditivos químicos. A coloração é escura e possui textura firme, dificultando a sua dissolução (Souza *et al.*, 2018; Machado, 2012).

O demerara apresenta altos índices de valores nutricionais, por conta das vitaminas e minerais que não são perdidos, sendo semelhante ao mascavo. Outra característica interessante é a baixa caloria em comparação com os açúcares que passam por refinamento total (Barboza, 2021).

O xilitol é considerado um edulcorante vantajoso para substituir a sacarose, em vista que apresenta o mesmo volume e poder de adoçante, tem apenas $2,4 \text{ kcal.g}^{-1}$, não possui sabor desagradável após sua ingestão e o seu uso é permitido para diabéticos e obesos (Françoso, 2015).

O xilitol possui a fórmula molecular $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}_5$ (1,2,3,4,5-pentaidroxipentano) e é relacionado com a xilose, representando um poliól (açúcar álcool) que sofre uma redução do grupo carbonílico (cetona ou aldeído) convertendo-o de açúcar à álcool. Diante dessa conversão, o xilitol possui características de interesse para a indústria, como a elevada estabilidade química e microbiológica (Mussatto; Roberto, 2022).

A produção do xilitol utiliza leveduras fermentadoras de xilose para ocorrer a conversão do açúcar em álcool através da enzima xilose redutase. As leveduras *Candida guilliermondii*, *Debaryomyces hansenii* e *Candida parapsilosis*, são utilizadas como produtoras de xilitol e a sua atuação é considerada eficiente (Asano, 2014).

2.5.5. Efeitos colaterais da bebida energética

Os efeitos colaterais das bebidas energéticas estão relacionados com os ingredientes incorporados como cafeína, taurina, açúcares, e até mesmo, a associação de bebidas energéticas com bebidas alcoólicas.

Segundo Dutra e colaboradores (2022), o consumo de cafeína deve ser até 400 mg.dia^{-1} ou até 200 mg em dose única. Os autores relataram que a ingestão de 946 mL de bebida energética contendo 320 mg de cafeína ocasionou um aumento estatisticamente significativo do intervalo QTc e da pressão arterial sistólica quando comparado a ingestão isolada de cafeína na mesma quantidade. Isso pode ocorrer pela inclusão de outros ingredientes de interesse que potencializam o efeito da bebida energética.

O consumo de bebidas energéticas por jovens tem crescido demasiadamente para ficar acordado, por gostar do sabor da bebida e por estar presente em bares e danceterias. O estudo de Ramada e Nacif (2019) relata que 38% ($n=76$) das pessoas entrevistadas usam a bebida energética para se manter acordada, 32% ($n=64$) por gostar do sabor da bebida e 20,5% ($n=41$) com a finalidade estimulante por estar presente em bares e danceterias.



Outro dado importante do estudo de Ramada e Nacif (2019) está relacionado com a mistura de bebidas energéticas com whisky, vodka e cerveja. A maior parte dos indivíduos que consumiram essa mistura (38,5%; n=77) não sentiram nenhum sintoma, mas 15% (n=30) disseram sentir-se alegres, 19% relataram sentir euforia após o consumo destes produtos e 10% referiram insônia.

No entanto, Lino e Silva (2019) relatam sobre um estudo australiano com indivíduos entre 12 e 18 anos de idade que apresentaram efeitos adversos em seu corpo após o consumo de bebidas energéticas, como palpitações (35%), insônia (21%) e irritabilidade (20%).

Dessa forma, verificou-se que os efeitos colaterais podem ser observados logo após a ingestão ou não geram nenhum sintoma aparente. Esses efeitos estão associados com os ingredientes incorporados nas bebidas energéticas, como o consumo excessivo de cafeína e açúcar que podem causar vômito, dor abdominal, alucinações, convulsões, arritmias, incontinência urinária, dependência, perda de apetite e morte súbita (Lino; Silva, 2019; Soares *et al.*, 2021).

Além disso, a associação de bebidas energéticas com bebidas de teor alcoólico pode ser extremamente perigosa por conta dos efeitos neuro-farmacológicos da cafeína que potencializam com o álcool e causa a intoxicação. Isso ocorre devido a desidratação pela diurese, prejudicando o metabolismo da substância no corpo, e como também pela diminuição da consciência de incapacidade física e mental (Soares *et al.*, 2021).

Outra associação importante é o uso de bebidas energéticas após as atividades físicas, pois somente bebidas para atletas devem ser consumidas após a prática de exercícios intensos com o intuito de repor carboidratos, minerais e eletrólitos perdidos durante as atividades (Ribeiro, 2018a). Portanto, bebidas para atletas são enquadradas como outras bebidas, e devem seguir a sua determinada legislação.

2.5.6. Processo de elaboração da bebida energética

O processo de elaboração de bebidas energéticas é similar a elaboração de refrigerantes (Figura 11). Assim, apresenta duas fases, o xarope simples e xarope composto (mistura dos ingredientes). Depois, passa por resfriamento, carbonatação e envase (Vieira, 2019).

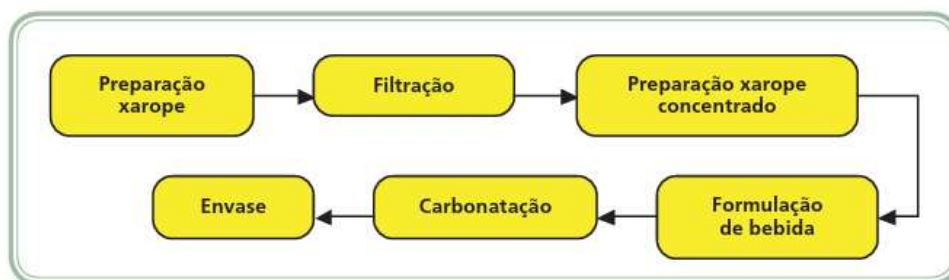


Figura 11. Fluxograma da elaboração de bebida energética ou de refrigerantes.
Fonte: Lima e Filho (2011).

O xarope simples consiste na dissolução de açúcar em água potável em tanques de inox. Nesse momento, utiliza-se carvão ativado para retirar sabor estranho e promover clarificação. A concentração de sólidos solúveis deve apresentar aproximadamente de 50 °Brix (Celestino, 2010).

O xarope composto apresenta a adição dos demais ingredientes (taurina, cafeína, glucoronolactona, inositol, pantenol, niacina, vitaminas do complexo B, corantes, conservantes) em tanque inox com agitação para garantir a total homogeneização dos aditivos. Posteriormente, o xarope é diluído com água potável, e em seguida, a bebida deve ser carbonatada e envasada (Lima e Filho, 2011).



3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

Elaborar bebida energética a partir de gengibre amargo (*Zingiber zerumbet* Smith) e guaraná (*Paullinia cupana*) com o intuito de obter um produto funcional.

3.2. ESPECÍFICOS

- ✚ Realizar a coleta do rizoma e raízes de *Zingiber zerumbet* para determinar o rendimento do óleo essencial;
- ✚ Realizar análises fitoquímicas do óleo essencial de *Z. zerumbet*;
- ✚ Caracterizar os parâmetros físico-químicos do rizoma de *Z. zerumbet* e do pó do guaraná (*Paullinia cupana*);
- ✚ Avaliar o teor de cafeína presente nos extratos do guaraná (*P. cupana*);
- ✚ Desenvolver testes farmacológicos *in vivo* do óleo essencial de *Z. zerumbet*;
- ✚ Elaborar a bebida energética;
- ✚ Caracterizar os parâmetros físico-químicos da bebida energética.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. COLETA DA PLANTA

Os materiais vegetais utilizados foram os rizomas e raízes de *Zingiber zerumbet*, coletados na Unidade Demonstrativa de Cultivo e Bioprospecção de Espécies Amazônicas para Cadeia Produtiva de Biofármacos, Biocosméticos e Alimentos– INPA/FINEP, localizado no ramal do Pau-Rosa, km 21 da BR-174, de acordo com as coordenadas geográficas, latitude 2°47'51.1"S e longitude: 60°09'09.5" W.

As coletas dos materiais vegetais foram realizadas em quatro meses, com duas coletas durante o período chuvoso (fevereiro e maio) e duas no período seco (agosto e novembro) (Antonio, 2017), conforme os aspectos climáticos de Manaus, para as análises de sazonalidade de rendimento de óleo essencial e da sua composição química (Ferreira *et al.*, 2020).

Após a coleta dos rizomas e raízes de cada mês, os materiais vegetais foram higienizados com água corrente e separados em amostras frescas e secas em estufa, seguidos de trituração em liquidificador semi-industrial (Figura 12).



Figura 12. Material fresco (lado esquerdo) e seco em estufa (lado direito) de gengibre amargo.
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

4.2. PREPARAÇÃO DA EXSICATA

A exsicata foi preparada com material seco prensado com jornais e suportes de madeira (Rotta, 2008). Posteriormente, foi enviada e depositada sob o n° 289899, no herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) para a identificação, na qual foi obtida por meio da comparação com outra amostra depositada no herbário sob o n° 224975, sendo esta

coletada em 2007 e identificada pelo especialista Prof. Dr. Paul Maas (Department of Plant Ecology and Evolutionary Biology) – Herbarium University of Utrecht (Figura 13).



Figura 13. Exsicata de *Zingiber zerumbet* (esquerda) e amostra para comparação (direita).
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

4.3. AQUISIÇÃO DO GUARANÁ

O produto utilizado foi o pó do guaraná, sendo este adquirido nos mercados locais da cidade de Manaus, ambos com a procedência da cidade de Maués, e foram armazenados em frascos de plástico (Figura 14). Para obtenção do pó do guaraná utilizou-se o processo de torrar e triturar as sementes.

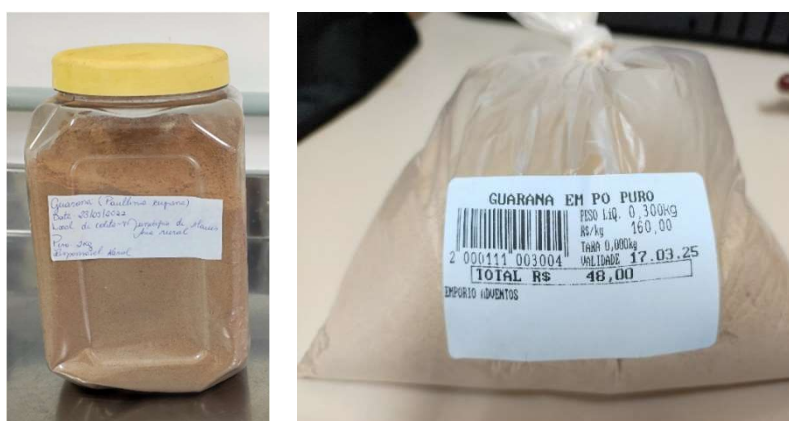


Figura 14. Pó de guaraná (*Paullinia cupana*).
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

4.4. AQUISIÇÃO DOS DEMAIS MATERIAIS PARA O ENERGÉTICO

A taurina, os açúcares (açúcar mascavo e demerara) e o edulcorante (xilitol) foram obtidos em mercado local da cidade de Manaus. Após a obtenção dos insumos foram armazenados de acordo com as recomendações de cada produto.

4.5. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

4.5.1. Extração dos óleos essenciais de gengibre amargo

Para a extração do óleo essencial foi aplicado o método de hidrodestilação utilizando o aparelho Clevenger modificado, de marca Mylabor, acoplado a um balão de fundo redondo de 12 L e uma manta aquecedora calibrada na temperatura de 80 °C, com o sistema envolvido em folha de alumínio para proteger da luminosidade (Figura 15) (Machado, 2015). A extração foi realizada no Laboratório Temático de Química e Farmacologia de Produtos Naturais (LTQFPN/INPA), utilizando amostras do material fresco e seco em estufa.



Figura 15. Método de hidrodestilação.
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

Os rizomas e raízes de gengibre amargo fresco foram triturados, pesados (300 g) e adicionados ao balão com água destilada q.s.p, de acordo com a quantidade do material a ser utilizado. Para as amostras secas em estufa, os rizomas de gengibre amargo foram cortados em rodela, levados a estufa com circulação de ar, à temperatura de 70 °C por 72 horas (Tian *et al.*, 2020), triturados, pesados (300 g) e colocados no balão com água destilada q.s.p.

As extrações foram realizadas em triplicatas, sendo denominadas de FR01 para amostras do material fresco e SE01 para amostras do material seco em estufa. O tempo de extração foi

de 8 horas, com coletas de 4 em 4 horas do óleo essencial, contados a partir da ebulição da amostra (Pinheiro, 2017). Após esse procedimento, o óleo essencial extraído foi colocado em tubos de ensaio (Figura 16), centrifugado, seco com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) para a eliminação total da umidade, e calculado seu rendimento (Silva *et al.*, 2020).



Figura 16. Óleo essencial de *Z. zerumbet*.
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

O cálculo de rendimento do óleo essencial de gengibre amargo em ml.g^{-1} de (GURGEL, 2009).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{V \times 100}{P}$$

Onde: V = volume do óleo; P= peso do material botânico.

4.5.2. Extrato hidroalcoólico de gengibre amargo

O extrato hidroalcoólico foi obtido por meio da maceração de 400 g de rizomas de gengibre amargo secos em estufa, adicionados em um frasco Mariotte de 2 L, com 800 mL de álcool de cereais (96%) e 800 mL de água destilada, por 72 h (Machado, 2015), em ambiente sem iluminação. Posteriormente, foi filtrado e colocado em banho-maria à 70°C para homogeneizar e aquecer o extrato, resultando na eliminação do excesso de solvente (Castro *et al.*, 2017) (Figura 17).



Figura 17. Processo de obtenção do extrato de gengibre amargo.
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

4.5.3. Extrato alcoólico de guaraná

O extrato alcoólico foi obtido com 500 g do pó do guaraná e 500 mL de álcool de cereais (96%), sendo estes macerados em frasco Mariotte (2 L), por 5 dias (120 horas) (Steffani *et al.*, 2022 adaptado). Após, este foi filtrado, centrifugado a 3.000 rpm por 20 min e o sobrenadante foi isolado (Figura 18). O extrato foi mantido em geladeira e a eliminação do solvente foi realizado sob aquecimento durante o preparo do xarope.



Figura 18. Processo de obtenção do extrato alcoólico de guaraná.
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

4.5.4. Extrato hidroalcoólico de guaraná

O extrato hidroalcoólico foi produzido com 14 g do pó do guaraná, de acordo com a legislação nº 6.871/2009 e o limite do consumo diário de guaraná (Oliveira *et al.*, 2018) utilizando a solução de 700 mL álcool de cereais (96%) e 300 mL de água mineral (7:3). Após

24 horas de extração sob o agitador magnético, foi centrifugado a 3.000 rpm por 20 min para isolar o sobrenadante (Silva, 2018; Bittencourt *et al.*, 2013) (Figura 19). Assim como o extrato anterior, a eliminação do solvente foi realizada durante o preparo do xarope.



Figura 19. Processo de obtenção do extrato hidroalcoólico de guaraná.
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

4.6. CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA

4.6.1. Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas – CG-EM

A análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Abertura de Amostras e Ensaio Químicos da Universidade Federal do Amazonas (LAEQ/UFAM). O equipamento utilizado foi o modelo trace GC Ultra Thermo Scientific, com coluna capilar de 5% difenil – 95% dimetilsiloxano (30 m x 0,25 mm x 25 μ m de espessura de filme), e o gás de arraste utilizado foi o hélio com fluxo de 1,2 mL.min⁻¹ (Figura 20).



Figura 20. Equipamento de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

Para a injeção da amostra utilizou-se 1 μL de uma solução de 10 mg de óleo em 1 mL de acetato de etila, em temperatura de 250 $^{\circ}\text{C}$ do injetor e da interface. Em relação ao programa de temperatura foi de 40 a 280 $^{\circ}\text{C}$, utilizando uma rampa de 4 $^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$. O espectrômetro de massas foi obtido por meio do impacto eletrônico a 70 eV, com a temperatura da fonte de íons 220 $^{\circ}\text{C}$ (Ferreira *et al.*, 2020).

A identificação dos componentes voláteis foi obtida de acordo com o índice de retenção linear (IR) calculado em relação aos tempos de retenção de uma série homóloga de n-alcanos integrada, bem como por meio do padrão de fragmentação observados nos espectros de massas, sendo comparados com as amostras autênticas presentes nas bibliotecas do sistema de dados, da literatura (Adams, 2017) e por comparação ao Padrão Sigma de Zerumbona a 98%.

4.7. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICAS

Os rizomas e raízes *in natura* de gengibre amargo foram cortados, triturados com o liquidificador semi-industrial, pesados e dividido em triplicatas para cada análise;

O pó do guaraná foi pesado e dividido em triplicatas, assim como o gengibre amargo.

4.7.1. Teor de umidade

Para a determinação do teor de umidade do gengibre amargo *in natura* e do pó do guaraná, foi pesado aproximadamente 3 g para cada repetição, sendo utilizado uma estufa, a temperatura de 105 $^{\circ}\text{C}$ até o peso constante (IAL 2008).

O resultado foi calculado pela equação 2:

$$\text{Umidade (\%)} = \frac{100 \times N}{P}$$

Onde: N= a perda de peso em g e P= peso *in natura* das amostras em gramas.

4.7.2. Matéria seca

A análise de matéria seca foi realizada por meio dos dados obtidos do teor de umidade, utilizando o mesmo peso/amostra de gengibre amargo e guaraná. Os rizomas processados e o pó do guaraná passaram por uma dessecação, a uma temperatura de 105 °C até se obter um peso constante. Após a obtenção do peso pelo processo de dessecação, calculado em percentagem o peso da *matéria fresca*, foi obtido o extrato seco.

O resultado foi calculado pela equação 3:

$$\text{Matéria Seca (\%)} = \frac{P'}{P \times 100}$$

Onde: P' = peso em gramas da amostra após a dessecação e P = peso em gramas da amostra antes da dessecação.

4.7.3. Cinzas

Para determinação do teor de cinzas, os rizomas secos (1 g) e pó do guaraná (3 g), contidos em cadinhos de porcelana, foram queimados sob uma chama de fogo apoiado em tela de amianto. Após a queima, os cadinhos foram levados para a mufla, em uma temperatura próxima de 550 °C, até a eliminação completa do carvão.

O resultado foi calculado pela equação 4:

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{100 \times N}{P}$$

Onde: N = peso em g de cinzas e P = peso em g da amostra.

4.7.4. Lipídio

Para a análise de lipídio, foi preparado os cartuchos com papel de filtro para agregar as amostras de gengibre amargo (2 g) e guaraná (2 g). Posteriormente, os cartuchos foram posicionados no extrator Soxhlet e adicionados de hexano, sob aquecimento em manta. Após a



extração de 6 horas, o hexano foi recuperado e o balão com a amostra de lipídios foi seco em estufa para obtenção do resultado analítico.

O resultado foi calculado pela equação 5:

$$\text{Lipídio (\%)} = \frac{100 \times N}{P}$$

Onde: N = peso em g de lipídios e P = peso em g da amostra.

4.7.5. Proteína total

O processo de determinação de nitrogênio total é dividido em três etapas: digestão, destilação e titulação (método de micro-Kjeldahl). A quantidade usada de gengibre amargo foi 0,2 g total e de guaraná foi 0,02 g total.

A primeira etapa, digestão, a amostra foi pesada em cartucho de papel manteiga e adicionada em um tubo de ensaio juntamente com ácido sulfúrico concentrado e mistura catalítica, composta de sulfato de potássio anidro (50 g) e sulfato de cobre (5 g). Em seguida, o tubo foi aquecido em bloco digestor por 4 horas.

Para a segunda etapa, destilação, foi utilizado o destilador de nitrogênio. O tudo de ensaio, resfriado após a digestão, foi acoplado no aparelho e adicionado de hidróxido de sódio (NaOH) 40% para o aquecimento com vapor. O condensado foi coletado em um Erlenmeyer previamente adicionado de ácido bórico (5 mL) e duas gotas de fenolftaleína, para a titulação.

A terceira etapa, consiste na titulação do borato de amônia com ácido clorídrico 0,1 M, formando o cloreto de amônia. Por não conter valor predeterminado na tabela do método o fator de conversão de nitrogênio em proteínas, foi utilizado o padrão 6,25.

O resultado foi calculado pela equação 6:

$$\text{Proteína (\%)} = \frac{(\text{Vol. titulação} - \text{Branco}) \times \text{FD} \times \text{N} \times 0,014 \times 100}{P \times \text{FC}}$$

Onde: Vol. titulação = Volume de HCl; Branco = Volume de HCl do Branco; FD = Fator de diluição de HCl; N = Concentração de HCl; P = peso em g da amostra e FC = Fator de conversão de proteína.

4.7.6. Fibra bruta

Para o teor de fibra foi utilizado amostra seca e desengordurada nos sachês de gengibre amargo (0,1 g) e guaraná (1 g), depois fechado com selador a quente. Foram adicionados 2 L

da solução de H_2SO_4 e ligado o equipamento. Após a primeira drenagem, foi adicionado 2 L da solução de NaOH. Efetuada a segunda drenagem, lavada com água quente, dessecou-se os materiais em estufa a $105\text{ }^\circ\text{C}$. E o material do guaraná foi levado para mufla a $550\text{ }^\circ\text{C}$, com o intuito de obter as cinzas da fibra (IAL, 2008).

O resultado foi calculado pela equação 7:

$$\text{FB (\%)} = \frac{(A - T) - B - F \times 100}{P}$$

Onde: A = Peso do Cadinho; T = Tara do Saquinho; B = Peso do Cadinho Incinerado; F = Fator de correção e P = Peso de Amostra.

4.7.7. Carboidrato

O teor de carboidratos das amostras do pó do guaraná e gengibre foram avaliados de acordo com a soma dos resultados obtidos de umidade, cinzas, lipídios, proteínas e fibras, subtraídos por 100, e expresso em percentagem (IAL, 2008).

Equação 8:

$$\text{Carboidrato (\%)} = 100 - (\text{umidade} + \text{cinzas} + \text{proteínas} + \text{lipídios} + \text{fibras})$$

4.7.8. Valor energético

A determinação do valor energético das amostras do pó do guaraná e gengibre foram obtidas de acordo com De Angelis (1977), sendo calculado os fatores de conversão de Atwater.

Equação 9:

$$\text{Valor energético (kcal/100g)} = (4 \times \text{proteína}) + (9 \times \text{lipídios}) + (4 \times \text{carboidratos})$$

4.7.9. Determinação do potencial hidrogeniônico

A determinação do potencial hidrogeniônico (pH) das amostras foram realizadas pela leitura direta no pHmetro. Para as amostras do pó do guaraná foi pesado 3 g, e para as amostras de gengibre *in natura* foi pesado 5 g. Ambas as amostras foram divididas em triplicatas e diluídas em 50 mL de água destilada para cada amostra (IAL, 2008).

4.7.10. Acidez titulável

A acidez foi avaliada de acordo com o método de acidez titulável (IAL, 2008). A amostra do pó do guaraná (3 g) foi diluída em 50 mL de água destilada com 3 gotas da solução de fenolftaleína. Ambas as amostras foram realizadas em triplicatas e tituladas com a solução de hidróxido de sódio (0,1 M) até obter a coloração rósea.

O resultado foi calculado pela equação 10:

$$\text{Acidez em solução molar (g de ácido cítrico/ mL de solução)} = \frac{V \times F \times 100}{P \times c}$$

Onde: V = nº de mL da solução de hidróxido de sódio 0,1 ou 0,01 M gasto na titulação; F= fator da solução de hidróxido de sódio 0,1 ou 0,01 M; P = nº de g da amostra usado na titulação e c = correção para solução de NaOH 1 M, 10 para solução NaOH 0,1 M e 100 para solução NaOH 0,01 M.

4.7.11. Determinação de cor

A cor das amostras foi determinada pelo colorímetro Minolta Chroma Meter CR-400, em triplicata, de acordo com o posicionamento do equipamento sobre amostra. Os resultados foram interpretados pelo sistema CIELAB, utilizando as coordenadas L*, a* e b* dadas pelo equipamento, onde:

- ✚ Luminosidade L*: trata-se da escala de zero (preto) a 100 (branco);
- ✚ Coordenada de cromaticidade a*: apresenta a variância de a* positivo (tendência da cor para tonalidade vermelha) até a* negativo (tendência da cor para tonalidade verde);
- ✚ Coordenada de cromaticidade b*: apresenta a variância de b* positivo (tendência da cor para tonalidade amarela) até b* negativo (tendência da cor para tonalidade azul).

4.8. DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA DO GUARANÁ

Para a determinação de cafeína do pó e dos extratos alcoólicos e hidroalcoólicos do guaraná, as amostras foram enviadas para o Laboratório Central Analítica – LCA, do Centro de Biotecnologia da Amazônia.

Nos procedimentos de análise da cafeína dos extratos foi empregada a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência e para a extração da cafeína do pó do guaraná foi utilizado o método de extração por ultrassom em solvente orgânico.

A cromatografia líquida de alta eficiência apresenta a fase móvel líquida, com o mecanismo de disputa entre as moléculas da amostra e as da fase móvel pelos sítios ativos da



fase estacionária. A fase móvel (solvente) é forçada a passar pela fase estacionária (coluna cromatográfica) através da bomba de alta pressão, ocasionando a separação por intermédio dos diferentes contatos de cada componente da amostra com a coluna cromatográfica (Pinto *et al.*, 2022).

O método de extração por ultrassom possui o principal mecanismo, a cavitação, que cria microcanais nas amostras para facilitar a penetração do solvente. É uma técnica que requer menor tempo de extração, tem simplicidade e baixo custo (Guglielmetti *et al.*, 2017).

Para a quantificação de cafeína foi realizado a construção de uma curva padrão de sete pontos e utilizou a equação geral da reta para encontrar os valores de cafeína para cada amostra. Os resultados analíticos encontrados foram corrigidos em função da porcentagem da recuperação da extração.

4.9. ENSAIOS FARMACOLÓGICOS

Para a utilização dos animais farmacológicos *in vivo*, o projeto foi submetido ao Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/INPA, sendo aprovado no dia 02 de maio de 2022, com o número Parecer Técnico nº 47/2022. Os animais utilizados foram:

- a) **Ratos** – *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, fêmeas com peso variando entre 276 e 339 gramas.
- b) **Camundongos** – *Mus musculus*, linhagem BALB/C de ambos os sexos com peso entre 18 e 32 gramas.

4.9.1. Testes gerais de atividades farmacológicas (Screening Hipocrático)

Os efeitos gerais de toxicidade do óleo essencial de *Z. zerumbet* obtidos foram realizados utilizando-se camundongos machos e fêmeas, com peso entre 18 e 32g. Seis grupos contendo cinco animais cada foram injetados por via intraperitoneal (i.p) com doses de 250 mg.kg⁻¹; 500 mg.kg⁻¹; e 1000 mg.kg⁻¹. E dois grupos com cinco animais cada foram submetidos ao jejum de 20 horas antes dos testes, e depois, foram injetados por via oral (v.o) com doses de 1500 mg.kg⁻¹ e 2500 mg.kg⁻¹.

Após a injeção do óleo essencial, os animais foram observados por aproximadamente 180 minutos sobre uma superfície plana, e em seguida foram mantidos em observação por 24 h, 48 h e até 14 dias. Os parâmetros observados foram anotados em tabelas adaptadas e descritas por Silva (1968).



O teste total apresentou oito grupos com cinco animais, sendo um animal de cada grupo usado como controle negativo (Tween 20 com soro fisiológico). O teste via intraperitoneal foi realizado em dois grupos para cada dose, sendo um macho e outro fêmea. E o teste via oral foi realizado em fêmeas com apenas um grupo por dose.

4.9.2. Toxicidade aguda (doses simples)

A toxicidade aguda dos óleos essenciais de *Z. zerumbet* foi realizada durante as avaliações comportamentais e sistêmicas com testes de campo aberto e de bastão, utilizando as mesmas doses para via intraperitoneal 250 mg.kg⁻¹; 500 mg.kg⁻¹; e 1000 mg.kg⁻¹, e para via oral 1500 mg.kg⁻¹ e 2500 mg.kg⁻¹ (Chan *et al.*, 1982).

Nestes experimentos, as análises farmacológicas forneceram informações acerca dos riscos para a saúde resultante de uma exposição de curta duração, com período de 24 h, 48 h e até 14 dias, pelas vias oral e intraperitoneal em camundongos (Salvadori, 2013), com grupos de cinco animais, sendo um animal do grupo controle (Tween 20 com soro fisiológico).

4.9.3. Atividade anti-inflamatória: edema de pata induzido por formalina

Neste modelo, o efeito antiedematogênico do óleo essencial de *Z. zerumbet* foi estudado em 1 grupo de 8 animais (*R. norvegicus*), sendo dois animais para o controle positivo e dois para o controle negativo. Nesse grupo foi realizado a medida do volume basal de ambas as patas e em seguida os animais foram tratados por gavagem (via oral), com auxílio de uma cânula metálica.

O grupo tratado recebeu o óleo essencial na dose escolhida (500 mg.kg⁻¹), os dois animais controles positivos receberam 10 ml.kg⁻¹ de indometacina e os dois animais controles negativos receberam 10 ml.kg⁻¹ de Tween 20 com soro fisiológico. O edema foi induzido nas patas traseiras dos animais injetando 0,1 mL.pata⁻¹ de uma solução de formalina a 2%, e na pata contralateral foi injetada com mesmo volume de solução fisiológica, e após uma hora os animais foram tratados por via oral (Tjølsen *et al.*, 1992).

O volume da pata direita (D) e esquerda (E) foram medidos com paquímetro imediatamente após a injeção, e as leituras foram repetidas até a 4^o hora após o estímulo. O valor do edema foi obtido pela subtração do volume da pata injetada com salina e do volume injetada com formalina (Lapa, 2005).



4.10. ELABORAÇÃO DA BEBIDA ENERGÉTICA

A elaboração da bebida energética foi realizada no Laboratório de Bioquímica e Nutrição do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA.

4.10.1. Delineamento experimental

A elaboração da bebida energética consiste na adição de gengibre amargo, guaraná, açúcares (mascavo e demerara) e o xilitol. O teste de formulação foi realizado com 12 bebidas energéticas com o intuito de apresentar as variáveis dos extratos de gengibre amargo (hidroalcoólico e óleo essencial), guaraná (hidroalcoólico e alcoólico) e os xaropes contendo açúcares ou edulcorante (Tabela 1).

Tabela 1. Delineamento experimental da bebida energética.

Bebidas energéticas	Açúcar	Extratos
Bebida A1	Mascavo	Alcoólico de guaraná e hidroalcoólico de gengibre amargo
Bebida A2	Demerara	
Bebida A3	Xilitol	
Bebida A4	Mascavo	Alcoólico de guaraná e óleo essencial de gengibre amargo
Bebida A5	Demerara	
Bebida A6	Xilitol	
Bebida H1	Mascavo	Hidroalcoólico de guaraná e de gengibre amargo
Bebida H2	Demerara	
Bebida H3	Xilitol	
Bebida H4	Mascavo	Hidroalcoólico de guaraná e óleo essencial de gengibre amargo
Bebida H5	Demerara	
Bebida H6	Xilitol	

4.10.2. Xarope de guaraná

O xarope de guaraná foi obtido pela dissolução do extrato de guaraná, água mineral e 52% de açúcares ou edulcorante, dado em peso, de acordo com o Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009 (BRASIL, 2009) em temperatura baixa até obter o ponto de xarope. Foi realizado seis xaropes de guaraná, sendo três com extrato hidroalcoólico e três com extrato alcoólico (Figura 21).

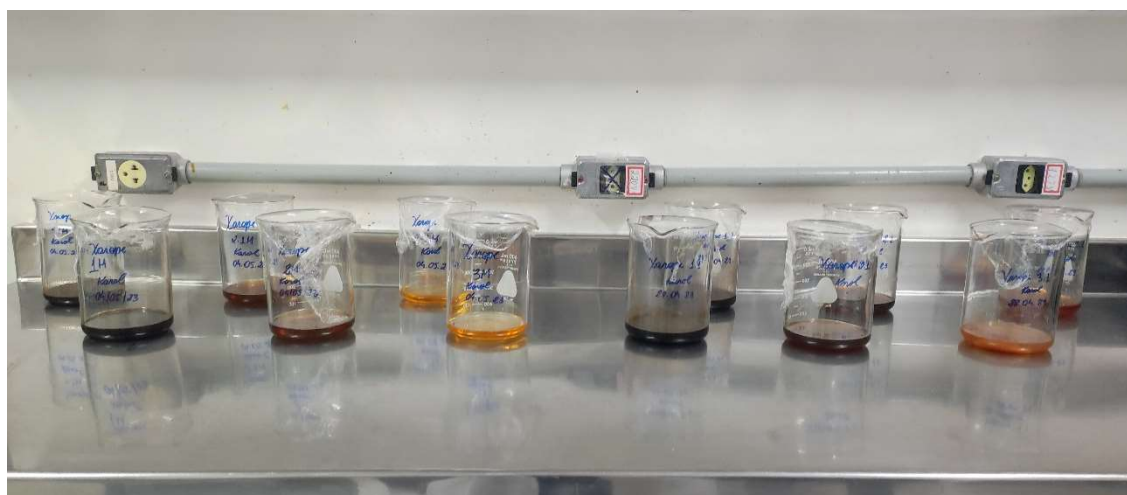


Figura 21. Xarope com extrato hidroalcoólico de guaraná (béqueres à esquerda) e com extrato alcoólico de guaraná (béqueres à direita).

Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

4.10.3. Bebida energética

A bebida energética foi elaborada de acordo com a Resolução RDC nº 273 de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005), atendendo os requisitos mínimos de características e qualidade para as bebidas denominadas Composto Líquido Pronto para o Consumo.

O aditivo alimentício inserido foi o extrato de gengibre amargo (óleo essencial e hidroalcoólico). Além disso, com o intuito de substituir o máximo de insumos químicos por naturais, foi adicionado o xarope de guaraná no lugar da cafeína, e o inositol e a glucoronolactona foram substituídos por açúcar mascavo, demerara ou edulcorante xilitol.

A elaboração de bebidas energéticas é semelhante com a produção de refrigerantes, apresentando modificações em alguns ingredientes, como a adição de taurina. Abaixo, o fluxograma das etapas da elaboração da bebida energética (Figura 22) para garantir as características, qualidade e certificar que o produto final esteja dentro das especificações.

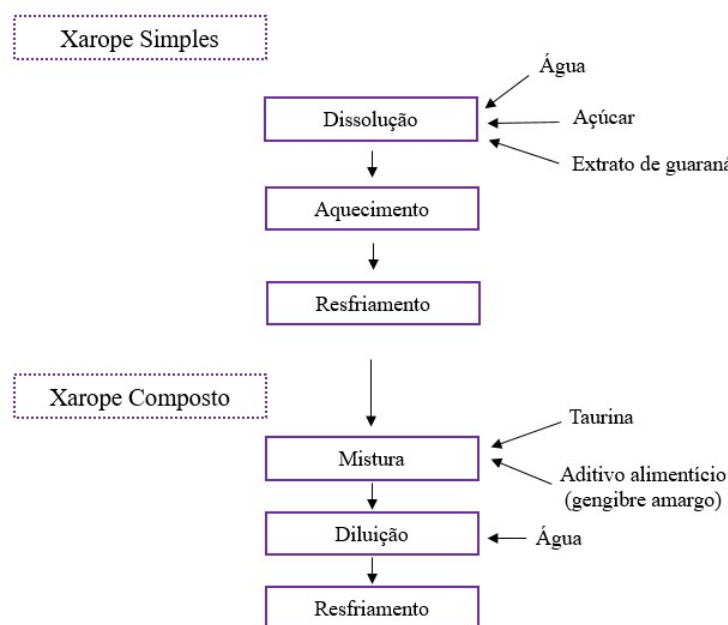


Figura 22. Fluxograma da elaboração da bebida energética.
Fonte: SILVA (2016).

O fluxograma apresenta dois estágios, o preparo do xarope simples (xarope de guaraná) e o de xarope composto (mistura dos outros ingredientes). A bebida foi colocada em vidraria âmbar para minimizar a cristalização e oxidação do óleo essencial. Além disso, o vidro é o material mais inerte utilizado para embalagens de alimentos, por ser considerado impermeável a gases, reciclável e por não apresentar perdas de suas características originais (Barão, 2011).

4.11. PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA BEBIDA ENERGÉTICA

4.11.1. Determinação do potencial hidrogeniônico

A determinação do potencial hidrogeniônico (pH) das bebidas energéticas foram realizadas pela leitura direta no pHmetro digital portátil, da marca ATC, modelo ATC009, com 5 mL de amostra de cada bebida (IAL, 2008).

4.11.2. Acidez titulável

Para a determinação da acidez titulável foi utilizado 5 mL de cada bebida diluída em 50 mL de água destilada, e acrescentada de quatro gotas da solução de fenolftaleína (IAL, 2008). As amostras foram realizadas em triplicatas e tituladas com a solução de hidróxido de sódio (0,1 M) até obter a coloração rósea.

O resultado foi calculado pela equação 11:



$$\text{Acidez em solução molar (g de ácido cítrico/ mL de solução)} = \frac{V \times F \times 100}{P \times c}$$

Onde: V = nº de mL da solução de hidróxido de sódio 0,1 ou 0,01 M gasto na titulação; F= fator da solução de hidróxido de sódio 0,1 ou 0,01 M; P = nº de g da amostra usado na titulação e c = correção para solução de NaOH 1 M, 10 para solução NaOH 0,1 M e 100 para solução NaOH 0,01 M.

4.11.3. Sólidos solúveis totais

Os sólidos solúveis totais foram determinados por meio da leitura direta em refratômetro portátil, da marca ATC, modelo HT 116. As amostras das bebidas energéticas, 1 ou 2 gotas, foram colocadas sobre o prisma para revelar o valor da densidade e sólidos solúveis totais (IAL, 2008).

4.11.4. Determinação de cor

A determinação de cor das bebidas foi realizada da mesma forma que foi empregada para as amostras *in natura* do gengibre amargo e pó do guaraná, seguindo o sistema CIELAB. As amostras das bebidas foram divididas em triplicatas, e os resultados foram interpretados de acordo com as coordenadas L*, a*e b* dadas pelo equipamento.

4.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram obtidos a partir de análises em triplicatas, sendo estas calculadas a média e o desvio padrão de cada indicador. Os resultados foram avaliados estatisticamente por meio da Análise de Variância (ANOVA), aplicando o teste comparativo de médias, Tukey, em parcelas inteiramente casualizadas com 5% de significância no Programa Prism 9, versão 9.5.1 (733), janeiro 26, 2023.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL

A cidade de Manaus possui clima equatorial úmido, representado por altos índices pluviométricos, médias mensais de temperaturas e umidade relativa de ar elevadas. Como não tem estações definidas, é dividido por dois períodos, o seco e o chuvoso. O seco compreende os meses de junho a novembro, com altas temperaturas e baixa precipitação (34 °C a 30 °C), e o chuvoso, de dezembro a maio, com temperaturas mais amenas e alta precipitação (28 °C a 30 °C) (Figura 23) (Lima; Aleixo, 2023).

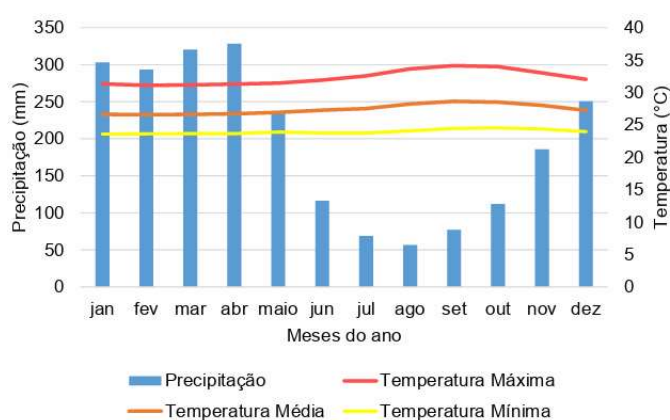


Figura 23. Sazonalidade climática de Manaus, Amazonas, de acordo com médias mensais dos elementos climáticos de 1990 – 2020.

Fonte: Lima e Aleixo (2023).

De acordo com Antonio (2017), a sazonalidade climática de Manaus é caracterizada por três meses de seca suave a moderada (julho, agosto e setembro), seis meses de chuvas (dezembro a maio) e os meses restantes são caracterizados por períodos de transição, sendo que junho para o período seco, e outubro e novembro para o chuvoso (Tabela 2).



Tabela 2. Índice de Porcentagem Normal – IPN e classificação de severidade climática anual de Manaus, Amazonas, no período de 1971 a 2010.

Mês	IPN adimensional	Classe de severidade
Janeiro	0,1039	Úmido
Fevereiro	0,1143	Úmido
Março	0,1257	Úmido
Abril	0,1262	Úmido
Maiο	0,1063	Úmido
Junho	0,0648	Próximo do normal
Julho	0,0459	Seca suave a moderada
Agosto	0,0421	Seca suave a moderada
Setembro	0,0434	Seca suave a moderada
Outubro	0,0615	Próximo do normal
Novembro	0,0731	Próximo do normal
Dezembro	0,0928	Úmido
Méd. ano	0,0833	

Onde: IPN foi calculado de acordo com as médias mensais e anuais da precipitação do período de 1971 a 2010.
Fonte: Antonio (2017).

O rendimento de óleo essencial com o material fresco apresentou pouca variação entre os meses secos e chuvosos, sendo que o mês de fevereiro e novembro obtiveram os maiores percentuais, 0,91 e 1,00% respectivamente. Já o mês de maio e agosto o rendimento foi de 0,67 e 0,73%, respectivamente.

Enquanto as amostras secas em estufa apresentaram percentual de rendimento significativo com certa variabilidade sazonal. Dessa forma, no mês de agosto obteve-se o maior rendimento com 3,48%. Em seguida, maio com 3,16%, fevereiro (2,32%) e novembro (2,20%).

Segundo o teste de Tukey, não houve diferença estatística para as amostras frescas em relação a sazonalidade climática de Manaus, apesar da leve variação do percentual de rendimento. Porém, para as amostras secas em estufa, o teste indicou variabilidade sazonal para o mês de agosto (período seco), sendo que o mês de maio (chuvoso) apresentou similaridade com a sua média de percentual de rendimento. Assim como apresentou similaridade entre fevereiro e maio, e novembro com fevereiro (Tabela 3).

Tabela 3. Percentual de rendimento dos óleos essenciais de *Zingiber zerumbet*, coletados após 4 horas, sobre a sazonalidade climática da cidade de Manaus, Amazonas.

Meses	Rendimento Fresco (%)	Rendimento Seco em Estufa (%)	Temperatura Média Mensal (°C)	Pluviosidade Mensal (mm)
2021				
Novembro	1,00 ^a	2,20 ^a	27,05	112,55
2022				
Fevereiro	0,91 ^a	2,32 ^{ab}	26,05	525,10
Maio	0,67 ^a	3,16 ^{bc}	27,05	250,05
Agosto	0,73 ^a	3,48 ^c	29,05	75,05

Obs.: Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Além disso, quando foi comparado as amostras frescas e secas em estufa, sobre o percentual de rendimento do óleo essencial do gengibre amargo, foi possível observar diferença significativa entre os meses de coleta. Desse modo, os rizomas e raízes submetidos à secagem apresentaram os melhores resultados quanto ao rendimento de óleo essencial comparado às amostras frescas.

Outro fator observado foi quanto ao tempo de coleta do óleo essencial, pois o rendimento de cada extração após 08 horas não foi igual ou superior ao retirado após 04 horas de coleta. Esse resultado evidencia que uma extração por 8 horas não apresenta diferença entre as amostras frescas e secas (Figura 24), tornando-se ineficiente, dado aos gastos com a extração e ao baixo volume de óleo essencial coletado.

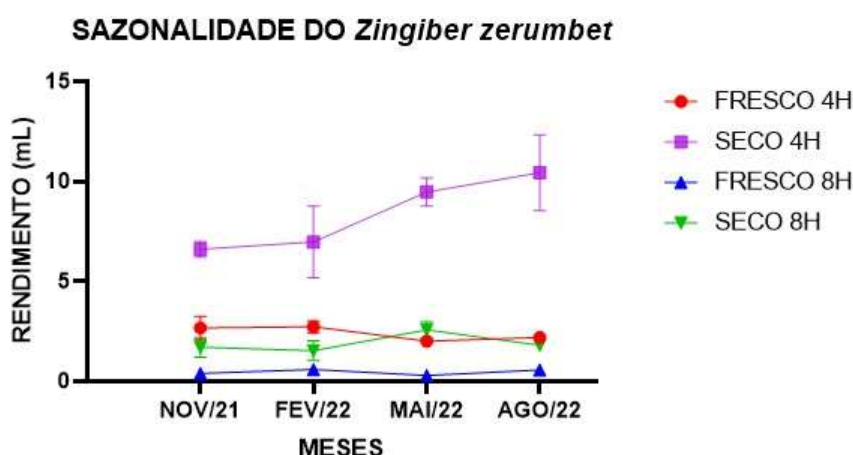


Figura 24. Sazonalidade do óleo essencial de *Zingiber zerumbet* em relação ao tempo de coleta.

Não há relatos na literatura sobre a sazonalidade para óleos essenciais do gênero *Zingiber*, o que resulta em uma pesquisa inédita. Logo, a discussão foi realizada conforme estudos de sazonalidade dos compostos químicos presentes na família Zingiberaceae, e sazonalidade do rendimento dos óleos essenciais de outras espécies.



De acordo com Ribeiro (2013), o estudo sazonal com o óleo essencial dos rizomas de *Hedychium coronarium* (Zingiberaceae), obtidos por meio da hidrodestilação, apresentaram concentrações elevadas dos componentes majoritários 1,8-cineol (28,30%) e β -pineno no mês de março (período chuvoso), sendo que o material vegetal foi coletado em Rio Barigui – Curitiba.

O estudo de Pamplona (2006) com a sazonalidade dos fitoconstituintes curcumenol e deidrona, presentes no extrato com diclorometano, da espécie *Curcuma zedoaria* (Zingiberaceae) mostrou que ambos compostos estão presentes em maior concentração nos rizomas coletados no outono, com concentrações de 33,1 mg.g⁻¹ para curcumenol e 25,4 mg.g⁻¹ para deidrocurdiona.

Dessa forma, a sazonalidade climática interfere na identificação e quantificação dos compostos químicos presentes nas espécies da família Zingiberaceae, além de apresentar influência quanto a localização e a espécie estudada, por exemplo.

Segundo o estudo de Ferreira e colaboradores (2020) que avaliou o efeito da sazonalidade dos meses de fevereiro e outubro da cidade de Belém-PA sobre os rendimentos dos óleos essenciais das folhas de *Piper divaricatum* (Piperaceae), obtidos por hidrodestilação e coletados em 6, 10, 14, 18 e 22h, apresentaram os melhores rendimentos no período seco (outubro) com (5,96; 5,62; 5,11 e 5,28% respectivamente), com exceção do horário de 22 h, cujo teor de óleo (4,37%) foi levemente superior no período chuvoso (fevereiro).

No estudo de Ribeiro e colaboradores (2018b) com a sazonalidade de Fortaleza-CE (dezembro a junho) com folhas de *Croton blanchetianus*, *Croton nepetifolius* e *Croton zehntneri* (Euphorbiaceae) foi possível verificar que o maior rendimento durante as estações chuvosa e seca foi com a espécie *C. zehntneri* (0,94% e 1,3%, respectivamente) apresentando diferenças estatísticas em relação às demais espécies. No entanto, as espécies *C. blanchetianus* e o *C. nepetifolius* não diferiram entre si.

Em relação ao rendimento de óleo essencial de *Z. zerumbet*, coletados na China, com o material fresco e seco em estufa à 40 °C por 72 horas, apresentou percentual de rendimento de 0,65% para material fresco, e 0,39% para seco em estufa (Tian, 2020).

Segundo o estudo de Huong e colaboradores (2020), o rendimento do óleo essencial de *Z. zerumbet*, coletados no Vietnã, obteve-se 0,65% de óleo essencial utilizando 500g de amostras secas em três horas de extração. Com a mesma forma de extração, foi encontrado no trabalho de Dai e colaboradores (2012), o percentual de rendimento de 0,40%, utilizando material seco em temperatura ambiente.



De acordo com a literatura, dados sobre o rendimento do óleo essencial de *Z. zerumbet* evidenciam que possivelmente essa variação de percentual de rendimento pode estar relacionada com fatores climáticos, localização e características de cultivo.

5.2. CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSA

A análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa do óleo essencial do rizoma de *Z. zerumbet* detectou sete componentes químicos para as amostras frescas e secas em estufa, divididas em 4 e 8 horas de extração, em relação à sazonalidade climática. A identificação foi realizada de acordo com o índice de retenção linear (IR), biblioteca do sistema de dados e com a literatura de Adams (2017).

Na Tabela 4, foi observado que o componente majoritário das amostras frescas, em 4 e 8 horas, foi a Zerumbona (2,6,10-cy-cloundecatrien-1-one,2,6,9,9-tetramethyl), um sesquiterpeno com fórmula molecular $C_{15}H_{22}O$ e peso molecular 218,25 m/z.

No material fresco com 4 horas, a Zerumbona variou de 54,77 a 92,26%, e com 8 horas variou de 60,21 a 98,19%, de acordo com o percentual de área do cromatograma. Outros componentes de maior expressão foram: Époxido de isoaromadendreno (0,01 a 21,84%), Époxido cis- α -bisaboleno (0,22 a 14,54%), Humuleno (0,07 a 9,61%), Óxido de cariofileno (1,04 a 2,89%), Cariofileno (0,04 a 0,68%) e Cis- α -bisaboleno (0,05 a 0,45%).

Para as amostras frescas com 8 horas, os componentes químicos identificados apresentaram os seguintes percentuais de área: Humuleno (0,36 a 28,27%), Óxido de cariofileno (0,49 a 8,51%), Époxido cis- α -bisaboleno (0,01 a 3,27%), Époxido de isoaromadendreno (0,01 a 3,11%), Cariofileno (0,02 a 2,50%) e Cis- α -bisaboleno (0,02 a 0,50%).

Cabe ressaltar que há diferença entre os teores dos constituintes químicos quando foi comparado os meses e o tempo de coleta, inclusive o maior percentual de área da Zerumbona foi encontrado em novembro de 2021 com 8 horas de extração, variando de 81,79 a 98,19%.

Tabela 4. Constituintes químicos encontrados no material fresco de *Zingiber zerumbet*, em relação ao tempo de coleta 4 e 8 horas.

Material fresco - 4 horas													
Constituintes	I.R	Novembro (2021)			Fevereiro (2022)			Maio (2022)			Agosto (2022)		
		FR 01	FR 03	FR 05	FR 07	FR 09	FR 11	FR 13	FR 15	FR 17	FR 19	FR 21	FR 23
Cariofileno	26.60	-	-	0.04	0.52	0.27	0.53	0.64	0.68	0.54	0.19	0.27	0.25
Humuleno	27.66	0.07	0.31	1.65	7.54	4.96	7.46	8.93	9.61	8.18	4.43	5.90	5.90
Óxido de cariofileno	32.23	1.31	2.06	2.89	2.23	1.75	2.01	1.89	2.02	1.88	1.04	1.23	1.21
Cis- α -bisaboleno	32.80	0.06	0.07	0.13	0.23	0.19	0.25	0.45	0.38	0.35	-	-	0.05
Époxido cis- α -bisaboleno	35.39	14.54	1.67	0.22	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Zerumbona	35.62	54.77	91.82	92.26	75.83	84.42	77.12	73.71	73.37	76.75	88.50	86.80	82.77
Époxido de isoaromadendreno	38.52	21.84	1.55	0.09	0.01	0.01	-	-	-	0.01	0.01	0.01	0.01

Material fresco - 8 horas													
Constituintes	I.R	Novembro (2021)			Fevereiro (2022)			Maio (2022)			Agosto (2022)		
		FR 02	FR 04	FR 06	FR 08	FR 10	FR 12	FR 14	FR 16	FR 18	FR 20	FR 22	FR 24
Cariofileno	26.60	0.02	-	0.02	1.54	1.55	1.74	1.72	2.28	2.50	0.49	0.42	1.10
Humuleno	27.66	0.73	0.36	0.99	20.22	20.08	20.79	22.55	27.43	28.27	13.78	10.94	24.96
Óxido de cariofileno	32.23	0.49	8.51	0.56	1.59	2.11	1.95	1.93	2.36	2.67	1.60	0.93	1.36
Cis- α -bisaboleno	32.80	0.02	0.12	0.02	0.11	0.25	0.35	0.50	0.50	0.41	0.17	0.06	0.08
Époxido cis- α -bisaboleno	35.39	0.11	3.27	0.09	-	-	-	-	-	-	0.01	-	0.01
Zerumbona	35.66	98.19	81.79	97.76	71.11	68.48	67.60	65.85	61.05	60.21	80.79	84.13	68.46
Époxido de isoaromadendreno	38.52	0.11	3.11	0.08	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	-	0.01	0.01

Onde: IR é o índice de retenção linear, e FR, o material fresco. Os valores foram tabelados conforme o percentual de área.

Na Tabela 5 está presente os sete constituintes químicos encontrados no material seco em estufa, com 4 e 8 horas de extração sobre os meses da sazonalidade climática. A Zerumbona se revelou como componente majoritário em todas as amostras secas, em ambos os tempos de coleta, exceto para a fração SE01 de novembro (2021) com 4 horas, pois o maior percentual de área foi para o componente Humuleno com 55,63%, e em seguida aparece a Zerumbona com 21,31%.

Logo, as amostras secas com 4 horas apresentaram os seguintes integrantes químicos: Humuleno (2,49 a 55,63%), Óxido de cariofileno (1,27 a 12,06%), Cariofileno (0,14 a 1,60%), Cis- α -bisaboleno (0,07 a 0,62%), Époxido de isoaromadendreno (0,01 a 0,05%) e Époxido cis- α -bisaboleno (0,01%).

Nas amostras secas com 8 horas foi observado a mesma ordem dos componentes químicos mencionados acima, com pouca diferença entre os valores. Além disso, os dados também mostraram diferença entre os meses e o tempo de coleta, com maior percentual para Zerumbona de novembro de 2021 com 8 horas de extração, variando de 92,55 a 94,07%.

Tabela 5. Constituintes químicos encontrados no material seco em estufa de *Zingiber zerumbet*, em relação ao tempo de coleta 4 e 8 horas.

Material seco em estufa - 4 horas													
Constituintes	I.R	Novembro (2021)			Fevereiro (2022)			Maio (2022)			Agosto (2022)		
		SE 01	SE 03	SE 05	SEFR 07	SE 09	SE 11	SE 13	SE 15	SE 17	SE 19	SE 21	SE 23
Cariofileno	26.60	1.60	0.17	0.31	0.19	0.14	0.16	0.62	0.99	0.80	0.64	0.43	0.46
Humuleno	27.66	55.63	5.63	9.34	3.54	2.49	3.00	9.37	13.55	11.65	12.83	9.65	9.61
Óxido de cariofileno	32.23	12.06	2.12	2.48	1.77	1.27	1.58	1.47	2.21	2.17	2.05	2.33	1.44
Cis- α -bisaboleno	32.80	0.62	0.10	0.21	0.37	0.17	0.27	0.09	0.14	0.12	0.09	0.23	0.07
Époxido cis- α -bisaboleno	35.39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	-	-
Zerumbona	35.74	21.31	88.45	82.86	85.48	89.01	88.77	78.42	68.10	71.33	77.18	79.24	81.01
Époxido de isoaromadendreno	38.52	-	-	-	-	0.05	-	-	-	-	0.02	0.02	0.01

Material seco em estufa - 8 horas													
Constituintes	I.R	Novembro (2021)			Fevereiro (2022)			Maio (2022)			Agosto (2022)		
		SE 02	SE 04	SE 06	SE 08	SE10	SE 12	SE 14	SE16	SE 18	SE 20	SE 22	SE 24
Cariofileno	26.60	0.11	0.16	0.16	1.67	0.53	1.51	1.26	1.16	1.66	0.79	0.29	0.68
Humuleno	27.66	3.01	5.18	4.60	19.75	8.55	17.50	14.99	14.15	18.76	15.53	7.34	11.85
Óxido de cariofileno	32.23	1.75	0.96	0.40	1.29	0.47	1.17	1.33	1.11	1.59	0.84	0.65	0.71
Cis- α -bisaboleno	32.80	0.09	0.06	0.03	0.26	0.10	0.06	0.08	0.21	0.06	0.06	0.04	0.05
Époxido cis- α -bisaboleno	35.39	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	-	-	-
Zerumbona	35.74	90.90	92.55	94.07	73.27	88.40	75.92	78.47	80.10	72.70	79.84	89.88	81.62
Époxido de isoaromadendreno	38.52	-	-	-	0.03	0.06	0.02	0.01	0.05	0.01	0.02	0.01	-

Onde: IR é o índice de retenção linear, e SE, o material seco em estufa. Os valores foram tabelados conforme o percentual de área.

Para a identificação e confirmação do composto Zerumbona nas amostras frescas e secas do óleo essencial de *Z. zerumbet* foi utilizado o cromatograma e o espectro de massas do Padrão Sigma de Zerumbona a 98% (Figura 25 e 26), em comparação com os resultados das frações de 4 e 8 horas dos materiais frescos (Figura 27 e 28) e secos em estufa (Figura 29 e 30).

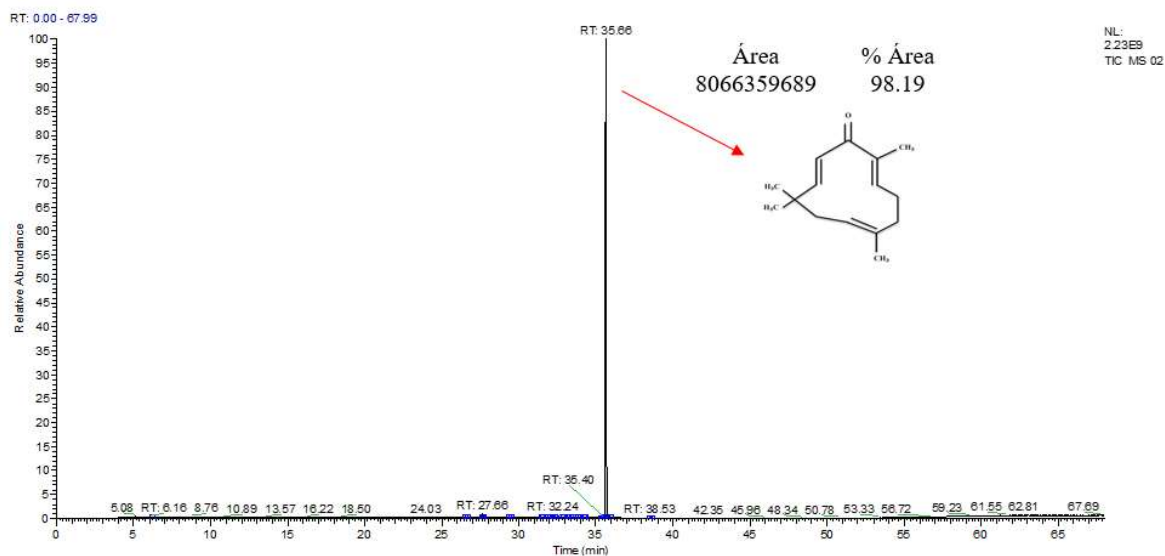


Figura 25. Cromatograma da Zerumbona Padrão Sigma 98%.

Fonte: Ana Karoline Alves de Souza

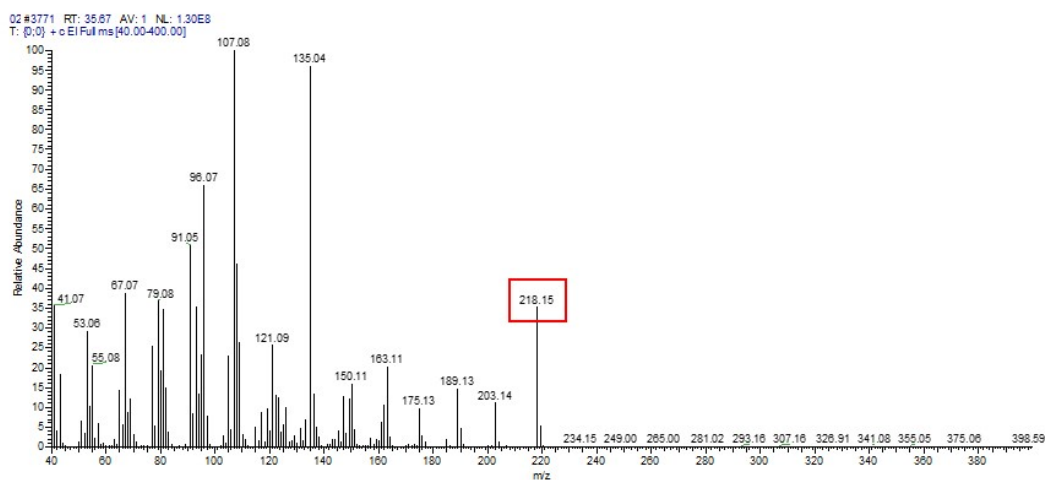


Figura 26. Espectro de massas revelando o peso molecular 218,15 m/z da Zerumbona.

Fonte: Ana Karoline Alves de Souza

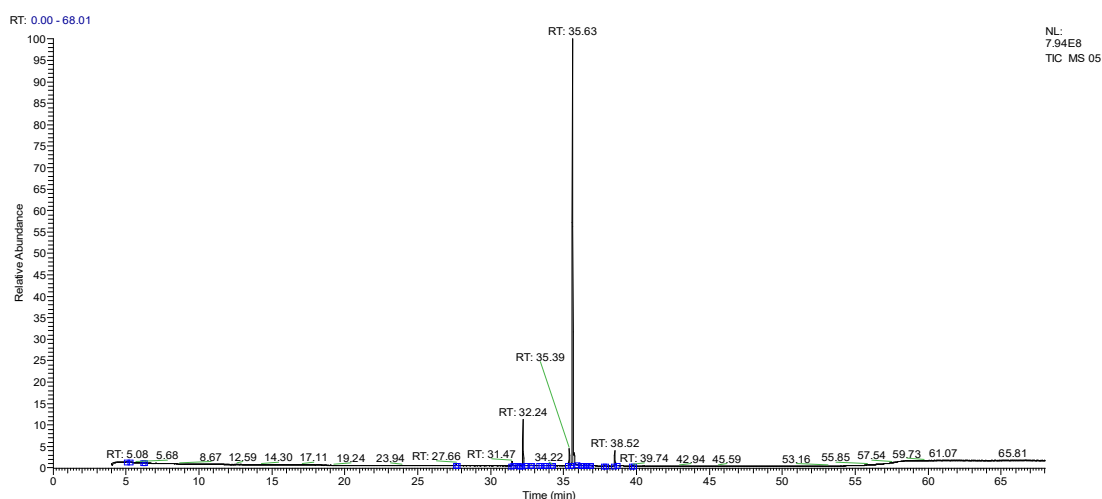


Figura 27. Cromatograma (CG-MS) da composição dos óleos essenciais de *Z. zerumbet* fresco com 4 horas.
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

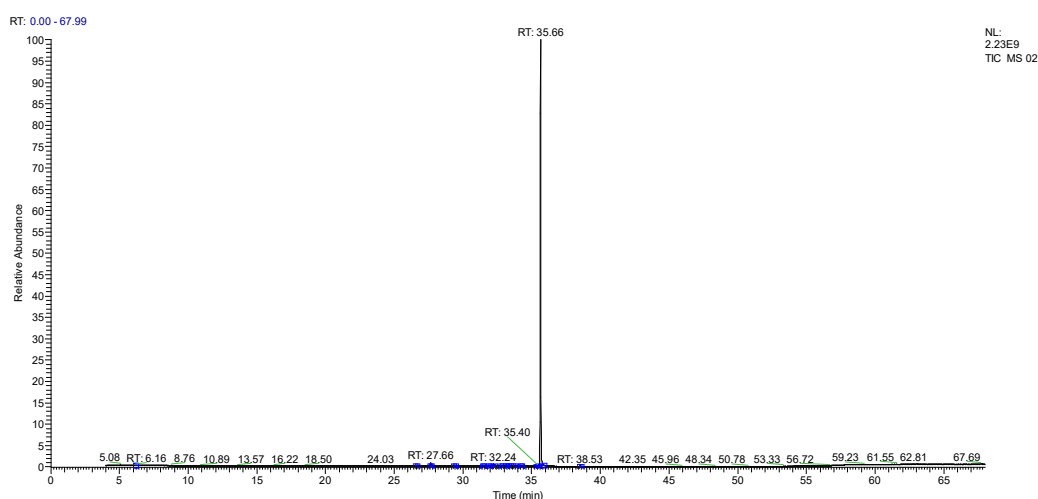


Figura 28. Cromatograma (CG-MS) da composição dos óleos essenciais de *Z. zerumbet* fresco com 8 horas.
Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

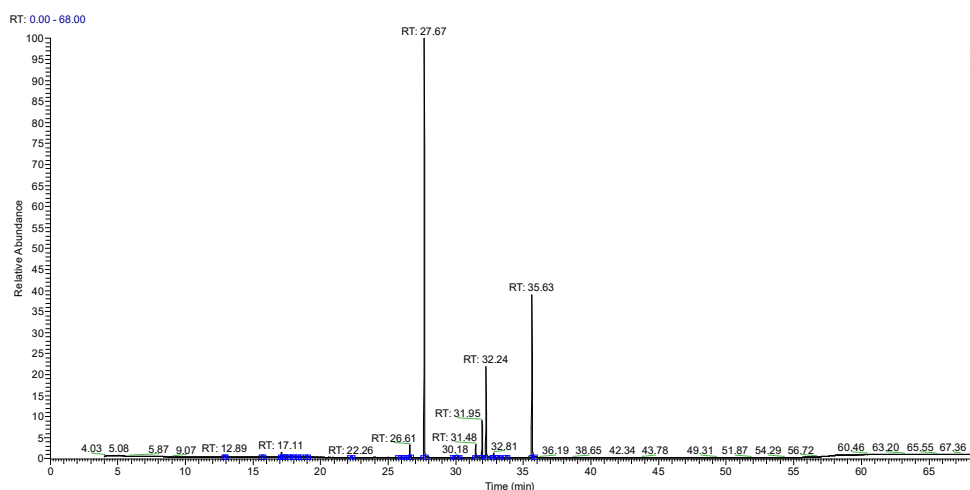


Figura 29. Cromatograma (CG-MS) da composição dos óleos essenciais de *Z. zerumbet* seco em estufa com 4 horas.

Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

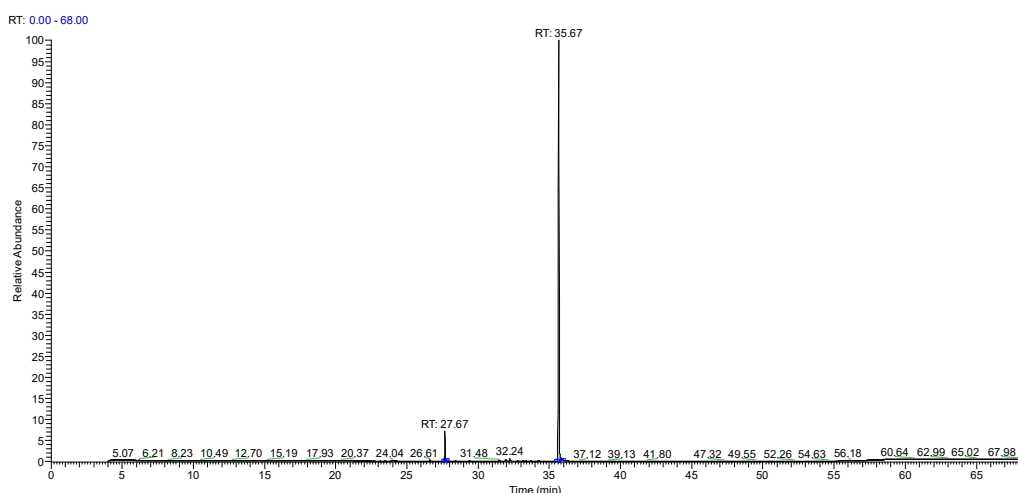


Figura 30. Cromatograma (CG-MS) da composição dos óleos essenciais de *Z. zerumbet* seco em estufa com 8 horas.

Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

Outros estudos corroboram com os resultados obtidos dos óleos essenciais de *Z. zerumbet* quanto a presença de Zerumbona como componente majoritário, assim como dos demais constituintes químicos revelados. Porém, apresentou variações no quantitativo por ser em diferentes localizações geográficas (Dai *et al.*, 2013; Graça, 2018; Tan *et al.*, 2018; Ming-Der *et al.*, 2022; Harsha *et al.*, 2023). Além de apresentar influência da sazonalidade climática sobre compostos químicos (Ribeiro, 2013; Pamplona, 2006), como foi possível observar anteriormente.

A composição química do óleo essencial dos rizomas do *Z. zerumbet*, coletado no Amazonas, apresentou os seguintes compostos: Zerumbona (83,5%), α -Humuleno (4,17%), 2,4-diisopropenil-1-metilciclohexano (1,72%), α -Cariofileno (1,64%), epóxido de humuleno II (1,41%) e biciclo[6,1,0]nonano,9-(1-metiletilideno) (1,07%) (Graça, 2018).

De acordo com o estudo de Dai e colaboradores (2013), os componentes químicos obtidos dos rizomas do *Z. zerumbet*, coletados em Nghe – Vietnã, destacou como os principais componentes o z-citral (26,1%), canfeno (16,13%), sabineno (14,6%) e a zerumbona com o teor de 1,2%.

Segundo Tian e colaboradores (2020), o perfil cromatográfico do óleo essencial do material fresco de *Z. zerumbet*, oriundo da China, apresentou Zerumbona (75,0%), α -humuleno (6,5%), óxido de humuleno I (3,8%), canfeno (3,3%), óxido de humuleno II (2,7%), cânfora (1,3%), óxido de cariofileno (1,3%) e 1,8-cineol (1,2 %). E no material seco em estufa identificou Zerumbona (41,9%), α -humuleno (29,4%), óxido de humuleno I (6,0%), óxido de humuleno II (3,9%), canfeno (3,9%), β -cariofileno (2,5%), cânfora (2,4%), óxido de cariofileno (2,1%) e 1,8-cineol (1,6%).

5.3. FÍSICO-QUÍMICA DO GENGIBRE AMARGO E GUARANÁ

5.3.1. Composição físico-química do gengibre amargo

A composição físico-química dos rizomas e raízes *in natura* de *Z. zerumbet* está descrita na Tabela 6, em destaque para o valor energético com 100,21 kcal.g⁻¹ de amostra, teor de umidade (84,09 g.g⁻¹), fibra bruta (17,18 g.g⁻¹), matéria seca (15,91 g.g⁻¹), carboidratos (9,84 g.g⁻¹), proteínas (7,04 g.g⁻¹), lipídios e cinzas (3,63 e 3,62 g.g⁻¹, respectivamente), e pH apresentou alcalinidade com 11,03.

Tabela 6. Composição físico-química do gengibre amargo (*Zingiber zerumbet*) *in natura*.

Composição	Gengibre amargo
Umidade (g/100g)	84,09 $\pm$ 0,18
Matéria Seca (g/100g)	15,91 $\pm$ 0,18
Cinza (g/100g)	3,62 $\pm$ 0,08
Lipídios (g/100g)	3,63 $\pm$ 0,25
Proteínas (g/100g)	7,04 $\pm$ 0,14
Fibra Bruta (g/100g)	17,18 $\pm$ 0,17
Carboidratos (g/100g)	9,84 $\pm$ 0,57
Valor Energético (kcal/100g)	100,21 $\pm$ 4,34
pH	11,03 $\pm$ 0,12

Dados representam a média $\pm$ desvio padrão das triplicatas.

Comparando os dados obtidos no presente estudo com os de Souza e colaboradores (2022), a composição físico-química mostrou diferença em razão do processamento do material, pois os autores utilizaram amostra de gengibre seco em temperatura ambiente por 72 horas. Dessa forma, a umidade observada neste estudo foi relativamente baixa com o percentual $11,25 \text{ g.g}^{-1}$, assim como fibra apresentou $7,11 \text{ g.g}^{-1}$, e apenas o teor de carboidratos apresentou um valor mais elevado com $75,79 \text{ g.g}^{-1}$ quando comparado com os nossos dados.

5.3.2. Determinação de cor do gengibre amargo

A determinação de cor do gengibre amargo *in natura* apresentou tendência ao vermelho ($+a^*$), com valores entre 9,32 a 10,68 e ao amarelo (b^*), com 27,23 a 29,45. A luminosidade (L^*) foi intermediária, variando entre 49,19 a 50,84 conforme a Tabela 7.

Tabela 7. Determinação de cor do gengibre amargo (*Zingiber zerumbet*), proveniente do Ramal do Pau Rosa, BR-174.

Amostras	L^*	a^*	b^*
Z	$50,12 \pm 0,84$	$10,10 \pm 0,70$	$28,70 \pm 1,28$

L^* : escala de zero (preto) a 100 (branco);

$+a^*$ (vermelha) até $-a^*$ (verde);

$+b$ (amarela) até $-b^*$ (azul).

Dados representam a média $\pm$ desvio padrão das triplicatas.

De acordo com os resultados obtidos, observou-se que embora haja leve tendência ao vermelho, o croma amarelo apresentou valor superior. Além de indicar um material intermediário quando a luminosidade.

5.3.3. Composição nutricional do guaraná

Na Tabela 8 estão representados os resultados das análises de umidade, matéria seca, cinzas, fibras, lipídios, proteínas, carboidratos, valor energético, pH e acidez titulável, utilizando o pó comercial do guaraná.

Tabela 8. Composição físico-química do pó do guaraná (*Paullinia cupana*).

Composição	Guaraná
Umidade (g/100g)	10,42 ± 0,31
Matéria Seca (g/100g)	89,58 ± 0,31
Cinza (g/100g)	1,40 ± 0,01
Lipídios (g/100g)	3,45 ± 0,18
Proteínas (g/100g)	14,98 ± 1,40
Fibra Bruta (g/100g)	10,92 ± 2,46
Carboidratos (g/100g)	57,08 ± 1,71
Valor Energético (kcal/100g)	326,25 ± 9,78
pH	6,02 ± 0,05
Acidez Titulável (g de ácido cítrico/mL de solução)	1,41 ± 0,03

Dados representam a média ± desvio padrão das triplicatas.

Como podemos observar, destaca-se o alto valor energético (326,25 kcal.g⁻¹), matéria seca (89,58 g.g⁻¹), carboidratos com 57,08 g.g⁻¹, e os menores valores foram para cinza (1,40 g.g⁻¹) e acidez titulável (1,41 g.mL⁻¹ de solução). Comparando estes achados com o trabalho realizado por Antunes (2011), os valores encontrados foram: valor energético do pó comercial (336,8 kcal.g⁻¹), carboidratos (62,8 g.g⁻¹) e cinzas (1,7 g.g⁻¹) evidenciando resultados similares com o pó comercial de Manaus.

Segundo Oliveira (2021), o valor energético encontra-se em apenas 201,15 kcal.g⁻¹ e 31,25 g.g⁻¹ para carboidratos. Além disso, o autor observou que as fibras totais apresentam 43,10 g.g⁻¹, enquanto que em nosso trabalho obteve-se apenas 10,92 g.g⁻¹.

Alves e colaboradores (2021), destacam sobre composição centesimal com cascas do guaraná onde foi verificado diferenças entre os valores quando comparado com as análises do pó do guaraná, pois a umidade foi de 61,94 g.g⁻¹, carboidratos 42,71 g.g⁻¹ e cinzas 1,81 g.g⁻¹.

Além disso, o pH do pó do guaraná comercial obtido neste estudo foi de 6,02 o que corrobora com o trabalho de Antunes (2011) que obteve valor do pH similar, com 5,67. Esses resultados evidenciam que o pó do guaraná não é um produto de acidez elevada.

5.3.4. Determinação de cor do guaraná

A determinação de cor do guaraná foi dividida em duas amostras, em vista que a aquisição do último pó do guaraná aparentava ser mais claro. Dessa forma, a amostra G1 foi incorporada nos extratos alcoólicos e G2 nos extratos hidroalcoólicos.

As coordenadas de cromaticidade da amostra G1 apresentaram tendência ao amarelo (+b*), apesar de ter uma leve tendência para o vermelho também. A luminosidade (L*) foi intermediária, variando entre 46,94 a 50,93 conforme a Tabela 9.

Tabela 9. Determinação de cor do guaraná (*Paullinia cupana*), proveniente de Maués.

Amostras	L*	a*	b*
G1	49,16 ± 2,03	15,15 ± 0,23	27,58 ± 0,46

L*: escala de zero (preto) a 100 (branco);

+a* (vermelha) até -a* (verde);

+b (amarela) até -b* (azul).

Dados representam a média ± desvio padrão das triplicatas.

A amostra G2 indicou um produto mais claro, com a luminosidade (L*) foi acima do intermediário, com valores entre 70,59 a 71,00. As demais coordenadas de cromaticidade também apresentaram tendência ao vermelho (+a*) e amarelo (+b*), como pode ser observado na Tabela 10.

Em comparação com a amostra G1, apresentou pouca diferença entre os valores das coordenadas de cromaticidade, mas em relação a luminosidade, o valor foi mais alto indicando um material mais claro.

Tabela 10. Determinação de cor do guaraná (*Paullinia cupana*), proveniente do empório de Manaus.

Amostras	L*	a*	b*
G2	70,83 ± 0,21	10,14 ± 0,06	21,17 ± 0,30

L*: escala de zero (preto) a 100 (branco);

+a* (vermelha) até -a* (verde);

+b (amarela) até -b* (azul).

Dados representam a média ± desvio padrão das triplicatas.

5.4. DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA DO GUARANÁ

Na Tabela 11 são apresentados os teores de cafeína determinados em pó e extratos de guaraná, cuja extração foi realizada empregando diferentes métodos.

Tabela 11. Teor de cafeína do pó e extratos de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth).

Item	Amostra	Concentração de Cafeína (mg)	Desvio Padrão
1	Pó do guaraná – 1	28,4 mg / 1 g de amostra	1,1
2	Pó do guaraná – 2	18,9 mg / 1 g de amostra	0,8
3	Extrato Hidroalcoólico	3,1 mg / mL de extrato	0,6
4	Extrato Alcoólico	10,9 mg / mL de extrato	0,5

Seguindo o valor encontrado para o extrato hidroalcoólico de guaraná, foi observado que atingiu o teor mínimo de cafeína (3 mg.g⁻¹) que um produto com guaraná, a base de pó, deve conter, segundo a Resolução nº 12 de 1978.



De acordo com Antunes (2011), as suas amostras de pó de guaraná comercial apresentaram teores de 39, 82 mg.g^{-1} , seguido dos teores presentes nas sementes com 35,63 mg.g^{-1} , polpa com 0,03 mg.g^{-1} e casca com 0,02 mg.g^{-1} .

O estudo de Tfouni e colaboradores (2007) com diversas marcas de pó de guaraná indicou os teores médios de 14,18 a 28,79 mg.g^{-1} de pó, seguindo outra metodologia analítica. As diferenças encontradas em suas amostras, possivelmente, se devem à procedência e ao processo a que a matéria-prima foi submetida.

Da mesma forma, foi observado que o pó de guaraná-1 e pó de guaraná-2 apresentaram diferenças, apesar de ambos terem a procedência de Maués. Logo, pode ter ocorrido a hipótese levantada por Tfouni e colaboradores (2007). Entretanto, os valores encontrados se assemelham com os estudos acima, exceto para o teor do pó de guaraná de Antunes.

O extrato concentrado de guaraná do estudo de Bortolini e colaboradores (2010), apresentou 9,9 g.mL^{-1} de cafeína, sendo o segundo valor encontrado, e é inferior ao café solúvel com 34,81 g.mL^{-1} . O diferencial nesse estudo foi os outros componentes avaliados, como a bebida de cola com 1,8 g.mL^{-1} de cafeína, bebida energética (0,76 g.mL^{-1}) e chá preto (2,99 g.mL^{-1}).

Logo, o resultado encontrado no presente estudo com extrato de guaraná alcoólico foi similar ao encontrado no extrato concentrado do estudo de Bortolini e colaboradores (2010). E o extrato hidroalcoólico, apesar de ser o menor teor, revelou possuir mais cafeína que o chá preto, bebida energética e bebida de cola.

5.5. ENSAIOS FARMACOLÓGICOS

5.5.1. Avaliação comportamental, sistêmica e toxicidade aguda

A avaliação comportamental e sistêmica consistiu em realizar teste de campo aberto e de bastão com intuito de observar o comportamento emocional e exploratório. Os parâmetros observados foram descritos na Tabela 12.

Os camundongos machos e fêmeas tratados via intraperitoneal com o óleo essencial dos rizomas e raízes de *Z. zerumbet*, nas doses de 250 mg.kg^{-1} ; 500 mg.kg^{-1} ; e 1000 mg.kg^{-1} apresentaram leve ataxia (comprometimento da coordenação motora), pouca motilidade, sonolência, piloereção, náusea, anestesia, frequência cardíaca normal, coçaram o focinho, lamberam as patas e o local de aplicação.



Entretanto, para a dose de 1000 mg.kg^{-1} foi possível observar dispneia (falta de ar), paraparesia (perda parcial das funções motoras dos membros inferiores e superiores) e cianose (coloração azulada da pele).

Os camundongos tratados via oral apresentaram os mesmos sintomas observados da via intraperitoneal no quesito coordenação e sistêmico, com exceção da baixa frequência cardíaca. E nos controles, os parâmetros similares observados foram piloereção, depressão passageira, lambrar as patas e coçar o focinho.

Os resultados da avaliação toxicológica do óleo essencial de *Z. zerumbet* nas doses 250 mg.kg^{-1} ; 500 mg.kg^{-1} ; e 1000 mg.kg^{-1} demonstraram que o mesmo possui baixo efeito tóxico por ocorrer uma morte na dose de 250 mg.kg^{-1} , duas mortes em 500 mg.kg^{-1} e três mortes em 1000 mg.kg^{-1} , no período de 10 dias. Para via oral, a dose de 1500 mg.kg^{-1} apresentou uma morte durante o teste, e na dose de 2500 mg.kg^{-1} não teve morte.

Os efeitos gerais observados nos animais foram os mesmos encontrados por Pinheiro (2009), pois em seu trabalho relatou que os animais não apresentaram efeitos tóxicos para as doses aplicadas até 5000 mg.kg^{-1} .



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



Tabela 12. Avaliação comportamental e sistêmica do óleo essencial dos rizomas e raízes de *Zingiber zerumbet* por 14 dias de observação.

Via	Grupos	Quantidade de animais	PARÂMETROS E TEMPO DE OBSERVAÇÃO													
			1º dia	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia	6º dia	7º dia	8º dia	9º dia	10º dia	11º dia	12º dia	13º dia	14º dia
Intraperitoneal	Grupo 3 - 250 mg/kg	5 M / 5 F	Lambeu as patas, local e coçou o focinho; Ataxia; Sem motilidade; Piloereção; Náusea; Sonolência; Sensibilidade; Freq. cardíaca elevada	Piloereção; Freq. cardíaca elevada	Piloereção; Freq. cardíaca elevada; 1 macho c/ diarreia	Vivos, ativos e s/ sintomas			1 morte (animal c/ tratamento, fêmea)		Vivos, ativos e s/ sintomas					
	Grupo 2 - 500 mg/kg	5 M / 5 F	Lambeu as patas, local e coçou o focinho; Ataxia; Sem motilidade; Paraparesia; Piloereção; Náusea; Sonolência; Anestesia; Freq. cardíaca normal		2 mortes (animais c/ tratamento, fêmea e macho); Palidez na fêmea (patas e rabo) e Hiperemia no macho; Vivos c/ piloereção			Vivos, ativos e s/ sintomas							Vivos e ativos e (fêmeas e machos); Piloereção demasiada (machos)	
	Grupo 1 - 1000 mg/kg	5 M / 5 F	Lambeu as patas, local e coçou o focinho; Ataxia e Paraparesia (2 tratamentos); Sem motilidade; Piloereção; Náusea; Sonolência; Freq. cardíaca normal; Cianose, Dispneia e Anestesia (1 animal c/ tratamento)	1 morte (animal c/ tratamento, macho); 1 morte (animal c/ tratamento, fêmea); Hiperemia na fêmea; Dispneia e Cianose (1 tratamento, fêmea); Vivos c/ piloereção e freq. cardíaca elevada	1 morte (animal c/ tratamento, fêmea); Hiperemia na fêmea; Vivos com piloereção, freq. cardíaca elevada; 1 fêmea com dispneia	Vivos c/ edema intraperitoneal			Vivos e ativos e (machos); Piloereção (machos)							
Oral	Grupo 4 - 1500 mg/kg	5 F	Lambeu as patas e coçou o focinho; Ataxia; Motilidade; Piloereção; Anestesia; Freq. cardíaca baixa; Náusea; Dispneia; 1 morte (animal c/ tratamento, fêmea), palidez (patas e rabo)			Vivos, ativos e s/ sintomas										
	Grupo 5 - 2500 mg/kg	5 F	Lambeu as patas e coçou o focinho; Ataxia; Motilidade; Piloereção; Sonolência; Freq. cardíaca normal. Náusea			Vivos, ativos e com pouca piloereção										

5.5.2. Atividade anti-inflamatória do gengibre amargo: edema de pata induzido por formalina

A avaliação anti-inflamatória ocorreu por meio da indução do edema de pata dos *R. norvegicus* (Wistar) com formalina a 2%. A formalina ocasiona dor moderada e contínua gerada pelo tecido lesionado (Tjølsen *et al.*, 1992). O teste com formalina é considerado um modelo válido para a avaliação anti-inflamatória, pois ativa os neurônios nociceptivos para ocorrer a liberação de mediadores do processo inflamatório, como histamina, bradicinina e prostaglandinas (Valderramas, 2006).

Após a liberação de mediadores, ocasiona o edema na pata devido a ação de vários mediadores pró-inflamatórios derivados do plasma ou das células envolvidas na resposta inflamatória. Logo, o edema é o resultado entre vários mediadores que aumentam a permeabilidade vascular (Castro, 2015).

Nesse sentido, o teste de edema de pata com formalina detecta a atividade anti-inflamatória do tipo não esteroideal, além de agentes anti-histamínicos e anti-serotoninérgicos (Valderramas, 2006).

De acordo com o Figura 31, foi observado a inflamação do edema de pata induzido por formalina para a realização do tratamento¹ com controle positivo, a indometacina 50 mg.kg⁻¹, e com a dose de 500 mg.kg⁻¹ do óleo essencial de *Z. zerumbet*.

Conforme os resultados na Tabela 13, podemos observar que não houve diferença estatística significativa, de acordo com o teste de Tukey, entre os tratamentos com 20 e 40 minutos. Entretanto, com 1 hora de tratamento foi observado diferença estatística do óleo essencial sobre o controle negativo, que perdurou por até 2 horas. Em relação ao óleo essencial quando comparado com o controle positivo apresentaram valores semelhantes ($p > 0,05$). Após 3 e 4 horas, nenhum dos tratamentos apresentaram diferença significativa.

O estudo da atividade anti-inflamatória com carragenina (1%) de Machado (2015), utilizando extrato bruto de *Z. zerumbet*, apresentou efeitos para 500 mg.kg⁻¹ comparados ao anti-inflamatório comercial, indometacina, com atuação até 2 horas. Assim como, foi possível constatar a atividade anti-inflamatória para 500 mg.kg⁻¹ com óleo essencial de *Z. zerumbet*.

¹ Controle negativo – Tween 20 com soro fisiológico (10 ml kg⁻¹);
Controle positivo – indometacina (10 ml kg⁻¹);
OERZZ – óleo essencial do rizoma de *Z. zerumbet* (500 mg kg⁻¹).

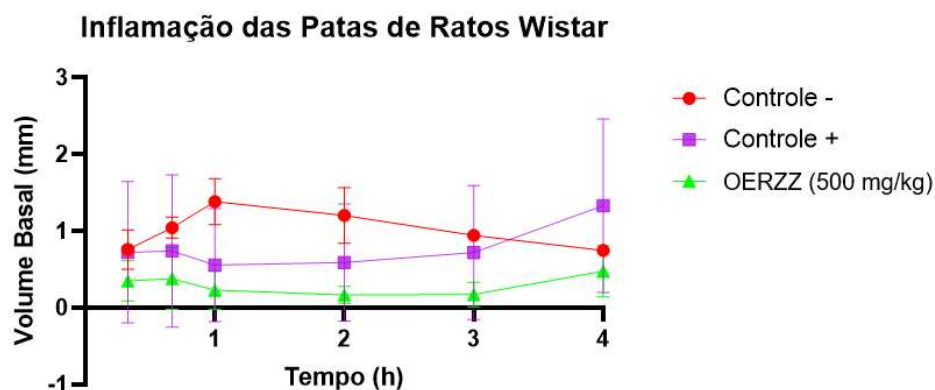


Figura 31. Inflamação do edema de pata em Ratos Wistar.

Tabela 13. Inflamação das patas de Ratos Wistar de acordo com o tempo de tratamento.

Tempo	Controle -	Controle +	OERZZ (500 mg/kg)
20 min	a	a	a
40 min	a	a	a
1 h	ab	a	ac*
2 h	ab	a	ac*
3 h	a	a	a
4 h	a	a	a

Obs.: Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

5.6. FORMULAÇÃO DA BEBIDA ENERGÉTICA

As bebidas energéticas formuladas com extratos de óleo essencial e hidroalcoólico do gengibre amargo apresentaram características organolépticas únicas e peculiares, que garantem interesse comercial (Figura 32). Dessa forma, essas formulações poderão viabilizar a comercialização de alimentos com extratos vegetais, como óleos essenciais, favorecendo a ampliação industrial para a geração de coprodutos.



Figura 32. Bebidas energéticas com gengibre amargo e guaraná.

Fonte: Ana Karoline Alves de Souza.

A mistura foi composta por taurina, açúcares e água em concentrações iguais para as 12 formulações. A quantidade de taurina e açúcar foram testadas com concentrações baixas, com o intuito de garantir um produto funcional, com indicações de consumo para diabéticos, hipertensos, e entre outras doenças crônicas.

Os ingredientes adicionais, os aditivos alimentícios, foram os extratos de gengibre amargo e de guaraná, sendo três bebidas com cada extrato em concentrações iguais. Ou seja, para cada bebida foi testado o açúcar, o extrato do guaraná e o extrato de gengibre. Da mesma forma que foi mencionado acima, a ideia de utilizar concentrações baixas está relacionada com a quantidade de cafeína presente nos extratos do guaraná, e no caso do gengibre, é em decorrência das características sensoriais, quesito sabor.

Os xaropes simples, realizados com extratos de guaraná, foram elaborados de acordo com a legislação (BRASIL, 2009), e atendeu o valor de °Brix apropriado, aproximadamente de 50 °Brix (Celestino, 2010). E em conjunto com a concentração dos extratos de gengibre amargo, conferiram o equilíbrio de sabores entre doce e o amargo.

Evidencia-se que, por meio de estudos científicos, o gengibre amargo e guaraná apresentam atividades farmacológicas de interesse. Logo, acreditamos que a interação entre as espécies resultará em uma maior efetividade quando incorporados nesse alimento.

5.7. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICA DAS BEBIDAS ENERGÉTICAS

5.7.1. Determinação de pH, °Brix e acidez titulável das formulações das bebidas energéticas

Os valores de cada parâmetro para as bebidas com o extrato alcoólico de guaraná encontram-se na Tabela 14², e com extrato hidroalcoólico de guaraná na Tabela 15.

O pH das bebidas com extratos alcoólicos de guaraná e extratos de gengibre amargo variou entre 5,30 a 7,40. Sendo que as bebidas A1 e A4, com açúcar mascavo, apresentaram valores de pH 7, indicando um alimento neutro. Em contrapartida, A3 e A6, com xilitol, tiveram pH baixos (5,53 e 5,30 respectivamente), tornando-as em bebidas levemente ácidas, assim como as demais bebidas elaboradas com demerara que apresentaram pH 6.

Os sólidos solúveis das bebidas apresentaram 18 a 19,40 °Brix. Todas as formulações foram incorporadas com a mesma quantidade de açúcar ou edulcorante, e ocasionou similaridade nos valores, com exceção da A5 (19,40 °Brix), elaborada com demerara e óleo essencial de gengibre amargo.

Os valores de acidez titulável variaram entre 0,13 a 0,27 g.mL⁻¹ de solução. Assim como foi observado no pH, a acidez titulável também apresentou valores mais altos para bebidas com açúcar mascavo (A1 = 0,19 e A4 = 0,27 g.mL⁻¹), seguidas do açúcar demerara (A2 = 0,17 e A5 = 0,24 g.mL⁻¹) e por último o edulcorante xilitol (A3 = 0,13 e A6 = 0,19 g.mL⁻¹).

Outro fator observado tanto no pH como na acidez titulável foi à similaridade de valores mais altos para as bebidas incorporadas com o óleo essencial de gengibre amargo (A4 a A6).

Tabela 14. Composição nutricional das formulações com extrato alcoólico de guaraná.

Bebidas	pH	°Brix	Densidade	Acidez Titulável
A1	7.23 ± 0.06	18.93 ± 0.12	1.074 ± 0.00	0.19 ± 0.01
A2	6.03 ± 0.06	18.73 ± 0.12	1.073 ± 0.00	0.17 ± 0.01
A3	5.53 ± 0.06	18.20 ± 0.00	1.071 ± 0.00	0.13 ± 0.01
A4	7.40 ± 0.00	18.00 ± 0.00	1.070 ± 0.00	0.27 ± 0.01
A5	6.43 ± 0.06	19.40 ± 0.00	1.075 ± 0.00	0.24 ± 0.00
A6	5.30 ± 0.00	18.40 ± 0.00	1.071 ± 0.00	0.19 ± 0.01

Dados representam a média ± desvio padrão das triplicatas.

² Bebida A1 a A3 = Extrato alcoólico de guaraná e de gengibre (mascavo, demerara e xilitol, respectivamente); Bebida A4 a A6 = Extrato alcoólico de guaraná e óleo essencial de gengibre (mascavo, demerara e xilitol, respectivamente).

Por outro lado, o pH das bebidas com extratos hidroalcoólico de guaraná e extratos de gengibre amargo³ apresentou bebidas levemente ácidas e neutras, variando de 6,23 a 7,10 com exceção da H4 com pH 8. As bebidas H4 com mascavo e H6 com xilitol apresentaram os maiores valores de pH com 8,17 e 7,10 respectivamente. No entanto, o menor pH foi verificado nas bebidas H1 (mascavo com 6,27) e H2 (demerara com 6,23). Ou seja, nessas formulações não foi observado similaridade nos valores do pH de acordo com o açúcar utilizado.

Nessas bebidas com extrato hidroalcoólico de guaraná foi observado um leve aumento do teor dos sólidos solúveis em comparação com as bebidas com extrato alcoólico. A bebida com xilitol apresentou °Brix mais elevados (H3 com 22,40 °Brix e H6 com 22,60 °Brix), e a bebida com açúcar mascavo tiveram os valores mais baixos (H1 com 19,40 °Brix e H4 com 19,00 °Brix).

Os valores de acidez titulável variaram entre 0,11 a 0,17 g.mL⁻¹. Sendo que as bebidas com extrato hidroalcoólico de gengibre (H1 a H3) apresentaram valores iguais e não tiveram diferença quanto ao açúcar utilizado, com a exceção do H2 com demerara (0,11 g.mL⁻¹).

Em contrapartida, as bebidas H4 a H6 apresentaram valores decrescentes quanto ao açúcar utilizado, sendo que o H4 com mascavo apresentou o maior valor (0,17 g.mL⁻¹) e H6 com xilitol indicou o menor valor (0,15 g.mL⁻¹). Além disso, essas bebidas incorporadas com óleo essencial de gengibre amargo apresentaram maiores índices de ácido cítrico, quando comparadas com A1 a A3 (0,13 a 0,19 g mL⁻¹) e H1 a H3 (0,11 a 0,15 g mL⁻¹) que possui valores mais baixos.

Tabela 15. Composição nutricional das formulações com extrato hidroalcoólico de guaraná.

Bebidas	pH	°Brix	Densidade	Acidez Titulável
H1	6.27 ± 0.06	18.40 ± 0.00	1.072 ± 0.00	0.15 ± 0.01
H2	6.23 ± 0.06	19.20 ± 0.00	1.075 ± 0.00	0.11 ± 0.01
H3	6.43 ± 0.06	22.40 ± 0.00	1.087 ± 0.00	0.15 ± 0.01
H4	8.17 ± 0.06	19.00 ± 0.00	1.074 ± 0.00	0.17 ± 0.01
H5	6.33 ± 0.06	20.00 ± 0.00	1.078 ± 0.00	0.16 ± 0.00
H6	7.10 ± 0.00	22.60 ± 0.00	1.088 ± 0.00	0.15 ± 0.01

Dados representam a média ± desvio padrão das triplicatas.

³ Bebida H1 a H3 = Extrato hidroalcoólico de guaraná e de gengibre (mascavo, demerara e xilitol, respectivamente);
Bebida H4 a H6 = Extrato hidroalcoólico de guaraná e óleo essencial de gengibre (mascavo, demerara e xilitol, respectivamente).



De acordo com Narváez (2022), na elaboração de bebida energética com cacau (*Theobroma cacao* L.) e café (*Coffea*), o pH de bebidas energéticas deve estar abaixo de 4,50 e com isso, suas formulações apresentaram valores de pH 3,85 e 3,53.

O estudo de Pinto (2019), com bebidas energéticas comercializadas, apresentou pH entre 2,86 e 3,52 indicando alto índice de acidez como as de Narváez. Assim como, no trabalho de Santos e colaboradores (2017), também foi possível observar bebidas energéticas industrializadas com o pH variando de 1,50 a 2,50.

Vários estudos investigaram o valor do pH em bebidas energéticas comercializadas por conta da desmineralização na superfície do dente, que é provocada por pH ácidos (abaixo de 5,5), podendo comprometer o esmalte dental (Santos, 2017). Outro fator de investigação é sobre o pH relacionado com a temperatura e armazenamento, mas estudos sugerem que não há diferença estatística no pH das bebidas formuladas em 60 dias de armazenamento, mesmo que com 90 dias seja possível observar uma tendência decrescente do pH (Nik; Vazifedoost, 2020).

Os sólidos solúveis encontrados nas bebidas energéticas industrializadas apresentaram valores entre 2,50 a 12,75 °Brix, sendo que apenas uma amostra indicou 2 °Brix, em razão da sua proposta por conter menos calorias. As demais bebidas energéticas possuíram similaridade de teor de sólidos solúveis (Santos *et al.*, 2020).

Segundo Nunes (2016), a bebida energética para atletas com polpa de Jamelão (*Syzygium cumini*) apresentou valor de sólidos solúveis entre 5 a 14 °Brix. O teor mais baixo continha quantidade de açúcar similar as demais formulações. E as outras bebidas indicaram quanto maior a quantidade de polpa e mix de carboidratos, maior seria o °Brix, e com açúcares industriais mostrou que a acidez da bebida foi de 44,2 g.mL⁻¹. Entretanto, o estudo de Santos e colaboradores (2020) com bebidas industrializadas indicaram valores entre 0,25 e 0,80 g.mL⁻¹, sendo valores mais próximos das bebidas energéticas com extrato alcoólico de guaraná e açúcar mascavo.

Segundo Pinto (2019) e Santos e colaboradores (2020) o pH e a acidez titulável são fatores indicativos da erosão dentária quando a apresentarem baixo valor de pH e consequentemente alta acidez titulável. Desta forma, ambas as bebidas elaboradas nesse projeto não são fatores extrínsecos para a erosão dentária.

A legislação vigente para o preparo de compostos líquidos prontos para consumo, que incluem as bebidas energéticas, ainda não especifica valores mínimos e máximos com relação ao nível de acidez e pH para as bebidas energéticas (Santos *et al.*, 2017).

5.7.2. Determinação de cor das formulações das bebidas energéticas

A determinação de cor das bebidas energéticas com extratos alcoólicos do guaraná apresentaram coordenadas de cromaticidade com tendência ao vermelho (+a*) e amarelo (+b*). O valor médio de luminosidade (L*) variou de 25,36 a 48,37. Logo, somente a bebida A4⁴ apresentou luminosidade mais baixa (mais escura) e cromaticidade a* positivo maior em comparação com as demais (Tabela 16).

Tabela 16. Determinação de cor das formulações com extrato alcoólico de guaraná.

Amostras	Formulações	L*	a*	b*
A	1	41.09 ± 4.18	8.79 ± 0.07	23.74 ± 1.17
	2	45.16 ± 5.47	5.75 ± 0.10	26.30 ± 0.84
	3	48.37 ± 5.77	3.25 ± 0.14	16.07 ± 0.63
	4	25.36 ± 2.00	11.14 ± 0.30	25.35 ± 0.57
	5	44.28 ± 1.86	6.22 ± 0.36	20.92 ± 1.99
	6	46.04 ± 2.33	4.09 ± 0.62	15.39 ± 2.03

L*: escala de zero (preto) a 100 (branco);

+a* (vermelha) até -a* (verde);

+b (amarela) até -b* (azul).

Dados representam a média ± desvio padrão (DP*) das triplicatas.

Em relação às bebidas energéticas com extratos hidroalcoólicos do guaraná apresentaram coordenadas de cromaticidade com luminosidade (L*) 29,96 a 62,27 indicando bebidas mais claras do que as bebidas com extrato alcoólico. A tendência foi ao vermelho (+a*), variando de 1,90 a 11,10 e amarelo (+b*) para as amostras H1 a H5 (0,16 a 25,81), e azul para H6 (-2,02) (Tabela 17).

Tabela 17. Determinação de cor das formulações com extrato hidroalcoólico de guaraná.

Amostras	Formulações	L*	a*	b*
H	1	30.76 ± 6.70	11.10 ± 0.61	25.81 ± 1.74
	2	62.27 ± 5.96	3.23 ± 0.10	10.91 ± 0.72
	3	60.92 ± 1.74	2.48 ± 0.08	0.16 ± 1.03
	4	29.96 ± 5.11	10.94 ± 0.69	25.78 ± 1.51
	5	58.08 ± 3.45	1.90 ± 0.13	8.50 ± 0.54
	6	57.09 ± 5.95	2.79 ± 0.18	-2.02 ± 0.43

L*: escala de zero (preto) a 100 (branco);

+a* (vermelha) até -a* (verde);

+b (amarela) até -b* (azul).

Dados representam a média ± desvio padrão (DP*) das triplicatas.

⁴ Bebida A4 = Açúcar mascavo, extrato alcoólico de guaraná e óleo essencial de gengibre amargo.



6. CONCLUSÃO

✚ O óleo essencial de *Z. zerumbet* das amostras frescas com menor tempo de extração não apresentou diferença em relação a sazonalidade climática de Manaus. Em contrapartida, as amostras secas em estufa, com o mesmo tempo de coleta, indicaram variabilidade sazonal para o mês de agosto (período seco);

✚ Comparando as amostras frescas e secas em estufa sobre o percentual de rendimento do óleo essencial *Z. zerumbet* apresentou diferença estatística entre os meses sazonais, e determinou que a secagem em estufa apresentou os melhores percentuais de rendimento. O aumento de tempo de coleta dos óleos essenciais se mostrou ineficiente, uma vez que a maior parte do óleo é extraído nas primeiras horas de processo;

✚ A análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa do óleo essencial dos rizomas e raízes de *Z. zerumbet* detectou sete componentes químicos, com destaque para a zerumbona, composto majoritário em todas as amostras, exceto para uma única fração seca em estufa;

✚ A análise físico-química do gengibre amargo apresentou diferença em comparação com os dados da literatura, em razão do processamento do material ser realizado com outra metodologia;

✚ A físico-química do guaraná apresentou resultados similares dos dados verificados na literatura;

✚ A concentração de cafeína presente no pó de guaraná e nos extratos hidroalcoólicos e alcoólicos estão de acordo com os teores permitidos pelas legislações vigentes;

✚ O óleo essencial de *Z. zerumbet* apresentou baixo efeito tóxico para doses aplicadas até 2500 mg.kg⁻¹ por via oral, como também apresentou o mesmo efeito nas doses aplicadas até 1000 mg.kg⁻¹ por via intraperitoneal. Logo, os efeitos gerais observados nos animais foram os mesmos encontrados na literatura;

✚ O óleo essencial de *Z. zerumbet* apresentou atividade anti-inflamatória;



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



✚ Os xaropes simples e as bebidas foram elaborados de acordo com a legislação. As formulações das bebidas energéticas apresentaram diferença quanto a composição química das bebidas energéticas industrializadas, com destaque para pH alcalino. Além disso, conferiram o equilíbrio de sabores entre doce e o amargo.



7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. **Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry**. 4.1. ed. Illinois: Allured publishing, 2017. 809 p.

ALVES, W. S.; MENDONÇA, S. O.; SOARES, H. S.; BELÉM, C. C. S.; ROLIM, C. S.S.; ROLIM, L. N.; BONATTO, E. C. S.; LAMARÃO, C. V. Avaliação sensorial de cerveja pilsen de resíduos de guaraná (*Paullinia cupana*). **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 1, p. 1526-1544, 2021.

AMARAL, M. M. **Avaliação da Qualidade Físico-química na Produção de Bebidas Energéticas**. 2012. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Química Industrial) – Universidade Estadual de Goiás, Goiás, 2012.

ANTONIO, I. C. Índices climáticos e caracterização climática do entorno de Manaus. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 10, n. 4, 2017.

ANTUNES, P. B. **Análise comparativa das frações polpa, casca, semente e pó comercial do guaraná (*Paullinia cupana*): caracterização química e atividade antioxidante *in vitro***. 2011. Dissertação (Mestrado em Interunidades em Nutrição Humana Aplicada) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

ASANO, C. T. S. **Importância do uso de xilitol para as indústrias alimentícias e farmacêuticas**. 2014. Trabalho de conclusão de curso (Graduação do curso de Engenharia Bioquímica) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

BARÃO, M. Z. Embalagens para produtos alimentícios. **TECPAR**, 2011.

BARBOZA, I. V. **Avaliação físico-química de geleias de jabuticaba elaboradas com diferentes tipos de açúcar**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro preto, Ouro preto, 2021.

BERTO, F. O.; NASCIMENTO, D. R.; MELO, I. B.; SILVA, E. K.; MUNIZ, D. S.; SANTIAGO, G. L.; MARQUES, T. P. **Consumo de bebidas com substâncias estimulantes por adolescentes: Estudo de campo em quatro Escolas Técnicas Estaduais da Zona Sul de São Paulo**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Técnico em Nutrição) – ETEC Irmã Agostina, São Paulo, 2022.

BITTENCOURT, L. S.; MACHADO, D. C.; MACHADO, M. M.; SANTOS, G. F. F.; ALGARVE, T. D.; MARINOWIC, D. R.; RIBEIRO, E. E.; SOARES, F. A. A.; BARBISAN, F.; ATHAYDE, M. L.; CRUZ, I. B. M. The protective effects of guaraná extract (*Paullinia cupana*) on fibroblast NIH-3T3 cells exposed to sodium nitroprusside. **Food and chemical toxicology**, v. 53, p. 119–125, 2013.

BORTOLINI, K.; SICKA, P.; FOPPA, T. Determinação do teor da cafeína em bebidas estimulantes. **Revista Saúde**, v. 4, n. 2, 2010.



BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Diretoria Colegiada RDC nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o “Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos, constante do anexo desta portaria”. Diário Oficial da União; Poder Executivo, 1999.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Diretoria Colegiada RDC nº 273, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “Regulamento técnico para misturas para o preparo de alimentos e alimentos prontos para o consumo”. Diário Oficial da União; Poder Executivo, 2005.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto n. 6.871, de 4 de junho de 2009. Dispõe sobre a “padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas”. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2009.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Diretoria Colegiada RDC nº 18, de 27 de abril de 2010. Aprova o “Regulamento técnico sobre alimentos para atletas”. Diário Oficial da União; Poder Executivo, 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022. Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 47, de 30 de agosto de 2018. Estabelece o “Regulamento técnico do açúcar, definindo o seu padrão oficial de classificação”. Diário Oficial da União; Poder Executivo, 2018.

BUXTON, C.; HAGAN, J. A. Survey of energy drinks consumption practices among student - athletes in Ghana: lessons for developing health education intervention programmes. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 9, n. 1, p. 9, 2012.

CAÑAS, G. J. S.; BRAIBANTE, M. E. F. A Química dos Alimentos Funcionais. **Química e Sociedade**, v. 41, n. 3, p. 216-223, 2019.

CAMPIDELI, M. B. **Avaliação do perfil químico de folhas de espécies de *Eugenia* (Myrtaceae) por CLAE, RMN e IES-EM com vistas ao desenvolvimento de cosméticos e alimentos funcionais**. 2017. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual Paulista, 2017.

CARVALHO, J. M.; MAIA, G. A.; SOUZA, P. H. M.; RODRIGUES, S. Perfil dos principais componentes em bebidas energéticas: cafeína, taurina, guaraná e glucoronolacton. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 65, n. 2, p. 78-85, 2006.

CASTRO, M. S.; PINHEIRO, C. C. S.; MARINHO, H. A. Screening fitoquímico e físico-químico dos extratos da *Curcuma zerumbet* Roscoe (Zingiberaceae) do Amazonas para a produção de alimentos terapêuticos. **Biota Amazonia**, v. 7, n. 1, p. 6-11, 2017.



CASTRO, M. S. **Utilização dos extratos do rizoma da *Curcuma zerumbet* (Zingiberaceae) para produção de iogurte terapêutico.** 2015. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, 2015.

CELESTINO, S. M. C. Produção de refrigerantes de frutas. Planaltina, DF. **Embrapa Cerrados**, 2010. ISSN 15175111.

CALETTI, G.; BOCK, P. M. Ação do aminoácido taurina no diabetes mellitus. **Rev Bras Nutr Clin**, v. 25, n. 3, p. 243-50, 2009.

CIA DA SAÚDE. **Alimentação saudável em evidência.** 6. ed. Santa Catarina, 2021. Disponível em: <<https://redeciadasaude.com.br/>>. Acesso em: 05 fev 2020.

CHAN, P.K; OHARA, G. P; HAYES, A. W. 1982. Principles and methods for acute and subchronic toxicity. **Raven Press**, p. 1-51, 1982.

DE ANGELIS, R. C. Fisiologia da nutrição: fundamentos para nutrição e desnutrição. **EDART/EDUSP**, v. 1, 1977.

DIAS, S. S.; SIMAS, L.; JUNIOR, L. C. L. Alimentos funcionais na prevenção e tratamento de doenças crônicas não transmissíveis. **Boletim de Conjuntura**, v. 4, n. 10, 2020.

DOLOKING, H.; MUKHRIANI; AMALIA, R.; PRATAMA, A. A. Antioxidant Activity Study of *Zingiber Zerumbet* Rhizome Extract and Fraction. **Ad-Dawaa' J. Pharm. Sci**, v. 5, n. 2, p. 43-52, 2022.

DUTRA, R. F.; MARQUES, F. E. M.; MATOS, L. D. N. J. A ação da bebida energética na frequência cardíaca de recuperação independe da capacidade funcional. **Arq Bras Cardiol**, v. 119, n. 4, p. 562-563, 2022.

FERREIRA, F. A. M.; FERREIRA, B. B.; BRAGANÇA, V. A. N.; LIMA, C. L. S.; BRASIL, D. S. B. Guaraná (*Paullinia cupana* Kunth), marapuama (*Ptychopetalum olacoides* Benth.), genciana (*Gentiana lutea* L.), quassia (*Quassia amara* L.) e suas propriedades: uma breve revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, 2022.

FERREIRA, G. K. S.; MARGALHO, J. F.; ALMEIDA, L. Q.; ANJOS, T. O.; CASCAES, M. M.; NASCIMENTO, L. D.; ANDRADE, E. H. A. Avaliação sazonal e circadiana do óleo essencial das folhas de *Piper divaricatum* G. Mey. (Piperaceae). **Braz. J. of Develop.**, v. 6, n. 6, p. 41356-41369, 2020.

FIGUEIRA, M. S. **Efeitos do extrato aquoso de guaraná (*Paullinia cupana*) em pó nos mecanismos envolvidos com a absorção de colesterol *in vitro* e em células Caco-2.** 2021. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

FRANÇOZO, L. O. **Xilitol: um edulcorante diversificado e benéfico para a saúde humana – Uma revisão bibliográfica.** 2015. Monografia (Licenciatura em Química) – Universidade Estadual Paulista, Bauru, 2015.



GONÇALVES, C.; CASTRO, C. E. F.; CASTRO, A. C. R.; LOGES, V. *Zingiber zerumbet* flower stem postharvest characterization. **Ornam. Hortic.**, v. 23, n. 2, p. 127-130, 2017.

GUGLIELMETTI, A.; D'IGNOTI, V.; GHIRARDELLO, D.; BELVISO, S.; ZEPPA, G. Optimisation of ultrasound and microwave-assisted extraction of caffeoylquinic acids and caffeine from coffee silverskin using response surface methodology. **Italian Journal of Food Science**, v. 29, p. 409-423, 2017.

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E.; RAHMAT, A.; SWAMY, M. K. Optimization of microwave-assisted extraction of zerumbone from *Zingiber zerumbet* L. rhizome and evaluation of antiproliferative activity of optimized extracts. **Chemistry Central Journal**, v. 11, n. 5, 2017.

GRAÇA, A. C. S. **Avaliação da atividade do óleo essencial de *Zingiber zerumbet* (L.) Smith e seu composto majoritário, zerumbona, sobre a função renal e vascular em ratos wistar.** 2018. Dissertação (Mestrado em Imunologia Básica e Aplicada) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2018.

GURGEL, E. S. C. **Morfoanatomia, perfil químico e atividade alelopática de três espécies de *Copaifera* L. (Leguminosae Caesalpinioideae) nativas da Amazônia.** 2009. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2009.

HAMERSKI, L.; SOMNER, G. V.; TAMAIO, N. *Paullinia cupana* Kunth (Sapindaceae): A review of its ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology. **J. Med. Plants Res.**, v. 7, n. 30, p. 2221-2229, 2013.

HARSHA, K.; SHALIMA, M. V.; ASWATI, R. N.; PADMESH, P. Influence of phytochemical and soil characteristics on composition of culturable endophyte from *Zingiber zerumbet* (L) Smith. **Ecological Genetics and Genomics**, v. 26, 2023.

HENRIQUE, V. A.; NUNES, C. R.; AZEVEDO, F. T.; PEREIRA, S. M. F.; BARBOSA, J. B.; TALMA, S. V. Alimentos funcionais: aspectos nutricionais na qualidade de vida. **EDIFS**, 2018.

IAL, Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

KOGA, A. Y.; BELTRAME, F. L.; PEREIRA, A. V. Several aspects of *Zingiber zerumbet*: a review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 385–391, 2016.

LAPA, A. J.; SOUCAR, C.; LANDMAN, M. T.; CASTRO, M. S.; LIMA, T. C. **Métodos de Avaliação da Atividade Farmacológica de Plantas Medicinais.** São Paulo: Lagoa Editora Ltda, 2005.

LIMA, L. L. A.; FILHO, A. B. M. **Tecnologia de bebidas.** Recife: EDUFRPE, 2011. 126 p., il. ISBN 978-85-7946-089-0, 2011.

LIMA, N. S.; TEIXEIRA, L.; GAMBERO, A.; RIBEIRO, M. L. Guarana (*Paullinia cupana*) stimulates mitochondrial biogenesis in mice fed high-fat diet. **Nutrients**, 2018.



LIMA, B. S.; ALEIXO, N. C. R. Eventos extremos de temperatura do ar e doenças cardiorrespiratórias em Manaus/AM. **Revista Geonorte**, v. 14, n. 43, p. 78-96, 2023.

LINO, M. F. S.; SILVA, C. M. Bebidas energéticas: uma questão educacional. **Braz. J. of Develop.**, v. 5, n. 6, p. 4483-4492, 2019.

LOTUMOLO, M. B. **Estudo do perfil do consumidor de açúcar mascavo**. 2022. Trabalho Final de Curso (Curso de Engenharia Agrônômica) – Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2022.

MACHADO, D. S. P. **Estudo farmacológico dos extratos bruto e hidroalcoólico do gengibre amargo (*Zingiber zerumbet* L. Smith) da região amazônica para o encapsulamento funcional**. 2015. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2015.

MACHADO, S. S. Tecnologia da Fabricação do Açúcar. **e-Tec Brasil**, 2012.

MAIOLI, D. **Caracterização físico-química e sensorial de bebida energética durante o armazenamento**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.

MALTA, D. C.; BERNAL, R. T. I.; LIMA, M. G.; ARAÚJO, S. S. C.; SILVA, M. M. A.; FREITAS, M. I. F.; BARROS, M. B. A. Doenças crônicas não transmissíveis e a utilização de serviços de saúde: análise da Pesquisa Nacional de Saúde no Brasil. **Revista de Saude Publica**, 2017.

MALTA, D. C.; ANDRADE, S. S. C. A.; OLIVEIRA, T. P.; MOURA, L.; PRADO, R. R.; SOUZA, M. F. M. Probabilidade de morte prematura por doenças crônicas não transmissíveis, Brasil e regiões, projeções para 2025, **Rev Bras Epidemiol**, 22: E190030, 2019.

MALTA, D. C.; GOMES, C. S.; Barros, M. B. A.; Lima, M. G.; Almeida, W. S.; Sá, A. C. M. G. N.V.; Prates, E. J. S.; Machado, I. E.; Silva, D. R. P.; Werneck, A. O.; Damacena, G. N.; Júnior, P. R. B. S.; Azevedo, L. O.; Montilla, D. E. R.; Szwarcwald, C. L. Doenças crônicas não transmissíveis e mudanças nos estilos de vida durante a pandemia de COVID-19 no Brasil. **Rev Bras Epidemiol**, 24: E210009, 2021a.

MALTA, D. C.; GOMES, C. S.; SILVA, A. G.; CARDOSO, L. S. M.; BARROS, M. B. A.; LIMA, M. G.; JUNIOR, P. R. B. S.; SZWARCOWALD, C. L. Uso dos serviços de saúde e adesão ao distanciamento social por adultos com doenças crônicas na pandemia de COVID-19, Brasil, 2020. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 26, n. 7, 2021b.

MARQUES, L. L. M.; FERREIRA, E. D. F.; PAULA, M. N.; KLEIN, T.; MELLO, J. C. P. *Paullinia cupana*: a multipurpose plant – a review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2019.

MARTINS, G. A. de S.; SILVA, C. A. Alimentos funcionais: tecnologia aliada a saúde. **Desafios**, 2018.



MENDONÇA, K. C. P. **Efeitos da taurina em células endoteliais expostas *in vitro* à restrição de aminoácidos.** 2020. Dissertação (Mestrado em Biologia Funcional e Molecular) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2020.

MENDONÇA, C. R.; RODRIGUES, R. S.; ZAMBIASI, R. C. Açúcar mascavo em geleadas de maçã. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.30, n.6, p. 1053-1058, 2000.

MELO, S. P. S. C.; CESSÉ, E. A. P.; LIRA, P. I. C.; RISSIN, A.; CRUZ, R. S. B. L. C.; FILHO, M. B. Doenças crônicas não transmissíveis e fatores associados em adultos numa área urbana de pobreza do nordeste brasileiro. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 24, n. 8, 2019.

MING-DER, W.; MING-JEN, C.; MEI-HUEI, C.; YI-JEN, Y. Active constituents isolated from *Zingiber zerumbet* with anti-arthritis activity. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 58, n. 5, 2022.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Xilitol: Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 4, 2002.

NAG, A.; BANDYOPADHYAY, M.; MUKHERJEE, A. Antioxidant Activities and Cytotoxicity of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith Rhizome. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 3, p. 102-108, 2013.

NARVÁEZ, S. P. L. **Elaboración de una bebida energética a partir de mucílago de cacao (*Theobroma Cacao* L.) saborizada con café (*Coffea*).** 2022. Trabalho de conclusão de curso (Engenheiro Agroindustrial) – Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Equador, 2022.

NEVES, N. C. R. **Percepção do consumidor sobre os alimentos funcionais.** 2020. Dissertação (Mestrado em Agronegócios) – Universidade de Brasília, Brasília, 2020.

NIK, A. B.; VAZIFEDOOST, M. Optimizing the formulation of the functional beverage from the co-crystallized powder of *Securigera securidaca* seed extract. **J Food Sci Technol**, v. 57, n. 7, p. 2443–2451, 2020.

NUNES, C. G. **Desenvolvimento de bebida energética para atletas a partir de polpa de jamelão (*Syzygium Cumini* L. Skeels) e mistura de carboidratos: avaliação sensorial e da capacidade antioxidante.** 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2016.

OLIVEIRA, T. A. **Caracterização físico-química e avaliação da atividade *in vitro* do guaraná em pó (*Paullinia cupana*).** 2021. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Nutrição) – Universidade Federal de Ouro Preto, 2021.

OLIVEIRA, A. S.; LIMA, E. S.; MARINHO, H. A.; CARVALHO, R. P. Benefits and Effectiveness of Using *Paullinia cupana*: A Review Article. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 6, n. 8, 2018.

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



PRESHAHDIN, N. A.; JANI, N. A.; IBERAHIM, R. Phytochemicals and Antibacterial Activity of *Zingiber zerumbet* Growing in Negeri Sembilan, Malaysia. **Journal of Science and Mathematics Letters**, v. 11, p. 20-29, 2023.

PINHEIRO, C. C. S. **Processo de obtenção e potencial analgésico, anti-inflamatório, toxicidade pré-clínica de zerumbona obtida dos rizomas de *Zingiber zerumbet* (L.) Smith (Zingiberaceae)**. 2009. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2009.

PINHEIRO, C. D. F. **Bioprospecção do sesquiterpeno zerumbona, para o tratamento de infecções cutâneas**. 2017. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2017.

PINTO, E. G.; MARTINS, W. F.; MEDEIROS, J. A.; NIRO, C. M.; OLIVEIRA, K. A. R. Ciência e tecnologia de alimentos. **Agron Food Academy**, 2022.

PINTO, D. M. L. **Análise do potencial erosivo de bebidas energéticas**. 2019. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Nutrição) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2019.

PORTELA, R. L.; BARCELOS, R. P. B.; ROSA, E. J. F.; RIBEIRO, E. E.; CRUZ, I. B. M.; SULEIMAN, L.; SOARES, F. A. A. Guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) effects on LDL oxidation in elderly people: an in vitro and in vivo study. **Lipids in Health and Disease**, v. 12, n. 12, 2013.

PRADO, J.; MELO, G. T.; HEEMANN, C. P.; HEEMANN, R.; SANTOS, A. C. W.; GILDA, T.; LIMA, C. P. Determinação de taninos e cafeína de extratos de sementes de guaraná, *Paullinia cupana* Kunth sapindaceae, obtidos com diferentes graduações alcoólicas. **Anais do EVINCI – UniBrasil**, Curitiba, v.3, n.1, p. 245-245, 2017

RAMADA, R.; NACIF, M. Avaliação do consumo de bebidas energéticas por estudantes de uma universidade de SÃO PAULO-SP. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 13, n. 77, p.151-156, 2019.

RIBEIRO, M. V. M. **Desenvolvimento de métodos analíticos para a avaliação da qualidade de cafés torrados, bebidas energéticas e medicamentos contendo esteroides anabolizantes utilizando a espectroscopia de RMN¹H**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, 2018a.

RIBEIRO, S. M.; BONILLA, O. H.; LUCENA, E. M. P. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. **Iheringia**, v. 73, n. 1, p. 31-38, 2018b.

RIBEIRO, J. C. L. **Análise química e biológica de metabólitos voláteis isolados de plantas das famílias Myrtaceae e Zingiberaceae**. — Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

ROTTA, E. Manual de prática de coleta e herborização de material botânico. **Embrapa Florestas**, 2008.



SALGADO, J. **Alimentos funcionais**. 1. ed. São Paulo, Oficina de Textos, 2017.

SANTOS, O. V.; PINTO, D. M. L.; SOARES, S. D.; LISBÔA, L. R. C.; MARÇAL, A. F.; COSTA, B. E. T. Influência da composição química de bebidas energéticas na redução da absorção de macro e micronutrientes. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 14, n. 87, p. 624-631, 2020.

SANTOS, I.; SOUZA, A.; SANTOS, O. Análise de composição química de bebidas energéticas em comparação com a rotulagem nutricional e legislações vigentes. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 11, n. 63, p. 312-320, 2017.

SANTOS, T. S. **Ação de bebidas energéticas sobre o esmalte dental revisão de literatura**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Odontologia para título de Cirurgiã dentista) – Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, 2017.

SOARES, J. A.; CARNEIRO, L. B.; ROCHA, C. M.; CASTELANI, G. P.; BORGES, A. C. S.; AMARAL, P. I. S.; BARROS, G. B. S. Malefícios do consumo excessivo de bebidas energéticas por estudantes. **RECIMA21 – Ciências Exatas e da Terra, Sociais, da Saúde, Humanas e Engenharia/Tecnologia**, v. 2, n. 7, 2021.

STEFFANI, W. M. C.; VEROLA, D. C.; GONÇALVES, Y. M.; ROSA, A. E.; SANTOS, E. C. F.; PIERONI, M. R.; FILHO, A. E. F. M.; MUNDIM, F. G. L.; SALLES, B. C. C.; BARROS, G. B. S. Efeitos da Combinação da Bebida Fermentada de Kefir com Extrato Hidroetanólico de Guaraná (*Paullinia cupana*) sobre os Parâmetros Bioquímicos e Histologia de Ratos Diabéticos. **Arch Health Invest**, v. 11, n. 2, p. 352-360, 2022.

SILOCCHI, C.; JUNGES, J. R. Equipes de atenção primária: dificuldades no cuidado de pessoas com doenças crônicas não transmissíveis. **Trab. Educ. Saúde**, v. 15, n. 2, p. 599-615, 2017.

SILVA, I. G. R.; SOUZA, E. M.; MORAES, A. A. B.; SARGES, M. S. R.; CASCAES, M. M.; NASCIMENTO, L. D. Avaliação sazonal do rendimento e composição química do óleo essencial das folhas de *Aniba parviflora* (Meisn) Mez. (Lauraceae). **Braz. J. of Develop**, v. 6, n. 6, 2020.

SILVA, G. M. M. **Caracterização dos mecanismos subjacentes da ação neuroprotetora do extrato de guaraná (*Paullinia cupana*) no organismo modelo *Caenorhabditis elegans***. 2018. Monografia (Curso de Biomedicina) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2018.

SILVA, A. C. C.; SILVA, N. A.; PEREIRA, M. C. S.; VASSIMON, H. S. Alimentos Contendo Ingredientes Funcionais em sua Formulação: Revisão de Artigos Publicados em Revistas Brasileiras. **Revista Conexão Ciência**, v. 11, n. 2, 2016.

SILVA, B. R. **Levantamento do padrão de consumo do álcool associado a bebidas energéticas por estudantes de um centro universitário em Vitória-ES**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia Generalista) – Centro Universitário Católico de Vitória, Espírito Santo, 2016.



SILVA, M. **Métodos estatísticos aplicados à Farmacologia**. Fundamentos de Farmacologia e suas aplicações à Terapêutica. 2. ed. São Paulo: Edart, Livraria, Editora Ltda, 1968.

SOUZA, E. C.; LIMA, S. C. C.; SANTOS, M. R. S.; TEIXEIRA, F. G. B.; BARROS, Y. V. R. Condições sanitárias de açúcar mascavo, demerara e de coco comercializados a granel na cidade de Maceió, AL. **Higiene Alimentar**, v. 32, n. 284/285, 2018.

SOUZA, I. G. **Alimentos funcionais na prevenção e controle das doenças crônicas não transmissíveis: uma revisão**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Nutrição) – Unidade Acadêmica de Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, 2016.

SOUZA, P. G. **Estudo do potencial biotecnológico da utilização do rizoma de *Zingiber zerumbet* Smith como adjunto na produção de cerveja artesanal**. 2015. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2015.

SOUZA, S. A.; ALVES, S. F.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Determinação de taninos e metilxantinas no guaraná em pó (*Paullinia cupana* Kunth, Sapindaceae) por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, 2010.

TAN, J. W.; ISRAF, D. A.; THAM, C. L. Major Bioactive Compounds in Essential Oils Extracted From the Rhizomes of *Zingiber zerumbet* (L) Smith: A Mini-Review on the Anti-allergic and Immunomodulatory Properties. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, 2018.

TJÖLSEN, A.; BERGE, O. G.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J. H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v. 51, p. 5-17, 1992.

TIAN, M.; WU, X.; HONG, Y.; WANG, H.; DENG, G.; ZHOU, Y. Comparison of chemical composition and bioactivities of essential oils from fresh and dry rhizomes of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith. **BioMed Research International**, 2020.

VALDERRAMAS, A. C. **Estudo da atividade anti-inflamatória de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae)**. 2006. Dissertação (Mestrado em Biologia Oral) – Universidade do Sagrado Coração, Bauru, São Paulo, 2006.

VIEIRA, P. K. R. **Elaboração de energético sabor taperebá (*Spondias mombin* L.)**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo em Processos Químicos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Manaus, 2019.

YOB, N. J.; JOFRERY, S. M.; AFFANDI, M. M. R. M. M.; TEH, L. K.; SALLEH, M. Z.; ZAKARIA, Z. A. *Zingiber zerumbet* (L.) Smith: A Review of Its Ethnomedicinal, Chemical, and Pharmacological Uses. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2011.

YONAMINE, M.; TENG, T. K. O consumo de bebidas energéticas e seus efeitos à saúde. **RevSALUS – Revista Científica Internacional Da Rede Acadêmica Das Ciências Da Saúde Da Lusofonia**, v. 1, n. 2, p. 61–66, 2019.



8. ANEXOS

ANEXO A

COMPROVAÇÃO SISGEN DO GENGIBRE AMARGO



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A724A4E

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A724A4E**

Usuário: **Carlos Cleomir de Souza Pinheiro**

CPF/CNPJ: **034.212.012-34**

Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**

Finalidade do Acesso:



Pesquisa Científica



Bioprospecção



Desenvolvimento Tecnológico

Espécie

Zingiber zerumbet

Título da Atividade:

**USO DA ZERUMBONA, FORMULAÇÃO DERMATOLÓGICA E/OU
COSMÉTICA E PROCESSO DE OBTENÇÃO**

Equipe

Carlos Cleomir de Souza Pinheiro

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZONIA

Resultados Obtidos

Licenciamento de patente

Licenciado:

BR 10 2013 025449 5



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



ANEXO B
PARECER TÉCNICO – CEUA



MINISTÉRIO DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA
E INOVAÇÕES



INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA

PARECER TÉCNICO Nº 47/2022/SEI-INPA

PARECER CONSUBSTANCIADO E CERTIFICADO SOBRE PROTOCOLOS DE PESQUISAS NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Certificamos que a solicitação de alteração da proposta intitulada "Avaliação química, físico-química e sensorial dos extratos de gengibre amargo (*Zingiber zerumbet* Smith) e guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) para elaboração de bebida energética como alimento funcional", que agora passa a ser intitulada "Avaliação química, físico-química e farmacológica dos extratos de gengibre amargo (*Zingiber zerumbet* Smith) para a elaboração de bebida energética", registrada com o nº 004/2022, SEI 01280.000076/2022-12, sob a responsabilidade de Ana Karolina Alves de Souza - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei Nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi APROVADA pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) do INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA, em reunião de 02/05/2022.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização:	Início: 17/02/2022 a Final: 31/01/2023
Espécie/linhagem/raça:	Camundongos (<i>Mus musculus</i>) e Ratos (<i>Rattus norvegicus</i>) albinos
Número de animais:	80, sendo 70 <i>Mus musculus</i> e 10 <i>Rattus norvegicus</i>
Peso/Idade:	<i>Mus musculus</i> 16 - 20g / 30 dias - <i>Rattus norvegicus</i> 150 - 300g - 30 dias
Sexo:	M + F
Origem:	Biotério Central do INPA
Jejum:	Jejum de 2h em todos os animais (ratos e camundongos) que receberão administração via oral.
Inoculação:	Carragenina 0,1 mL/pata; Óleo Essencial dos rizomas de <i>Z. zerumbet</i> ; Ácido acético Glacial (1%); Pentobarbital 50 mg/kg

Data de liberação do Parecer: 05.05.2022

Raimunda Liege Souza de Abreu - Presidente CEUA-INPA - PO 0111/2020



Documento assinado eletronicamente por Raimunda Liege Souza de Abreu, Pesquisador(a) em Ciência e Tecnologia, em 05/05/2022, às 18:06 (horário oficial de Brasília), com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <http://sei.mctic.gov.br/verifica.html>, informando o código verificador 9813013 e o código CRC 2D05B747.